



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

# POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Instituto de Biología

“Variación morfológica y genética  
en *Creaseria morleyi*  
(Decapoda: Palaemonidae)  
de la península de Yucatán”

# TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A

M. EN C. ALEJANDRO BOTELLO CAMACHO

DIRECTOR DE TESIS:  
DR. FERNANDO ÁLVAREZ NOGUERA

MÉXICO, D.F.

OCTUBRE, 2007



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.

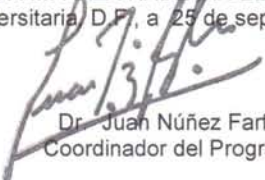
Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez  
Director General de Administración Escolar, UNAM  
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 25 de junio de 2007, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de **DOCTOR EN CIENCIAS** del alumno **ALEJANDRO BOTELLO CAMACHO** con número de cuenta 93388869, con la tesis titulada: "**Variación morfológica y genética en *Creaseria morleyi* (Decapoda: Palaemonidae) de la península de Yucatán**", realizada bajo la dirección del Dr. FERNANDO ÁLVAREZ NOGUERA.

Presidente: Dr. Juan José Morrone Lupi  
Vocal: Dr. Javier Alcocer Durand  
Vocal: Dr. Francisco Javier Vega Vera  
Vocal: Dr. Sergio Cházaro Olvera  
Secretario: Dr. Fernando Álvarez Noguera  
Suplente: Dr. José Luis Villalobos Hiriart  
Suplente: Dra. Virginia León Rêgagnon

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU" -  
Cd. Universitaria D.F., a 25 de septiembre de 2007.

  
Dr. Juan Núñez Farfán  
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del interesado.

Este trabajo se llevo a cabo gracias a:

El apoyo proporcionado por el Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM.

La beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, número de becario 167144.

La beca complementaria de la Dirección General de Estudios de Posgrado de la UNAM.

El proyecto CONACYT – Universidad de Texas A&M “Ecology, Biodiversity and Hydrology of Anchialine Caves: the Ox Bel Ha System, Quintana Roo, Mexico”. Responsables: Fernando Álvarez y Thomas M. Iliffe.

El proyecto PAPIIT-DGAPA-UNAM IN203906-3 “Adaptación del acocil *Procambarus llamasii* a ambientes contrastantes en la Península de Yucatán: Ecofisiología, Ecología Poblacional y Diversificación”. Responsable: Fernando Álvarez.

El Comité Tutorial integrado por:

Dr. Fernando Álvarez Noguera  
Dra. Virginia León Règagnon  
Dr. Javier Alcocer Durand

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por otorgarme el privilegio de formarme dentro de sus aulas.

Al Instituto de Biología de la UNAM por brindarme las herramientas para llevar a cabo este proyecto.

Al Dr. Fernando Álvarez Noguera, por su acertada dirección y el tiempo dedicado. Además de la libertad y confianza necesarias para consumir este trabajo.

Al Dr. José Luis Villalobos Hiriart por su continuo interés y porque siempre se preocupó por contribuir en mi formación. Además le agradezco la asistencia prestada para el análisis morfométrico.

A la Dra. Virginia León Rêgagnon por permitirme trabajar en el Laboratorio de Sistemática Molecular 3 del Instituto de Biología, y por su disposición a colaborar con el presente estudio.

Al Dr. Javier Alcocer Durand por sus atinados consejos y recomendaciones.

A la M. en C. Laura Márquez Valdelamar, encargada del Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Biología y del secuenciador automático, gracias a la cual se obtuvieron las secuencias de nucleótidos.

A los miembros del jurado, Dr. Juan José Morrone Lupi, Dr. Francisco J. Vega Vera, Dr. Sergio Cházaro Olvera, Dr. José Luís Villalobos Hiriart, que con sus comentarios enriquecieron este trabajo.

A la Dra. Valeria Souza Saldivar y al Dr. Luis Manuel Mejía Ortiz que participaron en el comité de candidatura, contribuyendo de manera importante con sus observaciones.

Por el apoyo prestado durante mi estancia en la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación de la Facultad de Ciencias de la UNAM, en Sisal, Yucatán, agradezco a: Dr. Francisco Xavier Chiappa Carrara, Dr. Miguel Rodríguez Serna, M. en C. Maribel Badillo Alemán y a la Dra. Claudia Carmona Osalde.

A la M. en C. Eliana Paola Acuña Gómez por la asistencia brindada en el análisis de los datos genéticos.

Por su ayuda en la recolecta de organismos, que aunque generalmente resultó un trabajo grato, algunas veces implicó riesgos, agradezco de manera especial a Tulio Lot González del Ángel, Rocío González Acosta, Antonio Celis Villalba, Araceli Argüelles Tico, Rolando Mendoza, al Sr. Baldomero Ku Ceh y a todos aquellos que en los estados de Yucatán, Quintana Roo y Campeche colaboraron en el trabajo de campo de alguna u otra manera.

A mis compañeros en la Colección Nacional de Crustáceos, Carmen Hernández, Antonio Celis, Gema Armendáriz, Paola Acuña, Lourdes González, Eduardo Torres y Rolando Méndoza.

A todas las personas que trabajan en el Laboratorio de Sistemática Molecular 3 del Instituto de Biología.

A Laura Padilla por la realización de las láminas correspondientes a *Creaseria morleyi* que fueron usadas en este trabajo.

A la D.G. Rocío Botello por su ayuda con las imágenes contenidas en esta tesis.

## DEDICATORIA

Este trabajo también fue posible gracias al apoyo y afecto de aquellos que me han acompañado todos estos años:

A Cecilia, que ha sido mi compañera, amiga y cómplice, ya que con ella las cosas buenas se vuelven mejores.

A María Cristina, mi madre, que a pesar de los momentos difíciles que hemos pasado, tuvo la fuerza e inteligencia para brindarme los medios e inculcarme los valores que me han permitido alcanzar las metas que me he fijado.

A Rocío, mi hermana porque juntos hemos salido adelante y siempre ha estado ahí.

A mis amigos Ricardo, Gabriel, Toño, Carlos, Moisés, Lalo, Raquel, Paco, Saúl, Rodrigo, Alain y Lulú por todo lo que ellos saben.

# ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN GENERAL	3
Península de Yucatán	3
Cenotes	4
Provincias fisiográfica	5
Crustáceos troglobios	8
<i>Creaseria morleyi</i> (Creaser, 1936)	9
OBJETIVO GENERAL	12
<b>CAPÍTULO 1 “Variación morfológica en <i>Creaseria morleyi</i>”</b>	<b>13</b>
Introducción	13
Hipótesis	15
Objetivos particulares	15
Materiales y métodos	15
Resultados	18
Discusión	24
<b>CAPÍTULO 2 “Variación genética en <i>Creaseria morleyi</i>”</b>	<b>26</b>
Introducción	26
Hipótesis	27
Objetivos particulares	28
Materiales y métodos	28
Obtención de los ejemplares	28
Extracción, amplificación y secuenciación del ADN	30
Variación genética	31
Relación geográfica	32
Tiempo de divergencia	33
Resultados	34
16S rRNA	34
Citocromo oxidasa subunidad I	36
Relación geográfica	38
Tiempo de divergencia	42
Discusión	43
<b>CAPÍTULO 3 “Patrones de invasión al agua dulce en géneros dulceacuícolas de la subfamilia Palaemoninae”</b>	<b>47</b>
Introducción	47
Hipótesis	50
Objetivo particular	50
Materiales y métodos	51
Elección de los ejemplares y obtención de las secuencias	51
Análisis filogenético	53
Resultados	55
Análisis filogenético	57
Discusión	64
CONCLUSIONES GENERALES	67
LITERATURA CITADA	68
APÉNDICE 1	79
APÉNDICE 2	90
APÉNDICE 3	94



## RESUMEN

La parte norte de la península de Yucatán cuenta con un gran número de cenotes y cuevas habitados por diferentes organismos endémicos, principalmente crustáceos y peces. Entre las familias de crustáceos decápodos con especies estigobias, está Palaemonidae, siendo *Creaseria morleyi* la única representante de la familia en la península de Yucatán, donde al mismo tiempo es el decápodo estigobio con distribución más amplia en la península. Este estudio se realizó con el objeto de explorar, con base en datos morfológicos, moleculares y de distribución, como se ha llevado a cabo la evolución de esta especie en la península de Yucatán, así como el estudiar los patrones de invasión al agua dulce en géneros cercanos a *Creaseria* en México.

*Creaseria morleyi* presenta una evidente variación morfológica en caracteres de importancia taxonómica. Para explicar tales cambios se realizó un análisis morfométrico basado en 24 medidas corporales y de los apéndices. Con la ecuación  $Y = aX^b$ , se calculó el grado de isometría en relación con la longitud del caparazón. Los machos midieron entre 31.6 y 49.3 mm y las hembras entre 31.8 y 65.6 mm de longitud total. En los machos las regresiones mostraron alometría negativa. En las hembras, el ancho del caparazón resultó en un crecimiento alométrico positivo, lo que indica que mientras las hembras aumentan de tamaño, el caparazón se vuelve más ancho que largo, y en el segundo pereiópodo, las regresiones relacionadas con la quela mostraron un crecimiento alométrico positivo. Las regresiones fueron significativamente diferentes entre machos y hembras, lo que muestra dimorfismo sexual. La representación gráfica de las tendencias muestra cambios significativos en la morfología entre los 46 y 60 mm de longitud total. Respecto a la variación genética, se obtuvo la secuencia de nucleótidos de los genes mitocondriales 16S rRNA y COI de 25 individuos correspondientes a 14 poblaciones, con lo que se hizo un análisis de clados anidados. En el gen 16S se presentaron cinco haplotipos con una distancia genética de entre  $p = 0$  y 0.00543, estando uno de ellos ampliamente distribuido. En la región COI el número haplotipos fue de 12 con una distancia de entre  $p = 0$  y 0.01988, que dieron como resultado una red anidada donde se pueden identificar tres linajes aislados por distancia, con flujo génico restringido. Con este marcador genético se pudo estimar un tiempo de divergencia de entre 40,000 y 100,000 años entre linajes y se puede concluir que las poblaciones de *C. morleyi* han pasado por varios cuellos de botella que han tenido como consecuencia una disminución en la variación genética. Además se realizó un análisis filogenético usando como marcador genético el gen 16S, con 20 especies pertenecientes a ocho géneros de la subfamilia Palaemoninae, entre los que están algunos géneros monotípicos, y especies tanto epigeas como estigobias, así como algunas de desarrollo abreviado y extendido. Se utilizaron diferentes métodos filogenéticos y con las topologías se obtuvo un árbol de consenso de donde se pudo inferir que la invasión al agua dulce en los géneros de la subfamilia Palaemoninae, ha ocurrido en cuatro ocasiones diferentes, tras haber divergido en otro tipo de ambiente.

## ABSTRACT

The northern portion of the Yucatan Peninsula presents a great number of submerged cave systems and sinkholes. These environments are inhabited by an endemic biota composed of crustaceans and teleostean fishes. Among the crustacean decapods, the family Palaemonidae contains several stygobitic species, being *Creaseria morleyi* the only representative of the family in the Yucatan Peninsula, nevertheless is widely distributed in the region. The aim of this study was to explore the evolution of this species in the Yucatan Peninsula using morphological, genetic and distributional data, as well as to study the invasion patterns of fresh water in closely related genera in Mexico.

A high degree of morphological variation is evident in some taxonomically important characters of *Creaseria morleyi*. In order to explain such variation, a morphometric analysis was undertaken. We measured a total of 24 variables from the body and appendages. The equation  $Y = aX^b$ , was used to calculate the divergence from isometry in relation to carapace length. Males ranged in total length from 31.6 to 49.3 mm and females from 31.8 to 65.6 mm. For males, all regressions showed negative allometry. For females, carapace width showed positive allometry, suggesting that as females increase in size the carapace becomes wider than longer. Regarding, the second pereopod, females exhibited positive allometric growth in chela related dimensions. All regressions for males and females were significantly different describing a marked sexual dimorphism. Graphic representations of the tendencies show that significant changes in the morphology occur in females at sizes ranging between 46 and 60 mm of total length. Concerning the genetic variation, we obtained the nucleotide sequence of 16S rRNA and COI mitochondrial genes from 25 organisms of 14 populations in order to make a nested clade analysis. For the 16S there were five haplotypes with a genetic distance between  $p = 0$  and 0.00543, with one of them widely distributed. For COI we found 12 haplotypes with genetic distances between  $p = 0$  and 0.01988. The nested clade analysis resulted in three lineages isolated by distance with restricted gene flow. With the last gene marker, we estimated a time of divergence between 40,000 and 100,000 years for the three lineages, and we can conclude that *C. morleyi* populations had experienced several bottlenecks causing the loss of genetic variation in the past. Finally, we conducted a phylogenetic study using the 16S mitochondrial gene of 20 species belonging to eight Palaemoninae genera, including some monotypic genera including epigean as well as stygobitic species, and also species with extended and abbreviated development. We used several phylogenetic methods, and constructed with the obtained topologies a consensus tree, and we can infer that fresh water invasion in the subfamily Palaemoninae took place in four different occasions after a previous divergence in other habitats.

# INTRODUCCIÓN GENERAL

## PENÍNSULA DE YUCATÁN

La península de Yucatán es la parte expuesta de la placa de Yucatán y está compuesta de roca calcárea, producto de la sedimentación de carbonatos en diferentes épocas geológicas. Los depósitos de carbonatos más antiguos de la península se localizan al sur de ésta y pertenecen a finales del Paleoceno y principios del Eoceno. Los carbonatos correspondientes a la parte norte y oeste de la península se depositaron durante el Eoceno y se encuentran rodeados por depósitos de finales del Mioceno y principios del Plioceno, a excepción de dos pequeñas regiones al norte que son del Oligoceno y de la sierra de Ticul, que se depositó en el Mioceno-Plioceno. La parte marginal de la península es la más reciente, ya que esta formada por carbonatos depositados durante el Pleistoceno (Beddows, 2003).

Adicionalmente existen dos elementos en la constitución geológica de la península, y que influyen en la distribución de la fauna anquihalina. Uno es la presencia de tres fallas geológicas formadas a partir de la actividad tectónica ocurrida a finales del Mesozoico; la primera corresponde a la sierra de Ticul, la segunda es la falla de río Hondo, que va desde el sur del estado de Yucatán hasta la zona de Tulúm y la tercer es la falla de Holbox, que se ubica en la parte este de la península en dirección de norte a sur. Estas fallas definen la existencia de tres cuencas hidrológicas, lo que provoca que el agua de cenotes y ríos subterráneos corran en dirección distinta (Pope *et al.*, 1996). El otro elemento importante corresponde al anillo de cenotes que se formó en la roca calcárea depositada a principios del Plioceno, en la zona de fractura del cráter de Chicxulub y que actualmente tiene un flujo de agua en dirección noroeste (Pope *et al.*, 1993).

Gracias a la permeabilidad de la roca caliza, la parte norte de la península carece de ríos, sin embargo existe un gran número de cenotes (del maya d'zonot), cuevas y aguadas (Schmitter-Soto *et al.*, 2002), que constituyen una serie de microhábitats para diferentes organismos endémicos relacionados con especies marinas ya extintas, que quedaron atrapados al retirarse el mar (Sanz y Platvoet, 1995). Estos lugares presentan diferentes similitudes con el mar profundo, como la ausencia de luz, la estabilidad en los parámetros fisicoquímicos y la manera como ingresa la materia orgánica del exterior (Gers, 1998; Álvarez *et al.*, 2000).

## **CENOTES**

Los cenotes se originan gracias a la disolución de la caliza mediante varios mecanismos, como el agua que se filtra de la superficie, la circulación interior, la actividad microbiana y la reacción ocurrida en la haloclina, que es la zona de mezcla del agua dulce y marina (Schmitter-Soto *et al.*, 2002). Estos sistemas cuentan con diferentes características fisicoquímicas y morfológicas, dependiendo de la edad y su localización, pero de manera general se pueden clasificar en varios tipos (Hall, 1936; Schmitter-Soto *et al.*, 2002) (Figura I.1):

*Tipo caverna.* Son los cenotes más jóvenes, ya que el techo de la bóveda aún no se ha derrumbado y generalmente están comunicados con otros cuerpos de agua, por lo que forman parte de sistemas lóticos donde la temperatura y el pH se mantienen estables. Generalmente tienen aguas pobres en oxígeno disuelto y en nutrimentos. Suelen contar con un acceso lateral.

*Tipo cántaro.* El techo está derrumbado, dejando una pequeña abertura en el centro. Usualmente el material derrumbado se encuentra al centro del cenote y aún no se interrumpe la comunicación con otros cenotes, por lo que tienen características fisicoquímicas similares a los que están dentro de cavernas.

*Tipo cilindro.* En este tipo de cenotes hay varios grados de derrumbe de la bóveda y de asolve del fondo, por lo que la comunicación subterránea puede existir o estar interrumpida. De lo anterior dependen el grado de eutrofización y la constitución de la fauna, ya que suelen tener una mayor variación en temperatura dependiendo de la época del año, y presentan un gradiente vertical en el pH. Son más ricos en nutrimentos y oxígeno disuelto.

*Aguada.* En estos cenotes abiertos, la cantidad de material acumulado debido a los derrumbes y al asolve es muy grande, por lo que son cuerpos de agua someros y sin comunicación subterránea. Son cuerpos de agua lénticos y altamente eutróficos.

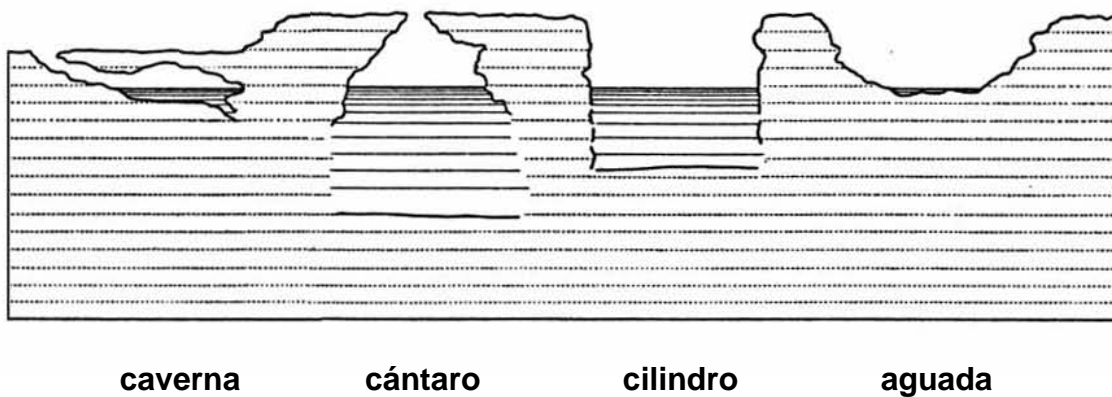


Figura I.1. Tipos de cenotes presentes en la península de Yucatán (modificado de Schmitter- Soto *et al.*, 2002).

## PROVINCIAS FISOGRÁFICAS

Aunque cada cenote tiene su propia historia en cuanto a su formación, sus características se ven influenciadas por las particularidades de la zona donde se encuentra, pues dependiendo de diferentes factores, la península se encuentra dividida en 14 provincias fisiográficas, de acuerdo con la clasificación de Wilson (1980), de las cuales ocho están dentro del área de estudio (Figura I.2):

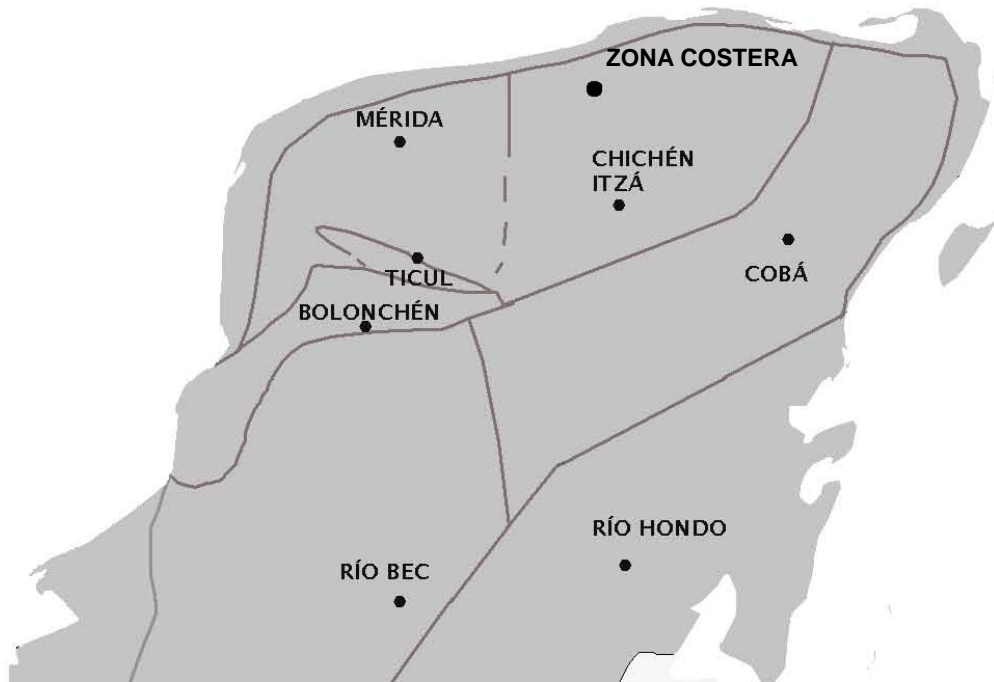


Figura I.2. Provincias fisiográficas de la península de Yucatán (modificado de Wilson, 1980)

*Zona costera.* Ocupa la costa de la península desde Tulum en el mar Caribe hasta la ciudad de Campeche en el golfo de México (Wilson, 1980). Es la que tiene un origen geológico más reciente, ya que los depósitos de carbonatos son del Cuaternario (1.5 ma.) (Beddows, 2003). En esta zona se encuentra la mayoría de los sistemas anquihalinos (Schmitter-Soto *et al.*, 2002), que son aquellos que tienen una fuerte influencia de las mareas en los niveles de salinidad y profundidad (Back *et al.*, 1986; Holthuis, 1973), por lo que la cantidad de agua dulce y la profundidad de la haloclina aumentan con la distancia de la costa (Iliffe, 1993; Sánchez *et al.*, 2002).

*Mérida.* Se encuentra en la parte noroeste de la península, se caracteriza por tener pequeñas colinas y depresiones (Wilson, 1980). Los carbonatos de esta zona se depositaron durante el Mioceno y Plioceno (20-2 ma.), durante una época de transgresión marina (Beddows, 2003). En esta zona está el anillo de cenotes, con 180 km de diámetro, que se formó durante el Pleistoceno alrededor del cráter de Chicxulub. El flujo del agua en esta provincia tiene una dirección sureste-noroeste (Steinich y Marin, 1996).

*Chichén Itzá.* Esta ubicada al noreste de la península y tiene una altitud mayor de 25 m en promedio. El número de cenotes es mayor, siendo de tipo cilíndrico y aguadas (Wilson, 1980), aunque también existen cavernas y cenotes tipo cántaro (Redell, 1981). Esta zona también data del Mioceno y Plioceno, aunque en su parte oeste existen formaciones del Eoceno (55-35 ma.) (Beddows, 2003).

*Ticul.* Está en el sur de la provincia de Mérida, sobre la sierrita de Ticul. Es la parte más alta de la península con un promedio de 100 m, llegando hasta los 150 m (Wilson, 1980). Esta pequeña sierra que tiene unos 160 km de largo y 15 km de ancho, esta formada por carbonatos del Mioceno-Plioceno, que se depositaron sobre la placa del Eoceno (Beddows, 2003). Los cenotes de esta zona se sitúan generalmente dentro de cuevas de difícil acceso (Redell, 1981).

*Bolonchén.* Se encuentra al sur de la sierra de Ticul y se caracteriza por colinas en forma de cono, con una altura de entre 15 y 25 m (Wilson, 1980). Esta provincia incluye rocas del Eoceno (Beddows, 2003). La cantidad de cenotes es menor y la mayoría son tipo cueva (Redell, 1981).

*Cobá.* Se ubica al noreste de la península ocupando la mitad norte del estado de Quintana Roo. Cuenta con pequeñas colinas de hasta 25 m de altura, lagos y algunas depresiones lineales que denotan fallas geológicas (Wilson, 1980; Schmitter-Soto *et al.*, 2002). Esta zona cuenta con formaciones del Mioceno-Plioceno, y cuenta con pequeñas cuevas con pozas interiores, donde el flujo del agua va en dirección oeste-este (Beddows, 2003).

*Río Bec.* Está al sur de Bolonchén y en su parte norte presenta formaciones similares a esta región, principalmente en el punto Put (donde convergen Yucatán, Quintana Roo y Campeche), donde hay una gran cantidad de cenotes. En el sur cuenta con un relieve de hasta 275 m, con ríos y lagos (Wilson, 1980). Las rocas de esta provincia se formaron en el Eoceno (Beddows, 2003).

*Río Hondo*. Al sur de Cobá, tiene un relieve bajo y plano con depresiones donde se ubican algunos lagos (Wilson, 1980). Los carbonatos de esta región se depositaron durante el Mioceno-Plioceno (Beddows, 2003).

## **CRUSTÁCEOS TROGLOBIOS**

La fauna acuática propia de cuevas está dominada por peces y crustáceos. Los segundos son más abundantes y están mejor representados por el número de grupos taxonómicos (Sket, 1999), llegando a representar hasta el 80% de la fauna presente en algunas cuevas de Norte América (Christman y Culver, 2001). Lo anterior se debe a diferentes factores como la estabilidad de los ambientes, la ausencia de depredadores, bajas tasas de extinción, la gran cantidad de microhábitats y las diferentes adaptaciones previas que ya tenían los ancestros del mar profundo, como la falta de pigmentación en cuerpo y ojos (Martens y Danielopol, 1999).

En la península de Yucatán se hicieron exploraciones importantes en las décadas de 1930 y 1970, sin embargo, la mayoría de los estudios se han realizado durante los últimos diez años, gracias al desarrollo del buceo en grutas (Ilfie, 1993), debido a lo cual se han descrito crustáceos pertenecientes a diferentes subclases, como Remipedia, Ostracoda y Malacostraca y de diferentes órdenes, como Thermosbaenacea, Mysidacea, Amphipoda, Isopoda y Decapoda, presentando este último el mayor número de familias y especies (Creaser, 1936; Hobbs *et al.*, 1977; Iliffe, 1993). En la actualidad se conocen 39 especies de crustáceos de cuevas y cenotes en la península, de los cuales 13 pertenecen al orden Decapoda (Álvarez, *com. per.*).



### ***Creaseria morleyi*** (Creaser, 1936)

Entre las familias de decápodos con especies presentes en la mayoría de las cuevas y cenotes está Palaemonidae, que comprende varias especies de crustáceos decápodos que se caracterizan por presentar el cuerpo lateralmente comprimido, con espinas en el margen dorsal del rostro, cinco pares de apéndices torácicos (pereiópodos) sin exópodos, de los cuales los dos primeros se encuentran quelados, y tienen cinco pares de apéndices abdominales (pleópodos) con función natatoria (Hobbs *et al.*, 1977).

Los palemónidos presentes en cuevas del continente americano y el Caribe, pertenecen a seis géneros con 16 especies, de las cuales ocho se encuentran en México (Chace, 1975; Hobbs *et al.*, 1977; Holthuis, 1977; Redell, 1981; Villalobos-Figueroa, 1982; Holthuis, 1986; Villalobos *et al.*, 1989; Hobbs y Hobbs, 1995; Villalobos *et al.*, 1999). La única especie presente en la península de Yucatán es *Creaseria morleyi*, que morfológicamente se caracteriza por presentar espina antenal y branquiostegal, además de un palpo mandibular bisegmentado (Hobbs *et al.*, 1977). Además los ojos se encuentran reducidos y al igual que el resto del cuerpo, carecen de pigmento (Pérez-Aranda, 1983b). Se encuentra siempre en oscuridad, en pequeñas pozas de 50 cm y hasta cenotes de 20 m de profundidad, en aguas transparentes con un aporte constante de guano de murciélago (Pérez-Aranda, 1983b).

Esta especie de palemónido fue descrita en 1936 como *Palaemon morleyi*, con base en ejemplares de cuatro localidades de la parte norte de la península, alrededor de Mérida y Chichén Itzá (Creaser, 1936). Un par de localidades más fueron reportadas por Holthuis en 1950, quien en 1952 describe el género monotípico *Creaseria* para incluir a *Palaemon morleyi*. Se realizaron nuevas recolectas a principios de la década de 1970, extendiéndose la distribución conocida de la especie a 20 localidades del estado de Yucatán, incluyendo a la sierra de Ticul (Hobbs y Hobbs, 1976), que es la parte más alta de la península, con 100 msnm en promedio (Wilson, 1980). Como consecuencia de estas

recolectas se publicaron tres revisiones sobre decápodos de cuevas, incluyendo algunos datos fisicoquímicos y notas ambientales, además de una clave taxonómica para la identificación de familias y especies de decápodos troglobios (Hobbs y Hobbs, 1976; Hobbs *et al.*, 1977; Hobbs, 1979), incluyendo una actualización de la distribución de algunas especies, donde se listan 32 localidades para *C. morleyi*, en los estados de Yucatán, Quintana Roo y Campeche, lo que corresponde prácticamente a toda la zona centro y norte de la península de Yucatán (Hobbs, 1979). En 1983 se reportaron nuevas localidades del norte del estado de Yucatán, para completar un total de 46 para toda la península (Pérez-Aranda, 1983b).

Respecto al origen de *Creaseria morleyi*, Wilkens (1982) ha propuesto que varias especies de peces y crustáceos de origen marino, entre ellos *C. morleyi*, invadieron el ambiente anquihalino durante el Plioceno, hace unos seis millones de años, en la parte de Yucatán que se encontraba expuesta en ese momento y que corresponde a los depósitos calcáreos del Eoceno. La colonización ocurriría en varios puntos, ya que las diferentes poblaciones de *C. morleyi* presentan el mismo grado de reducción en las estructuras oculares. También menciona que la invasión no pudo haberse llevado a cabo durante el Pleistoceno, ya que en esta época la línea de costa sufría constantes cambios debido a fluctuaciones en el nivel del mar. Una de las evidencias que sustentan esta teoría, es la actual distribución de las poblaciones de *C. morleyi*, ya que muchas de estas localidades se encuentran cerca de la costa del Plioceno, por lo que este autor supone que a partir de ahí, la especie se dispersó hacia otras zonas de la península, en épocas posteriores.

Recientemente (entre julio de 2003 y noviembre de 2006), el personal de la Colección Nacional de Crustáceos (CNCR) del Instituto de Biología de la UNAM, llevó a cabo una serie de expediciones a la península de Yucatán con el objeto de efectuar muestreos en diferentes cuevas y cenotes y actualizar el conocimiento de la carcinofauna de ambientes troglobios.

Como resultado de dichas recolectas se registraron siete nuevas localidades, lo que hace a *Creaseria morleyi* el decápodo troglobio de distribución más amplia en la península de Yucatán, al encontrarse en un total de 53 cuevas y cenotes de prácticamente toda la zona calcárea (Figura 1.3), y aunque algunas localidades de *C. morleyi* se encuentran alrededor de la costa del Plioceno, ubicándose al noreste y centro de la península, como las que se encuentran entre la sierra de Ticul y la ciudad de Mérida, alrededor de Carrillo Puerto en Quintana Roo y aquellas en Chichén Itzá; otras están mas cerca de la costa del Pleistoceno, como las localizadas en Tizimín, Yucatán y en la zona de Cobá.

Al efectuar un análisis preliminar de la distribución conocida de este palemónido se encontró una posible relación con la presencia de las fallas geológicas y del anillo de cenotes que rodea al cráter de Chicxulub, pues la mayoría de las localidades se encuentran entre la falla de Holbox y la sierra de Ticul al norte de la península, resaltando aquellas ubicadas en el anillo de cenotes. Por otro lado se diferencian las localizadas al este de Holbox y las que están al oeste de la falla de río Hondo. Cabe mencionar que la mayoría de las recolectas de fauna troglobia en Yucatán se realizan sobre las carreteras principales y cerca de las ciudades y debido a la gran cantidad de cenotes que no han sido estudiados, es posible que las recolectas obtenidas hasta el momento no representen la distribución total de *C. morleyi*.

El escenario descrito entonces plantea varias interrogantes acerca del origen de esta especie y de los procesos que han moldeado la distribución que se ha descrito. Por ejemplo, ¿existe algún patrón que muestre cómo se extendió su distribución a través de la península de Yucatán?, ¿Hay algún grado de variación morfológica entre poblaciones?, ¿Existe variación entre poblaciones a nivel genético que indique que hay procesos de diversificación, o bien si no existe puede esto deberse a un cuello de botella y una dispersión reciente?, ¿La invasión al ambiente dulceacuícola de este género se dio de manera simultánea a los otros géneros filogenéticamente cercanos?

Con este estudio se pretende explorar, basados en datos morfológicos, moleculares y de distribución, como se ha llevado a cabo la evolución de esta especie en la península de Yucatán.

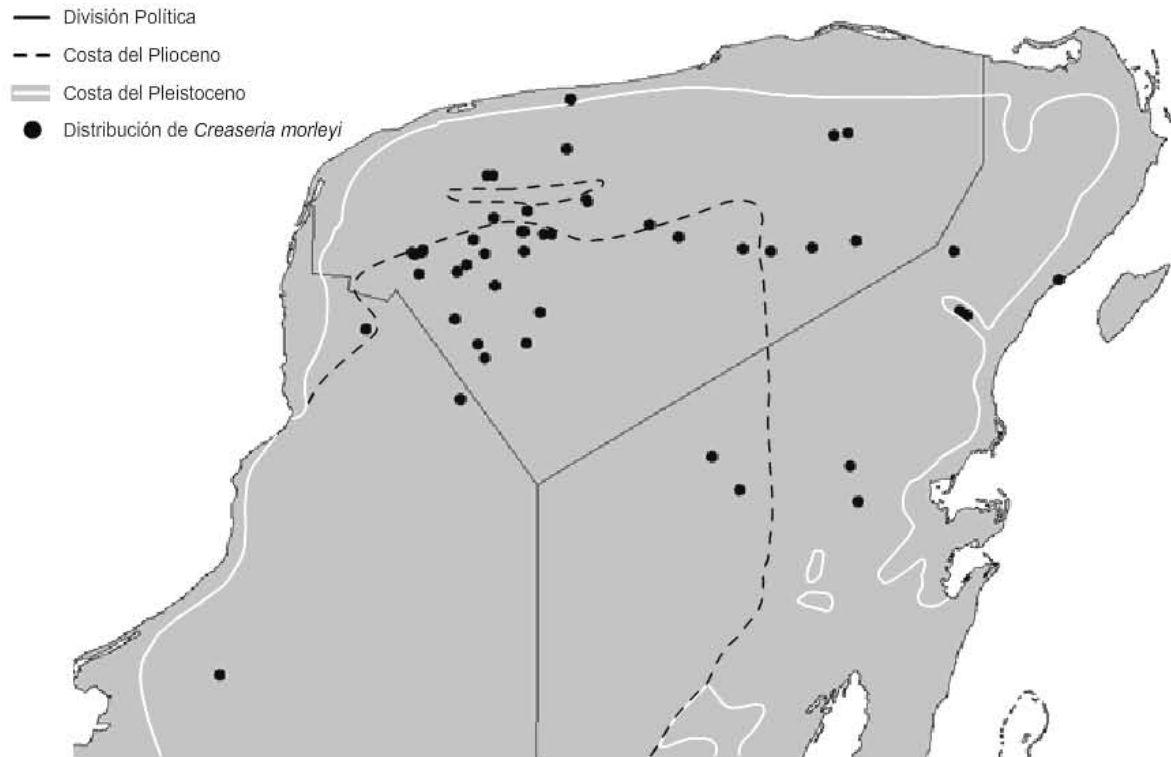


Figura I.3. Distribución de *Creaseria morleyi* en la península de Yucatán (costas del Plioceno y Pleistoceno, tomadas de Wilkens, 1982).

## OBJETIVO GENERAL

Determinar la estructura genética y explicar la variación morfológica en *C. morleyi* y relacionarlas con la distribución geográfica de la especie en la península de Yucatán, así como estudiar los patrones de invasión al agua dulce en géneros cercanos a *Creaseria* en México.

# CAPÍTULO 1

## VARIACIÓN MORFOLÓGICA EN *Creaseria morleyi*

### INTRODUCCIÓN

La morfometría permite utilizar la variación existente en ciertos caracteres de importancia diagnóstica, ecológica o reproductiva, dependiendo del objetivo buscado, del nivel taxonómico al que se este trabajando y del grupo biológico bajo estudio, para agrupar estadísticamente a los organismos y poder discriminar entre diferentes clases de individuos (Bookstein, 1982). Aunque en ciertos grupos es recomendable incluir caracteres embriológicos o de diferentes estadios de desarrollo (Wayne y Hendrickson, 1973), en invertebrados es conveniente obtener los datos de organismos adultos, especialmente cuando el aparato reproductor es de importancia diagnóstica (Villalobos *et al.*, 1989).

Los estudios morfométricos en crustáceos han sido utilizados principalmente para diferenciar los estadios reproductivos y para determinar la talla comercial de diferentes especies de decápodos (Alvarez *et al.*, 1996; Anger y Moreira 1998; Conan *et al.*, 2001) o para la delimitación de especies de decápodos (Villalobos *et al.*, 1989; Acuña, 2002). En palemónidos se han llevado a cabo estudios morfométricos para explicar el cambio en la forma y proporción en diferentes dimensiones corporales, a lo largo del crecimiento (Hartnoll 1982; Román-Contreras y Campos-Lince 1993; Cartaxana 2003; Mossolin y Bueno 2003; Mariappan y Balasundaram, 2004). Esto debido a que en algunas especies ocurre un cambio abrupto en ciertas proporciones durante una muda, llamada “muda de pubertad”, que separa el último estadio juvenil de la primera etapa sexualmente madura (Hartnoll 1985).

Para *Creaseria morleyi* se han reportado variaciones morfológicas importantes, desde que la especie fue descrita. El holotipo tiene una longitud total de 3.5 cm de longitud con la primera quela de 3 mm y la segunda con 8.2 mm de

largo, sin embargo no se especifica el sexo de ninguno de los tipos. En este trabajo se menciona cierto polimorfismo en la dentición del rostro (Creaser, 1936).

Posteriormente Hobbs y Hobbs (1976), y Hobbs *et al.* (1977) hacen una revisión de la morfología de *C. morleyi*, en base a un extenso lote de organismos de ambos sexos y se menciona que la hembra más grande examinada tiene 4.2 cm de largo. Sin embargo, ambas publicaciones presentan errores evidentes en lo que se refiere a las dimensiones y proporciones de los dos primeros pereiópodos, incluyendo las quelas (Hobbs y Hobbs, 1976, fig. 8; Hobbs *et al.*, 1977, fig. 19). En otro estudio, Hobbs (1979) reporta una serie de variaciones en el apéndice masculino, así como en la dentición y forma del rostro de machos y hembras, lo que concuerda con lo publicado por Pérez-Aranda (1983b), aunque para este último se revisaron organismos de hasta 6 cm de longitud.

En las recolectas hechas recientemente se encontraron machos de hasta 4.9 cm y hembras de hasta 7.7 cm y además de las variaciones observadas en otros trabajos, se detectaron importantes diferencias en la forma del caparazón y en la longitud relativa de los artejos en los dos primeros pereiópodos (Figura 1.1).

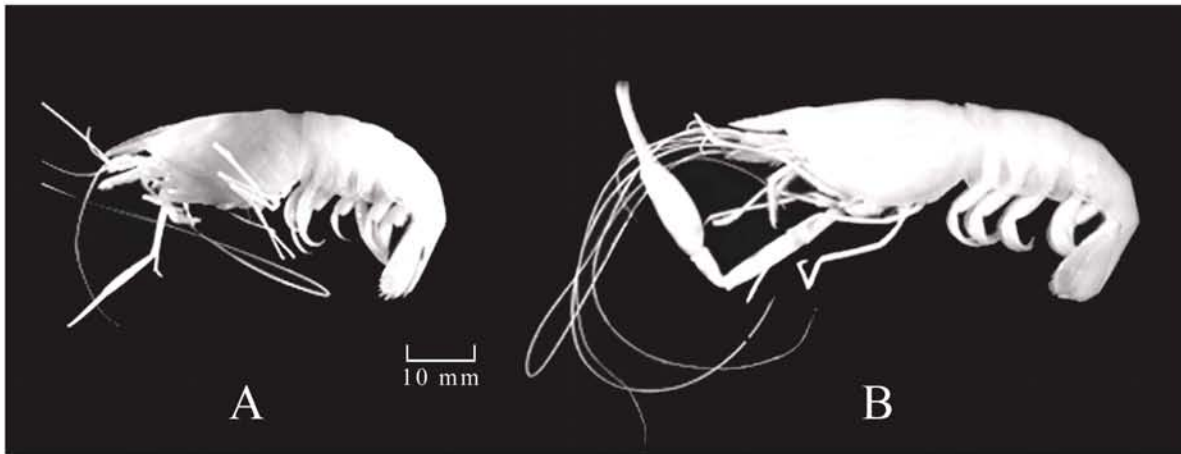


Figura 1.1 Hembras de *Creaseria morleyi*: A, hembra con segundo pereiópodo corto; B, hembra con segundo pereiópodo largo. Ambas provienen de la cueva de San Dimas, en Francisco Uh May, Quintana Roo.

## HIPÓTESIS

Debido a la variación morfológica observada en *Creaseria morleyi* en la forma del caparazón y en las proporciones de los artejos de los dos primeros pereiópodos, entre los organismos más pequeños y los más grandes, tal diferencia debe ser ocasionada por un crecimiento de tipo alométrico a lo largo de las diferentes mudas.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- Explicar la variación morfológica encontrada en las poblaciones de *C. morleyi* en la península de Yucatán.
- Estudiar el tipo de crecimiento en *C. morleyi* para explicar la presencia de diferentes morfologías.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se revisaron 59 individuos de *Creaseria morleyi* (20 machos y 39 hembras), depositados en la Colección Nacional de Crustáceos (CNCR) del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, pertenecientes a 17 localidades de la península de Yucatán: 1, Pozo Chaak (20°21'36"N, 89°45'36"W; 1 macho, CNCR 1640; ago 27, 1992); 2, Cenote de Sihunchen (20°41'40"N, 89°40'44"W; 6 machos, 2 hembras, CNCR 22733, 22734, 22738; may 3, 2004); 3, Cenote de San Isidro (20°7'64"N, 89°37'18"W; 3 hembras, CNCR 318, 320; jun 15, 1938); 4, Cenote Cuxtal (20°47'19"N, 89°35'26"W; 1 macho, 6 hembras, CNCR 22720; jul 21, 2003); 5, Cenote Nohchen (20°29'51"N, 89°35'20"W; 2 hembras, CNCR 22722, 24621; may 1, 2004); 6, Grutas de Tzab-Nah (20°43'49"N, 89°28'28"W; 3 machos, 4 hembras, CNCR 12579, 22717, 22725, 22726, 22736; jul 29, 2003); 7, Cenote Tza-Itza (20°43'49"N, 89°27'57"W; 1 macho, 2 hembras, CNCR 22724, 22729; dic 4, 2003); 8, Cenote Kabahchen (20°23'14"N, 89°23'43"W; 2 hembras, CNCR 22718, 24620; jul 29, 2003); 9, Cenote de Hoctun

(20°51'23"N, 89°11'44"W; 1 macho, 3 hembras, CNCR 22716, 22721, 22723, 22732; may 5, 2004); 10, Cenote de Santo Domingo (19°46'07"N, 88°40'04"W; 3 machos, 6 hembras, CNCR 22735; ago 7, 2004); 11, Cenote de Las Ruinas (19°37'46"N, 88°33'07"W; 2 machos, 2 hembras, CNCR 22728, 24611, 24612; ago 7, 2004); 12, Grutas de Balancanche (20°39'31"N, 88°32'05"W; 1 hembra, CNCR 319; jun 15, 1938); 13, Cueva Chac Mol (20°38'47"N, 88°24'53"W; 1 hembra, CNCR 330; jun 15, 1938); 14, Cueva de Punta Laguna (20°38'47"N, 87°38'23"W; 1 hembra, CNCR 24616; dic 9, 2003); 15, Noh Aktun (20°23'36"N, 87°37'01"W; 2 machos, CNCR 24617; dic 7, 2003); 16, Cueva de San Dimas (20°22'13"N, 87°35'17"W; 3 hembras, CNCR 22727, 24618, 24619; dic 7, 2003); 17, Cenote Hoil (20°21'24"N, 87°19'70"W; 1 macho, CNCR 22725; feb 12, 2004) (Figura 1.2).

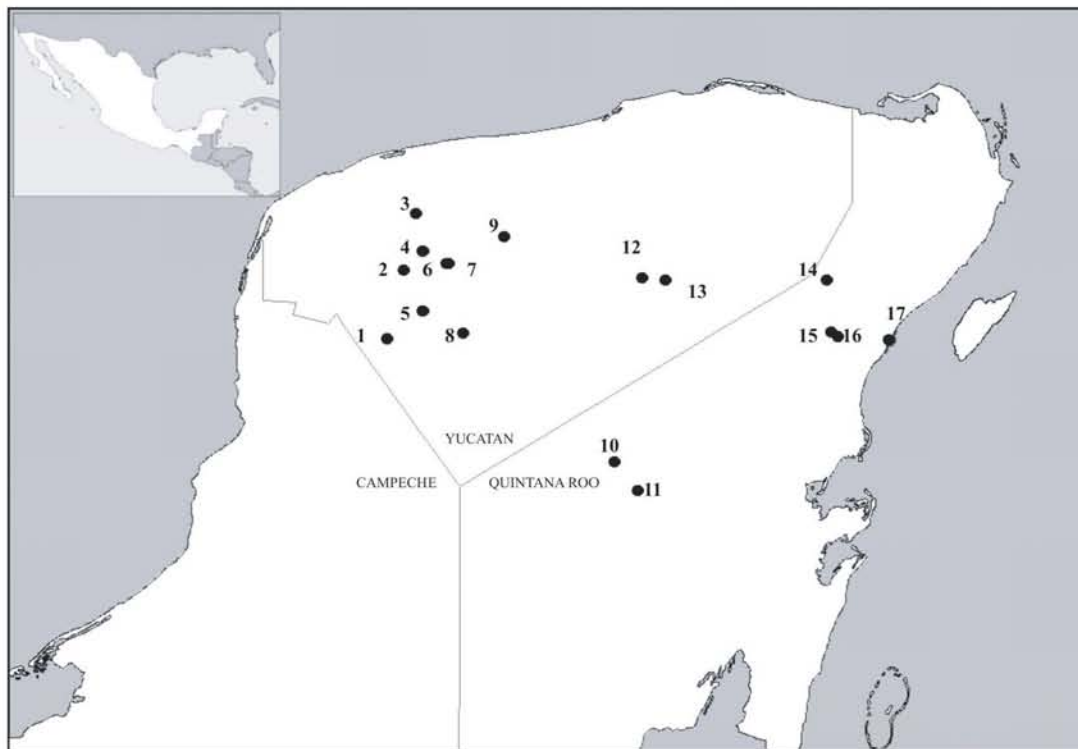


Figura 1.2 Mapa de la península de Yucatán, México, con las localidades de *Creaseria morleyi* para el estudio morfométrico.

Las medidas registradas fueron: longitud total (TL), longitud del cefalotórax (CFL), longitud del rostro (RL), longitud del caparazón (CL), ancho del caparazón (CW), longitud del abdomen (AL), ancho del abdomen (AW), longitud del telson



(TE), longitud total del primer y segundo pereiópodos, así como de cada uno de los artejos que los integran, y longitud del apéndice masculino (GL) en el caso de los machos. Las estructuras somáticas se midieron con un calibrador Vernier con una precisión de 0.01 mm o con un ocular milimétrico para microscopio estereoscópico (Figura 1.3).

Debido al dimorfismo sexual presente en los adultos de *C. morleyi*, y que consiste principalmente en la longitud total y en las diferentes medidas relacionadas con el segundo pereiópodo, machos y hembras fueron analizados independientemente. Ya que la forma y longitud del rostro puede ser inconstante, la variable que se eligió como independiente en los análisis de regresión fue la longitud del caparazón (CL, Figura 1.3) (Mariappan y Balasundaram 2004).

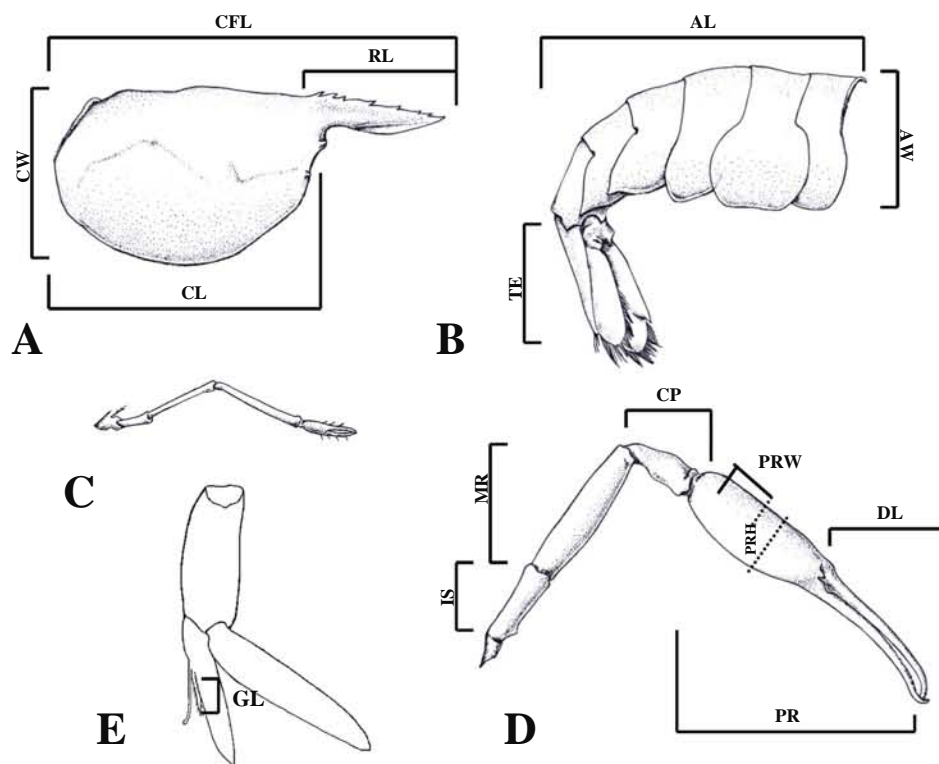


Figura 1.3. *Creaseria morleyi*, dibujos esquemáticos de las partes corporales medidas A, cefalotórax: CFL, longitud del cefalotórax; CL, longitud del caparazón; CW, ancho del caparazón; RL, longitud del rostro. B, abdomen y telson: AL, longitud del abdomen; AW, ancho del abdomen; TE, longitud del telson. C y D, primer y segundo pereiópodos: IS, longitud del isquio; MR, longitud del mero; CP, longitud del carpo; PR, longitud del propodio; PRW, ancho del propodio; PRH, alto del propodio; DL, longitud del dactilo. E, segundo pleópodo: GL, longitud del gonópodo.

Para obtener las relaciones entre CL y el resto de las variables se utilizó la ecuación  $Y = aX^b$ , que en su forma lineal se expresa como  $\log y = \log a + b X$ , donde si la pendiente = 1 indica un crecimiento de tipo isométrico, si es  $> 1$  el crecimiento alométrico es positivo, y si la pendiente es  $< 1$  entonces el crecimiento es alométrico negativo (Hartnoll, 1982). Los datos fueron transformados logarítmicamente antes de calcular las ecuaciones de regresión (Sokal y Rohlf, 1995). La divergencia de la isometría en cada pendiente fue probada utilizando una prueba de  $t$  de Student ( $\alpha = 0.05$ ) y para probar si las pendientes entre sexos fueron significativamente diferentes se realizó un análisis de covarianza (Zar, 1999).

Con el propósito de describir el crecimiento relativo en los dos primeros pares de pereiópodos y determinar si existe una talla a la que se den los cambios observados en las proporciones, las hembras de *C. morleyi* fueron clasificadas en aquellas que tenían pereiópodos esbeltos o robustos, como se muestra en la figura 1 del presente capítulo. Para analizar de manera gráfica la tendencia, se graficó la longitud total contra el largo de los diferentes artejos de los pereiópodos, con lo que se calcularon los mínimos cuadrados para ilustrar tales relaciones. Los datos fueron calculados con el programa NCSS (Hintze, 2004).

## RESULTADOS

Se incluyeron en el análisis 20 machos y 39 hembras, donde los machos presentaron una longitud total de entre 31.6 y 49.3 mm ( $\bar{x} = 39.9 \pm 1.2$  mm) y las hembras entre 31.8 y 65.6 mm ( $\bar{x} = 44.3 \pm 1.6$  mm). El resultado de las regresiones se muestra en la Tabla 1.1, donde se utiliza CL como variable independiente en todos los casos. Las regresiones están divididas en tres secciones: la que incluye cefalotórax, abdomen, telson y la longitud del apéndice masculino en los machos, la correspondiente al primer pereiópodo y la del segundo pereiópodo.

TABLA 1.1 Resultados de los análisis de regresión de los datos morfométricos de *Creaseria morleyi* transformados logarítmicamente. La longitud del caparazón CL fue usada como variable independiente. TL, longitud total; CFL, longitud del cefalotórax; RL, longitud del rostro; CW, ancho del caparazón; AL, longitud del abdomen; AW, ancho del abdomen; TE, longitud del telson; GL, longitud del gonópodo; TP, longitud total del pereiópodo; IS, longitud del isquio; MR, mero; CR, carpo; PR, propodio; PRW, ancho del propodio; PRH, altura del propodio; DL, dactilo; 0, isometría; -, alometría negativa; +, alometría positiva; \*, estadísticamente significativo a  $p < 0.05$ ; ns, \*, estadísticamente no significativo a  $p > 0.05$ ; \*\*\*, estadísticamente significativo a  $p < 0.05$ :  $F_{1,56} = 4.013$

Variable	Ecuación de regresión		r <sup>2</sup>		t		Alometría		Comparación de pendientes
	Machos	Hembras	Macho	Hembra	Macho	Hembra	Macho	Hembra	
Crecimiento en relación al la longitud del caparazón (CL)									
TL	0.760+0.796 log CL	0.768+ 0.788 log CL	0.895	0.909	12.371*	18.997*	-	-	392.90***
CFL	0.377+0.817 log CL	0.307+ 0.873 log CL	0.891	0.824	12.098*	13.001*	-	-	149.08***
RL	0.124+0.699 log CL	0.148+0.673 log CL	0.623	0.840	5.458*	13.171*	-	-	115.28***
CW	-0.127+0.902 log CL	-0.313+1.072 log CL	0.896	0.932	12.441*	22.171*	-	+	350.94***
AL	0.368+0.797 log CL	0.387+0.777 log CL	0.767	0.828	7.701*	13.169*	-	-	139.97***
AW	-0.192+0.912 log CL	-0.180+0.907 log CL	0.739	0.923	7.143*	20.752*	-	-	237.80***
TE	0.041+0.790 log CL	0.043+0.714 log CL	0.644	0.868	5.546*	15.369*	-	-	131.98***
GL	-1.596+1.492 log CL		0.671		6.064*		+		

Primer período

TP	0.187+0.864 log CL	0.223 +0.830 log CL	0.879	0.938	11.117*	22.394*	-	-	377.67***
IS	-0.419+0.686 log CL	-0.548+0.806 log CL	0.521	0.759	4.296*	10.335*	-	-	66.92***
MR	-0.426+0.952 log CL	-0.341+0.874 log CL	0.859	0.923	10.471*	20.184*	-	-	321.88***
CR	-0.670+1.165 log CL	-0.507+1.014 log CL	0.831	0.902	9.416*	17.460*	+	+	253.09***
PR	-0.135+0.582 log CL	-0.091+0.545 log CL	0.813	0.850	8.841*	13.670*	-	-	167.15***
PRW	-1.080+0.683 log CL	-0.937+0.533 log CL	0.282	0.395	2.656*	4.640*	-	-	19.44***
PRH	-1.664+1.371 log CL	-0.911+0.579 log CL	0.117	0.578	1.545 <sup>ns</sup>	6.729*	<b>0</b>	-	10.41***
DL	-0.401+0.660 log CL	-0.379+0.615 log CL	0.367	0.684	3.232*	8.451*	-	-	43.87***

Segundo período

TP	0.484+0.789 log CL	0.356+0.954 log CL	0.588	0.744	3.777*	8.697*	-	-	39.62***
IS	-0.287+0.724 log CL	-0.426+0.872 log CL	0.734	0.781	5.255*	9.642*	-	-	52.34***
MR	-0.033+0.749 log CL	-0.168+0.918 log CL	0.512	0.748	3.237*	8.796*	-	-	37.60***
CR	-0.262+0.711 log CL	-0.319+0.777 log CL	0.532	0.883	3.369*	14.062*	-	-	73.19***
PR	0.038+0.865 log CL	-0.101+1.057 log CL	0.546	0.630	3.466*	6.782*	-	+	24.86***
PRW	-0.723+0.675 log CL	-1.188+1.211 log CL	0.260	0.688	1.876 <sup>ns</sup>	4.830*	<b>0</b>	+	9.67***
PRH	-0.671+0.665 log CL	-1.216+1.277 log CL	0.375	0.521	2.451*	5.423*	-	+	11.88***
DL	-0.331+1.002 log CL	-0.335+1.066 log CL	0.528	0.606	3.346*	6.447*	+	+	24.69***

En los machos, las regresiones concernientes a las partes corporales presentaron alometría negativa, excepto por GL donde se obtuvo un crecimiento de tipo alométrico positivo (Tabla 1.1). En las hembras los resultados fueron similares, excepto por CW que presentó alometría positiva, lo que indica que a medida que las hembras aumentan de tamaño, el caparazón se vuelve más ancho que largo (prueba de  $t$ ,  $p < 0.05$ ) (Figura 1.4).

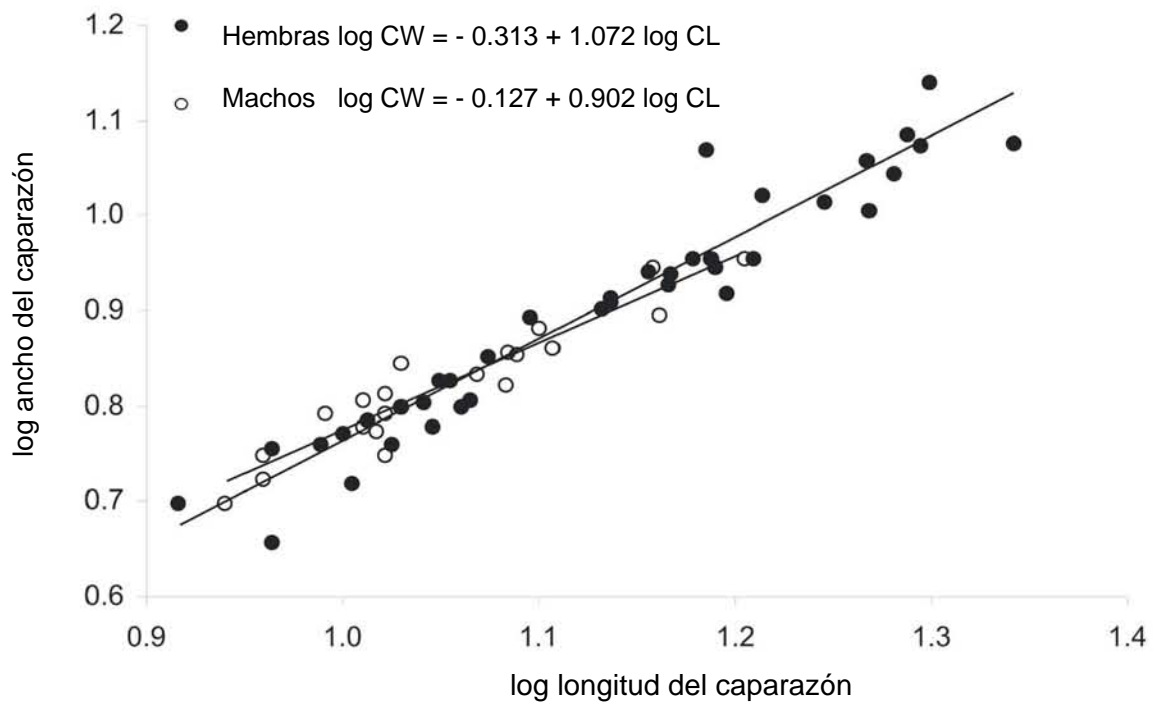


Figura 1.4 Relación entre la longitud del caparazón y el ancho del caparazón de machos y hembras de *Creaseria morleyi* (datos transformados logarítmicamente).

En relación con el primer pereiópodo, en los machos todas las variables mostraron un crecimiento de tipo alométrico negativo, excepto por el largo del carpo que presentó alometría positiva y la altura del propodio con un crecimiento isométrico. Las hembras muestran un patrón similar, ya que todas las medidas presentan alometría negativa, excepto por el largo del carpo, que es positiva. De manera general, no se muestra una variación importante en el primer pereiópodo de machos y hembras, pero existe una diferencia evidente en el crecimiento de propodio y dactilo en las hembras.

En el segundo pereiópodo de los machos, la longitud del dactilo mostró alometría positiva y la altura del propodio crece isométricamente, mientras que el resto de las variables presentó una alometría negativa. En las hembras, las medidas relacionadas con la quela, como longitud, largo y ancho del propodio, y largo del dactilo tuvieron un crecimiento de tipo alométrico positivo, lo que es consistente con la variación morfológica observada en las hembras más grandes (Figura 1.1). Una revisión detallada de los datos permitió separar a las hembras en aquellas con quelas pequeñas y las que tienen quelas grandes, lo que mostró una clara diferencia en el nivel de alometría (Figura 1.5). Se puede observar que el cambio en la proporción relativa de la quela ocurre en un intervalo de talla de entre 46.9 y 59.2 mm de longitud total.

Todas las regresiones fueron diferentes de manera significativa entre machos y hembras (prueba de Fisher, análisis de covarianza; Tabla 1.1), lo que indica un marcado dimorfismo sexual.

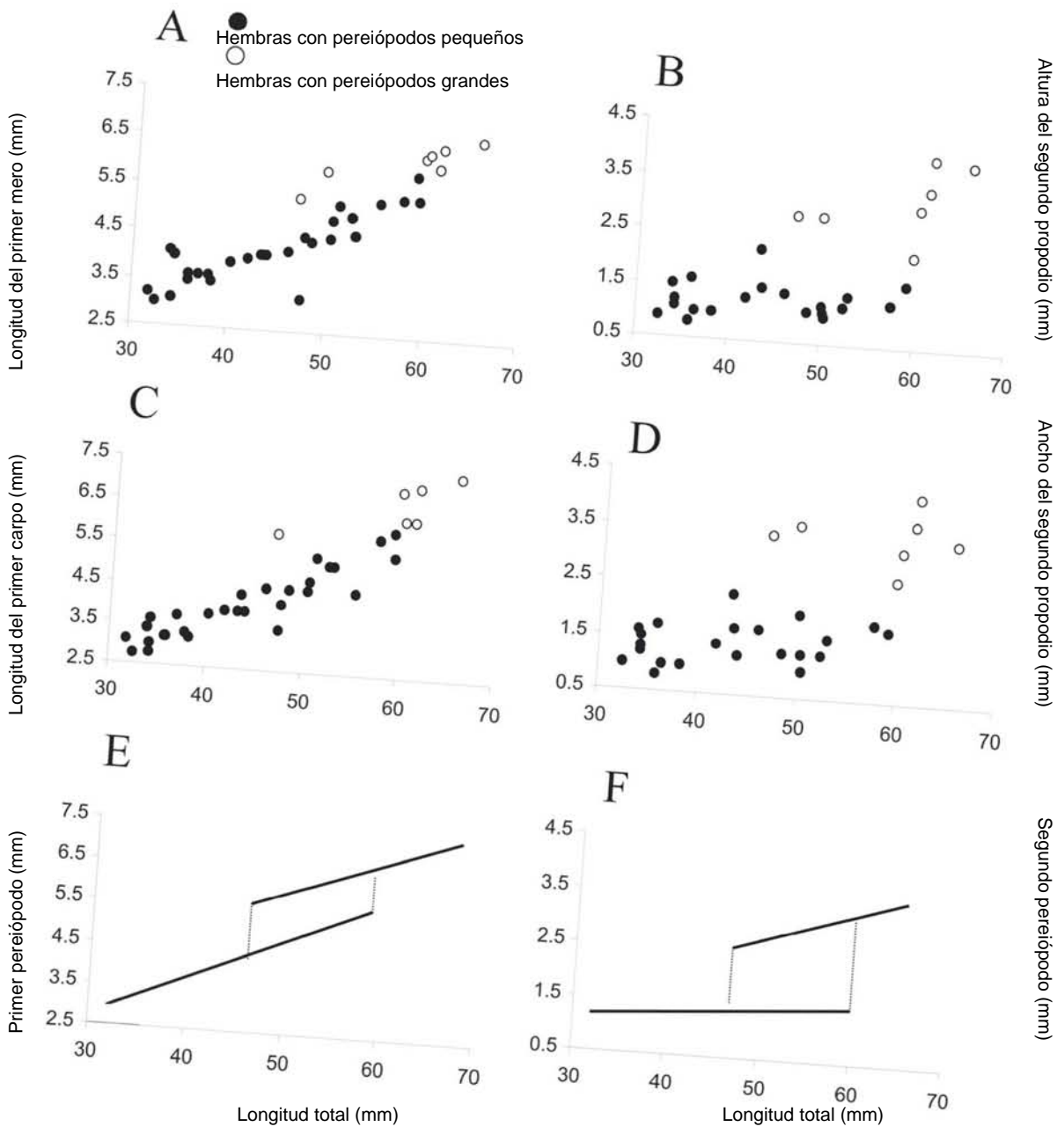


Figura 1.5 Relación entre la longitud total y la longitud de diferentes artejos del primer y segundo pereiópodos en hembras de *Creaseria morleyi*. A, longitud total vs. longitud del mero del primer pereiópodo; B, longitud total vs. ancho del propodio del segundo pereiópodo; C, longitud total vs. longitud del carpo del primer pereiópodo; D, longitud total vs. altura del segundo propodio; E, comportamiento teórico del crecimiento del primer pereiópodo; F, comportamiento teórico del crecimiento del segundo pereiópodo. E y F calculado con el método de mínimos cuadrados.

## DISCUSIÓN

Aunque *Creaseria morleyi* se distribuye ampliamente en todas las áreas kársticas de la península de Yucatán y puede estar presente en localidades remotas y de difícil acceso, algunas de las poblaciones mencionadas en estudios previos no fueron encontradas y algunas probablemente han desaparecido, como ha sucedido con varias localidades ubicadas alrededor de la ciudad de Mérida (Pérez-Aranda, 1983a). Aparte de la reducción del hábitat, los ambientes cavernícolas de Yucatán generalmente soportan poblaciones pequeñas de animales acuáticos, debido a su naturaleza oligotrófica (Pérez-Aranda, 1983b). Debido a lo anterior *C. morleyi* se ha vuelto una especie rara, por lo que el número de organismos usados en este análisis representa una muestra especialmente grande.

El dimorfismo sexual visto en *C. morleyi* se vuelve más evidente cuando se compara a los individuos más grandes. El mismo patrón se ha observado en varias especies de *Palaemon*, género relacionado cercanamente con *Creaseria* (Holthuis, 1952), ya que las hembras de *Palaemon northropi* y *P. ritteri* tienen quelas más grandes y robustas que los machos (Guerao *et al.*, 1994; Cartaxana, 2003; Kim, 2005). En contraste, en el género *Macrobrachium*, los machos adultos son más grandes que las hembras, y el segundo pereiópodo, que tradicionalmente es utilizado como carácter diagnóstico, se encuentra más desarrollado (Anger y Moreira, 1998; Mossolin y Bueno, 2003; Mariappan y Balasundaram, 2004).

El tipo de crecimiento observado en *C. morleyi* en relación con la longitud total, indica alometría negativa, lo que significa que el caparazón crece a una tasa más alta que la longitud total. Un patrón similar se presenta en otros palemónidos, como *Palaemon northropi*, *P. pandaliformis*, *Macrobrachium acanthurus* y *M. olfersii* (Anger y Moreira, 1998); sin embargo los machos de *P. longirostris*, presentan un crecimiento de tipo alométrico positivo (Cartaxana, 2003).



De manera particular, el caparazón de las hembras de *C. morleyi* tiende a crecer más a lo ancho que a lo largo, lo que es evidente en las hembras más grandes (Figura 1.1). Otra característica importante en las hembras más grandes es el segundo pereiópodo, pues cambia dramáticamente, durante lo que podría llamarse muda de pubertad (Figura 1.5). Tal incremento en el tamaño de la quela es similar al reportado en aquellas especies de decápodos con una marcada heteroquelia (Negreiros-Fransozo y Fransozo, 2003; Mariappan y Balasundaram, 2004).

La muda de pubertad, como la describe Hartnoll (1982, 1985), consiste en un cambio en el nivel de alometría durante un intervalo de talla durante el cual ocurre la muda de pubertad y se adquiere una morfología asociada a la reproducción. En el caso de *C. morleyi*, se observan dichos elementos al graficar la longitud de los artejos de los primeros dos períopodos contra la longitud total (Figuras 1.5 a-d). Sin embargo, ya que no hay reportes de hembras ovígeras en *C. morleyi*, sigue siendo una especulación llamarle muda de pubertad. Este fenómeno ha sido poco estudiado en palemónidos, no obstante la muda de pubertad ha sido observada en el cefalotórax de *Macrobrachium borellii* (Collins y Petriella, 1999).

Con la descripción del cambio en la morfología del segundo pereiópodo de *C. morleyi* a través del crecimiento alométrico, podemos concluir que todos los especímenes pertenecen a la misma especie. La representación gráfica de las tendencias (Figuras 1.5 e-f), muestran que se presentan cambios significativos en la morfología de las hembras en un intervalo de crecimiento de entre 46 y 60 mm de longitud total.

## CAPÍTULO 2

### VARIACIÓN GENÉTICA EN *Creaseria morleyi*

#### INTRODUCCIÓN

Las especies que colonizaron ambientes subterráneos han tenido que pasar por fuertes presiones selectivas, con el fin de adaptarse a las condiciones extremas características de estos ambientes. No obstante, dichos sistemas tienen una alta diversidad de especies de crustáceos, lo que se explica debido al aislamiento geográfico de las poblaciones fundadoras (Barr y Holsinger, 1985). La historia geológica de la península de Yucatán provocó la formación de diferentes regiones fisiográficas y tres cuencas hidrológicas compuestas cada una por ríos subterráneos con diferentes sitios de comunicación al exterior (Wilson, 1980), por donde ingresa la poca materia orgánica de la que disponen los organismos presentes (Gers, 1998). Estas características tan particulares hacen que las poblaciones cuenten con una estructura genética similar a lo que se conoce como “teoría de islas” (Verovnik *et al.*, 2003, 2004), lo que significa que suelen presentar una clara fragmentación genética, reflejada en diferentes haplotipos propios de cada población y donde de manera periódica se dan algunos eventos de dispersión (Hedrick, 2000). Esto se debe a que las especies acuáticas propias de cuevas tienen una distribución discontinua y sus individuos tienen poca habilidad para dispersarse, además de que en estos ambientes suele presentarse una alta fragmentación del hábitat y por lo tanto un limitado flujo génico (Verovnik *et al.*, 2004).

Adicionalmente, las poblaciones acuáticas de cuevas se encuentran aisladas debido a factores geológicos e hidrológicos propios de la placa calcárea. En el caso de los ambientes anquihalinos, la zona de mezcla de agua dulce y salada (haloclina), crea una barrera fisiológica para los organismos, que interrumpe la comunicación con otros sistemas (Back *et al.*, 1986). Esto se ha encontrado en astácidos del género *Austropotamobius*, que tienen una diversidad

genética intrapoblacional muy baja con haplotipos exclusivos de cada población; con una mayor cantidad de diferencias pareadas al comparar secuencias de nucleótidos de diferentes cuevas (Trontelj *et al.*, 2005).

Los genes mitocondriales son marcadores genéticos ampliamente usados debido a que tienen características útiles para estudios inter e intraespecíficos. Entre tales características están, que son genes haploides de herencia materna, lo que disminuye el número efectivo y nos permite obtener la secuencia de nucleótidos de manera directa. Además estos genes cuentan mecanismos de reparación poco eficientes, por lo que tienen una alta tasa de mutación (Hillis *et al.*, 1996).

Dentro de los marcadores mitocondriales utilizados en crustáceos a nivel poblacional, se encuentra la región 16S rRNA (France y Kocher, 1996; Shubart *et al.*, 2000), que tiene una tasa de cambio de 0.9% por millón de años (Murphy y Austin, 2005) y la subunidad I de la citocromo oxidasa (COI) (Chu *et al.*, 1999; Meyran y Taberlet, 1998), que varía alrededor de 3% cada millón de años (Trontelj *et al.*, 2005). Al conocer la diferencia genética entre las poblaciones de una especie, es posible calcular el flujo génico entre ellas (Hedrick, 2000; Silva y Russo, 2000), e inferir la existencia de dispersión (Weber y Levy, 2000).

## **HIPÓTESIS**

Tomando en cuenta la existencia de varias provincias fisiográficas en la península de Yucatán, la presencia de varias cuencas hidrológicas dentro de estas provincias, y la barrera que constituye la haloclina, las posibilidades de dispersión y de flujo génico entre poblaciones, deben ser muy reducidas, por lo que las poblaciones de *Creaseria morleyi* con una amplia distribución en el sector norte de la península deben estar fragmentadas genéticamente.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- Estimar la variación genética en los genes mitocondriales 16S rRNA y COI entre las poblaciones de *Creaseria morleyi* en la península de Yucatán.
- Estudiar la relación existente entre la variación genética y la distancia geográfica en *C. morleyi*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### OBTENCIÓN DE LOS EJEMPLARES

Se realizaron 4 colectas en la península de Yucatán entre julio de 2003 y junio de 2004. Se colectaron 49 individuos de *Creaseria morleyi*, depositados en la Colección Nacional de Crustáceos (CNCR) del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, correspondientes a 14 cuevas y cenotes. Los organismos se preservaron en alcohol al 95% para ser transportados al laboratorio (Dessauer *et al.*, 1984; 1996).

Las localidades de *C. morleyi* fueron: 1, Cenote de Sihunchen (20°41'40"N, 89°40'44"W; 2 hembras, CNCR 22734, 22738; may 3, 2004); 2, Cenote Cuxtal (20°47'19"N, 89°35'26"W; 2 hembras, CNCR 22720; jul 21, 2003); 3, Cenote Nohchen (20°29'51"N, 89°35'20"W; 2 hembras, CNCR 22722, 24621; may 1, 2004); 4, Grutas de Tzab-Nah (20°43'49"N, 89°28'28"W; 2 hembras, CNCR 22726, 22736; jul 29, 2003); 5, Cenote Tza-Itza (20°43'49"N, 89°27'57"W; 2 hembras, CNCR 22724, 22729; dic 4, 2003); 6, Cenote de Telchaquillo (20°38'47"N, 89°27'51"W; 1 juvenil, CNCR 22731; may 4, 2004); 7, Cenote Kabahchen (20°23'14"N, 89°23'43"W; 2 hembras, CNCR 22718, 24620; jul 29, 2003); 8, Cenote de Hochtun (20°51'23"N, 89°11'44"W; 2 hembras, CNCR 22723, 22732; may 5, 2004); 9, Cenote Chihuan (20°45'36"N, 88°55'56"W; 1 juvenil, CNCR

22739; may 7, 2004); 10, Cenote de Santo Domingo (19°46'07"N, 88°40'04"W; 2 hembras, CNCR 22735; ago 7, 2004); 11, Cenote de Las Ruinas (19°37'46"N, 88°33'07"W; 2 hembras, CNCR 24611, 24612; ago 7, 2004); 12, Cueva de Punta Laguna (20°38'47"N, 87°38'23"W; 1 hembra, CNCR 24616; dic 9, 2003); 13, Noh Aktun (20°23'36"N, 87°37'01"W; 2 machos, CNCR 24617; dic 7, 2003); 14, Cueva de San Dimas (20°22'13"N, 87°35'17"W; 2 hembras, CNCR 24618, 24619; dic 7, 2003) (Fig. 2.1).

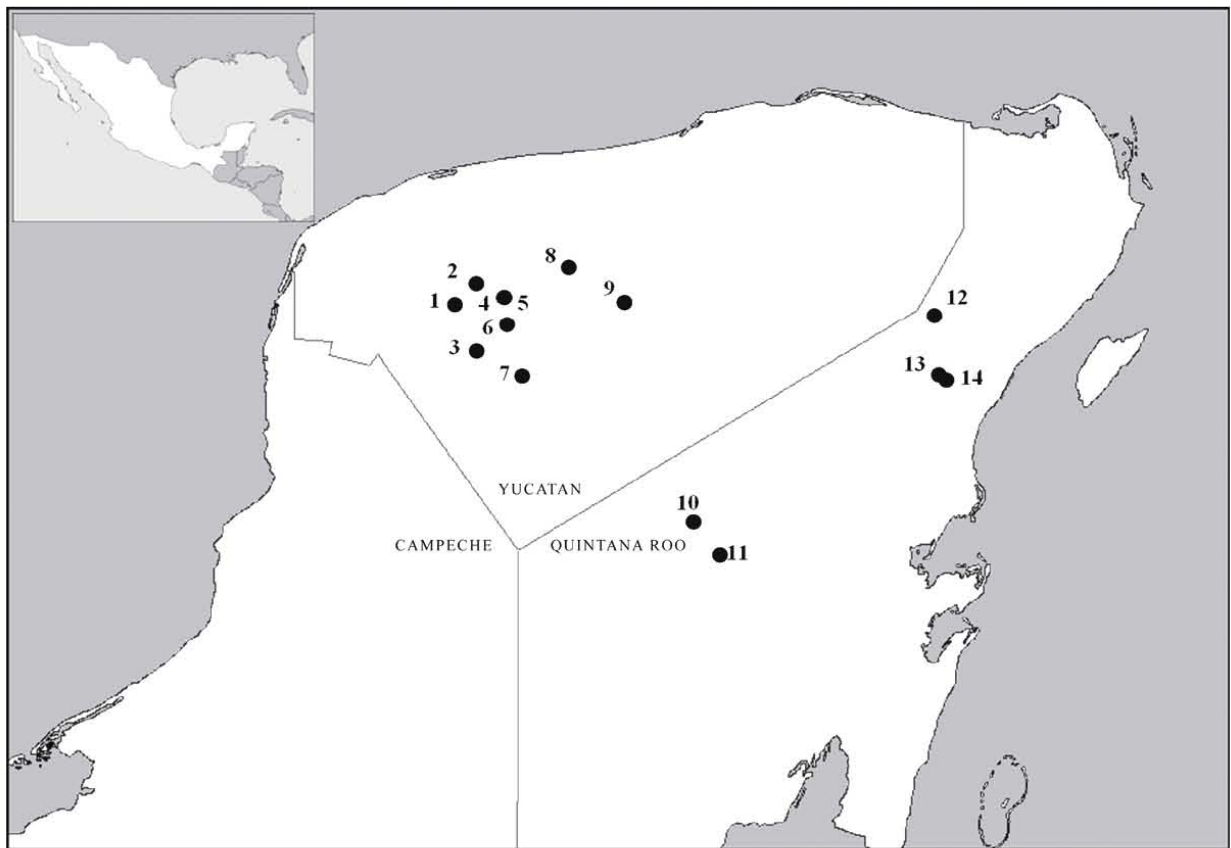


Figura 2.1 Mapa de la península de Yucatán, México, con las localidades de *Creaseria morleyi* para el estudio genético.

## EXTRACCIÓN, AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN DEL ADN

El ADN total se extrajo del tejido muscular del abdomen, mediante el método estándar de extracción fenol-cloroformo usando etanol para precipitar el ADN en la solución acuosa (Hillis *et al.*, 1996). Con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Saiki *et al.*, 1988), se amplificaron dos regiones mitocondriales.

La primera región fue un fragmento del 16S rRNA, que es un gen estructural con una tasa de cambio de 0.9% por millón de años (4-6 pb) (Murphy y Austin, 2005). Los promotores utilizados fueron el 16Sar (5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3') y el 16Sbr (5'-CCGGTTTGAAGTTCAGATCATG-3') (Schubart *et al.*, 2000). El programa de amplificación se determinó a partir de pruebas con diferentes temperaturas de alineación y fue: desnaturalización de la doble cadena a 92 °C por 60 seg, alineación de los promotores a 50 °C por 60 seg y extensión del DNA a 72 °C por 90 seg, esto durante 35 ciclos.

La segunda fue un fragmento de la subunidad I de citocromo oxidasa (COI), que es un gen funcional con tasa de cambio de 3% por millón de años (15-20 pb) (Trontelj *et al.*, 2005). Esto se realizó con los promotores COIa-H (5'-AGT ATA AGC GTC TGG GTA GTC-3') y COIb-L (5'-CCT GCA GGA GGA GGA GAY CC-3') (Palumbi *et al.*, 1991). El programa de amplificación empleado fue: desnaturalización a 92 °C por 60 seg, alineación a 48 °C por 60 seg y extensión a 72 °C por 90 seg, durante 42 ciclos.

En ambos casos la amplificación se realizó en un volumen de 25 µl, de los cuales 1 µl consistió en el DNA total, 1.25 µl (10 µM) de cada promotor, 2.5 µl de deoxinucleótidos trifosfatos (dNTPs) como catalizador de la reacción (0.8 mM), 2.5 µl de amortiguador de PCR 10X, 1.25 µl de cloruro de magnesio (MgCl<sub>2</sub>) como cofactor, 0.125 µl de la polimerasa DNA Amplificasa (5 U/ µl) y 15 µl de H<sub>2</sub>O. La amplificación fue confirmada en geles de agarosa al 1% con bromuro de etidio como marcador de ácidos nucleicos. Los productos de la amplificación fueron

purificados usando el kit de purificación QIAquick Spin PCR (Qiagen), para ser secuenciados en ambas direcciones mediante secuenciación cíclica. Se efectuó una reacción de secuencia de la región amplificada para cada dirección de la cadena, lo que se llevo a cabo en un volumen de 10  $\mu$ l, de los cuales 3  $\mu$ l correspondieron al producto de PCR, 2  $\mu$ l al interruptor de dideoxinucleótido (BigDye Terminator v3.1 de Applied Biosystems), 2  $\mu$ l al amortiguador 2.5X, 0.5  $\mu$ l (5  $\mu$ M) del promotor correspondiente a la cadena y 2.5  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O. Los productos obtenidos fueron purificados utilizando columnas con el polisacárido dextrans (Sephadex) para ser procesados en un secuenciador capilar automático de ADN (ABI Prism 3100) (Hillis *et al.*, 1996).

## VARIACIÓN GENÉTICA

Cada gen mitocondrial fue tratado de manera independiente. Se tomó al menos una secuencia de cada población (Baverstock y Moritz, 1996) y se alinearon visualmente con la ayuda del programa BioEdit 7.0 (Hall, 1999). Una vez teniendo los alineamientos se identificaron los sitios variables, la naturaleza de las sustituciones y se calculó la frecuencia de cada nucleótido con el programa PAUP 4.0b10 (Swofford, 2002).

Para determinar el grado la variación entre las diferentes secuencias se calcularon la diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) (Nei, 1987),

$$\pi = \sum p_i p_j \pi_{ij} \quad \text{donde: } \begin{array}{l} p_i = \text{frecuencia de la secuencia } i \\ p_j = \text{frecuencia de la secuencia } j \\ \pi_{ij} = \text{proporción de nucleótidos diferentes entre} \\ \text{la secuencia } i \text{ y } j \end{array}$$

y la distancia  $p$ , que consiste en la proporción de sitios variables (Hedrick, 2000), con el programa MEGA 3.1 (Kumar *et al.*, 2004).

$$p = \frac{S}{N} \quad \text{donde: } \begin{array}{l} S = \text{número de sitios diferentes} \\ N = \text{número total de nucleótidos.} \end{array}$$

Posteriormente se determinaron los haplotipos propios de cada población y se obtuvo la diversidad de haplotipos (Nei y Tajima, 1981) con el programa DNASP 4.10.9 (Rozas *et al.*, 2003),

$$h = (1 - \sum xi^2) \frac{n}{(n-1)} \quad \text{donde: } \begin{array}{l} xi = \text{frecuencia del haplotipo } i \\ n = \text{número de muestra.} \end{array}$$

## RELACIÓN GEOGRÁFICA

Debido a que entre el alineamiento correspondiente al gen COI se observó una mayor variación y un mayor número de haplotipos, se usaron dos aproximaciones para estimar el grado de diferenciación entre poblaciones. Una fue el uso del coeficiente de diferenciación entre haplotipos  $F_{ST}$ , mediante el cálculo de la varianza molecular con el programa Arlequín 3.11 (Excoffier *et al.*, 2005), siendo la fórmula,

$$F_{ST} = \frac{kb - kw}{kb}$$

donde: kb = número promedio de diferencias pareadas entre individuos de diferentes poblaciones

kw = número promedio de diferencias pareadas entre individuos de la misma población (Hudson *et al.*, 1992).

La otra aproximación fue mediante la construcción de una red de haplotipos utilizando el método de parsimonia estadística, donde se estiman los niveles de divergencia y se conectan aquellos haplotipos que tengan una probabilidad igual o mayor a 0.95 de estar libres de homoplasias. La red fue polarizada utilizando como grupo externo un fragmento del gen COI del langostino de la especie *Macrobrachium malayanum* obtenida del *GenBank* (AB235281) con el objeto de conocer cual es el haplotipo con una edad relativa más antigua. Lo anterior utilizando el programa TCS 1.21 (Clement *et al.*, 1992).



Una vez obtenida dicha red los hapotipos fueron anidados manualmente en clados de acuerdo a los criterios propuestos por Templeton *et al.* (1987).

Con los clados anidados se calcularon dos distancias. Distancia al clado ( $D_c$ ), que mide la distancia media de los miembros de un haplotipo al centro de distribución de dicho haplotipo, y la distancia al clado anidado ( $D_n$ ), que corresponde a la distancia media de los haplotipos de un nivel respecto al clado donde se anidan. Con estas distancias se probó la existencia de una asociación geográfica estadísticamente significativa mediante la permutación al azar de los clados anidados contra la localización geográfica durante 10,000 réplicas (Templeton *et al.*, 1995). Lo anterior se realizó con el programa GEODIS 2.5 (Posada *et al.*, 2000). Las distancias y sus valores de significancia fueron comparados entre los diferentes clados y se buscaron los diferentes patrones de los haplotipos (fragmentación, expansión de distribución o aislamiento por distancia), empleando la clave de inferencia revisada por Posada y Templeton (2005) (disponible en: <http://darwin.uvigo.es/>).

## TIEMPO DE DIVERGENCIA

Con el alineamiento del gen COI se calculó el tiempo aproximado de divergencia entre el clado que presentó la edad relativa más antigua y los grupos de haplotipos que resultaron significativamente diferentes en el análisis de clados anidados, considerando que se trata de linajes diferentes. Primero se realizó una prueba de tasa relativa para saber si la tasa de sustitución nucleotídica entre las diferentes secuencias es homogénea, ya que de serlo significaría que evolucionan a una tasa similar (Tajima, 1993).

Se calculó la distancia genética promedio de cada linaje y entre linajes, corregida según el modelo de dos parámetros donde la probabilidad de una transición es mayor al de una transversión (Kimura, 1980).

Debido a la aparente diferencia entre las distancias de los diferentes linajes, estas se ajustaron con la siguiente fórmula:

$$d = d_{XY} - \frac{1}{2} (d_X + d_Y)$$

donde:  $d_{XY}$  = distancia promedio entre los linajes X y Y

$d_{X, Y}$  = distancia promedio dentro de cada linaje (Edwards, 1997).

Posteriormente se emplearon tasas de cambio conocidas para el gen COI en crustáceos y que van de 2% de sustituciones por millón de años en cangrejos ermitaños (Schubart *et al.*, 1998) a 3.5% por millón de años en camarones alfeidos (Knowlton y Weigt, 1998) y se calculó el tiempo aproximado de divergencia entre linajes (Trontelj *et al.*, 2005; Verovnik *et al.*, 2004).

## RESULTADOS

### 16S rRNA

Se obtuvieron 25 secuencias de la región mitocondrial 16S correspondientes a 14 poblaciones, con una longitud de 552 pb (Apéndice 1a), correspondiendo a la parte ubicada entre la posición 652 y 1203 del gen completo (1305 pb) de *Macrobrachium rosenbergii* (GenBank número de acceso AY659990). De todos los sitios, solo cuatro resultaron polimórficos y dos fueron informativos (sitios 213 y 521) (Tabla 1). El alineamiento mostró una diversidad nucleotídica de  $P_i = 0.00117$ . La frecuencia de cada nucleótido fue de A = 0.27174, C = 0.13442, G = 0.25362, T = 0.34022, no encontrándose diferencias significativas en la composición de nucleótidos entre las diferentes secuencias ( $\chi^2 = 0.112811$ , g.l. = 72,  $p = 1.00$ ). El número de diferencias entre las secuencias fue de entre 0 y 3, tratándose únicamente de transiciones entre pirimidinas. Lo anterior equivale a una distancia genética de entre  $p = 0$  y 0.00543.

En las 14 poblaciones se presentaron 5 haplotipos del fragmento secuenciado (Tabla 2.1), con una diversidad de haplotipos de  $H_d = 0.5233$ , pudiéndose observar que el haplotipo denominado como “A” presenta una amplia distribución (Figura 2.2).

Tabla 2.1 Número de secuencias y haplotipos del gen mitocondrial 16S rRNA, por población de *Creaseria morleyi*. Los nucleótidos marcados en gris corresponden a las bases que difieren del común.

Población y ejemplares	Haplotipo	Haplotipos			
		213	253	297	521
Ruinas					
1	A	T	C	C	T
2	A	T	C	C	T
Sto. Domingo					
1	A	T	C	C	T
2	B	C	C	C	T
Punta Laguna					
1	A	T	C	C	T
Noh Aktun					
1	B	C	C	C	T
2	B	C	C	C	T
San Dimas					
1	B	C	C	C	T
2	C	C	T	C	T
Sihunchen					
1	A	T	C	C	T
2	D	T	C	C	C
Hoctún					
1	A	T	C	C	T
2	A	T	C	C	T
Chihuan					
1	A	T	C	C	T
Kabahchen					
1	A	T	C	C	T
2	D	T	C	C	C
Cuxtal					
1	A	T	C	C	T
2	A	T	C	C	T
Nohchen					
1	A	T	C	C	T
2	A	T	C	C	T
Tzaltza					
1	A	T	C	C	T
2	A	T	C	C	T
Tzab Nah					
1	A	T	C	C	T
2	E	T	C	T	T
Telchaquillo					
1	A	T	C	C	T

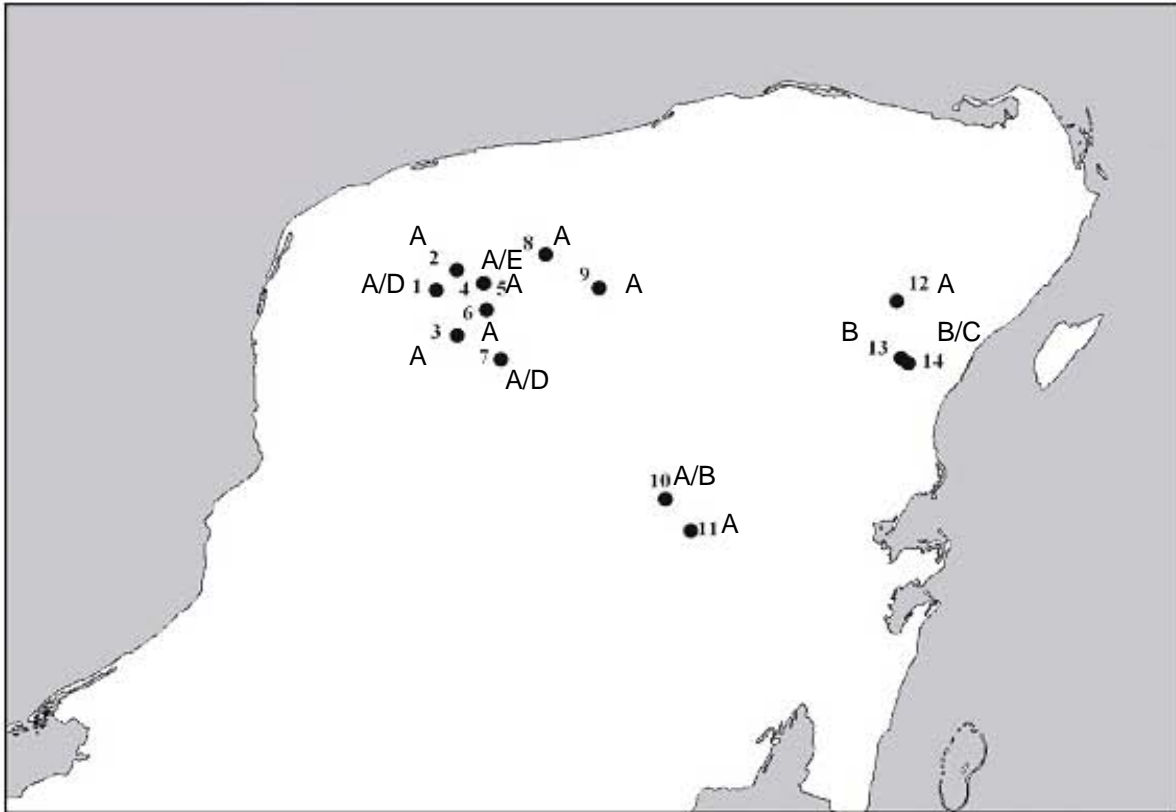


Figura 2.2 Mapa de las localidades de *Creaseria morleyi* incluidas en el estudio de variación genética con los haplotipos del gen 16S propios de cada población en de la península de Yucatán, México. La numeración corresponde a las localidades como aparecen en la figura 2.1, y las letras a los haplotipos mencionados en la tabla 2.1

#### CITOCROMO OXIDASA SUBUNIDAD I

Se trabajó con 24 secuencias de 14 poblaciones, que tuvieron una longitud de 654 pb, correspondiendo a la región ubicada entre la posición 671 y 1324 del gen completo (1534 pb) de la jaiba *Callinectes sapidus* (GenBank número de acceso AY682075). De todos los sitios, 17 fueron polimórficos y 11 informativos (Apéndice 1b). La diversidad nucleotídica de la población con este gen fue de  $P_i = 0.0017$ , y el contenido de G+C = 0.444. La frecuencia de cada nucleótido fue de A = 0.28676, C = 0.28287, G = 0.16151, T = 0.26886, no siendo significativamente diferente la composición de nucleótidos entre secuencias ( $\chi^2 = 0.339513$ , g.l. = 69,  $p = 1.00$ ). Respecto al número de diferencias entre las secuencias, fue de 0 a 13 siendo en todos los casos transiciones en la tercera posición de cada codón. Lo anterior equivale a una distancia de entre  $p = 0$  y 0.01988. haplotipos, fue de 12

con una diversidad de Hd = 0.859 (Tabla 2.2), siendo la distribución de estos la mostrada en la figura 2.3

Tabla 2.2 Número de secuencias y haplotipos del gen mitocondrial COI, por población de *Creaseria morleyi*. Los nucleótidos marcados en gris corresponden a las bases que difieren del más común.

Población y ejemplares	Haplotipo	Haplotipos																
		29	41	156	224	266	299	308	311	314	323	479	494	518	569	587	620	635
Ruinas																		
1	<b>A</b>	C	A	A	T	C	T	T	T	G	A	C	C	A	A	A	T	T
2	<b>B</b>	C	A	G	T	C	T	T	C	A	A	C	C	A	A	A	T	T
Sto. Domingo																		
1	<b>B</b>	C	A	G	T	C	T	T	C	A	A	C	C	A	A	A	T	T
2	<b>C</b>	C	A	G	T	C	T	T	C	G	A	C	C	A	A	A	T	T
Punta Laguna																		
1	<b>D</b>	C	A	G	C	C	A	C	C	G	A	C	C	A	A	A	T	T
Noh Aktun																		
1	<b>E</b>	C	T	G	T	C	T	T	C	G	A	C	C	G	A	A	T	T
2	<b>F</b>	C	A	G	T	C	T	T	C	G	A	C	C	A	A	A	A	T
San Dimas																		
1	<b>C</b>	C	A	G	T	C	T	T	C	G	A	C	C	A	A	A	T	T
2	<b>C</b>	C	A	G	T	C	T	T	C	G	A	C	C	A	A	A	T	T
Sihunchen																		
1	<b>B</b>	C	A	G	T	C	T	T	C	A	A	C	C	A	A	A	T	T
2	<b>B</b>	C	A	G	T	C	T	T	C	A	A	C	C	A	A	A	T	T
Hoctún																		
1	<b>B</b>	C	A	G	T	C	T	T	C	A	A	C	C	A	A	A	T	T
2	<b>B</b>	C	A	G	T	C	T	T	C	A	A	C	C	A	A	A	T	T
Chihuan																		
1	<b>G</b>	C	A	G	T	C	T	C	C	G	A	C	C	A	A	A	T	A
Kabahchen																		
1	<b>H</b>	T	A	G	T	C	T	T	C	G	A	C	T	A	C	G	T	A
2	<b>I</b>	T	A	G	C	T	C	C	C	A	A	T	T	A	C	G	T	A
Cuxtal																		
1	<b>B</b>	C	A	G	T	C	T	T	C	A	A	C	C	A	A	A	T	T
Nohchen																		
1	<b>B</b>	C	A	G	T	C	T	T	C	A	A	C	C	A	A	A	T	T
2	<b>C</b>	C	A	G	T	C	T	T	C	G	A	C	C	A	A	A	T	T
Tzaltza																		
1	<b>J</b>	C	A	G	T	T	C	T	C	A	A	T	C	A	A	A	T	A
2	<b>J</b>	C	A	G	T	T	C	T	C	A	A	T	C	A	A	A	T	A
Tzab Nah																		
1	<b>C</b>	C	A	G	T	C	T	T	C	G	A	C	C	A	A	A	T	T
2	<b>K</b>	C	A	G	T	C	T	T	C	A	G	C	C	A	A	A	T	T
Telchaquillo																		
1	<b>L</b>	C	A	G	C	T	C	T	C	G	A	C	C	A	A	A	T	T

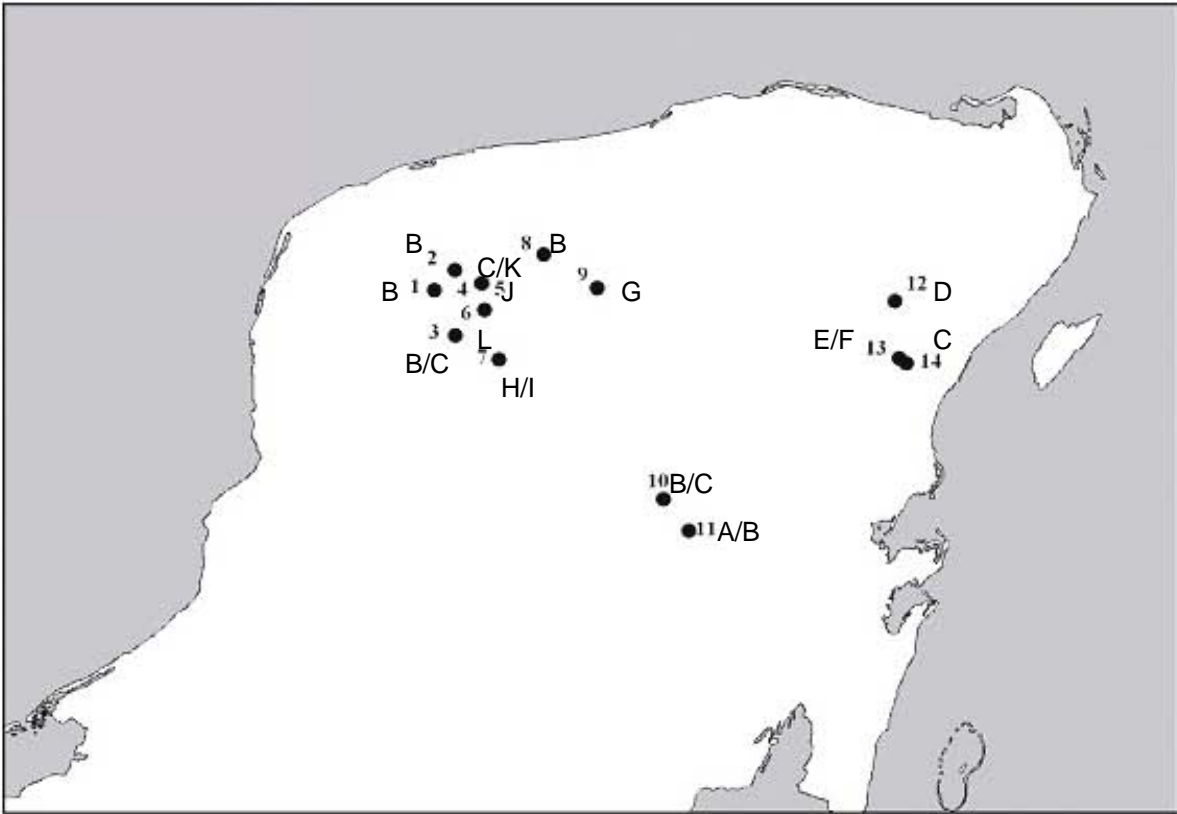


Figura 2.3 Mapa de las localidades de *Creaseria morleyi* incluidas en el estudio de variación genética con los haplotipos del gen COI propios de cada población en de la península de Yucatán, México La numeración corresponde a las localidades como aparecen en la figura 2.1, y las letras a los haplotipos mencionados en la tabla 2.2

## RELACIÓN GEOGRÁFICA

Como se menciono anteriormente, solo se utilizó el alineamiento del gen COI para estudiar la relación entre la variación genética y la localización geográfica. En relación al cálculo del  $F_{ST}$  entre haplotipos, en todos los casos el resultado fue falta de diferenciación genética ( $p = 0.081 - 0.99$ ,  $\alpha = 0.05$ ). Por otro lado el análisis de parsimonia estadística dió como resultado una red de haplotipos cuyo centro se encuentra representado por una de las poblaciones con el haplotipo más ampliamente distribuido y donde se enraíza la secuencia correspondiente al grupo externo, lo que indica una edad relativa mayor (Figura 2.4).

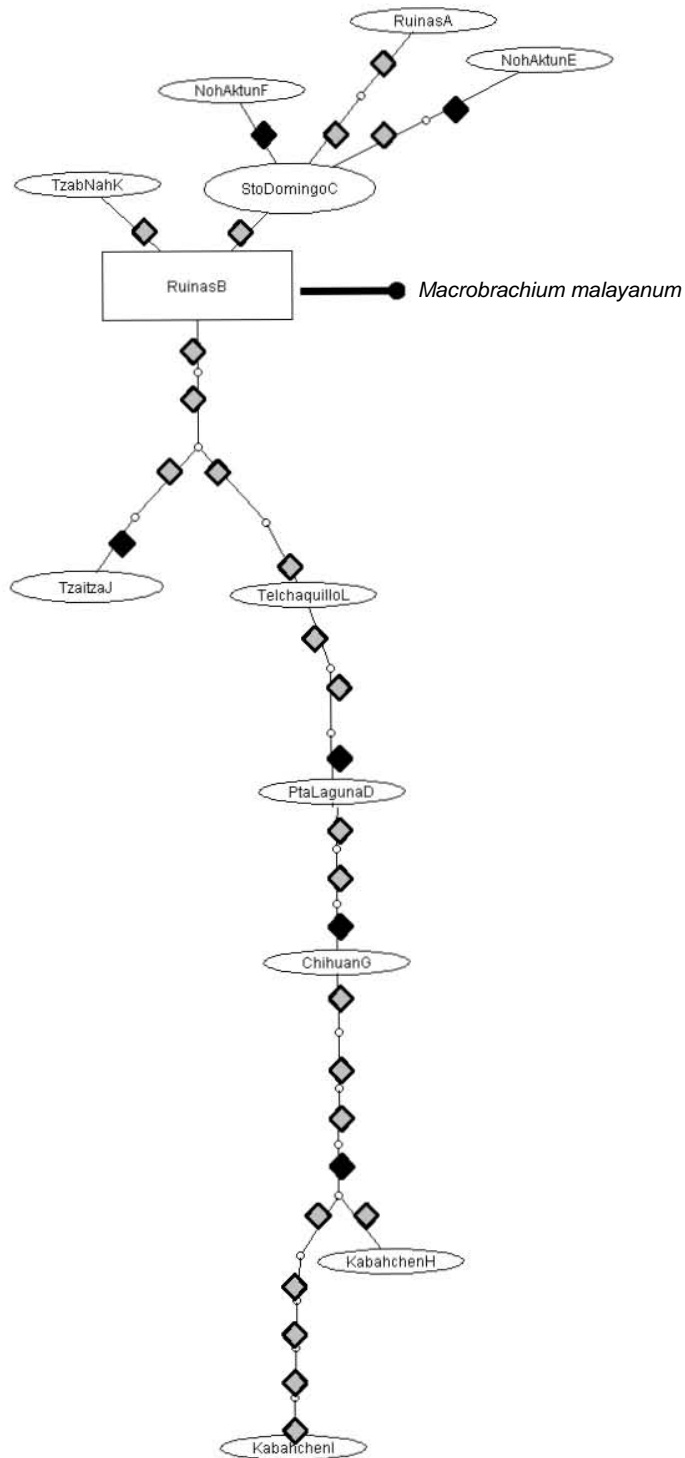


Figura 2.4 Red de haplotipos para las secuencias del gen COI en *Creaseria morleyi* de la península de Yucatán, México. Los rombos grises representan las transiciones y los negros las transversiones. Los círculos corresponden a haplotipos intermedios no encontrados en la muestra. *Macrobrachium malayanum* corresponde al grupo externo.

Al anidarse los clados usando los haplotipos muestreados, resultan cuatro clados de primer nivel y dos de segundo nivel, además del clado total (Figura 2.5). Después de realizar el análisis de clados anidados, solo dos de los clados de primer nivel mostraron diferencias significativas del resto del cladograma, correspondiendo a las áreas geográficas donde se presentan haplotipos con mayor número de diferencias. Dichas poblaciones se ubican en la parte centro y sur-este de la distribución de *C. morleyi* (Figura 2.3). Finalmente las distancias de los clados mencionados indican que existe flujo genético restringido, con aislamiento por distancia entre ellos y el resto del cladograma, según la clave de inferencia (Tabla 2.3).

Tabla 2.3. Tabla de contingencia del análisis de relación geográfica de la red de haplotipos del gen COI en *Creaseria morleyi*, e interpretación de resultados según la clave de Posada y Templeton (2005).

CLADOS	CHI-CUADRADA	P	CADENA DE INFERENCIAS
1-1	0.000	0.000*	1-2-11-17-4 flujo génico restringido con aislamiento por distancia
1-2	2.000	1.000	
1-3	8.000	0.150	
1-4	0.000	0.000*	1-2-11-17-4 flujo génico restringido con aislamiento por distancia
2-1	4.000	1.000	
2-2	6.000	0.418	
3-3	13.000	0.074	



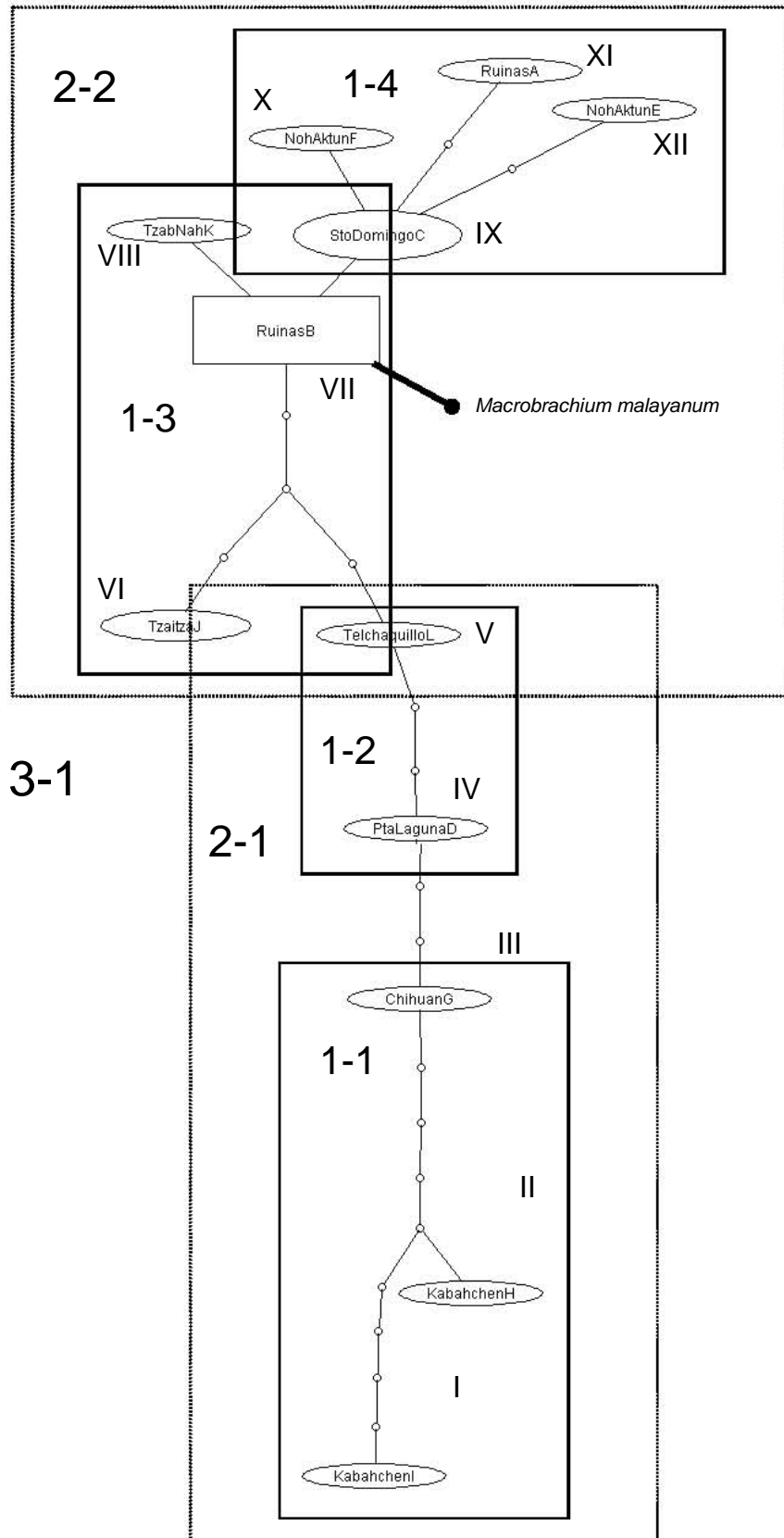


Figura 2.5. Clados anidados de la red de haplotipos mostrada en la figura 2.3

## TIEMPO DE DIVERGENCIA

La prueba de tasa relativa mostró que los cambios entre las diferentes secuencias se dan de manera homogénea (valores de  $P$  de entre 0.317 y 1.000). La distancia genética promedio de cada linaje fue de entre 0.0038 y 0.0102, y una vez corregidas las distancias entre linajes, fueron de entre 0.0015 y 0.0041, lo que equivale a un tiempo de divergencia que va de 40 a 120 mil años entre el linaje con una edad relativa mas antigua y aquellos con una variación significativa de acuerdo al análisis de clados anidados (Tabla 2.4). Lo anterior considerando una tasa de cambio del 2% al 3.5% por millón de años.

Tabla 2.4. Matriz de distancia genética dentro de cada linaje y entre linajes según la red de haplotipos del gen COI, y distancias corregidas.

	Distancia promedio	B,J,K	G,H,I (1-1)	A,C,E,F (1-4)
		Distancia entre linajes		
B,J,K	0.005124		<b>.002584</b>	<b>.001546</b>
G,H,I (1-1)	0.010296	0.010294		<b>.004148</b>
A,C,E,F (1-4)	0.003836	0.006026	0.011214	
		Tiempo de divergencia		
B,J,K				
G,H,I (1-1)		74 -129 mil		
A,C,E,F (1-4)		44 – 77 mil		

## DISCUSIÓN

A pesar de que la región 16S ha sido más utilizada en trabajos filogenéticos a nivel de especies y géneros (Ahyong y O'Meally, 2004; Murphy y Austin, 2005) debido a que su tasa de cambio es lenta en comparación con otros genes mitocondriales, también se ha empleado a nivel intraespecífico en poblaciones de crustáceos dulceacuícolas, siendo útil para estudiar la estructura genética entre poblaciones. Tal es el caso del palemónido de la especie *Macrobrachium australiense* (Murphy y Austin, 2004), donde se encontró una variación de entre 0.2 y 1.5%, siendo similar a la encontrada en *Creaseria morleyi*, cuya máxima divergencia fue del 0.5%. En el caso de especies estigobias, este marcador ha revelado una marcada estructura genética con un gran número de haplotipos y flujo génico entre poblaciones cercanas, especialmente entre poblaciones de crustáceos de la familia Cambaridae en cuevas del sureste de Estados Unidos (Buhay *et al.*, 2007). Sin embargo, se trata de sistemas muy antiguos que empezaron a formarse a finales del Cretácico (hace unos 70 millones de años), donde algunas poblaciones han estado aisladas por períodos de hasta un millón de años (Buhay y Crandall, 2005). Caso contrario es el encontrado por Webb (2003) con el camarón de la familia Atyidae de la especie *Typhlatya mitchelli*, ya que obtuvo un total de tres haplotipos en varias poblaciones a lo largo de la península de Yucatán, con una diferencia de 0 a 0.4%. Cabe mencionar que en muchas cuevas y cenotes, esta especie convive con *C. morleyi*.

El nivel de variación en el gen COI difiere en relación al tipo de ambiente que habite la especie y a la historia evolutiva de la misma. Entre poblaciones que han estado aisladas mucho tiempo con períodos cortos de comunicación la divergencia es alta, como en el caso de algunas poblaciones de *M. australiense* con una diferencia de hasta el 10%, alta diversidad de haplotipos y valores de  $F_{ST}$  bajos (Carini *et al.*, 2006), o en el caso del isópodo estigobionte *Asellus aquaticus* que varía entre el 5 y 10% con una varianza molecular que indica una alta estructura genética (Verovnik *et al.*, 2004). Por otro lado se encuentran grupos

como los rizocéfalos, donde se presentan pocos haplotipos, niveles de divergencia de 0.2 a 0.5%, pero niveles altos de  $F_{ST}$  entre algunas poblaciones, lo que se explica porque entre localidades adyacentes se mantiene flujo génico constante (Botello y Álvarez *en prep*; Gurney *et al.*, 2006).

Otro patrón es el que presentan aquellas especies que han atravesado por una serie de cuellos de botella con cierto grado de aislamiento en épocas muy recientes. En estos casos se puede observar una variación intermedia, con evidencia de cierta divergencia en algunas poblaciones (Arbogast *et al.*, 2002). Ejemplo de esto es el anfípodo *Gammarus lacustris*, que tiene 1.6% de variación entre secuencias, con un pequeño número haplotipos distribuidos ampliamente con diferenciación en algunas zonas geográficas (Meyran y Taberlet, 1998). Lo mismo fue encontrado en el átyido *T. mitchelli* de la península de Yucatán, con una variación de hasta 1.3% y 1.7% en los genes COI y citocromo b respectivamente, con una cantidad baja de haplotipos, estando compartidos por varias poblaciones (Webb, 2003)

Como se puede observar, el nivel de divergencia en la región COI encontrada en *C. morleyi* y la relación existente entre las diferentes poblaciones parece ajustarse a este último patrón, ya que se presentó una diferenciación genética de hasta el 2%, y 12 haplotipos, estando dos de ellos ampliamente distribuidos. En relación al resultado del índice  $F_{ST}$ , fue cercano a cero entre todas las localidades, lo que indica una falta de estructura genética como consecuencia de un flujo génico constante, sin embargo, su utilización tiene la desventaja de que se asume que las poblaciones han estado en equilibrio desde hace tiempo, por lo que se pueden obtener valores bajos en poblaciones que mantienen cierta variación antigua (Templeton, 2006). Por lo tanto, el análisis de clados anidados resulta más útil, pues si bien es cierto que entre la mayoría de las poblaciones no se mostró una diferencia significativa, se puede observar cierto aislamiento por distancia. Además, el anidamiento nos permite asociar a los haplotipos genética y geográficamente más distantes y agruparlos en linajes (Verovnik *et al.*, 2004). En

el caso de *C. morleyi* se pueden observar tres linajes; el primero comprende haplotipos que se localizan en la parte noroeste de la península, siendo el más antiguo de acuerdo a la red de haplotipos. Los otros dos están compuestos por haplotipos que se encuentran al oriente y al centro de la península y que de acuerdo a la tasa de cambio utilizada, habrían divergido hace 40 a 100 mil años aproximadamente.

Respecto a la historia de *C. morleyi* en la península de Yucatán, es posible que la especie descienda de un ancestro marino, ya el género *Creaseria* es morfológicamente cercano a *Palaemon* (Iliffe, 1993), que invadió los ambientes anquihalinos después de la paulatina emersión de la península ocurrida hace 1 a 5 millones de años (Beddows, 2003), y tras la formación de las primeras cuevas hace un millón de años aproximadamente (Back *et al.*, 1986). Posteriormente las poblaciones tuvieron que adaptarse a condiciones dulceacuícolas durante los diferentes cambios en el nivel del mar ocurridos durante el Pleistoceno, como lo sugiere Wilkens (1982), quedando en sitios lejos de la costa por la posterior depositación de carbonatos en la actual zona costera (Wilson, 1980).

Es posible que en ciertos intervalos de tiempo existiera una marcada estructura genética, ya que actualmente la especie se distribuye en tres cuencas hidrológicas que fluyen en direcciones distintas (Perry, 2002). Pero continuos cambios en el nivel del mar habrían eliminado poblaciones enteras de algunas áreas y con ello, la variación genética existente. Esto es probable, ya que durante el anterior período interglaciar hace 125 mil años, el nivel del mar era de 4 a 7 metros más alto que el actual, mientras que en plena glaciación hace 18 mil años el descenso fue de 100 metros respecto al nivel actual, habiendo alcanzado su nivel actual hace apenas 5 mil años (Beddows, 2003). Estos cambios son significativos si tomamos en cuenta que la zona de la península donde se distribuye *C. morleyi* tiene una altura 10 a 50 msnm teniendo los cuerpos de agua una profundidad de 10 a 30 metros con una haloclina situada de 10 a 20 metros de profundidad, dependiendo de la distancia a la costa (Beddows, 2003).

Por lo tanto, una disminución en el nivel del mar de unos cuantos metros haría que los sistemas anquialinos de la península de Yucatán se quedaran prácticamente sin agua, lo que eliminaría las poblaciones estigobíticas que habitaran en ellos. Por lo que podemos concluir que el patrón de variación genética con los genes mitocondriales 16S y COI, indican la presencia de cuellos de botella en *Creaseria morleyi*.

## CAPÍTULO 3

### PATRONES DE INVASIÓN AL AGUA DULCE EN GÉNEROS DULCEACUÍCOLAS DE LA SUBFAMILIA Palaemoninae

#### INTRODUCCIÓN

La familia Palaemonidae pertenece al infraorden Caridea, el cual comprende 36 familias de crustáceos decápodos (Martin y Davis, 2001). Esta familia se divide en las subfamilias Pontoniinae y Palaemoninae, estando esta última compuesta por 21 géneros y alrededor de 300 especies, tanto marinas como dulceacuícolas, que habitan ambientes subterráneos y epigeos (Jayachandran, 2001).

Además de la adaptación al ambiente cavernícola, otro tópico que ha sido estudiado en la subfamilia, es el relacionado con la invasión a los cuerpos de agua continentales, ya que de manera típica los decápodos epígeos de agua dulce conservan ciertos estadios larvales con dependencia al agua salada o salobre, lo que se modifica cuando las poblaciones se aíslan totalmente del mar debido a la dispersión o a las barreras geográficas. En este caso se presentan ciclos de vida abreviados o semi-abreviados, con una reducida cantidad de huevos de mayor tamaño en cada hembra, y donde todo el ciclo de vida se lleva a cabo en el agua dulce necesitándose un menor número de estadios larvales para completar el desarrollo (Álvarez *et al.*, 2002; Mejía-Ortíz, 2003).

En México se encuentran seis géneros de la subfamilia Palaemoninae con especies estrictamente dulceacuícolas, siendo esto una situación única en el mundo. Generalmente agrupan especies endémicas con una distribución restringida a unas cuantas localidades (Figura 3.1). Dichos géneros son:

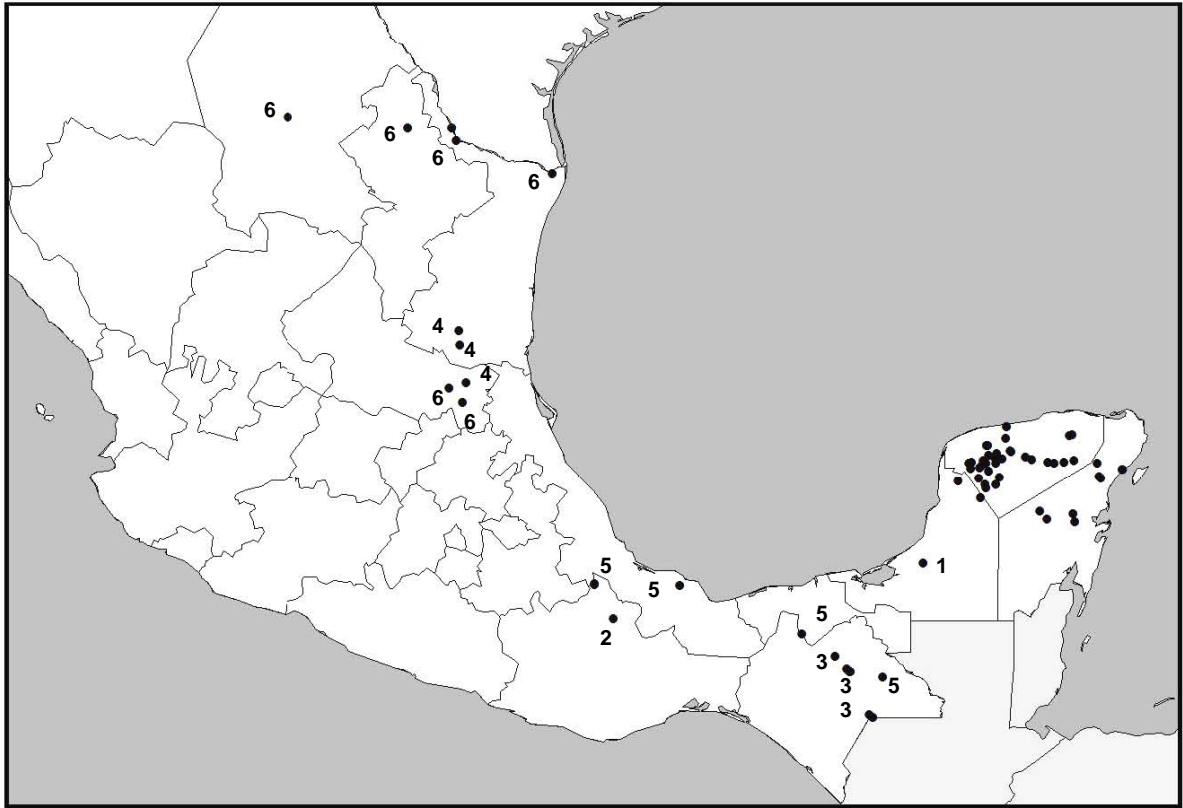


Figura 3.1 Géneros dulceacuícolas de la subfamilia Palaemoninae en México.  
 1.- *Creaseria*, 2.- *Neopalaemon*, 3.- *Cryphiops*, 4.- *Troglomexicanus*,  
 5.- *Macrobrachium*, 6.- *Palaemonetes*.

*Creaseria*.- Género monotípico que incluye a *C. morleyi* (Creaser, 1936), y se distribuye ampliamente en la península de Yucatán habitando cuevas y cenotes. Es una especie dulceacuícola y de desarrollo abreviado que se encuentra frecuentemente asociada a otras especies de crustáceos cavernícolas. El género es morfológicamente cercano a *Palaemon* (Ilfie, 1993).

*Cryphiops*.- Género dulceacuícola con cinco especies, que se distribuye en Brasil y México, donde se encuentra restringido al estado de Chiapas. En México se encuentran *C. (Bithynops) luscus* (Holthuis, 1973) (Gruta del Arco, Rancho de San Rafael del Arco, La Trinitaria, Chiapas), *C. (Bithynops) perspicax* (Holthuis, 1977) (Cenote La Cueva, ruinas de Chincultik, lagos de Montebello, municipio de La Trinitaria, Chiapas), y *C. (Bithynops) villalobosi* Villalobos, Nates y Cantú, 1989, distribuido en ríos y arroyos epigeos del valle de Ocosingo, Chiapas (Villalobos *et al.*, 1989). Morfológicamente es cercano a *Macrobrachium* (Holthuis, 1952).



*Neopalaemon*.- Es un género monotípico cercano morfológicamente a *Macrobrachium*, cuya única especie es *N. nahuatlus* Hobbs, 1973, que se distribuye únicamente en la localidad tipo en Oaxaca (Cueva del Guano), siendo una especie estigobia (Hobbs *et al.*, 1977).

*Trogloxemus*.- En este género se ubican tres especies estigobíticas dulceacuícolas distribuidas en cuevas de México. Se encuentra cercanamente relacionado con *Troglocubanus*, pero no presenta dientes en la parte dorsal del rostro. Las especies son *T. perezfarfanta* (Villalobos, 1971) (Sótano de Tinaja, San Luis Potosí), *T. tamaulipensis* Villalobos, Álvarez e Iliffe, 1999 (Cueva del Nacimiento del Río Frío, Tamaulipas) y *T. huastecae* Villalobos, Álvarez e Iliffe, 1999 (Manantial de San Rafael, San Luis Potosí) (Villalobos *et al.*, 1999).

*Macrobrachium*.- Representa el género de la subfamilia que cuenta con más especies, siendo cerca de 200. Las especies de este género se distribuyen principalmente en aguas tropicales y subtropicales y pueden dividirse en dos grandes grupos, debido a la morfología de los apéndices quelados, del caparazón y del telson. La mayor parte de las especies del género tiene un desarrollo larval extendido y se les encuentra en ambientes estuarinos o salobres durante alguna fase de su ciclo de vida (Jayachandran, 2001). Las especies mexicanas dulceacuícolas hipógeas son *M. villalobosi* Hobbs, 1973 (Río San Antonio, Oaxaca) y *M. acherontium* Holthuis, 1977 (Grutas de Coconá, Tabasco), mientras que *M. tuxtlaense* Villalobos y Álvarez 1999 (tributarios de la Laguna de Catemaco, Veracruz), *M. vicconi* Román, Ortega y Mejía, 2000 (Río Perlas, Chiapas) y *M. totonacum* Mejía, Álvarez y Hartnoll, 2003 (Río San Antonio, Oaxaca) son especies epigeas (Mejía *et al.*, 2003; Villalobos y Álvarez, 1999).

*Palaemonetes*.- Comprende alrededor de 30 especies de camarones pequeños a medianos, tanto de agua salobre como dulce, que se distribuyen en prácticamente todas las aguas tropicales y subtropicales del mundo, excepto en la India. El género más cercano morfológicamente es *Calathaemon* (Bruce y Short,

1993). En México se encuentran cinco especies dulceacuícolas epigeas, que son *P. suttkusi* Smalley, 1964 (Cuatro Ciénegas, Coahuila), *P. mexicanus* Strenth, 1976 (Río Coy, San Luis Potosí), *P. hobbsi* Strenth, 1994 (Río Mante, San Luis Potosí), *P. lindsayi* Villalobos y Hobbs, 1974 (La Media Luna, San Luis Potosí) y *P. kadiakensis* Rathbun, 1902, que se distribuye en el norte de Tamaulipas y Nuevo León (Rodríguez-Almaraz y Campos, 1996; Strenth, 1994).

El propósito de este estudio es el de situar, en comparación con otros linajes relacionados de la subfamilia Palaemoninae, la evolución/origen de los géneros estrictamente dulceacuícolas que se presentan en México, pues una vez obtenida la relación filogenética entre dichos taxa, será posible derivar datos sobre el origen de cada uno de ellos, lo que se podría utilizar para entender los patrones actuales de variación. Por otra parte, servirá para conocer si cada uno de estos géneros invadió de manera independiente el hábitat dulceacuícola, o si la diversificación ocurrió una vez que se había invadido el agua dulce. Esto mediante un análisis filogenético utilizando el gen mitocondrial 16S, que como se mencionó en el capítulo anterior, es un marcador útil a nivel de especies y géneros debido a su tasa de cambio (Ahyong y O'Meally, 2004; Murphy y Austin, 2005).

## **HIPÓTESIS**

Debido a que los géneros de agua dulce de la subfamilia Palaemoninae generalmente presentan un número limitado de especies con una distribución restringida y a la historia geológica de México, se esperaría que hubieran invadido el ambiente dulceacuícola de manera independiente.

## **OBJETIVO PARTICULAR**

- Determinar los patrones de invasión al hábitat dulceacuícola de diferentes géneros de la subfamilia Palaemoninae mediante sus relaciones filogenéticas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### ELECCIÓN DE LOS EJEMPLARES Y OBTENCIÓN DE LAS SECUENCIAS

Se eligieron 20 especies pertenecientes a ocho géneros de la subfamilia Palaemoninae. Entre ellos están algunos géneros monotípicos, y especies tanto epigeas como estigobias, así como algunas de desarrollo abreviado y completo, y se incluyó al camarón de la familia Atyidae, *Paratya australiensis* como grupo externo. Algunos de los ejemplares se encuentran depositados en la Colección Nacional de Crustáceos del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, de los cuales se extrajo el ADN total y se secuenció un fragmento del gen mitocondrial 16S rRNA, siguiendo el mismo procedimiento descrito en el segundo capítulo del presente estudio. Otras secuencias de la misma región fueron obtenidas *GenBank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (Tabla 3.1).

Las secuencias se alinearon visualmente con la ayuda del programa BioEdit 7.0 (Hall, 1999) y posteriormente fueron importadas al programa PAUP Versión 4.0b10 (Swofford, 2002), donde se realizó un análisis de chi-cuadrada para determinar si existen diferencias significativas en las frecuencias de nucleótidos entre los diferentes taxa (Murphy y Austin, 2005). Posteriormente se hizo una prueba estadística *g1* para probar la señal filogenética de la matriz de datos, lo que significa que el resultado obtenido sea consecuencia de relaciones de ancestría-descendencia, y no de otras fuerzas evolutivas (Hillis y Hueksenbeck, 1992). Además se revisó la presencia de saturaciones entre las secuencias, lo que se realizó al graficar el número de transiciones y transversiones contra la distancia genética entre los diferentes taxa (Yang y Yoder, 1999), utilizando como modelo de corrección el de dos parámetros "K80", donde existe una mayor probabilidad de ocurrencia de transiciones que de transversiones (Kimura, 1980), esto se realizó con el programa DAMBE versión 4.5.40 (Xia y Xie, 2001).

Tabla 3.1 Especies incluidas en el estudio filogenético, se especifica la distribución, tipo de desarrollo, hábitat en el que se encuentra y número de registro en la CNCR o en el *GenBank* (AF, AJ o AU).

Especie	Distribución	Tipo de desarrollo	Ambiente	Número de registro
<i>Creaseria</i>				
<i>C. morleyi</i>	Península de Yucatán, México	Abreviado	Estigobio	CNCR 22723
<i>Cryphiops</i>				
<i>C. luscus</i>	Chiapas, México	Abreviado	Estigobio	CNCR 5759
<i>C. villalobosi</i>	Chiapas, México	Abreviado	Dulceacuícola	CNCR 5760
<i>Macrobrachium</i>				
<i>M. acanthurus</i>	Georgia a Brasil	Completo	Estuarino	CNCR 21758
<i>M. tenellum</i>	Baja California a Perú	Completo	Salobre	CNCR 22025
<i>M. tuxtlaense</i>	Veracruz, México	Abreviado	Dulceacuícola	CNCR13175
<i>M. rosenbergii</i> Australia	Indo-Pacífico	Completo	Salobre	AY203920
<i>M. rosenbergii</i> Tailandia	Indo-Pacífico	Completo	Salobre	AY203920
<i>Neopalaemon</i>				
<i>N. nahuatlus</i>	Oaxaca, México	Abreviado	Estigobio	CNCR 4396
<i>Palaemon</i>				
<i>P. northropi</i>	Atlántico	Completo	Costero	CNCR 20747
<i>P. longirostris</i>	Europa	Completo	Estuarino	AJ640129
<i>P. pandaliformis</i>	Guatemala a Brasil	Completo	Estuarino	
<i>P. ritteri</i>	California a Perú	Completo	Estuarino	CNCR 21015
<i>P. serenus</i>	Australia	Completo	Costero	AF439518
<i>P. intermedium</i>	Australia	Completo	Marino	AF439516

Palaemonetes				
<i>P. atrinubes</i>	Australia	Completo	Salobre	AF439520
<i>P. australis</i>	Australia	Completo	Salobre	AF439517
<i>P. kadiakensis</i>	Coahuila, México	Abreviado	Dulceacuícola	CNCR 326
Pseudopalaemon				
<i>P. chryseus</i>	Brasil	Abreviado	Dulceacuícola	
Troglomexicanus				
<i>T. tamaulipasensis</i>	Tamaulipas, México	Abreviado	Estigobítico	CNCR 17030
<i>Paratya australiensis</i>				AF 439523

## ANÁLISIS FILOGENÉTICO

Se hicieron análisis filogenéticos utilizando métodos con diferentes fundamentos, siendo estos la Máxima Parsimonia (MP) donde se busca la topología que represente las relaciones de ancestría-descendencia, con la menor cantidad de pasos posibles utilizando para ello sólo los sitios informativos en el alineamiento de secuencias; Máxima Verosimilitud (ML) que busca inferir el árbol más probable dada una cierta matriz de datos; de Distancia que es un método numérico donde se calcula la proporción de sitios variables y se agrupan los taxa utilizando diferentes algoritmos, que en este caso fue el de Vecino más Cercano (NJ); y un análisis de tipo Bayesiano (BA) donde se calculan las probabilidades posteriores de las topologías obtenidas, en base a las características de los datos (Swofford *et al.*, 1996). Los tres primeros métodos se corrieron con el programa PAUP Versión 4.0b10 (Swofford, 2002) mientras que el BA se implementó con el programa MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001). Adicionalmente se buscó el modelo evolutivo apropiado, según las características del alineamiento, ya que es importante saber que parámetros deben ser tomados en cuenta al

realizar los análisis de ML y BA. Entre tales parámetros están la probabilidad de cambio entre cada tipo de nucleótido, la frecuencia de cada base, la existencia de sitios invariables y de sitios con una mayor tasa de cambio. Para eso se usó el programa Modeltest 3.7 (Posada y Crandall, 1998).

Para MP se hizo una búsqueda heurística utilizando los *gaps* como caracteres desconocidos y agregando las secuencias al azar. Para probar el soporte de las ramas se llevó a cabo un *bootstrap* con 1000 réplicas. Para ML se hizo una búsqueda heurística con 100 réplicas de adición al azar, usando los parámetros del modelo evolutivo adecuado para las secuencias de 16S incluidas en este estudio, con lo que también se realizó un *bootstrap*. El análisis de NJ se realizó agrupando los taxa con el método del Vecino más Cercano, donde a partir de un árbol inicial no agrupado, se van uniendo los taxa con una distancia genética más cercana (Saitou y Nei, 1987).

El BA se realizó con los mismos parámetros identificados por el programa Modeltest y se inició con árboles al azar, muestreando las cuatro cadenas de Markov cada 100 generaciones hasta que la desviación estándar promedio de las frecuencias divididas alcanzó un valor menor a 0.01. Esto resultó en un total de  $1 \times 10^6$  generaciones, durante las cuales se muestrearon 10,000 árboles, de los que se descartaron los primeros 2,500. Con el resto se obtuvo un árbol de consenso del 50% con el que se calcularon las probabilidades posteriores que representan el porcentaje de veces que se repitió cada nodo.

Una vez obtenidas las diferentes topologías se compararon con el programa PAUP y se obtuvo un árbol de consenso de mayoría con las ramas que se presentaran en más del 50% de los árboles.

## RESULTADOS

Se analizaron 21 secuencias, incluyendo el grupo externo, con una longitud de 448 pb (Apéndice 2). Del total, 232 sitios fueron monomórficos, y 176 parsimoniosamente informativos. Las frecuencias medias de nucleótidos fueron de A = 0.31095, C = 0.11126, G = 0.22192 y T = 0.35588, no encontrándose diferencias significativas en la composición de nucleótidos entre los diferentes taxa ( $\chi^2 = 51.2014$ , g.l. = 60,  $p = 0.7836$ ); mientras que las diferentes secuencias del gen 16S incluidas en este estudio presentan una señal filogenética a un nivel de significancia de 0.05 ( $g1 = -0.5884$ ,  $p < 0.01$ ). Respecto al nivel de saturación en las secuencias, se encontró evidencia de saturación a distancias genéticas mayores a  $d = 0.25$  (Figura 3.2).

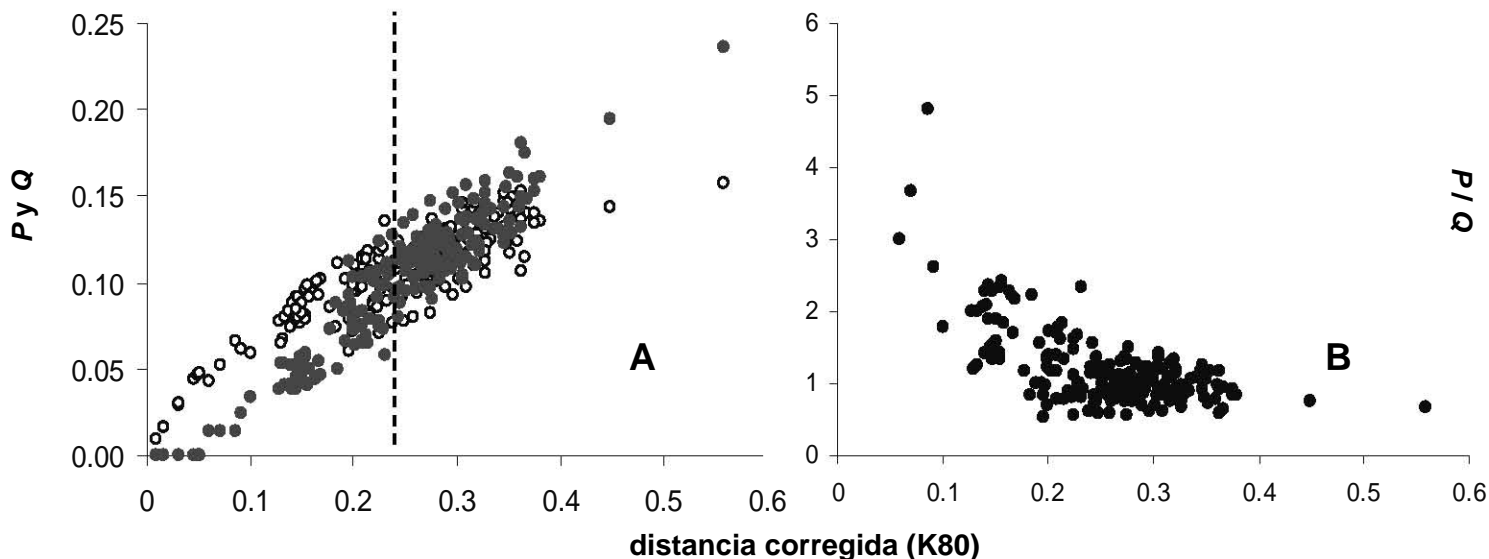


Figura 3.2 Relación entre transiciones / transversiones y la distancia genética de las secuencias de nucleótidos del gen 16S de diferentes géneros de la subfamilia Palaemoninae, corregida con el modelo K80.

**A.** Proporción de sitios con transiciones ( $P$ ) (círculos abiertos) y transversiones ( $Q$ ) (círculos completos). La línea punteada indica el nivel de distancia genética al que las transiciones parecen aproximarse a la saturación. **B.** Proporción de sitios con transiciones entre la proporción de sitios con transversiones.

El modelo obtenido al probar las secuencias del gen 16S con el programa Modeltest fue el GTR+G+I “General Time Reversible” (Tavaré, 1986), lo que significa que la frecuencia de cada nucleótido en la matriz de datos es variable y toma en cuenta las tasas de cambio reversibles (Tabla 3.2). Adicionalmente algunas regiones de los fragmentos alineados son más variables que otras, por lo que las secuencias tuvieron un parámetro  $\gamma$   $\alpha = 0.756838$  y cuenta con una proporción de sitios invariables de  $I = 0.756838$ .

Tabla 3.2 Frecuencia de cada nucleótido y matriz reversible de tasas de cambio entre nucleótidos en las secuencias del gen 16S de diferentes géneros de la subfamilia Palaemoninae.

<b>Frecuencia de nucleótidos</b>				
	<b>A</b>	<b>C</b>	<b>G</b>	<b>T</b>
	0.330548	0.078584	0.200302	0.390566
<b>Matriz reversible de tasas de cambio</b>				
<b>A</b>		1.6723694	7.4324189	1.0217488
<b>C</b>	1.6723694		0.64811356	14.960405
<b>G</b>	7.4324189	0.64811356		1
<b>T</b>	1.0217488	14.960405	1	



## ANÁLISIS FILOGENÉTICO

El análisis de MP resultó en dos cladogramas más parsimoniosos de 718 pasos con un índice de consistencia de  $CI = 0.5195$  y un índice de retención de  $RI = 0.5903$ . En éstos se observa un clado basal formado por los géneros *Creaseria* y *Neopalaemon*. Además resultaron dos clados claramente diferentes, el primero compuesto por especies de los géneros *Palaemon* y *Palaemonetes*, mientras que el segundo podría dividirse en tres grupos: el que comprende a las especies marinas o estuarinas de *Macrobrachium*; el que incluye a *Cryphiops*, *Macrobrachium* de agua dulce y *Pseudopalaemon*; y por último a *Troglomexicanus*. Cabe mencionar que los dos cladogramas solo difirieron en la posición de una de las especies del género *Palaemon* (Figuras 3.3 y 3.4). El dendrograma de distancia de NJ (Figura 3.6) y el árbol de consenso del análisis bayesiano (Figura 3.7), presentan algunas diferencias en la posición de ciertos taxa, sin embargo existe congruencia entre los resultados de estos análisis y el de MP. Por otro lado, el análisis de ML consideró que es más probable ( $-\ln L = 3449.58424$ ) que *Creaseria* y *Neopalaemon* formen un grupo hermano de los grupos formados por *Macrobrachium* y por *Cryphiops*, *Macrobrachium* de agua dulce y *Pseudopalaemon* (Figura 3.5). Sin embargo, debido a la congruencia en la mayoría de las topologías, se decidió tomar al árbol de consenso del 50% (Figura 3.8), como aquél que mejor representa las relaciones filogenéticas entre géneros de la subfamilia Palaemoninae.

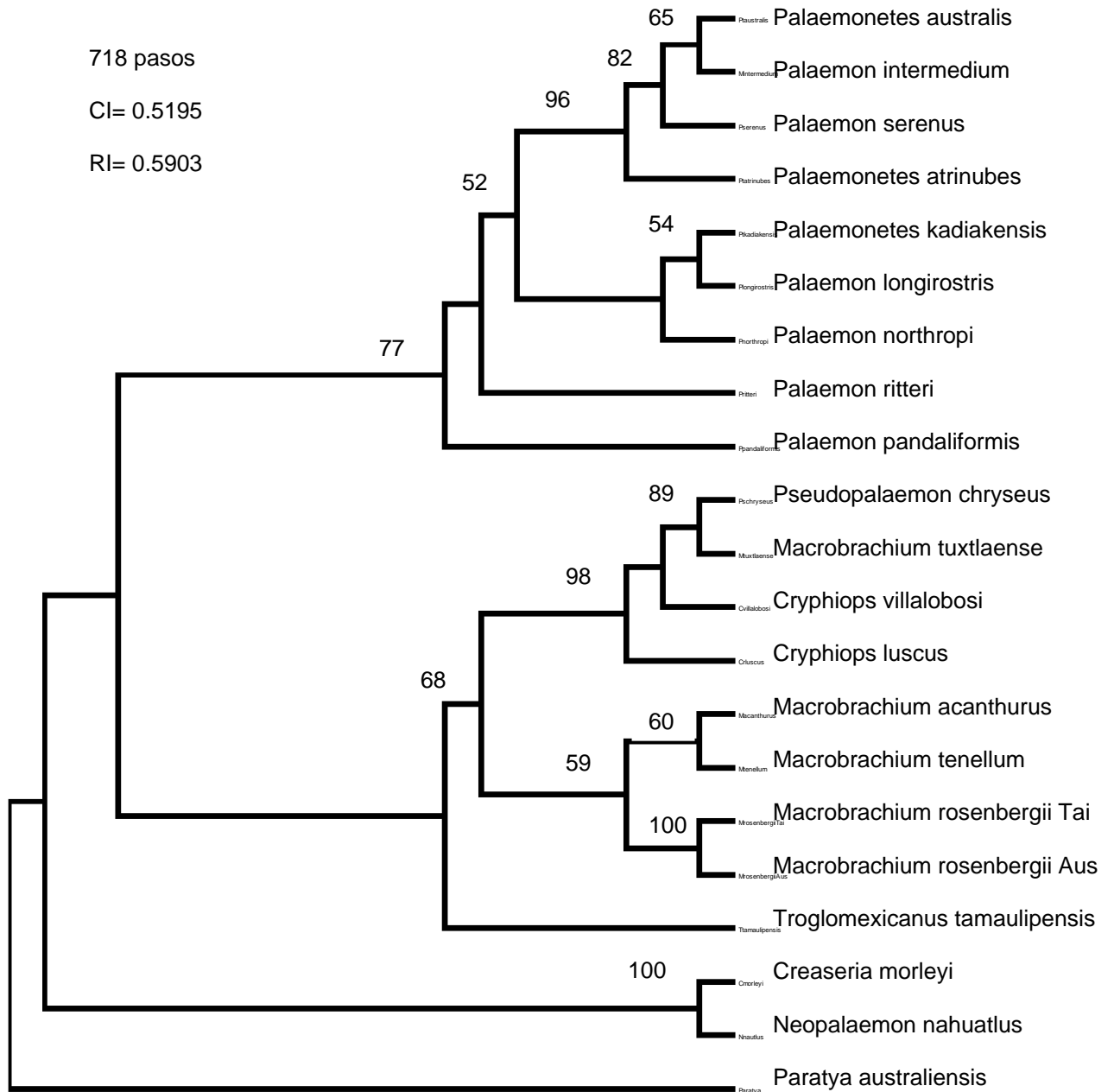


Figura 3.3 Uno de los dos cladogramas más parsimoniosos de especies de varios géneros de la subfamilia Palaemoninae. Valores de *bootstrap* en la parte superior de las ramas.

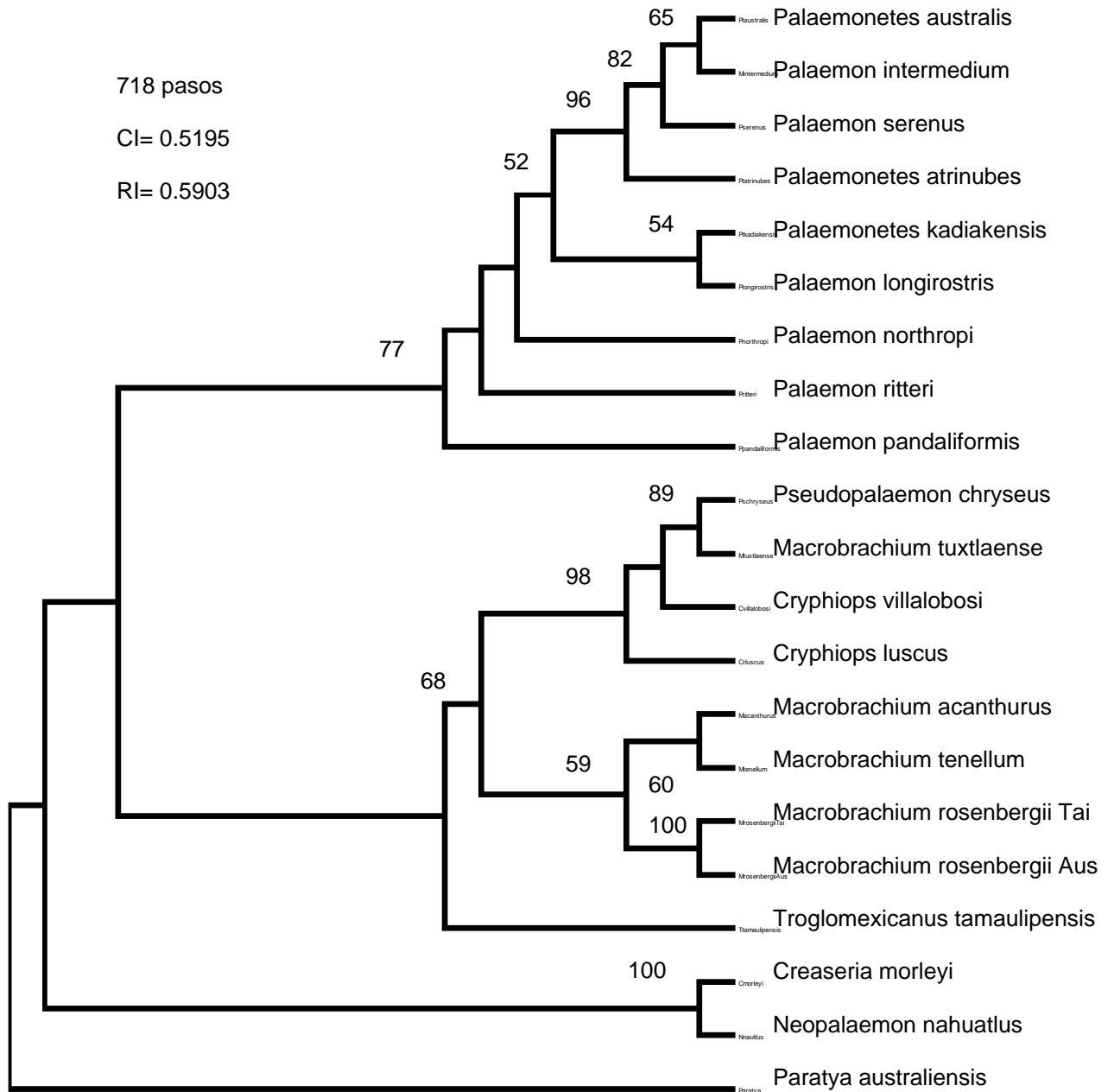


Figura 3.4 Uno de los dos cladogramas más parsimoniosos de especies de varios géneros de la subfamilia Palaemoninae. Valores de *bootstrap* en la parte superior de las ramas.

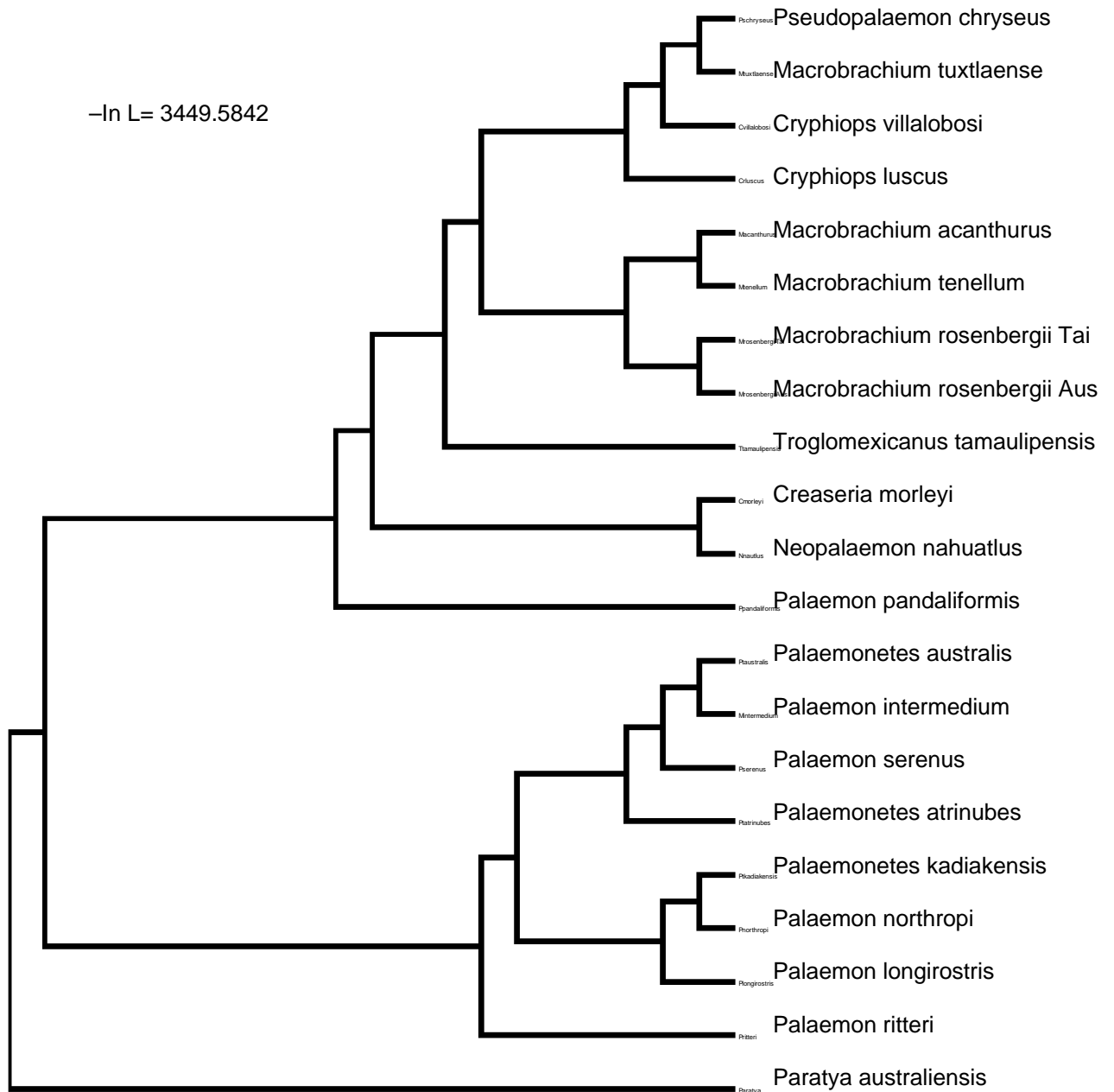


Figura 3.5 Resultado de Máxima Verosimilitud entre especies de varios géneros de la subfamilia Palaemoninae. Valores de *bootstrap* en la parte superior de las ramas.

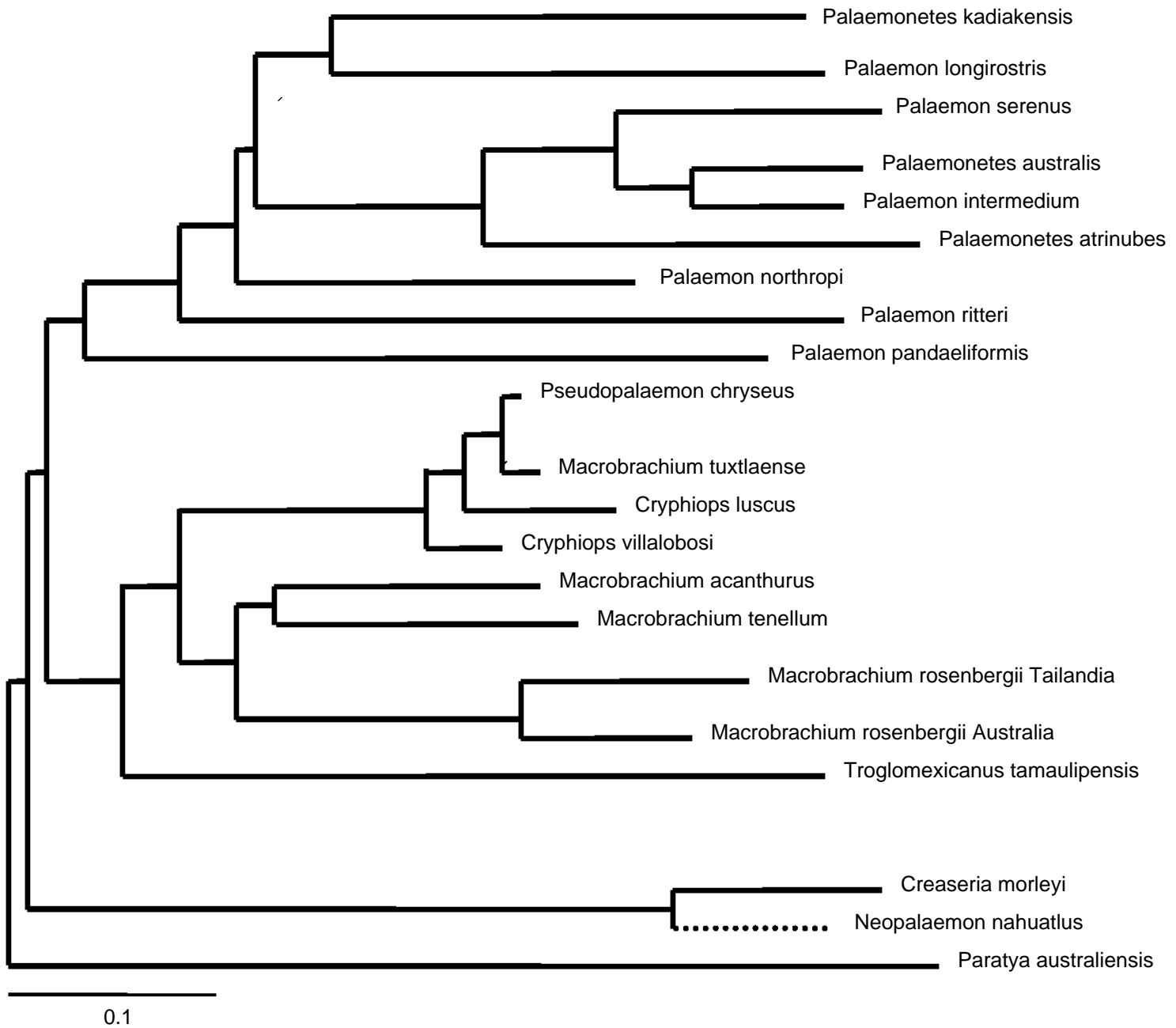


Figura 3.6 Dendrograma de distancia obtenido con el método de Vecino más Cercano de especies de varios géneros de la subfamilia Palaemoninae. La barra representa la proporción de sitios variables (distancia  $p$ ).

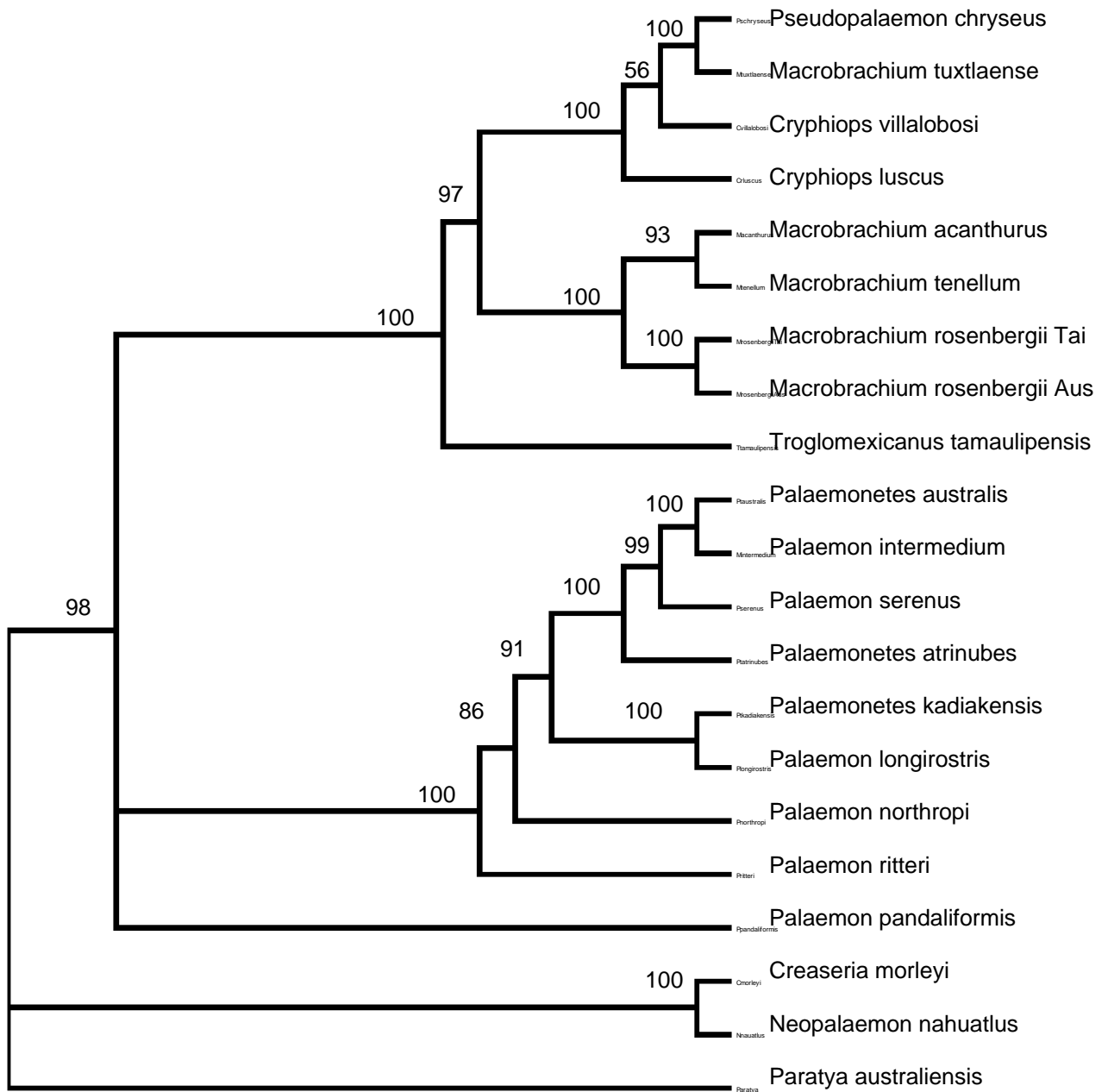


Figura 3.7 Árbol de consenso del 50% obtenido a partir del análisis bayesiano entre especies de varios géneros de la subfamilia Palaemoninae. Valores de probabilidad de ocurrencia en la parte superior de las ramas.

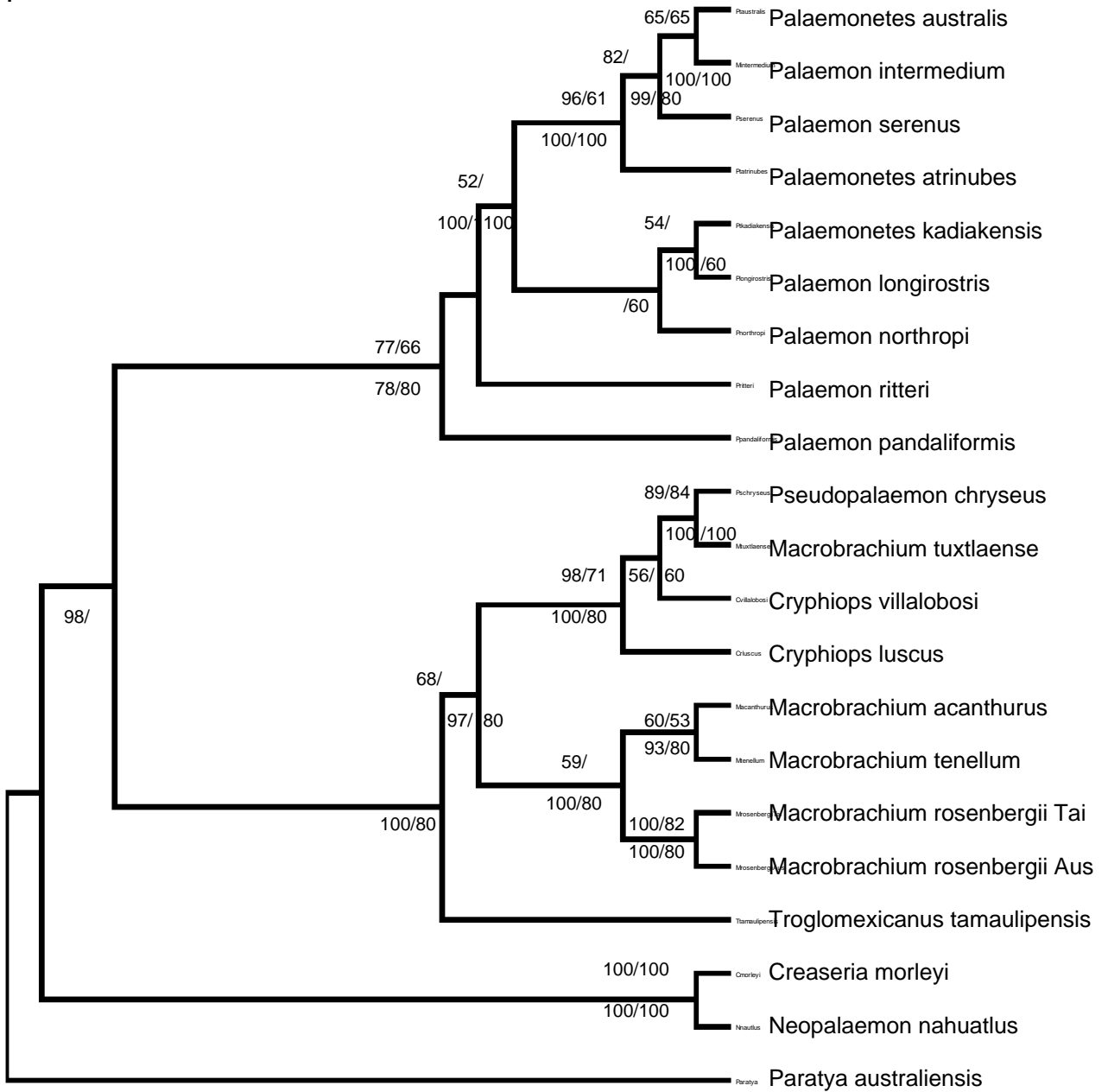


Figura 3.8 Árbol de consenso del 50% obtenido a partir de las topologías de MP, ML, NJ y bayesiano. Valores de *bootstrap* MP y ML en la parte superior de las ramas, probabilidad posterior en la parte inferior y porcentaje de aparición en el consenso.

## DISCUSIÓN

En el presente estudio se tuvo el cuidado de por lo menos incluir a una especie de cada género dulceacuícola de la subfamilia Palaemoninae presente en México, pero además se adicionaron especies de otros géneros como *Palaemon*, que agrupa alrededor de 40 especies que se encuentran principalmente en ambientes costeros o estuarinos, *Pseudopalaemon* que comprende a alrededor de cinco especies dulceacuícolas que se distribuyen únicamente en Sudamérica (Jayachandran, 2001), además de algunas especies estuarinas de *Macrobrachium*, lo anterior con el objeto de darle mayor resolución a los análisis.

Respecto a la topología obtenida, se puede observar que el clado formado por *Creaseria* y *Neopalaemon* se encuentra separado de los demás y ubicado en la parte basal del cladograma, lo que indicaría que divergió antes que el resto de los géneros. Como ya se mencionó, ambos son géneros monotípicos estigobios (Hobbs *et al.*, 1977) y aunque *Neopalaemon* ha sido poco estudiado, en *Creaseria* se han hecho algunas estimaciones sobre el tiempo de divergencia. Porter y colaboradores (2004), con base a un reloj molecular donde utilizaron marcadores nucleares y de la mitocondria, calcularon que este género divergió en la familia hace unos 110 millones de años durante el Cretácico, lo que concuerda con los 90 ma. estimados recientemente con base a varios genes mitocondriales (Acuña, *com. per.*) (Figura 3.9). No obstante, como se discutió en el capítulo anterior, se trataría de un ancestro marino o costero que invadiría la península de Yucatán en tiempos mucho más recientes.

El clado donde se ubica *Palaemonetes* incluye también a especies de *Palaemon*, siendo este último de hábitos costeros y morfológicamente cercano (Walter y Poore, 2003). Se ha calculado que *Palaemon* y *Palaemonetes* divergieron del resto de los géneros en la subfamilia hace unos 140 ma., mientras que entre ellos habría sido hace unos 80 ma. (Porter *et al.*, 2004) (Figura 3.9). Cabe mencionar que *Palaemonetes* es cosmopolita, con especies de hábitos



salobres (Jayachandran, 2001) y que en México el género tiene un patrón de distribución particular, donde está *P. kadiakensis* que aunque es estrictamente dulceacuícola y de desarrollo abreviado, se distribuye principalmente en tributarios de ríos que cuentan con salida al Golfo de México en Tamaulipas, Nuevo León y el sur de Estados Unidos, además de *P. suttkusi* en Cuatro Ciénegas Coahuila, *P. mexicanus*, *P. lindsayi* y *P. hobbsi*, ambas en San Luis Potosí (Rodríguez-Almaraz y Campos, 1996). Es posible que el ancestro de este grupo perteneciera a la fauna costera en el Cretácico, y que la diversificación se relacione con el levantamiento de la Sierra Madre Oriental, que comenzó hace unos 70 ma. a finales de este período geológico (Cevallos-Ferriz y González-Torres, 2006).

Por otro lado, se puede observar un clado integrado por las especies del género *Cryphiops* y por *Macrobrachium tuxtleense*. El género *Cryphiops* cuenta con especies en Brasil y México, que de acuerdo a Porter y sus colaboradores (2004), habrían divergido de *Macrobrachium* hace unos 70 ma (Figura 3.9). Respecto al linaje mexicano, es posible por su distribución actual, que haya invadido el agua dulce mientras estaba abierto el istmo de Tehuantepec, en un período comprendido entre su divergencia como género y la separación de *C. villalobosi* y *C. perspicax*, que de acuerdo a Villalobos y coautores (1989), ocurrió en el Oligoceno, hace unos 24 ma. debido al levantamiento de la Sierra Madre del Sur. Respecto a *Macrobrachium*, se ha estimado que ocurrió hace 11 a 27 ma. (Murphy y Austin, 2005; Schubart *et al.*, 2000.), sin embargo, se ha probado que las especies de este género han ocupado el ambiente dulceacuícola en numerosas ocasiones, sin que tenga relación con la filogenia de este género (Murphy y Austin, 2005).

Por último, se encuentra *Trogloxemus*, que agrupa a tres especies hipógeas endémicas, distribuidas en una zona relativamente pequeña en los estados de Tamaulipas y San Luis Potosí, estando morfológicamente relacionado con *Troglocubanus*, que se distribuye en las Antillas. Se ha sugerido que ambos

linajes se separaron durante el Cretácico, hace unos 70 ma. (Figura 3.9), lo que coincidiría con la formación de la Sierra de El Abra (Villalobos *et al.*, 1999).

Lo anterior nos indica que la invasión al agua dulce en los géneros de la subfamilia Palaemoninae, ha ocurrido en cuatro ocasiones diferentes, tras haber divergido en otro tipo de ambiente. Esto coincide con lo ya mencionado respecto a las especies de *Macrobrachium* (Murphy y Austin, 2005), y a lo propuesto por Hobbs (1994), que sugiere que diferentes grupos estigobíticos se originaron de manera independiente a partir de ancestros epigeos.

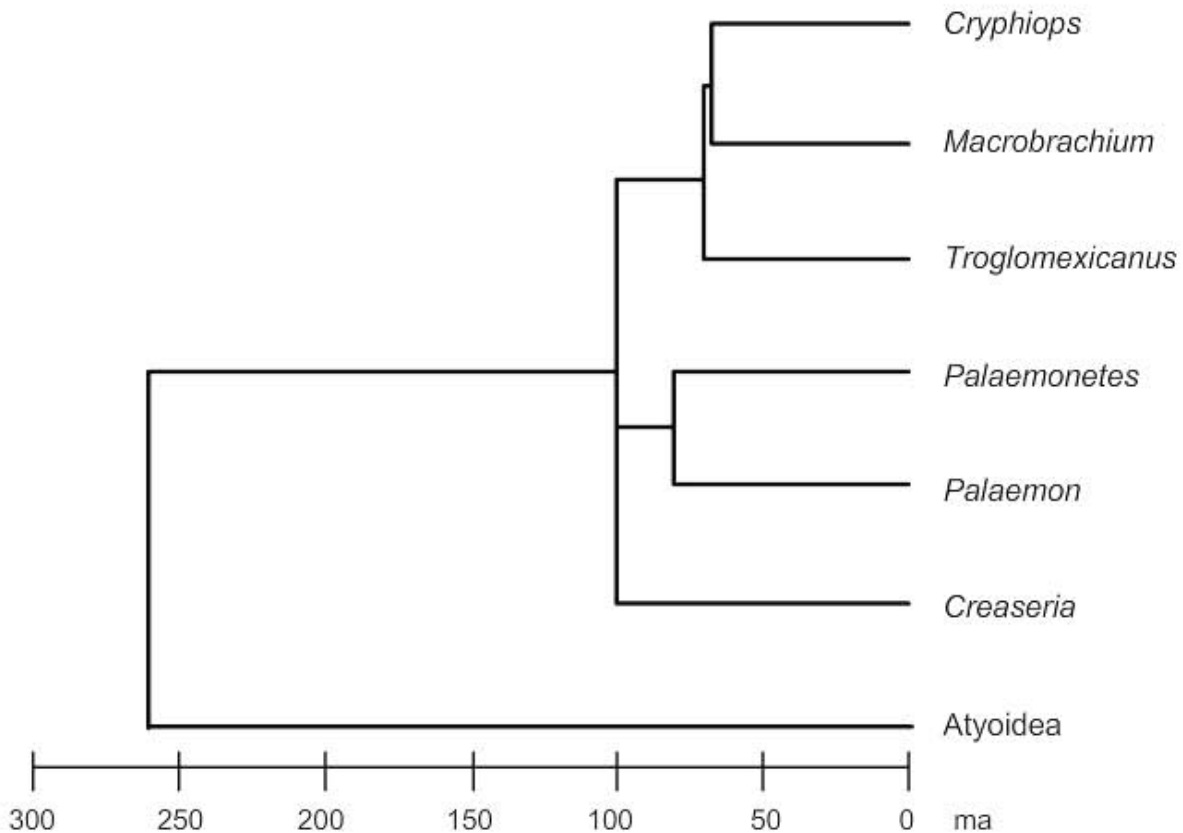


Figura 3.9 Filogenia de varios géneros de la subfamilia Palaemoninae y tiempos de divergencia (tiempos tomados de Porter *et al.*, 2004).

## CONCLUSIONES GENERALES

- Los machos de *Creaseria morleyi* midieron entre 31.6 y 49.3 mm. y las hembras entre 31.8 y 65.6 mm.
- Existe un claro dimorfismo sexual en *C. morleyi*, consistente en hembras con mayor longitud total y un segundo par de pereiópodos mas grandes y robustos.
- Las hembras presentan un crecimiento de tipo alométrico en diferentes caracteres respecto al largo del caparazón.
- Las hembras muestran cambios significativos en la morfología, o en el nivel de alometría a una longitud total de entre 46 y 60 mm.
- El gen 16S muestra una variación genética de 0 a 0.4%, entre las diferentes poblaciones, con cinco haplotipos diferentes.
- El gen COI mostró una diferenciación genética de hasta el 2%, con 12 haplotipos, siendo uno de ellos el más antiguo.
- Se identificaron tres linajes, estando aislados por distancia con flujo génico restringido.
- Se calculó un tiempo de divergencia de entre 40,000 y 100,000 años entre linajes.
- Las poblaciones de *C. morleyi* han pasado por varios cuellos de botella que han tenido como consecuencia una disminución en la variación genética.
- En el análisis filogenético de los géneros dulceacuícolas de la subfamilia Palaemoninae, se obtuvieron 5 topologías congruentes entre sí.
- Se pudieron inferir cuatro diferentes eventos de invasión al agua dulce.
- Tales invasiones no están relacionadas con la filogenia de los géneros.

## LITERATURA CITADA

Acuña, E.P. 2002. Estructura genética, variación isoenzimática y morfología de tres poblaciones de *Macrobrachium* spp de Veracruz y Tabasco, México. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM, 186 p.

Ahyong, S.T. y D. O'Meally. 2004. Phylogeny of the Decapoda Reptantia: resolution using three molecular loci and morphology. *The Raffles Bulletin of Zoology*. 52(2): 673-693.

Álvarez, F., E. Escobar-Briones y J. Alcocer. 2000. Sistemas anquihalinos en México. *Ciencia y Desarrollo* 26(155): 36-45.

Álvarez, F., J.L. Villalobos y R. Robles. 2002. Abbreviated Larval Development of *Macrobrachium tuxtlaense* Villalobos & Alvarez, 1999, Reared in the Laboratory. *Crustacena* 75(5): 717-730.

Álvarez, R. M., J. Cabrera y Y. Solano. 1996. Morfometría, época reproductiva y talla comercial de *Macrobrachium americanum* (Crustacea: Palaemonidae) en Guanacaste, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 44(1): 127-132.

Anger, C. y G. Moreira. 1998. Morphometric and reproductive traits of tropical caridean shrimps. *Journal of Crustacean Biology* 18(4): 823-838.

Arbogast, B.S., S.V. Edwards, J. Wakeley, P. Beerli y J.B. Slowinski. 2002. Estimating Divergence Times from Molecular Data on Phylogenetic and Population Genetic Timescales. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33:707-740.

Back, W., B.B. Hanshaw, J.S. Herman y J.N. Van Driel. 1986. Differential dissolution of a Pleistocene reef in the ground-water mixing zone of coastal Yucatan, Mexico. *Geology* 14: 137-140.

Barr, Jr., T.C. y J.R. Holsinger. 1985. Speciation in Cave Faunas. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 313-337.

Baverstock, P.R. y C. Moritz. 1996. Project Design. pp 17-27. En: *Molecular Systematics*. Hillis, D. M., C. Moritz and B. K. Mable (eds). Sinauer Associates, Inc. Massachusetts, U.S.A., 2ª ed, 655 p.

Beddows, P.A. 2003. Cave Hidrology of the Caribbean Yucatan Coast. *Association for Mexican Cave Studies* 11: 1-96.

Bookstein, L. 1982. Foundations of morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 13: 451-470.

Bruce, A.J. y J.W. Short. 1993. *Leptopalaemon gagadjuj* gen. nov., sp. nov., a new freshwater palaemonid shrimp from Arnhem land, and a re-evaluation of *Palaemonetes holthuisi* Strenth, with the designation of a new genus, *Calathaemon*. *Hydrobiologia* 257(2): 73-94.

Buhay, J.E., G. Moni, N. Mann y K.A. Crandall. 2007. Molecular taxonomy in the dark: Evolutionary history, phylogeography, and diversity of cave crayfish in the subgenus *Aviticambarus*, genus *Cambarus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 42: 435–448.

Buhay, J.E. y K.A. Crandall. 2005. Subterranean phylogeography of freshwater crayfishes shows extensive gene flow and surprisingly large population sizes. *Molecular Ecology* 14: 4259-4273.

Carini, G., J.M. Hughes y S.E. Bunn. 2006. The role of waterholes as 'refugia' in sustaining genetic diversity and variation of two freshwater species in dryland river systems (Western Queensland, Australia). *Freshwater Biology* 51: 1434–1446.

Cartaxana, A. 2003. Growth of the prawn *Palaemon longirostris* (Decapoda, Palaemonidae) in Mira river and estuary, SW Portugal. *Journal of Crustacean Biology* 23(2):251-257.

Cevallos-Ferriz, S.R.S. y E. A. González-Torres. Geological setting and phytodiversity in Mexico. Pp: 1-18. En: *Studies on Mexican Paleontology*. Vega, F.J., T.G. Nyborg, M.C. Perrilliat, M. Montellano-Ballesteros, S.R.S. Cevallos-Ferriz y S.A. Quiroz-Barroso (eds). Springer. The NetherlandsMas. 308 p.

Creaser, E.P. 1936. Crustaceans from Yucatan. Pp. 117- 132. En: *The Cenotes of Yucatan: A Zoological and Hydrographic Survey*. Pearse, A.S., E.P. Creaser y F. G. Hall (eds.). Carnegie Institution of Washington. 164 p.

Chace Jr., F.A. 1975. Cave shrimps (Decapoda: Caridea) from the Dominican Republic. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 88(4): 29-44.

Chu, K.H., J. Tong y T. Chan. 1999. Mitochondrial cytochrome oxidase I sequence divergence in some Chinese species of *Charybdis* (Crustacea: Decapoda: Portunidae). *Biochemical Systematics and Ecology* 27: 461-468.

Christman, M.C. y D.C. Culver. 2001. The relationship between cave biodiversity and available habitat. *Journal of Biogeography* 28: 367-380.

Clement, M., D. Posada y K. Crandall. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9: 1657-1660.

Collins, P. y A. Petriella. 1999. Growth pattern of isolated prawns of *Macrobrachium borellii* (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). *Invertebrate Reproduction and Development* 36(1):87-91.

Conan, G., M. Comeau y M. Moriyasu. 2001. Are morphometrical approaches appropriate to establish size at maturity for male American lobster, *Homarus americanus*? *Journal of Crustacean Biology* 21(4): 937-947.

Dessauer, H.C., R.A. Menzies y D.E. Fairbrithers. 1984. Procedures for Collecting and Preserving Tissues for Molecular Studies. pp 21-24. En: *Collections of Frozen Tissues: Value, Management, Field and Laboratory Procedures, and Directory of Existing Collections*. Dessauer, H. C. y M. S. Hafner (eds). Association of Systematics Collection. Kansas, U. S. A., 74 p.

Dessauer, H.C., C.J. Cole y M.S. Hafner 1996. Collection and Storage of Tissues. pp 29-47. En: *Molecular Systematics*. Hillis, D. M., C. Moritz y B. K. Mable (eds). Sinauer Associates, Inc. Massachusetts, U.S.A., 2ª ed, 655 p.

Edwards, S.V. 1997. Relevance of microevolutionary processes to higher level molecular systematics. pp 251-278. En: *Avian Molecular Evolution and Systematics*. Mindell, D.P. (ed). Academic Press, New York, U.S.A., 382 p.

Excoffier, L., G. Laval y S. Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47-50.

France, S.C. y T.D. Kocher. 1996. Geographic and bathymetric patterns of mitochondrial 16S rRNA sequence divergence among deep-sea amphipods, *Eurythenes gryllus*. *Marine Biology* 126: 633-643.

Gers, C. 1998. Diversity of energy fluxes and interactions between arthropod communities: from Soil to Cave. *Acta Oecologica* 19(3): 205-213.

Guerao, G., J. Pérez-Baquera y C. Ribera. 1994. Growth and reproductive biology of *Palaemon xiphias* Risso, 1816 (Decapoda: Caridea: Palaemonidae). *Journal of Crustacean Biology* 14(2): 280-288.

Gurney, R.H., P.M. Grewe y R.E. Thresher. 2006. Mitochondrial DNA haplotype variation in the parasitic cirripede *Sacculina Carcini* observed in the cytochrome oxidase gene (COI). *Journal Of Crustacean Biology* 26(3): 326–330.

Hall, F.G. 1936. Physical and chemical survey of cenotes of Yucatan pp: 5-16. En: *The Cenotes of Yucatan: A Zoological and Hydrographic Survey*. Pearse, A. S., E. P. Creaser y F. G. Hall (eds.). Carnegie Institution of Washington 164 p.

Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41:95-98.

Hartnoll, R.G. 1982. Growth. In *The Biology of Crustacea: embryology, morphology and genetics*, ed. D. E. Bliss, 2:111-196. New York: Academic Press.

Hartnoll, R.G. 1985. Growth, sexual maturity and reproductive output. In *Crustacean Issues: factors in adult growth*, ed. A. M. Wenner, 3:101-128. Rotterdam: A. A. Balkema.

Hedrick, P.W. 2000. *Genetics of Population*. Jones and Bartlett Publishers. Massachusetts, U.S.A., 2<sup>a</sup> ed, 553 p.

Hillis, D.M., B.K. Mable, A. Larson, S.K. Davis y E.A. Zimmer. 1996. Nucleic Acids IV: Sequencing and Cloning. Pp: 321-381. En: *Molecular Systematics*. Hillis, D. M., C. Moritz and B. K. Mable (eds). Sinauer Associates, Inc. Massachusetts, U.S.A. 2<sup>a</sup> Ed. 655 p.

Hillis, D.M. y J.P. Hueksenbeck. 1992. Signal, Noise, and Reliability in Molecular Phylogenetic Analyses. *Journal of Heredity* 83(3): 189-195.

Hintze, J. 2004. NCSS and PASS: Number cruncher statistical systems. <http://www.ncss.com>. Kaysville, Utah.

Hobbs III, H.H. y H.H. Hobbs, Jr. 1976. On the troglobitic Shrimps of the Yucatán Peninsula, Mexico (Decapoda: Atydae and Palaemonidae). *Smithsonian Contributions to Zoology* 240: 1-23.

Hobbs III, H.H. y H.H. Hobbs Jr. 1995. *Macrobrachium cationium*, a new troglobitic shrimp from the Cayo District of Belize (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington* 108(1): 50-53.

Hobbs III, H.H. 1979. Additional notes on cave shrimps (Crustacea: Atydae and Palaemonidae) from the Yucatán Peninsula, Mexico. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 92(3): 618-633.

Hobbs III, H.H. 1994. Biogeography of subterranean decapods in North and Central America and the Caribbean region (Caridea, Astacidea, Brachyura). *Hydrobiologia* 287(1): 95-104.

Hobbs, Jr. H.H, H.H. Hobbs III y M.A. Daniel. 1977. A Review of the Troglobitic Decapod Crustacean of the Americas. *Smithsonian Contributions to Zoology* 244: 1-183.

Hobbs, Jr. H.H. 1973. Three New Troglobitic Decapod Crustaceans from Oaxaca, Mexico. *Association for Mexican Cave Studies Bulletin* 5: 25-38.

Holthuis, L.B. 1950. The Decapoda of the Siboga Expedition, Part 10: Subfamily Palaemonidae. En: The Palaemonidae collected by the Siboga and Snellius Expeditions with remarks on other species 1. *Siboga-Expeditie Monograph* 39(9): 1-268.

Holthuis, L.B. 1952. A general revision of the Palaemonidae (Crustacea, Decapoda, Natantia) of the Americas. II. The subfamily Palaemonidae. *Allan Hancock Foundation Occasional Papers* 12:1-396.

Holthuis, L.B. 1973. *Bithynops luscus*, a New Genus and Species of Cavernicolous Shrimp from Mexico (Crustacea, Decapoda Palaemonidae). *Quaderni Accademia Nazionale dei Lincei* 171: 173-195.

Holthuis, L.B. 1977. Subterranean Fauna of Mexico. Part III; Cave Shrimps (Crustacea, Decapoda, Natantia) from Mexico. *Quaderni Accademia Nazionale dei Lincei* 171: 173-195.

Holthuis, L.B. 1986. Decapoda. Pp: 589-615. En: *Stygofauna mundi*. Botosaneanu, L. (ed.). 740 p. E.J. Brill Ed. Leiden, The Netherlands.

Hudson, R.R., M. Slatkin y W.P. Maddison. 1992. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. *Genetics* 132(2): 583-589.

Huelsenbeck, J.P. y F. Ronquist, 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-755.

Iliffe, T.M. 1993. Fauna Troglobia Acuática de la Península de Yucatán. Pp. 673-686. En: *Biodiversidad Marina y Costera de México*. S.I. Salazar-Vallejo y N.E. González (eds.). Comisión Nacional para el Conocimiento y Aprovechamiento de la Biodiversidad y Centro de Investigaciones de Quintana Roo. México. 865 p.

Jayachandran, K.V. 2001. *Palaemonid Prawns: Biodiversity, Taxonomy, Biology and Management*. Science Publishers, Inc. New Hampshire, U.S.A. 624 p.

Kim, S. 2005. Population structure, growth, mortality, and size at sexual maturity of *Palaemon gravieri* (Decapoda: Caridea: Palaemonidae). *Journal of Crustacean Biology* 25(2): 226-232.

Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 7: 82-102.

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

Kumar, S., K. Tamura y M. Nei. 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5: 150-163.



- Mariappan, P. y C. Balasundaram. 2004. Studies on the morphometry of *Macrobrachium nobilii* (Decapoda, Palaemonidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 47(3): 441-449.
- Martens, K. y D.L. Danielopol. 1999. Concluding remarks: Age and origin of crustacean diversity in "extreme" environments. *Memorias del Jan H. Stock Symposium. Crustaceana* 72(8): 1031-1037.
- Martin, J.W. y G. E. Davis. 2001. *An Updated Classification of the Recent Crustacea*. Contribution in Science 39. Natural History Museum of Los Angeles County. U.S.A. 124 p.
- Mejía-Ortíz, L.M. 2003. Comparative Study of Adaptations to Cave Life in Stygobite Decapod Crustaceans. (Decapoda: Palaemonidae and Cambaridae). Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, Universidad de Liverpool, Inglaterra. 266 p.
- Mejía-Ortíz, L.M., F. Alvarez y R. Hartnoll. 2003. A New Species of Freshwater Prawn, *Macrobrachium totonacum* (Decapoda, Palaemonidae) with abbreviated Development from Mexico. *Crustaceana* 76(1): 77-86.
- Meyran, J.C. y P. Taberlet. 1998. Mitochondrial DNA polymorphism among alpine populations of *Gammarus lacustris* (Crustacea, Amphipoda). *Freshwater Biology* 39(2): 259-265.
- Mossolin, E.C. y S.L.S. Bueno. 2003. Relative growth of the second pereopod in *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann, 1836) (Decapoda, Palaemonidae). *Crustaceana* 76(3): 363-376.
- Murphy, N.P. y C.M. Austin. 2004. Phylogeography of the widespread Australian freshwater prawn, *Macrobrachium australiense* (Decapoda, Palaemonidae). *Journal of Biogeography* 31: 1065-1072.
- Murphy, N.P. y C.M. Austin. 2005. Phylogenetic relationships of the globally distributed freshwater prawn genus *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae): biogeography, taxonomy and the convergent evolution of abbreviated larval development. *Zoologica Scripta* 2005: 1-11.
- Negreiros-Fransozo, M.L. y V. Fransozo. 2003. A morphometric study of the mud crab, *Panopeus austrobesus* Williams, 1983 (Decapoda, Brachyura) from a subtropical mangrove in South America. *Crustaceana* 76(3): 281-294.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York, 512 p.
- Nei, M. y F. Tajima. 1981. Genetic drift and estimation of effective population size. *Genetics* 98: 625-640.

Palumbi, S.R., A. Martin, S. Romano, W.O. McMillan, L. Stice y G. Grabowski. 1991. The simple fool's guide to PCR. A collection of PCR protocols, version 2.0. Honolulu, University of Hawaii. 44 p.

Pérez-Aranda, L. 1983a. Atyidae: *Typhlatya pearsei*. *Fauna de los Cenotes de Yucatan, No. 3*. Universidad de Yucatán, Mérida, 11 p.

Pérez-Aranda, L. 1983b. Palaemonidae: *Creaseria morleyi*. *Fauna de los Cenotes de Yucatan, No. 1*. Universidad de Yucatán, Mérida, 11 p.

Perry, E. 2002. The Hydrogeochemistry of the Karst Aquifer System of the Northern Yucatan Peninsula, Mexico. *International Geology Review* 44: 191–221.

Pope, K.O., A.C. Ocampo y C.E. Duller. 1993. Superficial Geology of the Chicxulub Impact Crater, Mexico. *Earth, Moon and Planets* 63: 93-104.

Pope, K.O., A.C. Ocampo, G.L. Kinsland y R. Smith. 1996. Surface expression of the Chicxulub crater. *Geology* 24(6): 527-530.

Porter, M.L., M. Pérez-Losada y K.A. Crandall. 2005. Model-based multi-locus estimation of decapod phylogeny and divergence times. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37: 355–369.

Posada, D. y K.A. Crandall. 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14(9): 817-818.

Posada, D., K.A. Crandall y A.R. Templeton. 2000. GeoDis: a program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic. *Molecular Ecology* 9: 487-488.

Rathbun, M.J. 1902. Descriptions of New Decapod Crustaceans from the West Coast of North America. *Proceedings of the United States National Museum* 24: 885-905.

Redell, J.R. 1981. *A Review of the cavernicole fauna of Mexico, Guatemala and Belize*. Texas Memorial Museum, The University of Texas at Austin, U. S. A., 327 p.

Rodríguez-Almaraz, G.A., y E. Campos. 1996. New locality records of freshwater decapods from México (Crustacea: Atyidae, Cambaridae, and Palaemonidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington* 109(1): 34-38.

Román-Contreras, R. y L.S. Campos-Lince. 1993. Aspectos reproductivos y aproximación a un modelo de crecimiento para una población de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) en el río Palizada, Campeche, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología* 20(1): 78-96.

Román, R., L. A. Ortega y L. M. Mejía-Ortíz. 2000. *Macrobrachium vicconi*, a new species of the freshwater shrimp from the rainforest land, southeast Mexico, and comparison with congeners (Crustacea: Decapoda, Palaemonidae). *Journal of Crustacean Biology* 20(1): 184-194.

Rozas, J., J. C. Sánchez del Barrio, X. Messeguer y R. Rozas. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19: 2496-2497.

Saiki, R., D.H. Gelfand, S. Stoffel, S. Scharf, R. Higuchi, G. T. Horn, K. B. Mullis y H.A. Erlich. 1988. Primer directed enzymatic amplifications of DNA with thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487-491.

Saitou, N. y M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4(4): 406-425.

Sánchez, M., J. Alcocer, E. Escobar y A. Lugo. 2002. Phytoplankton of cenotes and anchialine caves along a distance gradient from the northeastern coast of Quintana Roo, Yucatán Peninsula. *Hydrobiologia* 467: 79-89.

Sanz, S. y D. Platvoet. 1995. New perspectives on the evolution of the genus *Typhlatya* (Crustacea, Decapoda): first records of a cavernicolous atyid in the Iberian Peninsula, *Typhlatya miravetensis* n. sp. *Contributions to Zoology* 65(2): 79-99.

Schmitter-Soto, J.J., E. Escobar-Briones, J. Alcocer, E. Suárez-Morales, M. Elías-Gutiérrez y L.E. Marín. 2002. Los cenotes de la península de Yucatán. Pp: 337-381. En: *Lagos y presas de México*. de la Lanza, E.G. y J.L. García (comps.). AGT Editor S. A. México. 680 p.

Schubart, C.D., J.E. Neigel y D.L. Felder. 2000. Use of the mitochondrial 16S rRNA gene for phylogenetic and population studies of Crustacea. *Crustacean Issues* 12: 817-830.

Schubart, C.D., R. Diesel y S.B. Hedges. 1998. Rapid evolution to terrestrial life in Jamaican crabs. *Nature* 393(28): 363-365.

Silva, E.P. y C.A.M. Russo. 2000. Techniques and statistical data analysis in molecular population genetics. *Hydrobiologia* 420: 119-135.

Sket, B. 1999. The nature of biodiversity in hypogean waters and how it is endangered. *Biodiversity and Conservation* 8: 1319-1338.

Smalley, A.E. 1964. A New *Palaemonetes* from Mexico (Decapoda: Palaemonidae). *Crustaceana* 6: 229-232.

Sokal, R.R. y F.J. Rohlf. 1995. *Biometry*. New York: W. H. Freeman and Company. 3a Ed., 880 p.

Steinich, B. y L.E. Marin. 1996. Hydrogeological investigation in northwestern Yucatan, Mexico, using resistivity surveys. *Ground Water* 34 (4): 640-646.

Strenth N.E. 1976. A Review of the systematics and Zoogeography of the Fresh-water Species of *Palaemonetes* Heller of North America (Crustacea: Decapoda). *Smithsonian Contributions to Zoology* 228: 1-27 .

Strenth N.E. 1994. A new species of *Palaemonetes* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) from northeastern Mexico. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 107(2): 291-295.

Swofford, D.L. 2002. PAUP\*. *Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\* and Other Methods)*. Version 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Swofford, D.L., G.J. Olson, P.J. Wadell y D.M. Hillis. 1996. Phylogenetic Inference. Pp 407-514. En: *Molecular Systematics*. Hillis, D. M., C. Moritz and B. K. Mable (eds). Sinauer Associates, Inc. Massachusetts, U.S.A. 2ª Ed. 655 p.

Tajima, F. 1993. Simple methods for testing molecular clock hypothesis. *Genetics* 135:599-607.

Tavaré, S. 1986. Some probabilistic and statistical problems in the analysis of DNA sequences. En: Some mathematical questions in biology: DNA sequence analysis. Pp. 57-86. American Mathematical Society, Providence, Rhode Island. Ed. Miura R.M., 124 p.

Templeton A.R. 2006. Population Genetics and Microevolutionary Theory. Ed. Wiley. New Jersey. 705 p.

Templeton A.R., E. Boerwinkle y C.F. Sing. 1987. A cladistic analysis of phenotypic association with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. IV. Basic theory and an analysis of alcohol dehydrogenase activity in *Drosophila*. *Genetics* 117: 343-351.

Templeton A.R., E. Routman y C.A. Phillips. 1995. Separating Population Structure from Population History: A Cladistic Analysis of the Geographical Distribution of Mitochondrial DNA Haplotypes in the Tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics* 140: 767-782.

Trontelj, P., Y. Machino y B. Sket. 2005. Phylogenetic and phylogeographic relationships in the crayfish genus *Austropotamobius* inferred from mitochondrial COI gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 34: 212-226.

- Verovnik, R., B. Sket, S. Prevorčnik y P. Trontelj. 2003. Random amplified polymorphic DNA diversity among surface and subterranean populations of *Asellus aquaticus* (Crustacea: Isopoda). *Genetics* 119: 155-165.
- Verovnik, R., B. Sket y P. Trontelj. 2004. Phylogeography of subterranean and surface populations of water lice *Asellus aquaticus* (Crustacea: Isopoda). *Molecular Ecology* 13: 1519-1532.
- Villalobos, A. y H.H. Hobbs, Jr. 1974. Three New Crustaceans from La Media Luna, San Luis Potosí, México. *Smithsonian Contributions to Zoology* 174: 1-18.
- Villalobos-Figueroa, A. 1982. Decapoda. Pp: 215-239. En: *Aquatic Biota of México, Central America and West Indies*. Hulbert, S.H. y A. Villalobos-Figueroa (eds.). San Diego State University. San Diego, U.S.A. 329 p.
- Villalobos, J.L. y F. Álvarez. 1999. A new species of *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae), with abbreviated development, from Veracruz, Mexico. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 112(4): 746-753.
- Villalobos, J.L., F. Alvarez y T.M. Iliffe. 1999. New species of troglobitic shrimps from Mexico, with the description of *Troglomexicanus*, new genus (Decapoda: palaemonidae). *Journal of Crustacean Biology* 19(1): 111-122.
- Villalobos, J.L., J.C. Nates y A. Cantú. 1989. Revisión de los géneros *Cryphiops* Dana, 1852 y *Bithynops* Holthuis, 1973, de la familia Palaemonidae (Crustacea, Decapoda), y descripción de una especie nueva para el estado de Chiapas, México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Serie zoología* 60(2): 159-184.
- Walter, T.M., y G.C.B. Poore. 2003. Rediagnosis of *Palaemon* and differentiation of southern Australian species (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). *Memoirs of Museum Victoria* 60(2): 243–256.
- Wayne, M.W. y J.A. Hendrickson, Jr. 1973. Numerical Taxonomy. *Annual Review of Entomology* 18: 227-258.
- Webb, M.S. 2003. Intraspecific relationships among the stygobitic shrimp, *Typhlatya mitchelli*, by analyzing sequence data from mitochondrial DNA. Tesis de Maestría. Texas A&M University.
- Weber, L.I. y J.A. Levy. 2000. Genetic structure of the swimming crab *Callinectes danae* (Crustacea: Decapoda) in southern Brazil. *Hydrobiologia* 420: 203-210.
- Wilkins, H. 1982. Regressive Evolution and Phylogenetic Age: The History of Colonization of Freshwaters of Yucatan by Fish and Crustacea. *Bulletin of the Association for Mexican Cave Studies* 8: 237-243.

Wilson. E. M. 1980. Physical geography of the Yucatan peninsula Pp: 5-40. En: *Yucatan: A World Apart*. Moseley, E. y E. Terry (eds.). University of Alabama Press, 335 p.

Xia, X. y Z. Xie. 2001. DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution. *Journal of Heredity* 92: 371-373.

Yang, Z. y A.D. Yoder. 1999. Estimation of the Transition/Transversion Rate Bias and Species Sampling. *Journal of Molecular Evolution* 48: 274-283.

Zar, J. H. 1999. *Biostatistical Analysis*. New Jersey: Prentice Hall. 4a Ed. 929 p.

## APÉNCIDE 1

A. Alineamiento de una porción del gen 16S de diferentes poblaciones de *Creaseria moirleyi* en la península de Yucatán. Misma base que Ruinas (-), deleción o inserción (-).

	10	20	30	40	50	60
Ruinas	TGCCTGTTT	ATCAAAAACA	TGTCTGTATG	GGTTCGTTAT	AGGGTCTGGC	CTGCCCACTG
Ruinas	.....	.....	.....	.....	.....	.....
StoDomingo	.....	.....	.....	.....	.....	.....
StoDomingo	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PtaLaguna	.....	.....	.....	.....	.....	.....
NohAktun	.....	.....	.....	.....	.....	.....
NohAktun	.....	.....	.....	.....	.....	.....
SnDimas	.....	.....	.....	.....	.....	.....
SnDimas	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Sihunchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Sihunchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hoctun	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hoctun	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Chihuan	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Kabahchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Kabahchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Cuxtal	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Cuxtal	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Nohchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Nohchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Tzaitza	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Tzaitza	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TzabNah	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TzabNah	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Telquillo	.....	.....	.....	.....	.....	.....
M.sankolli	.....	.....	.....	.....	.....	.....

	70	80	90	100	110	120
Ruinas	AGTTATTTTT	AAAGGGCCGC	GGTAGTTTAA	CCGTGCGAAG	GTAGCGTAGT	AATTTGTCTT
Ruinas	.....	.....	.....	.....	.....	.....
StoDomingo	.....	.....	.....	.....	.....	.....
StoDomingo	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PtaLaguna	.....	.....	.....	.....	.....	.....
NohAktun	.....	.....	.....	.....	.....	.....
NohAktun	.....	.....	.....	.....	.....	.....
SnDimas	.....	.....	.....	.....	.....	.....
SnDimas	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Sihunchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Sihunchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hoctun	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hoctun	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Chihuan	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Kabahchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Kabahchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Cuxtal	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Cuxtal	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Nohchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Nohchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Tzaitza	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Tzaitza	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TzabNah	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TzabNah	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Telquillo	.....	.....	.....	.....	.....	.....
M.sankolli	.. AA . A . . . .	.. . . . - T . . -	AAC . . ACCC .	.. A . . . T . . A	CG - . . . . CA	CC - . . . AG . . A

	130	140	150	160	170	180
Ruinas	TTAATTGAAG	GCTTGAATGA	AC--GGTCGG	ATGAGATGTA	AACTG-TCTT	T-CTTGTAAT
Ruinas	.....	.....	.....	.....	.....	.....
StoDomingo	.....	.....	.....	.....	.....	.....
StoDomingo	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PtaLaguna	.....	.....	.....	.....	.....	.....
NohAktun	.....	.....	.....	.....	.....	.....
NohAktun	.....	.....	.....	.....	.....	.....
SnDimas	.....	.....	.....	.....	.....	.....
SnDimas	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Sihunchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Sihunchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hoctun	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hoctun	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Chihuan	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Kabahchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Kabahchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Cuxtal	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Cuxtal	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Nohchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Nohchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Tzaitza	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Tzaitza	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TzabNah	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TzabNah	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Telquillo	.....	.....	.....	.....	.....	.....
M.sankolli	A.....TT.A	.....C...C.	T.GA.....C	.ACTAC.C.T	GT...A.AAG	AA...CTC...A

	190	200	210	220	230	240
Ruinas	GAAAGAAATTT	AACTTTTGGAG	TGAAAAGGCT	CAGATATAAT	AAAGGGAC-G	ATAAGACCCT
Ruinas	.....	.....	.....	.....	.....	.....
StoDomingo	.....	.....	.....	.....C.....	.....	.....
StoDomingo	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PtaLaguna	.....	.....	.....	.....	.....	.....
NohAktun	.....	.....	.....	.....C.....	.....	.....
NohAktun	.....	.....	.....	.....C.....	.....	.....
SnDimas	.....	.....	.....	.....C.....	.....	.....
SnDimas	.....	.....	.....	.....C.....	.....	.....
Sihunchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Sihunchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hoctun	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Hoctun	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Chihuan	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Kabahchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Kabahchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Cuxtal	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Cuxtal	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Nohchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Nohchen	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Tzaitza	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Tzaitza	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TzabNah	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TzabNah	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Telquillo	.....	.....	.....	.....	.....	.....
M.sankolli	.....ATCACG	CTG...A.CCC	.A...GTAA..	T.TTCTCTTA	.TCCCC.AA.	.AG-...-T.A



	250	260	270	280	290	300
Ruinás	A T A A A G C T T T	A T G T G G G C T G	T G C T A T A G A G	T G A A T T A A G G	- T T A A G T T T T	T G A T G A T G T C
Ruinás	.	.	.	.	.	.
Sto Domingo	.	.	.	.	.	.
Sto Domingo	.	.	.	.	.	.
Pta Laguna	.	.	.	.	.	.
Noh Aktun	.	.	.	.	.	.
Noh Aktun	.	.	.	.	.	.
Sn Dimas	.	.	.	.	.	.
Sn Dimas	.	.	.	.	.	.
Sihunchen	.	.	.	.	.	.
Sihunchen	.	.	.	.	.	.
Hoctun	.	.	.	.	.	.
Hoctun	.	.	.	.	.	.
Chihuan	.	.	.	.	.	.
Kabahchen	.	.	.	.	.	.
Kabahchen	.	.	.	.	.	.
Cuxtal	.	.	.	.	.	.
Cuxtal	.	.	.	.	.	.
Nohchen	.	.	.	.	.	.
Nohchen	.	.	.	.	.	.
Tzaitza	.	.	.	.	.	.
Tzaitza	.	.	.	.	.	.
Tzab Nah	.	.	.	.	.	.
Tzab Nah	.	.	.	.	.	.
Telquillo	.	.	.	.	.	.
M.sankolli	. A T . C T A A . .	. A C A C T A T A A	A A T . C A . T . .	A C . G . . . C A C	A . . . T A . C . .	- C . . - C . C C .

	310	320	330	340	350	360
Ruinás	C A - C A T T T C G	T T G G G G A G A C	G G A G A T A T A A	T A G G T A A C T G	T C - T T G G A A A	T T T T A T A G G T
Ruinás	.	.	.	.	.	.
Sto Domingo	.	.	.	.	.	.
Sto Domingo	.	.	.	.	.	.
Pta Laguna	.	.	.	.	.	.
Noh Aktun	.	.	.	.	.	.
Noh Aktun	.	.	.	.	.	.
Sn Dimas	.	.	.	.	.	.
Sn Dimas	.	.	.	.	.	.
Sihunchen	.	.	.	.	.	.
Sihunchen	.	.	.	.	.	.
Hoctun	.	.	.	.	.	.
Hoctun	.	.	.	.	.	.
Chihuan	.	.	.	.	.	.
Kabahchen	.	.	.	.	.	.
Kabahchen	.	.	.	.	.	.
Cuxtal	.	.	.	.	.	.
Cuxtal	.	.	.	.	.	.
Nohchen	.	.	.	.	.	.
Nohchen	.	.	.	.	.	.
Tzaitza	.	.	.	.	.	.
Tzaitza	.	.	.	.	.	.
Tzab Nah	.	.	.	.	.	.
Tzab Nah	.	.	.	.	.	.
Telquillo	.	.	.	.	.	.
M.sankolli	. . A . . A A A T A	. A A A C T . A . .	A A . A C . . C T T	. T T - - . . . T	A A G . . . A . . G	C . A A . . T T A A

	370	380	390	400	410	420
Ruin as	GTTTTTAGAG	AGTGATCCTT	CTTTGGGGAT	TTATAGAAAA	AGTTACTTTA	GGGATAACAG
Ruin as	.	.	.	.	.	.
StoDomingo	.	.	.	.	.	.
StoDomingo	.	.	.	.	.	.
PtaLaguna	.	.	.	.	.	.
NohAktun	.	.	.	.	.	.
NohAktun	.	.	.	.	.	.
SnDimas	.	.	.	.	.	.
SnDimas	.	.	.	.	.	.
Sihunchen	.	.	.	.	.	.
Sihunchen	.	.	.	.	.	.
Hoctun	.	.	.	.	.	.
Hoctun	.	.	.	.	.	.
Chihuan	.	.	.	.	.	.
Kabahchen	.	.	.	.	.	.
Kabahchen	.	.	.	.	.	.
Cuxtal	.	.	.	.	.	.
Cuxtal	.	.	.	.	.	.
Nohchen	.	.	.	.	.	.
Nohchen	.	.	.	.	.	.
Tzaitza	.	.	.	.	.	.
Tzaitza	.	.	.	.	.	.
TzabNah	.	.	.	.	.	.
TzabNah	.	.	.	.	.	.
Telquillo	.	.	.	.	.	.
M.sankolli	AC.A.ATT.-	.TT.-A.A	---.TC.	.C.TCCC	TC.A.A.AAT	TT.G--C-

	430	440	450	460	470	480
Ruin as	CGTGATTTTT	CTCTGAGA-G	TTCTTATCGA	CGAGAGTAGT	CGCGACCTCG	A--TGTTGAA
Ruin as	.	.	.	.	.	.
StoDomingo	.	.	.	.	.	.
StoDomingo	.	.	.	.	.	.
PtaLaguna	.	.	.	.	.	.
NohAktun	.	.	.	.	.	.
NohAktun	.	.	.	.	.	.
SnDimas	.	.	.	.	.	.
SnDimas	.	.	.	.	.	.
Sihunchen	.	.	.	.	.	.
Sihunchen	.	.	.	.	.	.
Hoctun	.	.	.	.	.	.
Hoctun	.	.	.	.	.	.
Chihuan	.	.	.	.	.	.
Kabahchen	.	.	.	.	.	.
Kabahchen	.	.	.	.	.	.
Cuxtal	.	.	.	.	.	.
Cuxtal	.	.	.	.	.	.
Nohchen	.	.	.	.	.	.
Nohchen	.	.	.	.	.	.
Tzaitza	.	.	.	.	.	.
Tzaitza	.	.	.	.	.	.
TzabNah	.	.	.	.	.	.
TzabNah	.	.	.	.	.	.
Telquillo	.	.	.	.	.	.
M.sankolli	-----	.A.C.A.A.	.AAAT..A.	A-----C	.A.AGGA.	.CAGT..ATC

	490	500	510	520	530	540
Ruinas	T T A A A G T T T C	A G T T G G G T G T	A G T T G - - T T C	A A C T A G T G G G	- T - C T G - - T T	C G - - A C C T T T
Ruinas	.	.	.	.	.	.
StoDomingo	.	.	.	.	.	.
StoDomingo	.	.	.	.	.	.
PtaLaguna	.	.	.	.	.	.
NohAktun	.	.	.	.	.	.
NohAktun	.	.	.	.	.	.
SnDimas	.	.	.	.	.	.
SnDimas	.	.	.	.	.	.
Sihunchen	.	.	.	.	.	.
Sihunchen	.	.	.	.	.	.
Hoctun	.	.	.	.	.	.
Hoctun	.	.	.	.	.	.
Chihuan	.	.	.	.	.	.
Kabahchen	.	.	.	.	.	.
Kabahchen	.	.	.	.	.	.
Cuxtal	.	.	.	.	.	.
Cuxtal	.	.	.	.	.	.
Nohchen	.	.	.	.	.	.
Nohchen	.	.	.	.	.	.
Tzaitza	.	.	.	.	.	.
Tzaitza	.	.	.	.	.	.
TzabNah	.	.	.	.	.	.
TzabNah	.	.	.	.	.	.
Telquillo	.	.	.	.	.	.
M.sankolli	. C T C - . . C - .	. A C C A T T C A .	T C A A . C C . . .	. . T . . A A A . A	C . A . . . A C . A	T . C T . . . . C

	550	560	570
Ruinas	A A A A C T T T A C	A T G A T - C T G A	- G T T C A A A - C
Ruinas	.	.	.
StoDomingo	.	.	.
StoDomingo	.	.	.
PtaLaguna	.	.	.
NohAktun	.	.	.
NohAktun	.	.	.
SnDimas	.	.	.
SnDimas	.	.	.
Sihunchen	.	.	.
Sihunchen	.	.	.
Hoctun	.	.	.
Hoctun	.	.	.
Chihuan	.	.	.
Kabahchen	.	.	.
Kabahchen	.	.	.
Cuxtal	.	.	.
Cuxtal	.	.	.
Nohchen	.	.	.
Nohchen	.	.	.
Tzaitza	.	.	.
Tzaitza	.	.	.
TzabNah	.	.	.
TzabNah	.	.	.
Telquillo	.	.	.
M.sankolli	G C - . . G G . - .	. A A T . A . C . C	G . C C . T T T A A

B. Alineamiento de una porción del gen citocromo oxidasa 1 de diferentes poblaciones de *Creaseria moirleyi* en la península de Yucatán. Misma base que Ruinas (-), deleción o inserción (-).

	10	20	30	40	50	60
Ruinas A	GAGACCCAAT	CCTATACCAA	CATCTATTCT	GATTTTTCGG	ACACCCAGAA	GTGTATATCC
Ruinas B	.....	.....	.....	.....	.....	.....
StoDomingoC	.....	.....	.....	.....	.....	.....
StoDomingoB	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PtaLagunaD	.....	.....	.....	.....	.....	.....
NohAktunE	.....	.....	.....	.....	T.....	.....
NohAktunF	.....	.....	.....	.....	.....	.....
SnDimasC	.....	.....	.....	.....	.....	.....
SnDimasC	.....	.....	.....	.....	.....	.....
SihunchenB	.....	.....	.....	.....	.....	.....
SihunchenB	.....	.....	.....	.....	.....	.....
HoctunB	.....	.....	.....	.....	.....	.....
HoctunB	.....	.....	.....	.....	.....	.....
ChihuanG	.....	.....	.....	.....	.....	.....
KabahchenI	.....	.....	.....	T.....	.....	.....
KabahchenH	.....	.....	.....	T.....	.....	.....
CuxtalB	.....	.....	.....	.....	.....	.....
NohchenB	.....	.....	.....	.....	.....	.....
NohchenC	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TzaitzaJ	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TzaitzaJ	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TzabNahK	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TzabNahC	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TelquilloL	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Mmalayanum	-----C..	...C..T..	..C..T..	.....T..	C.....	..C..C..TT

	70	80	90	100	110	120
Ruinas A	TAATCCTCCC	AGCCTTCGGG	ATAATTTTAC	ACATCGTAAG	ACAAGAATCA	GGCAAAAAAG
Ruinas B	.....	.....	.....	.....	.....	.....
StoDomingoC	.....	.....	.....	.....	.....	.....
StoDomingoB	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PtaLagunaD	.....	.....	.....	.....	.....	.....
NohAktunE	.....	.....	.....	.....	.....	.....
NohAktunF	.....	.....	.....	.....	.....	.....
SnDimasC	.....	.....	.....	.....	.....	.....
SnDimasC	.....	.....	.....	.....	.....	.....
SihunchenB	.....	.....	.....	.....	.....	.....
SihunchenB	.....	.....	.....	.....	.....	.....
HoctunB	.....	.....	.....	.....	.....	.....
HoctunB	.....	.....	.....	.....	.....	.....
ChihuanG	.....	.....	.....	.....	.....	.....
KabahchenI	.....	.....	.....	.....	.....	.....
KabahchenH	.....	.....	.....	.....	.....	.....
CuxtalB	.....	.....	.....	.....	.....	.....
NohchenB	.....	.....	.....	.....	.....	.....
NohchenC	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TzaitzaJ	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TzaitzaJ	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TzabNahK	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TzabNahC	.....	.....	.....	.....	.....	.....
TelquilloL	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Mmalayanum	.....A..	...A..	...C..C..	.....T..	.....	...T.....

	130	140	150	160	170	180	
RuinasaA	AAGTC	TTTGG	CGCCCTAGGC	ATAATCTACG	CTATAATTGC	CATCGGAGTC	TTAGGTTTCC
RuinasaB	.	.	.	.	G.	.	.
StoDomingoC	.	.	.	.	G.	.	.
StoDomingoB	.	.	.	.	G.	.	.
PtaLagunaD	.	.	.	.	G.	.	.
NohAktunE	.	.	.	.	G.	.	.
NohAktunF	.	.	.	.	G.	.	.
SnDimasC	.	.	.	.	G.	.	.
SnDimasC	.	.	.	.	G.	.	.
SihunchenB	.	.	.	.	G.	.	.
SihunchenB	.	.	.	.	G.	.	.
HoctunB	.	.	.	.	G.	.	.
HoctunB	.	.	.	.	G.	.	.
ChihuanG	.	.	.	.	G.	.	.
KabahchenI	.	.	.	.	G.	.	.
KabahchenH	.	.	.	.	G.	.	.
CuxtalB	.	.	.	.	G.	.	.
NohchenB	.	.	.	.	G.	.	.
NohchenC	.	.	.	.	G.	.	.
TzaitzaJ	.	.	.	.	G.	.	.
TzaitzaJ	.	.	.	.	G.	.	.
TzabNahK	.	.	.	.	G.	.	.
TzabNahC	.	.	.	.	G.	.	.
TelquilloL	.	.	.	.	G.	.	.
Mmalayanum	. TCA . . . . .	GA . . . . .	G . . . . .	G . . . . .	T . . . . .	C . . . . .	A . . . . .

	190	200	210	220	230	240
RuinasaA	TAGTATGAGC	CCACCCACATA	TTCACAGTGG	GCATGGACGT	CGATACACGA	GCCTACTTTA
RuinasaB	.	.	.	.	.	.
StoDomingoC	.	.	.	.	.	.
StoDomingoB	.	.	.	.	.	.
PtaLagunaD	.	.	.	.	C . . . . .	.
NohAktunE	.	.	.	.	.	.
NohAktunF	.	.	.	.	.	.
SnDimasC	.	.	.	.	.	.
SnDimasC	.	.	.	.	.	.
SihunchenB	.	.	.	.	.	.
SihunchenB	.	.	.	.	.	.
HoctunB	.	.	.	.	.	.
HoctunB	.	.	.	.	.	.
ChihuanG	.	.	.	.	.	.
KabahchenI	.	.	.	.	.	.
KabahchenH	.	.	.	.	C . . . . .	.
CuxtalB	.	.	.	.	.	.
NohchenB	.	.	.	.	.	.
NohchenC	.	.	.	.	.	.
TzaitzaJ	.	.	.	.	.	.
TzaitzaJ	.	.	.	.	.	.
TzabNahK	.	.	.	.	.	.
TzabNahC	.	.	.	.	.	.
TelquilloL	.	.	.	.	C . . . . .	.
Mmalayanum	. . . . .	T . . . . .	T . . . . .	T . . . . .	A . . . . .	A . . . . .

	250	260	270	280	290	300
RuinAsA	CATCAGCAAC	TATAATCATT	GCAATCCCCA	CGGGGATTAA	AATCTTCAGA	TGACTAGCTA
RuinAsB	.	.	.	.	.	.
StoDomingoC	.	.	.	.	.	.
StoDomingoB	.	.	.	.	.	.
PtaLagunaD	.	.	.	.	.	A.
NohAktunE	.	.	.	.	.	.
NohAktunF	.	.	.	.	.	.
SnDimasC	.	.	.	.	.	.
SnDimasC	.	.	.	.	.	.
SihunchenB	.	.	.	.	.	.
SihunchenB	.	.	.	.	.	.
HoctunB	.	.	.	.	.	.
HoctunB	.	.	.	.	.	.
ChihuanG	.	.	.	.	.	.
KabahchenI	.	.	T.	.	.	C.
KabahchenH	.	.	.	.	.	.
CuxtalB	.	.	.	.	.	.
NohchenB	.	.	.	.	.	.
NohchenC	.	.	.	.	.	.
TzaitzaJ	.	.	T.	.	.	C.
TzaitzaJ	.	.	T.	.	.	C.
TzabNahK	.	.	.	.	.	.
TzabNahC	.	.	.	.	.	.
TelquilloL	.	.	T.	.	.	C.
Mmalayanum	G. C.	T.	CG. T.	A. A.	T. T.	C.

	310	320	330	340	350	360
RuinAsA	CCCTCCATGG	TGCGCAACTT	TCATACACAC	CCTCCCTACT	CTGGGCCATA	GGATTTATCT
RuinAsB	.	C. A.	.	.	.	.
StoDomingoC	.	C.	.	.	.	.
StoDomingoB	.	C. A.	.	.	.	.
PtaLagunaD	C.	C.	.	.	.	.
NohAktunE	.	C.	.	.	.	.
NohAktunF	.	C.	.	.	.	.
SnDimasC	.	C.	.	.	.	.
SnDimasC	.	C.	.	.	.	.
SihunchenB	.	C. A.	.	.	.	.
SihunchenB	.	C. A.	.	.	.	.
HoctunB	.	C. A.	.	.	.	.
HoctunB	.	C. A.	.	.	.	.
ChihuanG	C.	C.	.	.	.	.
KabahchenI	C.	C. A.	.	.	.	.
KabahchenH	.	C.	.	.	.	.
CuxtalB	.	C. A.	.	.	.	.
NohchenB	.	C. A.	.	.	.	.
NohchenC	.	C.	.	.	.	.
TzaitzaJ	.	C. A.	.	.	.	.
TzaitzaJ	.	C. A.	.	.	.	.
TzabNahK	.	C. A.	G.	.	.	.
TzabNahC	.	C.	.	.	.	.
TelquilloL	.	C.	.	.	.	.
Mmalayanum	T. C.	CA. T. T.	A. C. GT.	T. AT. A.	A. A. C. G.	C.

	370	380	390	400	410	420
RuinAsA	TCCTATTTAC	AGTAGGAGGC	TTAACAGGAG	TCATTCTAGC	TAAGTCATCT	ATCGACATCA
RuinAsB	.	.	.	.	.	.
StoDomingoC	.	.	.	.	.	.
StoDomingoB	.	.	.	.	.	.
PtaLagunaD	.	.	.	.	.	.
NohAktunE	.	.	.	.	.	.
NohAktunF	.	.	.	.	.	.
SnDimasC	.	.	.	.	.	.
SnDimasC	.	.	.	.	.	.
SihunchenB	.	.	.	.	.	.
SihunchenB	.	.	.	.	.	.
HoctunB	.	.	.	.	.	.
HoctunB	.	.	.	.	.	.
ChihuanG	.	.	.	.	.	.
KabahchenI	.	.	.	.	.	.
KabahchenH	.	.	.	.	.	.
CuxtalB	.	.	.	.	.	.
NohchenB	.	.	.	.	.	.
NohchenC	.	.	.	.	.	.
TzaitzaJ	.	.	.	.	.	.
TzaitzaJ	.	.	.	.	.	.
TzabNahK	.	.	.	.	.	.
TzabNahC	.	.	.	.	.	.
TelquilloL	.	.	.	.	.	.
Mmalayanum	.TT...C.	CA.....	.....	.AG.A...	C.....T.C	.....CT.

	430	440	450	460	470	480
RuinAsA	TCTTGCA TGA	CACCTACTAC	GTAGTGGCCC	ACTTCCA CTA	TGTCCTGTCC	ATAGGAGCCC
RuinAsB	.	.	.	.	.	.
StoDomingoC	.	.	.	.	.	.
StoDomingoB	.	.	.	.	.	.
PtaLagunaD	.	.	.	.	.	.
NohAktunE	.	.	.	.	.	.
NohAktunF	.	.	.	.	.	.
SnDimasC	.	.	.	.	.	.
SnDimasC	.	.	.	.	.	.
SihunchenB	.	.	.	.	.	.
SihunchenB	.	.	.	.	.	.
HoctunB	.	.	.	.	.	.
HoctunB	.	.	.	.	.	.
ChihuanG	.	.	.	.	.	.
KabahchenI	.	.	.	.	.	T.
KabahchenH	.	.	.	.	.	.
CuxtalB	.	.	.	.	.	.
NohchenB	.	.	.	.	.	.
NohchenC	.	.	.	.	.	.
TzaitzaJ	.	.	.	.	.	T.
TzaitzaJ	.	.	.	.	.	T.
TzabNahK	.	.	.	.	.	.
TzabNahC	.	.	.	.	.	.
TelquilloL	.	.	.	.	.	.
Mmalayanum	.C.C.C.	.....	.....	.....	C.T...A	.....G.

		490		500		510		520		530		540	
RuinasA	TCTTCGGAAT		TTTCGCAGGC		ATCGCCCACT		GATTCCCACT		ATTCTCCGGA		GTAACCATAA		
RuinasB	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
StoDomingoC	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
StoDomingoB	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
PtaLagunaD	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
NohAktunE	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
NohAktunF	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	
SnDimasC	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
SnDimasC	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
SihunchenB	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
SihunchenB	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
HoctunB	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
HoctunB	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
ChihuanG	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
KabahchenI	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	
KabahchenH	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	
CuxtalB	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
NohchenB	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
NohchenC	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
TzaitzaJ	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
TzaitzaJ	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
TzabNahK	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
TzabNahC	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
TelquilloL	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
Mmalayanum	. A . . . . .		C . . T . . . . .		A . . . . .		T . . . . .		CT . . . . .		G . . . A . A . . . .		C . . T . TC . T .

		550		560		570		580		590		600
RuinasA	ACCCAAAATG		ACTAAAAAAT		CATTTTATAG		CAACATTCAT		CAGAGTAAAC		CTAACATTCT	
RuinasB	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
StoDomingoC	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
StoDomingoB	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PtaLagunaD	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NohAktunE	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NohAktunF	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
SnDimasC	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
SnDimasC	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
SihunchenB	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
SihunchenB	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
HoctunB	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
HoctunB	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
ChihuanG	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
KabahchenI	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
KabahchenH	.	.	.	.	.	.	C	.	.	G	.	.
CuxtalB	.	.	.	.	.	.	C	.	.	G	.	.
NohchenB	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NohchenC	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
TzaitzaJ	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
TzaitzaJ	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
TzabNahK	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
TzabNahC	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
TelquilloL	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Mmalayanum	. . . CC . . . . .		. . . . .		. . . . .		C . A . . T . T . . . . .		G . . . . T . . . . .		. . . . .	



	610	620	630	640	650	
RuinA	TCCCTCAACA	CTTCTTAGGT	CTTAATGGAA	TACCTCGCCG	ATACTCAGAC	TACC
RuinB	.	.	.	.	.	.
StoDom ingoC	.	.	.	.	.	.
StoDom ingoB	.	.	.	.	.	.
PtaLagunaD	.	.	.	.	.	.
NohAktunE	.	.	.	.	.	.
NohAktunF	.	.	A	.	.	.
SnDim as C	.	.	.	.	.	.
SnDim as C	.	.	.	.	.	.
SihunchenB	.	.	.	.	.	.
SihunchenB	.	.	.	.	.	.
HoctunB	.	.	.	.	.	.
HoctunB	.	.	.	.	.	.
ChihuanG	.	.	.	A	.	.
KabahchenI	.	.	.	A	.	.
KabahchenH	.	.	.	A	.	.
CuxtalB	.	.	.	.	.	.
NohchenB	.	.	.	.	.	.
NohchenC	.	.	.	.	.	.
TzaitzaJ	.	.	.	A	.	.
TzaitzaJ	.	.	.	A	.	.
TzabNahK	.	.	.	.	.	.
TzabNahC	.	.	.	.	.	.
TelquilloL	.	.	.	.	.	.
Mmalayanum	.	C	.	.	.	.

## APÉNCIDE 2

Alineamiento de una porción del gen 16S de diferentes especies de la subfamilia Palaemoninae. Misma base que Ruinas (-), deleción o inserción (-).

	10	20	30	40	50	60
<b>C.morleyi</b>	CGCGGTAGTT	TAACCGTGCG	AAGGTAGCGT	AGTAATTTGT	CTTTTAATTG	AAGGCTTGAA
<b>C.luscus</b>	.....A..	.G.....	.....A..	...C.G.A..	.....	.....
<b>C.villalobosi</b>	.....	.....	.....A..	.A.C.G.A..	.....	.....
<b>M.acanthurus</b>	.....	.....	.....A..	...C.G.A..	.....	G.....
<b>M.intermedium</b>	T.....A..	.G.....A	.....A..	.A...G.A..	.....	.....T..
<b>M.tenellum</b>	.....	.....	.....A..	...C.G.A..	.....	G.....
<b>M.tuxtlaense</b>	.....	.....	.....A..	.A.C.G.A..	.....	.....
<b>M.rosenbergiiAus</b>	.....A..	.G.....	.....A..	...C.G.A..	.....	G.....
<b>M.rosenbergiiTai</b>	.....A..	.G.....	.....A..	...C.G.A..	.....	G.....
<b>N.nahuatlus</b>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<b>P.northropi</b>	T.....A..	.G.....A	.....A..	.A.C.G.A..	...C.....	.....T..
<b>P.longirostris</b>	T.....A..	.G.....A	.....A..	.A.C.G.A..	.....	.....
<b>P.pandaliformis</b>	.....A..	.G.....	.....A..	...G.A..	.....	...A.....
<b>P.ritteri</b>	T.....A..	.G.....A	.....A..	...C.G.A..	...C.....	T.....G...
<b>P.serenus</b>	T.....A..	.G.....A	.....A..	.A.C.G.A..	.....	.....T..
<b>P.atrinubes</b>	T.....A..	.G.....A	.....A..	.A.C.G.A..	.....	.....G...
<b>P.australis</b>	T.....A..	.G.....A	.....A..	.A...G.A..	.....	.....T..
<b>P.kadiakensis</b>	T.....A..	.G.....A	.....A..	.A.C.G.A..	.....	.....T..
<b>P.chryseus</b>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<b>T.tamaulipensis</b>	T.....A..	.G.....	.....A..	.A.C.A.A.C	...C...G...	GG.....
<b>Paratya</b>	.....TC.	G.....T	.....A..	.A.C.A.A..	...C.....	GG.T..A...

	70	80	90	100	110	120
<b>C.morleyi</b>	TGAACGGTCG	GATGAGATGT	AAACTGTCTT	TCTTGTAATG	AA-A--GAAT	TTAACTTTTG
<b>C.luscus</b>	...T...T..	...C...A..	...G.....C	...T...A..TA	TT-T--	.....A
<b>C.villalobosi</b>	...T...T..	...C...G..	...G.....C	...T...A...TAA	T-TT--	.....A
<b>M.acanthurus</b>	...T...T..	...C...GAC	...G.....C	C...A...GTAA	GTT---C	.....
<b>M.intermedium</b>	...T...T..	...GGAA	...G.....C	...G.C--A	TCT--A...	...G.....A
<b>M.tenellum</b>	...T...T..	...C...GAC	...G.....C	CT.GA.GTA	TCTT--	.....
<b>M.tuxtlaense</b>	...T...T..	...C...A..	...G.....C	...T...A...TAA	TT-T--	.....A
<b>M.rosenbergiiAus</b>	...T...T..	...C...GAA	...G.....C	CT...ACGG..	T-TT--	.....
<b>M.rosenbergiiTai</b>	...T...T..	...C...GGA	...G.....C	CT.A.CGGC.	T-TT--	.....
<b>N.nahuatlus</b>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<b>P.northropi</b>	...T...T..	...A.GAA	.....	...T...A...-A	TTT--A...	...G.....A
<b>P.longirostris</b>	...T...T..	...A.GAA	T.T...C	...T.AA...-A	TTT--A...	...G.....A
<b>P.pandaliformis</b>	...T...T..	...G..	...GG.....	...T.AA...-A	TTT.TAA...	.....A
<b>P.ritteri</b>	...T...CT.	...A.GAG	TG.....C	...TAAT...AA	TG---A...	...G.....
<b>P.serenus</b>	...T...T..	...GGAA	...G.....C	...T...A...-A	CCT--A..C	...G.....A
<b>P.atrinubes</b>	...T...CT.	...GGAA	...G.....C	...TCC...--	GCA--A..C	...G.....A
<b>P.australis</b>	...T...T..	...GGAA	...G.....C	...AC...-A	TTT--A..C	...G.....A
<b>P.kadiakensis</b>	...T...T..	A...A.GAG	...G.....C	...T...AC...-A	TTT--A...	.....A
<b>P.chryseus</b>	...T...T..	...C...A..	...G.....C	...T...A...TAA	TT-T--	.....A
<b>T.tamaulipensis</b>	...T...T..	...C...G.A	...TT.....C	...TCAA...T..	TG-T--	.....A
<b>Paratya</b>	...T...T..	...C.A.GA	T.G.....	GTG...AA	T---T..C	...T.....A

	130	140	150	160	170	180
<b>C.morleyi</b>	AGTGAAAAGG	CTCAGATATA	ATAAAGGGAC	GATAAGACCC	TATAAAGCTT	TATGTGGGCT
<b>C.luscus</b>	.....	.T.A..TAT	T...T....	.....	.....A...	A..A.AA.T.
<b>C.villalobosi</b>	.....	.T.A..TGT	T..GT....	.....	.....A...	G..A.AA.T.
<b>M.acanthurus</b>	.....	..A..T.T	T..G....	.....	.....A...	G..A.T..T.
<b>M.intermedium</b>	.....	.T.A..A.	..GT....	.....	.....A...	..CA..T.G.
<b>M.tenellum</b>	.....	.T.A..T.T	C..GG....	.....	.....A...	A..A.CAAT.
<b>M.tuxtlaense</b>	.....	.T.A..TGT	T..GT....	.....	.....A...	G..A.AA.T.
<b>M.rosenbergiiAus</b>	.....	..A..TGT	C.GGG....	.....	.....A...	G..A.AAATT.
<b>M.rosenbergiiTai</b>	.....	..A..TGT	T..GG....	.....	.....A...	A..A.AAATT.
<b>N.nahuatlus</b>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<b>P.northropi</b>	.....	.T.A..T..	..G....	.....	.....A...	..ACTCTT.
<b>P.longirostris</b>	.....	.T.A..T..	..GG....	.....	.....A...	..A.ATAAA
<b>P.pandaliformis</b>	.....	.T.A..TA.	C..G....	.....	.....A...	C.CA..AAAC
<b>P.ritteri</b>	.....	.T.A...GT	T.G.G....	.....	.....A...	A..A.A.AGC
<b>P.serenus</b>	.....	.T.A...GT	G..GT....	.....	.....A...	..A..TTGC
<b>P.atrinubes</b>	.....	.T.A..G..	G..GT....	.....	.....A...	..A..ACTC
<b>P.australis</b>	.....	.T.A...AC	G..GT....	.....	.....A...	..A..TCG.
<b>P.kadiakensis</b>	.....	.T.A..T..	T...T....	.....	.....A...	..A..TAA.
<b>P.chryseus</b>	.....	.T.A..TGT	T..GT....	.....	.....A...	G..A.AA.T.
<b>T.tamaulipensis</b>	.....	.T.A..T.G	T.GGG....	.....	.....A...	..A.AAA..
<b>Paratya</b>	.....	.T.A..CC.	..G....	.....	..G....	A...AAAT.

	190	200	210	220	230	240
<b>C.morleyi</b>	G---TGCTA-	-TAGAGTGAA	TTAAGGTTAA	GTTT-----T	TGATGATGTC	CACATTTTCGT
<b>C.luscus</b>	----AG.T-	TA.TTTGTG.	.T.A..G..	.A-GC-AAT.	.TG.T.AA.T	T.T...T..
<b>C.villalobosi</b>	----AA.T-	TA.TTTGTG.	.T.A..G..	.A-GC-GAT.	.TG.TGAA.T	T.T...T..
<b>M.acanthurus</b>	----AGC-	TG.TTTGCG.	.TTA..G..	AA-GT-AGT.	.TG.TTGA..	T.T...T..
<b>M.intermedium</b>	T---CA..T-	T.TTTTAA..	.TTAA....	AC---TGGA	AAG..T.C.T	.TG...T..
<b>M.tenellum</b>	----G.T-	TG.TTTGCG.	.TTA..G..	AA-GT-AGTC	GTGCTTGACT	G.T...T..
<b>M.tuxtlaense</b>	----AA.T-	TA.TTTGTG.	.T.A..G..	.A-AC-AAT.	.TG.T.AA.T	T.T...T..
<b>M.rosenbergiiAus</b>	----GAG.T-	TA.CTTGCG.	.GTGA..G..	AA-GT-AGT.	CTG.TCG..T	T.T...T..
<b>M.rosenbergiiTai</b>	----A.GCT-	TA.CTTGCG.	.GTG..G..	AA-GT-AGT.	.TG.CTG..T	T.T...T..
<b>N.nahuatlus</b>	.....	..SC...	.....	ACC-----	.....	..M.
<b>P.northropi</b>	A---A..T-	T..CT....	.TTAAG...	A.A---GGG.	AAG..TA..G	AGT...TA.
<b>P.longirostris</b>	----ATAT-	AATCTT.A.	.TAT.A..	A.AC--TGA.	AA..TC.TAA	T.T...T..
<b>P.pandaliformis</b>	----TG...-	G.-TTA..G.	.CTT.T...	TG.A--ATT.	CAGC.T--T	TTTG...T..
<b>P.ritteri</b>	T---GA..T-	TAGTTT.A..	.TTAAAAT.	AAA--TGTA	AAG.A.AC.T	T.T...T..
<b>P.serenus</b>	C---...T-	T.T.TTAA..	.CTACC...	AA---TGAA	AAGCAC.C.A	.T...T..
<b>P.atrinubes</b>	---AAA.CA	T.TTTTAA..	.CTTAA....	A---TAAA	A...TTC.CT	.T...T..
<b>P.australis</b>	T---...T-	T.TCTTAA..	.TTATG...	AC---TGAG	AAGCAT.TCT	.T...T..
<b>P.kadiakensis</b>	A---.AT.T-	TATTTT...	.TTT.A..	A.A---TGT.	.A...T.T.A	.T...T..
<b>P.chryseus</b>	----AA.T-	TA.TTTGTG.	.T.A..G..	.A-GC-AAT.	.TG.T.AA..	T.T...T..
<b>T.tamaulipensis</b>	----.G.-	TGGTT.GT..	.GTA..G..	A.-ACGAGC.	.T..TTG..T	T.T...A...
<b>Paratya</b>	ATTT.AAAG-	TA.CTT.A..	.A.TT.GGTG	T...-ATT.	.T..A...T	T...GT.C

	250	260	270	280	290	300
<b>C.morleyi</b>	TGGGGAGACG	GAGATATAAT	AGGTAACGT	CTTGGAA - - A	TTTTATAGGT	GTTTTTAGAG
<b>C.luscus</b>	GT	T	A	GT	-ATTGA-	A
<b>C.villalobosi</b>	T	T	A	GT	-ATTGA-	A
<b>M.acanthurus</b>	T	A	A	TT	-ATTTA-	A
<b>M.intermedium</b>	A	TT	C	TT	-AA.TAA	ACA
<b>M.tenellum</b>	T	A	A	TT	-ATTTA-	CA
<b>M.tuxtlaense</b>	T	T	A	TA	-ATT.A-	A
<b>M.rosenbergiiAus</b>	T	A	GT	TTTA	AA	T
<b>M.rosenbergiiTai</b>	T	A	GA	-AT.A-	CA	T
<b>N.nahuatlus</b>		W				
<b>P.northropi</b>	TA	TC	G	TTA	AGGAA	AAA
<b>P.longirostris</b>		TT	TT	AGTGA	AAA	AC
<b>P.pandaliformis</b>	C	A	TG	A	A	-
<b>P.ritteri</b>	A	TT	G	TA	TTAA	-A
<b>P.serenus</b>	A	TT	A	TT	AA.TAA	AAA
<b>P.atrinubes</b>	A	TT	T	ATTGA	AAA	T
<b>P.australis</b>	A	TT	G	CT	AA.TAA	A
<b>P.kadiakensis</b>		TT	C	A	T	AA.TAA
<b>P.chryseus</b>	T	T	A	TA	-ATTGA-	A
<b>T.tamaulipensis</b>		AT	TT	TTA	T	TTA
<b>Paratya</b>	C	G	T	TA	TT	TA

	310	320	330	340	350	360
<b>C.morleyi</b>	- - - AGTGATC	CTTCT - TTGG	GGATTTATAG	AAA - AAGTTA	CTTTAGGGAT	AACAGCGTGA
<b>C.luscus</b>	- - - TT	- G	AGA	GT		
<b>C.villalobosi</b>	- - - TT	- G	A	A	G	
<b>M.acanthurus</b>	- - - TT	T	T	A	G	
<b>M.intermedium</b>	- - - TT	T	AA	A	T	A
<b>M.tenellum</b>	- - - T	T	A	G	GT	
<b>M.tuxtlaense</b>	- - - TT	TG	AGG	T		
<b>M.rosenbergiiAus</b>	- - - TT	A	AGA	TT		
<b>M.rosenbergiiTai</b>	- - - TT	C	AGG	T		
<b>N.nahuatlus</b>						
<b>P.northropi</b>	- - - TT	R	G	AA	A	T
<b>P.longirostris</b>	- - - TT	T	G	ATA	T	A
<b>P.pandaliformis</b>	- - - T	TA	AA	A	A	T
<b>P.ritteri</b>	- - - TT	T	AGA	T		
<b>P.serenus</b>	- - - TC	T	AA	A	T	
<b>P.atrinubes</b>	- - - TT	G	AA	A	T	A
<b>P.australis</b>	- - - TT	T	AA	A	T	A
<b>P.kadiakensis</b>	- - - TT	T	AA	A	T	A
<b>P.chryseus</b>	- - - WT	G	AGG	T		
<b>T.tamaulipensis</b>	- - - TT	TA	G	AT	T	GGA
<b>Paratya</b>	AA	AT	T	AC	A	TTT

	370	380	390	400	410	420
<b>C.morleyi</b>	TTTTTCTCTG	AGAGTTCTTA	TCGACGAGAG	TAGTCGCGAC	CTCGATGTTG	AATTAAGTT
<b>C.luscus</b>	. . . . C . . . .	. . . . .	. . . . . AG . . . .	. . . . . T . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . .
<b>C.villalobosi</b>	. . . . C . . . .	. . . . .	. . . . . AG . . . .	. . . . . T . . . .	. . . . .	. . . . .
<b>M.acanthurus</b>	. . . . .	. . . . .	. . . . . AGA . . . .	. . . . . T . . . .	. . . . .	. . . . .
<b>M.intermedium</b>	. . . . TC . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . . A . . . .	. . . . . T . . . .	. . . . .	. . . . . AC . . . .
<b>M.tenellum</b>	. . . . C . . . .	. . . . .	. . . . . AG . . . .	. . . . . T . . . .	. . . . .	. . . . .
<b>M.tuxtlaense</b>	. . . . C . . . .	. . . . .	. . . . . AG . . . .	. . . . . T . . . .	. . . . .	. . . . .
<b>M.rosenbergiiAus</b>	. . . . CT . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . .	. . . . . T . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . .
<b>M.rosenbergiiTai</b>	. . . . CT . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . .	. . . . . T . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . .
<b>N.nahuatlus</b>	. . . . .	. . . . . N . . . .	. . . . .	. . . . . N . . . .	. . . . . N . . . .	. . . . . R . . . .
<b>P.northropi</b>	. . . . .	. . . . .	. . . . .	. . . . .	. . . . .	. . . . .
<b>P.longirostris</b>	. . . . CTC - A . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . . T . . . .	. . . . . T . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . .
<b>P.pandaliformis</b>	. . . . .	. . . . .	. . . . . GA . . . .	. . . . . T . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . .
<b>P.ritteri</b>	. . . . TC . . . . A . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . . A . . . .	. . . . . T . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . .
<b>P.serenus</b>	. . . . TC . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . . A . . . .	. . . . . T . . . .	. . . . .	. . . . . AC . . . .
<b>P.atrinubes</b>	. . . . TC . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . . AGT . . . .	. . . . . T . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . .
<b>P.australis</b>	. . . . TC . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . . A . . . . A . . . .	. . . . . T . . . .	. . . . .	. . . . . AC . . . .
<b>P.kadiakensis</b>	. . . . TC . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . . A . . . .	. . . . . T . . . .	. . . . .	. . . . .
<b>P.chryseus</b>	. . . . C . . . .	. . . . .	. . . . . AG . . . .	. . . . . T . . . .	. . . . .	. . . . .
<b>T.tamaulipensis</b>	. . . . CT . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . .	. . . . . A . . . . T . . . . C . . . .	. . . . . C . . . .	. . . . . A . . . .
<b>Paratya</b>	. . . . C . . . .	. . . . . A . . . .	. . . . . AGA . . . .	. . . . . T . . . .	. . . . .	. . . . . A . . . .

	430	440	
<b>C.morleyi</b>	TCAGTTGGGT	GTAGTTGTTC	AACTAGTG
<b>C.luscus</b>	. . . T . . . C . . . A . . . .	. . . . . CC . . . . T . . . .	. . . G . . . G . . . A . . .
<b>C.villalobosi</b>	. . . . .	. . . . .	. . . . .
<b>M.acanthurus</b>	. . . . .	. . . . .	. . . . .
<b>M.intermedium</b>	. . . . . GCA . . . .	. . . . . CC . . . . C . . . . T . . . .	. . . GCTAG . . . .
<b>M.tenellum</b>	. . . . .	. . . . .	. . . . .
<b>M.tuxtlaense</b>	. . . . .	. . . . .	. . . . .
<b>M.rosenbergiiAus</b>	. . . . . C . . . . A . . . .	. . . . . CC . . . . T . . . .	. . . G . . . G . . . .
<b>M.rosenbergiiTai</b>	. . . . . C . . . . A . . . .	. . . . . CC . . . . T . . . .	. . . G . . . G . . . .
<b>N.nahuatlus</b>	. . . . . R . . . .	. . . . .	. . . . .
<b>P.northropi</b>	. . . . .	. . . . .	. . . . .
<b>P.longirostris</b>	. . . . . A . . . .	. . . . . CC . . . . C . . . . T . . . .	. . . G . . . . . . . . . A . . . .
<b>P.pandaliformis</b>	. . . G . . . . A . . . .	. . . . . CC . . . . C . . . . T . . . .	. . . T . . . . . . . . .
<b>P.ritteri</b>	. . . TT . . . . A . . . .	. . . . . CC . . . . C . . . . T . . . .	. . . A . . . . GA . . . .
<b>P.serenus</b>	. . . CTACA . . . .	. . . . . CA . . . . C . . . . T . . . .	. . . TTAG . CA . . . .
<b>P.atrinubes</b>	. . . T . G . A . . . .	. . . . . CC . . . . C . . . . T . . . .	. . . CTA . . . . A . . . .
<b>P.australis</b>	. . . AG . A . . . .	. . . . . CC . . . . C . . . . T . . . .	. . . GCTG . . . . A . . . .
<b>P.kadiakensis</b>	. . . A . CA . . . .	. . . . . C . . . . CT . . . .	. . . G . T . . . . A . . . .
<b>P.chryseus</b>	. . . . .	. . . . .	. . . . .
<b>T.tamaulipensis</b>	. . . AC . A . . . . C . . . .	. . . A . . . . C . . . . C . . . . T . . . .	. . . N . . . G . . . G . . .
<b>Paratya</b>	. . . T . AA . . . .	. . . . . GA . AAT . . . .	. . . T . A . . . . . . . . .

## Allometric Growth in *Creaseria morleyi* (Creaser, 1936) (Decapoda: Palaemonidae), from the Yucatan Peninsula, Mexico

ALEJANDRO BOTELLO AND FERNANDO ALVAREZ\*

Colección Nacional de Crustáceos, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-153, México 04510, D.F., México. \*Corresponding author: falvarez@servidor.unam.mx

**ABSTRACT.**—The palaemonid shrimp *Creaseria morleyi* is widely distributed along the northern portion of the Yucatan Peninsula inhabiting submerged cave systems. A high degree of morphological variation is evident in the shape of the carapace and the relative lengths of the first two pereiopods in the larger organisms. In order to find an explanation for these changes in taxonomically important characters, a morphometric analysis was undertaken. Several body parts as well as individual articles of the first and second pereiopods were measured for a total of 24 variables. The equation  $Y = aX^b$ , was used to calculate the divergence from isometry in relation to carapace length. Males ranged in total length from 31.6 to 49.3 mm and females from 31.8 to 65.6 mm. For males, all regressions considering body variables showed negative allometry, except for gonopod length. For females, the only variable showing positive allometry was carapace width, suggesting that as females increase in size the carapace becomes wider than longer. Regarding the first pereiopod, almost all variables showed negative allometry; males and females did not differ markedly in this respect. For the second pereiopod, males showed negative allometry; however, for females, chela related dimensions exhibited positive allometric growth, consistent with the diverging morphology of the larger females. Regressions for males and females were significantly different describing a sexual dimorphism. Graphic representations of the tendencies show that significant changes in the morphology, or in the level of allometry, occur in females at sizes between 46 and 60 mm of total length.

**KEYWORDS.**—*Creaseria morleyi*, Palaemonidae, allometric growth, cave fauna

### INTRODUCTION

The karstic nature of the Yucatan Peninsula promotes the formation of submerged cave systems and sinkholes locally known as cenotes (Reddell 1981). These environments are inhabited by an endemic biota composed of teleostean fishes and crustaceans; with the latter group being dominant both in terms of number of taxonomic groups and individuals present (Wilkens 1982). Among crustaceans, decapods are the more abundant and diverse with seven genera and ten species (Ilfie 1993).

The palaemonid shrimp *Creaseria morleyi* (Creaser, 1936), represents a monotypic genus closely related to *Palaemon*, characterized by the presence of antennal and branchiostegal spines, the absence of a branchiostegal groove, a two-jointed mandibular palp, reduced eyes, and unpig-

mented eyes and body (Holthuis 1952). In contrast with most other cave adapted species, whose distribution range is reduced to one or a few localities (Holthuis 1986; Villalobos et al. 1999), *C. morleyi* is widely distributed along the northern portion of the Yucatan Peninsula; until 1983 it was known from 46 sites (Reddell 1981; Pérez-Aranda 1983a).

This endemic shrimp was originally described as *Palaemon morleyi* (Creaser, 1936) based on a type series composed of eight organisms, among which the holotype had a total length (TL) of 33.5 mm. The genus *Creaseria* was proposed by Holthuis (1952), who examined females that measured up to 42 mm TL. In these two studies, as well as in several later ones, a certain degree of morphological variation was reported among adult females measuring between 35 and 60 mm TL, in the relative length of the appendix masculina of males, and in the shape and number of teeth on the ros-

---

ms. received January 31, 2006; accepted April 4, 2006

trum in both sexes (Hobbs and Hobbs 1976; Hobbs et al. 1977; Hobbs 1979; Pérez-Aranda 1983a). During recent sampling trips conducted throughout the Yucatan Peninsula, males of up to 44 mm TL and females of up to 66 mm TL were captured. A high degree of morphological variation was evident in the larger organisms, mainly in the shape of the carapace and the relative lengths of the articles of the first two pereopods (Fig. 1). Further, important differences emerged with respect to the figures that appear in Hobbs and Hobbs (1976, fig. 8) and Hobbs et al. (1977, fig. 19) which had been commonly used to identify the species. This situation becomes relevant if we consider that the morphology of the first two pereopods, together with the shape and number of teeth on the rostrum are the two most important taxonomic characters to differentiate among species in the family Palaemonidae (Holthuis 1952; Mejía et al. 2003; Walker and Poore 2003).

In order to find an explanation for the noticeable changes in proportions of the several regions and appendages in *C. morleyi*, a morphometric analysis was undertaken. Previous studies with palaemonid shrimps have extensively used allometric or relative growth to define the change in shape and proportion that takes place gradually over a series of molts (Hartnoll 1982; Román-Contreras and Campos-Lince 1993; Cartaxana 2003; Mossolin and Bueno 2003; Mariappan and Balasundaram 2004).

Sometimes an abrupt change in shape and proportion occurs at a single molt, frequently called puberty molt, separating the last juvenile stage from the first sexually mature one (Hartnoll 1985).

The aim of this study was to explore if an abrupt increment in size and proportion of the different body parts, based on allometric growth, could be used to explain the presence of two different morphologies in the freshwater shrimp *C. morleyi* from the Yucatan Peninsula. We found that important differences in the allometric growth of the second pereopod are evident, particularly in females where significant changes in the morphology occur at sizes between 46 and 60 mm TL.

#### MATERIALS AND METHODS

Fifty-nine *Creaseria morleyi* (20 males and 39 females), deposited in the Colección Nacional de Crustáceos (CNCR), Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, were studied from 17 different localities in the Yucatan Peninsula: 1, Pozo Chaak (20°21'36"N, 89°45'36"W; 1 male, CNCR 1640; Aug 27, 1992); 2, Cenote de Sihunchen (20°41'40"N, 89°40'44"W; 6 males, 2 females, CNCR 22733, 22734, 22738; May 3, 2004); 3, Cenote de San Isidro (20°7'64"N, 89°37'18"W; 3 females, CNCR 318, 320; Jun 15, 1938); 4, Cenote Cuxtal (20°47'19"N, 89°35'26"W; 1 male, 6 females, CNCR 22720; Jul 21, 2003); 5, Cenote Noh-

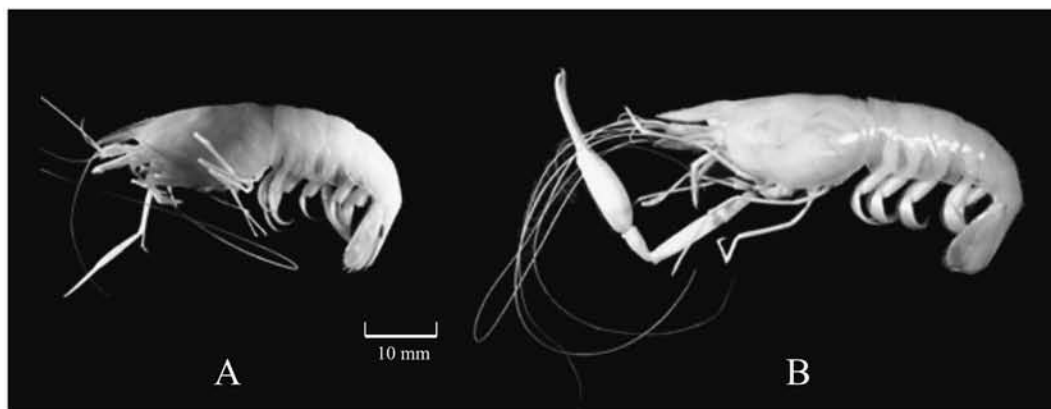


FIG. 1. *Creaseria morleyi* females: A, female with small second pereopod; B, female with large second pereopod. Scale bar represent 10 mm.

chen (20°29'51"N, 89°35'20"W; 2 females, CNCR 22722, 24621; May 1, 2004); 6, Grutas de Tzab-Nah (20°43'49"N, 89°28'28"W; 3 males, 4 females, CNCR 12579, 22717, 22725, 22726, 22736; Jul 29, 2003); 7, Cenote Tza-Itza (20°43'49"N, 89°27'57"W; 1 male, 2 females, CNCR 22724, 22729; Dec 4, 2003); 8, Cenote Kabahchen (20°23'14"N, 89°23'43"W; 2 females, CNCR 22718, 24620; Jul 29, 2003); 9, Cenote de Hochtun (20°51'23"N, 89°11'44"W; 1 male, 3 females, CNCR 22716, 22721, 22723, 22732; May 5, 2004); 10, Cenote de Santo Domingo (19°46'07"N, 88°40'04"W; 3 males, 6 females, CNCR 22735; Aug 7, 2004); 11, Cenote de Las Ruinas (19°37'46"N, 88°33'07"W; 2 males, 2 females, CNCR 22728, 24611, 24612; Aug 7, 2004); 12, Grutas de Balancanche (20°39'31"N, 88°32'05"W; 1 female, CNCR 319; Jun 15, 1938); 13, Cueva Chac Mol (20°38'47"N, 88°24'53"W; 1 female, CNCR 330; Jun 15, 1938); 14, Cueva de Punta Laguna (20°38'47"N, 87°38'23"W; 1 female, CNCR 24616; Dec 9, 2003); 15, Noh Aktun (20°23'36"N, 87°37'01"W; 2 males, CNCR 24617; Dec 7, 2003); 16, Cueva de San Dimas (20°22'13"N, 87°35'17"W; 3 females, CNCR 22727, 24618, 24619; Dec 7, 2003); 17, Cenote Hoil (20°21'24"N, 87°19'70"W; 1 male, CNCR 22725; Feb 12, 2004) (Fig. 2).

Total length (TL), cephalothoracic length

(CFL), rostrum length (RL), caparace length (CL), caparace width (CW), abdomen length (AL), abdomen width (AW), telson length (TL), total length of the appendage as well as length of the five individual articles of the first and second pereopods, and gonopod length (GL) in the case of males, were measured with a caliper or with a stereomicroscope fitted with an ocular micrometer (0.01 mm) (Fig 3).

Due to the sexual dimorphism exhibited by adults of *C. morleyi*, males and females were analyzed separately. Since the rostrum can be very variable in shape and length, carapace length (CL, Fig. 3) was used as the main independent variable in the regression analysis (Mariappan and Balasundaram 2004).

The equation  $Y = aX^b$ , was used to obtain the relationships between CL and the remaining variables. In its linear form,  $\log y = \log a + b X$ , where a slope = 1 denotes isometric growth, slope > 1 is positive allometric growth, and slope < 1 is negative allometric growth (Hartnoll 1982). The data were log transformed before computing the regression equations (Sokal and Rohlf 1995). Divergences from isometry on the slope values were tested with a Student's *t*-test ( $\alpha = 0.05$ ). Analysis of covariance was used to test for significant differences in slopes between sexes (Zar 1999).

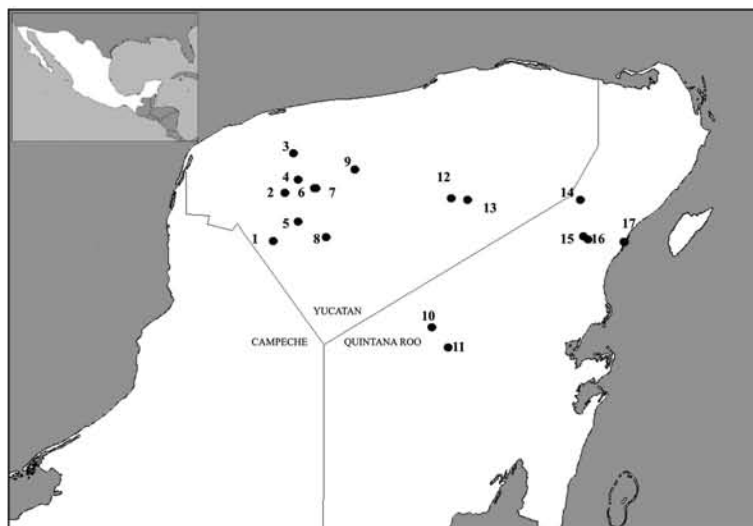


FIG. 2. Map of the Yucatan Peninsula, Mexico, indicating the sites where *Creaseria morleyi* were collected.



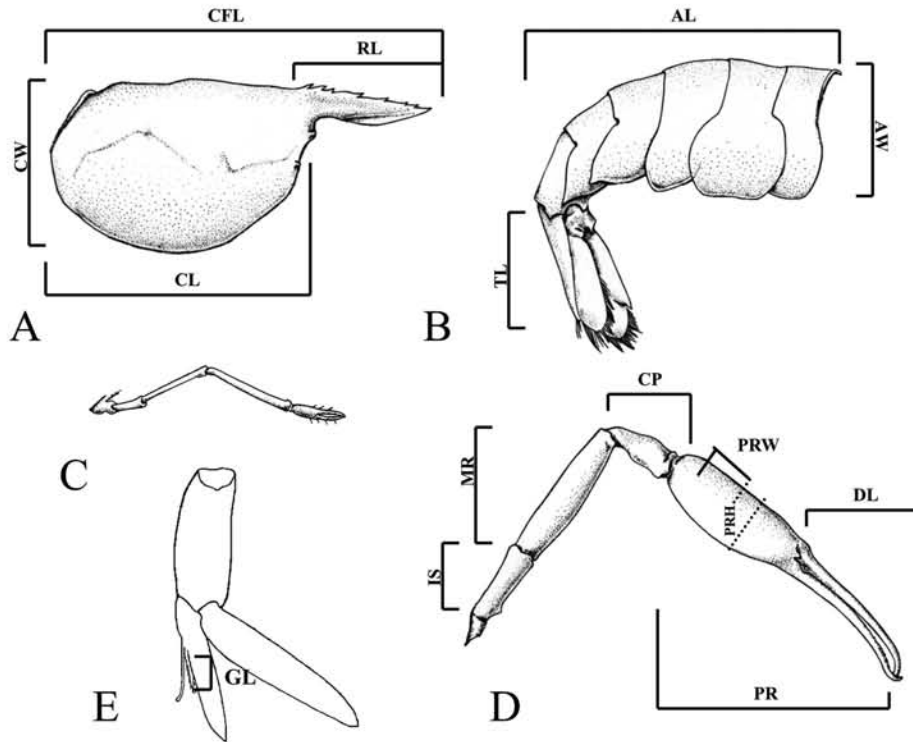


FIG. 3. *Creaseria morleyi*, schematic drawings of the body parts measured. A, cephalothorax: CFL, cephalothoracic length; CL, carapace length; CW, carapace width; RL, rostrum length. B, abdomen and telson: AL, abdomen length; AW, abdomen width; TL, telson length. C and D, first and second pereopods: IS, ischium length; MR, merus length; CP, carpus length; PR, propodus length; PRW, propodus width; PRH, propodus height; DL, dactylus length. E, second pleopod: GL, gonopod length.

With the purpose of describing the relative growth of the first two pairs of pereopods and determining the size at which significant changes in their proportions occur, females of *C. morleyi* were classified as having small or large pereopods, as seen in Figure 1. To graphically analyze the tendencies, total length was plotted against the length of the different pereopodal articles; least squares estimates were used to illustrate the relationships. All data were treated with the NCSST statistical package (Hintze 2004).

## RESULTS

Twenty males and 39 females were included in the analysis; males ranged in total length from 31.6 to 49.3 mm ( $\bar{x} = 39.9 \pm 1.2$  mm), and females from 31.8 to 65.6 mm ( $\bar{x} = 44.3 \pm 1.6$  mm). All regressions ob-

tained appear in Table 1, with CL being used as the independent variable in all cases. The regressions are divided into three sections: those involving cephalothorax, abdomen and telson, and gonopod length for males; those of the first pereopod; and those of the second pereopod. For males, all regressions considering body variables showed negative allometry, except for GL where positive allometry was obtained (Table 1). For females, similar results were obtained; however, the only variable showing positive allometry was CW, suggesting that as females increase in size the carapace becomes wider than longer (*t*-test,  $p < 0.05$ ) (Fig. 4).

Regarding the first pereopod, in males all variables show negative allometry except for the length of the carpus which exhibits positive allometry and propodus height with an isometric growth. Females

TABLE 1. Results from regression analyses of morphometric data of *Creaseria morleyi* with log-transformed data. Carapace length, CL was used as the independent variable. TL, total length; CFL, cephalothoracic length; RL, rostrum length; CW, carapace width; AL, abdomen length; AW, abdomen width; TL, telson length; GL, gonopod length; TP, total pereopod length; IS, ischium length; MR, merus length; CR, carpus length; PR, propodus length; PRW, propodus width; PRH, propodus height; DL, dactylus; 0, isometry; -, negative allometry; +, positive allometry; \*, statistically significant at  $p < 0.05$ ; ns, statistically not significant at  $p > 0.05$ ; \*\*\*, statistically significant at  $p < 0.05$ :  $F_{1,56} = 4.013$ .

Variable	Regression equation		$r^2$		t		Allometry		Comparison of slopes
	Males	Females	Male	Female	Male	Female	Male	Female	
Growth in relation to carapace length (CL)									
TL	$0.760 + 0.796 \log CL$	$0.768 + 0.788 \log CL$	0.895	0.909	12.371*	18.997*	-	-	392.90***
CFL	$0.377 + 0.817 \log CL$	$0.307 + 0.873 \log CL$	0.891	0.824	12.098*	13.001*	-	-	149.08***
RL	$0.124 + 0.699 \log CL$	$0.148 + 0.673 \log CL$	0.623	0.840	5.458*	13.171*	-	-	115.28***
CW	$-0.127 + 0.902 \log CL$	$-0.313 + 1.072 \log CL$	0.896	0.932	12.441*	22.171*	-	+	350.94***
AL	$0.368 + 0.797 \log CL$	$0.387 + 0.777 \log CL$	0.767	0.828	7.701*	13.169*	-	-	139.97***
AW	$-0.192 + 0.912 \log CL$	$-0.180 + 0.907 \log CL$	0.739	0.923	7.143*	20.752*	-	-	237.80***
TL	$0.041 + 0.790 \log CL$	$0.043 + 0.714 \log CL$	0.644	0.868	5.546*	15.369*	-	-	131.98***
GL	$-1.596 + 1.492 \log CL$		0.671		6.064*		+		
First pereopod									
TP	$0.187 + 0.864 \log CL$	$0.223 + 0.830 \log CL$	0.879	0.938	11.117*	22.394*	-	-	377.67***
IS	$-0.419 + 0.686 \log CL$	$-0.548 + 0.806 \log CL$	0.521	0.759	4.296*	10.335*	-	-	66.92***
MR	$-0.426 + 0.952 \log CL$	$-0.341 + 0.874 \log CL$	0.859	0.923	10.471*	20.184*	-	-	321.88***
CR	$-0.670 + 1.165 \log CL$	$-0.507 + 1.014 \log CL$	0.831	0.902	9.416*	17.460*	+	+	253.09***
PR	$-0.135 + 0.582 \log CL$	$-0.091 + 0.545 \log CL$	0.813	0.850	8.841*	13.670*	-	-	167.15***
PRW	$-1.080 + 0.683 \log CL$	$-0.937 + 0.533 \log CL$	0.282	0.395	2.656*	4.640*	-	-	19.44***
PRH	$-1.664 + 1.371 \log CL$	$-0.911 + 0.579 \log CL$	0.117	0.578	1.545 <sup>ns</sup>	6.729*	0	-	10.41***
DL	$-0.401 + 0.660 \log CL$	$-0.379 + 0.615 \log CL$	0.367	0.684	3.232*	8.451*	-	-	43.87***
Second pereopod									
PD	$0.484 + 0.789 \log CL$	$0.356 + 0.954 \log CL$	0.588	0.744	3.777*	8.697*	-	-	39.62***
IS	$-0.287 + 0.724 \log CL$	$-0.426 + 0.872 \log CL$	0.734	0.781	5.255*	9.642*	-	-	52.34***
MR	$-0.033 + 0.749 \log CL$	$-0.168 + 0.918 \log CL$	0.512	0.748	3.237*	8.796*	-	-	37.60***
CR	$-0.262 + 0.711 \log CL$	$-0.319 + 0.777 \log CL$	0.532	0.883	3.369*	14.062*	-	-	73.19***
PR	$0.038 + 0.865 \log CL$	$-0.101 + 1.057 \log CL$	0.546	0.630	3.466*	6.782*	-	+	24.86***
PRW	$-0.723 + 0.675 \log CL$	$-1.188 + 1.211 \log CL$	0.260	0.688	1.876 <sup>ns</sup>	4.830	0	+	9.67***
PRH	$-0.671 + 0.665 \log CL$	$-1.216 + 1.277 \log CL$	0.375	0.521	2.451*	5.423*	-	+	11.88***
DL	$-0.331 + 1.002 \log CL$	$-0.335 + 1.066 \log CL$	0.528	0.606	3.346*	6.447*	+	+	24.69***

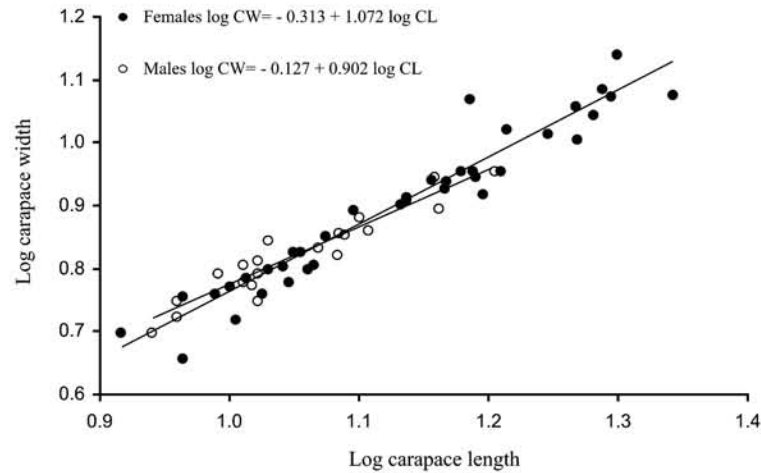


FIG. 4. Relationships between the carapace length and carapace width for males and females of *Creaseria morleyi* (log-transformed data).

show a similar pattern with all measurements exhibiting negative allometry except for carpus length, which is positive. In general terms, the first pereopod does not differ markedly between males and females, but there is an evident difference in the growth of the propodus and dactylus in females.

With respect to the second pereopod, dactylus length in males shows positive allometry and propodus height an isometric growth; the rest of the variables show negative allometry. For females, chela related dimensions such as propodus length, width and height, and dactylus length show a positive allometric growth, consistent with the diverging morphology of the larger females (Fig. 1). A closer inspection reveals that females with large chelae can be clearly separated from those with small chelae showing a noticeably different level of allometry (Fig. 5). The change in the relative proportions of the chela occurs at sizes ranging from 46.9 to 59.2 mm TL.

All regressions for males and females were significantly different (Fisher test, analysis of covariance; Table 1) describing a marked sexual dimorphism.

#### DISCUSSION

Although *Creaseria morleyi* is widely distributed across all the karstic areas of the Yucatan Peninsula and can be present in

remote and inaccessible sites, some of the populations mentioned in previous studies have not been found recently, and others have probably disappeared. An example of this situation is the several localities cited around the city of Merida (Pérez-Aranda 1983a). In addition to the shrinking habitat problem, cave environments in the Yucatan generally support small populations of aquatic animals due to their oligotrophic nature (Pérez-Aranda 1983b). Due to these two effects, *C. morleyi* is becoming rare and for the same reason, the number of organisms used for this analysis represents a uniquely large data set.

The sexual dimorphism seen in *C. morleyi* becomes more evident when the larger individuals are compared. Several species of *Palaemon*, which is closely related to *C. morleyi* (Holthuis 1952), show a similar pattern of sexual dimorphism; *Palaemon northropi* and *P. ritteri* females exhibit stronger and larger chelae on the second pereopod than males (Guerao et al. 1994; Cartaxana 2003; Kim 2005). In contrast, in the genus *Macrobrachium* adult males are larger than females and their second pereopods, traditionally used as diagnostic characters, are more developed (Anger and Moreira 1998; Mossolin and Bueno 2003; Mariappan and Balasundaram 2004).

The type of growth shown by *C. morleyi* in relation to total length indicates negative

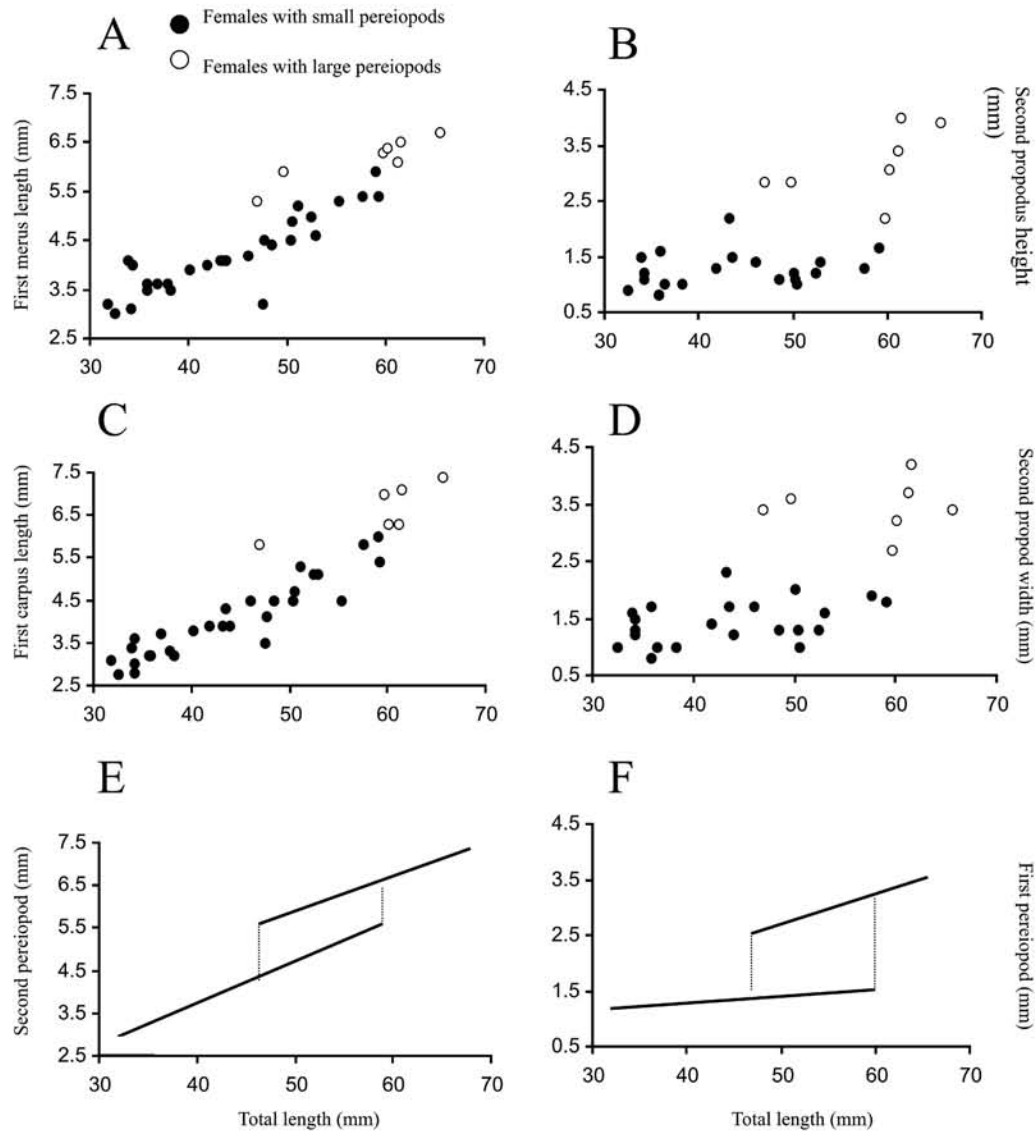


FIG. 5. Relationships between total length and several article lengths of the first and second pereiopods of females of *Creaseria morleyi*. A, total length vs. merus of first pereiopod length; B, total length vs. propodus of second pereiopod width; C, total length vs. carpus length of first pereiopod; D, total length vs. second propodus height; E, theoretical behavior of the growth of the first pereiopod; F, theoretical behavior of the growth of the second pereiopod. E and F calculated with the least squares method.

allometry, or that the carapace increases in length at a faster rate than total length. This pattern is also exhibited by other palaemonids such as *Palaemon northropi*, *P. pandaliformis*, *Macrobrachium acanthurus* and *M. olfersii* (Anger and Moreira 1998); in *P. longirostris*, however, males show a positive allometric growth (Cartaxana 2003).

In particular, the carapace of female *C. morleyi* tends to increase more in width than in length, a feature that is evident when the largest females are examined (Fig. 1). Another important feature of the largest females is the second pereiopod which changes dramatically, through what could be called a puberty molt (Hartnoll

1985) (Fig. 5). This increment in the size of the chela is similar to what happens in other decapod species with marked heterochely (Negreiros-Fransozo and Fransozo 2003; Mariappan and Balasundaram 2004).

Puberty molts as described by Hartnoll (1982; 1985) involve a change in the level of allometry, an interval during which the puberty molt can take place, and a mature morphology associated with reproduction. In the case of *C. morleyi*, the first two elements are clearly present when the lengths of various articles of the second pereopod are plotted against total length (Figs. 5a-d). However, since no reports of ovigerous *C. morleyi* exist, it remains somewhat speculative to call this a puberty molt. Puberty molts have been studied only occasionally in palaemonids; however, this has been observed in the cephalothorax of *Macrobrachium borellii* (Collins and Petriella 1999).

With the description of the significant change in morphology of the second pereopod of *C. morleyi* through allometric growth, we can conclude that all specimens belong to the same species. Graphic representations of the tendencies (Figs. 5e-f), show that significant changes in the morphology take place in females during a period of growth that occur between 46 mm and 60 TL.

*Acknowledgments.*—This study is part of the Ph.D. dissertation of the first author at the Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM. The first author thanks the support received through a graduate scholarship from Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT-167144) and from Dirección General de Estudios de Posgrado (DGEP), UNAM. We express our gratitude to the CONACYT-Texas A&M University Collaborative Research Grants Program for funding through the project "Studies on anchialine caves, the Ox Bel Ha system, Quintana Roo, Mexico". We thank: J.L. Villalobos, A. Celis, R. González, T. del Angel, and R. Mendoza, for their help during field work and sample processing; and L. Padilla for the drawings.

#### LITERATURE CITED

- Anger, K., and G. S. Moreira. 1998. Morphometric and reproductive traits of tropical caridean shrimps. *J. Crust. Biol.* 18(4):823-838.
- Cartaxana, A. 2003. Growth of the prawn *Palaemon longirostris* (Decapoda, Palaemonidae) in Mira river and estuary, SW Portugal. *J. Crust. Biol.* 23(2): 251-257.
- Collins, P., and A. Petriella. 1999. Growth pattern of isolated prawns of *Macrobrachium borellii* (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). *Invertebr. Reprod. Dev.* 36(1):87-91.
- Creaser, E. P. 1936. Crustaceans from Yucatan. In *Cenotes of Yucatan: A Zoological and Hydrographic Survey*, eds. A. S. Pearse, E. P. Creaser and F. G. Hall, 117-132. Washington: Carnegie Institution.
- Guerao, G., J. Pérez-Baquera and C. Ribera. 1994. Growth and reproductive biology of *Palaemon xiphias* Risso, 1816 (Decapoda: Caridea: Palaemonidae). *J. Crust. Biol.* 14(2):280-288.
- Hartnoll, R. G. 1982. Growth. In *The Biology of Crustacea: embryology, morphology and genetics*, ed. D. E. Bliss, 2:111-196. New York: Academic Press.
- Hartnoll, R. G. 1985. Growth, sexual maturity and reproductive output. In *Crustacean Issues: factors in adult growth*, ed. A. M. Wenner, 3:101-128. Rotterdam: A. A. Balkema.
- Hintze, J. 2004. NCSS and PASS: Number cruncher statistical systems. <http://www.ncss.com>. Kaysville, Utah.
- Hobbs III, H. H. 1979. Additional notes on cave shrimps (Crustacea, Atyidae and Palaemonidae) from the Yucatán Peninsula, México. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 92(3):618-633.
- Hobbs III, H. H., and H. H. Hobbs, Jr. 1976. On the troglobitic shrimps of the Yucatán Peninsula, Mexico (Decapoda, Atyidae and Palaemonidae). *Smithson. Contrib. Zool.* 240:1-23.
- Hobbs, Jr. H. H., H. H. Hobbs III, and M. A. Daniel. 1977. A review of the troglobitic decapod crustaceans of the Americas. *Smithson. Contrib. Zool.* 244: 1-183.
- Holthuis, L. B. 1952. A general revision of the Palaemonidae (Crustacea, Decapoda, Natantia) of the Americas. II. The subfamily Palaemonidae. *Allan Hancock Found. Publ., Occas. Pap.* 12:1-396.
- Holthuis, L. B. 1986. Decapoda. In *Stygofauna Mundi: A faunistic, distributional, and ecological synthesis of the world fauna inhabiting subterranean waters*, ed. L. Botosaneanu, 589-615. Amsterdam: Brill and Backhuys.
- Iliffe, T. M. 1993. Fauna troglobia acuática de la Península de Yucatán. In *Biodiversidad Marina y Costera de México*, eds. S. I. Salazar-Vallejo and E. González, 673-686. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad and Centro de Investigaciones de Quintana Roo.
- Kim, S. 2005. Population structure, growth, mortality, and size at sexual maturity of *Palaemon gravieri*

- (Decapoda: Caridea: Palaemonidae). *J. Crust. Biol.* 25(2):226-232.
- Mariappan, P., and C. Balasundaram. 2004. Studies on the morphometry of *Macrobrachium nobilii* (Decapoda, Palaemonidae). *Braz. arch. biol. technol.* 47(3): 441-449.
- Mejía, L. M., F. Alvarez, and R. G. Hartnoll. 2003. A new species of freshwater prawn, *Macrobrachium totonacum* (Decapoda, Palaemonidae), with abbreviated development from Mexico. *Crustaceana* 76(1):77-86.
- Mossolin, E. C., and S. L. S. Bueno. 2003. Relative growth of the second pereopod in *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann, 1836) (Decapoda, Palaemonidae). *Crustaceana* 76(3):363-376.
- Pérez-Aranda, L. 1983a. Palaemonidae: *Creaseria morleyi*. *Fauna de los Cenotes de Yucatán*. 1:1-11. Mérida: Universidad de Yucatán.
- Pérez-Aranda, L. 1983b. Atyidae: *Typhlatya pearsei*. *Fauna de los Cenotes de Yucatán*. 3:1-11. Mérida: Universidad de Yucatán.
- Negreiros-Fransozo, M. L., and V. Fransozo. 2003. A morphometric study of the mud crab, *Panopeus austrobesus* Williams, 1983 (Decapoda, Brachyura) from a subtropical mangrove in South America. *Crustaceana* 76(3):281-294.
- Reddell, J. R. 1981. *A review of the cavernicole fauna of Mexico, Guatemala, and Belize*. Texas: Texas Memorial Museum.
- Román-Contreras, R., and L. S. Campos-Lince. 1993. Aspectos reproductivos y aproximación a un modelo de crecimiento para una población de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) en el río Palizada, Campeche, México. *An. Inst. Cienc. Mar Limnol. Univ. Nac. Auton. Mex.* 20(1):78-96.
- Sokal, R. R., and F. J. Rohlf. 1995. *Biometry*. New York: W. H. Freeman and Company.
- Villalobos, J. L., F. Alvarez and T. M. Iliffe. 1999. New species of troglotic shrimps from Mexico, with the description of *Troglomexicanus*, new genus (Decapoda: palaemonidae). *J. Crust. Biol.* 19(1):111-122.
- Walker, T. M., and G. C. B. Poore. 2003. Rediagnosis of *Palaemon* and differentiation of southern Australian species (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). *Mem. Mus. Vict.* 60(2):243-256.
- Wilkins, H. 1982. Regressive evolution and phylogenetic age: the history of colonization of freshwaters of Yucatan by fish and crustacea. *Ass. Mex. Cave Stud. Bull.* 8:237-243.
- Zar, J. H. 1999. *Biostatistical Analysis*. 4rd ed. New Jersey: Prentice Hall.