

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**ECOLOGÍA FILOGENÉTICA DE LOS CANGREJOS VIOLINISTAS DEL  
GÉNERO *UCA* (LEACH, 1814) EN LA LAGUNA MADRE, TAMAULIPAS  
MÉXICO**

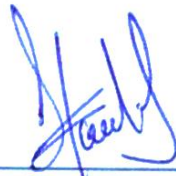
**POR  
BIÓL. ALEJANDRO GONZÁLEZ TREVIÑO**

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA  
EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN MANEJO DE VIDA  
SILVESTRE Y DESARROLLO SUSTENTABLE**

**A B R I L, 2 0 1 8**

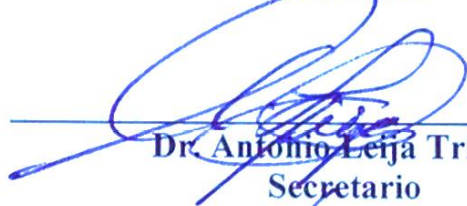
**ECOLOGÍA FILOGENÉTICA  
DE LOS CANGREJOS VIOLINISTAS  
DEL GÉNERO *UCA* (LEACH, 1814)  
EN LA LAGUNA MADRE, TAMAULIPAS MÉXICO.**

**Comité de Tesis**



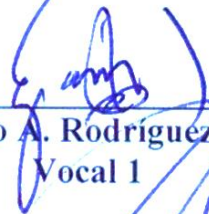
---

**Dra. Susana Favela Lara  
Presidente**



---

**Dr. Antonio Leija Tristán  
Secretario**



---

**Dr. Gabino A. Rodríguez Almaráz  
Vocal 1**



---

**Dr. Roberto Mendoza Alfaro  
Vocal 2**



---

**Dr. Alberto Valadez Lira  
Vocal 3**

**ECOLOGÍA FILOGENÉTICA  
DE LOS CANGREJOS VIOLINISTAS  
DEL GÉNERO *UCA* (LEACH, 1814)  
EN LA LAGUNA MADRE, TAMAULIPAS MÉXICO.**

**Director de Tesis**

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Susana Favela Lara', written over a horizontal line.

**Dra. Susana Favela Lara**

*“Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico: es también un niño situado ante fenómenos naturales que le impresionan como un cuento de hadas.”*

**Marie Skłodowska Curie (1867-1934)**

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente quiero agradecer al H. Comité de Tesis.

**Dra. Susana Favela Lara** quien confió en mis capacidades no solo para continuar con el camino de la ciencia, sino de formarme como profesionista e investigador. Me dio la oportunidad de continuar en el Laboratorio de Ecología Molecular, compartiendo con los demás mis limitados conocimientos, que me ayudó a crecer intelectualmente y como persona; también aportó de manera inconmensurable a mi formación como profesor al darme la oportunidad de impartir cátedra en algunos de sus grupos. Pero sobre todo ello, confió en mi como persona, como amigo y como colega, estoy tan agradecido con Usted Dra., por ayudarme a crecer en todos mis aspectos y empujarme aún más hacia este mundo de la investigación y la docencia que día a día creo más que es mi futuro. Quisiera algún día llegar a ser tan buena persona como Usted, tan buen investigador y compañero de trabajo. Gracias, gracias por todas sus enseñanzas y motivaciones, gracias por guiarme en las ciencias, gracias por ser mi amiga.

**Dr. Antonio Leija Tristán**, agradezco la gran pasión por la vida marina que transmitió en mí, por tantas salidas a campo, días de estrés y su dedicación por sacar las cosas adelante, muchas gracias por que en ningún momento me detuvo en mis ideas y objetivos, al contrario, buscó la manera en que se logaran. Muchas gracias Maestro por aportar tanto a mi formación profesional.

**Dr. Roberto Mendoza**, Las revisiones más difíciles y los comentarios más acertados los recibí de Usted, la elocuencia y exactitud de sus revisiones y de las pláticas tan amenas. He aprendido de Usted mucho más de lo que creí, porque no solo criticó de manera profesional mi trabajo de tesis, sino que buscó la forma ideal de sacarle el mayor provecho y me hizo ver todo mi potencial. No solo como parte de mi comité de tesis, sino también como Maestro, aprendí bastante de Usted, en lo personal uno de los mejores maestros que tuve en la carrera y en la maestría. Muchas gracias por todo Dr.

**Dr. Gabino Rodríguez**, desde la Licenciatura que he estado en contacto con Usted y fue quien me guió en muchos aspectos de la carcinología y uno de los motivos por los cuales sigo teniendo en mente el utilizar a los crustáceos como modelo de estudio para mis trabajos de investigación. Muchas gracias Dr., por sus aportaciones y sus comentarios.

**Dr. Alberto Valadez**, quien ha seguido de cerca también mi trabajo de tesis, proponiendo análisis y buscando la manera idónea de sacar adelante la investigación. Gracias por estar siempre atento a mis inquietudes y por ver en mi las capacidades para hacer esto y más. Gracias por su apoyo y aportes en la tesis.

Es difícil agradecer a tantas personas que han hecho de este camino más llevadero, sin embargo, en la medida de lo posible (porque como recuerdan, mi cerebro me juega unas pasadas muy malas) trataré de recordarlos a todos, al no mencionar a alguien no significa que no impactó en mi vida.

## **Familia**

En nuestra sangre corre el éxito desde muchas perspectivas. A mi me tocó representar la parte científica y de investigación, sin embargo, todos los días siento a que Ustedes están a mi lado. Papá, Mamá, Ustedes han demostrado para mí la valía de una familia, la importancia de la sangre y la lucha por ver crecer a los tuyos. Siempre estuvieron aquí para mí, cualquier cosa que ocupara, tantos desvelos y estrés, lo llevaron conmigo, todos aquellos días que me quedé a dormir en el laboratorio, todo el tiempo invertido en la Maestría también es tiempo que Ustedes invirtieron, en mí, siento tan profundo agradecimiento por tener tan inigualables padres que nunca dejaron de creer en mi y que sé que siguen creyendo en mi. Gracias padres por ser tan Ustedes, porque gracias a Ustedes tengo la fortaleza para seguir adelante y el amor para saber que no voy solo en este caminar. Mis hermanos, juegan un papel sumamente importante en mi vida, les agradezco que se preocuparan por mi, que vieran por mi futuro y se alegraran por mis logros. Tengo cuatro formidables ejemplos de vida, de desarrollo, de pasión, de amor y cariño, quisiera algún día ser como Ustedes, los amo con todo mi ser. Mis hermanos 2.0, mis cuñados, gracias por preocuparse por mi, también se alegraran por mis logros y procuran saber de mi, gracias por todos esos momentos tan inigualables, aunque no somos hermanos de sangre, los considero como mis hermanos también, muchas gracias!. Mis sobrinos juegan un papel muy importante también, son esos pequeños destellos de alegría y jovialidad que hacen olvidar cualquier estrés y penetran en la mente para darte cuenta que hay que disfrutar todo momento, cada que los veo recuerdo cuando era niño y me divertía como ellos. Gracias mis pequeños, por todas esas sonrisas y alegrías compartidas, los quiero un montón!. Mi familia política es de suma importancia igualmente. Gracias a los padres de Fernanda, sus abuelos, tíos, primos y allegados, por preguntar también cómo iba y hacerme sentir querido y apreciado, muchas gracias a Ustedes por tales palabras!

## **Maestros**

A la Dra. Libertad Leal Lozano, que aunque no integró mi comité, sí fue parte fundamental de mi formación profesional, gracias por creer en mi y por hacerme ver lo maravilloso de la biología, la quiero un montón!

Muchos maestros aportaron a mi formación, poco o mucho, pero todos los mencionados aquí generaron un impacto positivo en mi desempeño y mi valor profesional: Dr. David Lazcano, Dr. David Villarreal, Dr. Juan Salas, Dra. Graciela González, Dr. Rebollar, Dr. Montemayor, Dr. Aguilera, Dr. Heredia, Dra. Adriana Flores, Dra. María del Socorro Flores, Dr. Luis Silva, Dr. Sergio Galino, Dr. Juan Manuel Alcocer González, Dr. Benito Pereyra, y de entre ellos al que más recuerdo con mucho cariño y todavía reciente su falta, el Dr. Glafiro Alanís. Gracias por todas sus enseñanzas.

## **Colegas**

Muchas gracias a toda la comunidad biológica que estuvo aquí pendiente de mis avances, frustrándose conmigo por que no amplificaban los genes, desviviéndose por que no salíamos a campo (o porque salimos a campo!), pasando fríos terribles y horriblos calores, muchas gracias a todos ustedes. Sin embargo, quiero extender el agradecimiento específico a ciertas personas:

Mi gran colega, camarada y amigo cDr. Hiram Herrera Barquín, quien aún y cuando ya no necesitaba ir a campo a muestrear para su tesis, se aventuró a acompañarme, son pocas las personas que harían algo así y el siempre tuvo la firmeza de decir “Sí, yo voy” en cualquier momento. Gracias por el apoyo que me diste todos estos años, tantas cosas que pasamos juntos en el Laboratorio de Ecología Pesquera, en campo, en el Cacobus y en todos lados. Quiero agradecer también a todo el equipo de Ecología Molecular, que estuvo al pendiente: Tere, Lucy, Nayelli, Karina, Irma, Paola, Liz, Memo, Brian, Silvana, Valeria, Victor, Katia, Rossana y Santiago (Y los demás que seguro olvidé justo en este momento), gracias por su apoyo, por preguntar o por echarse una cheve a mi salud.

Desde otros laboratorios, incluso otras universidades, hubo gente que se preocupaba y preguntaba por mi trabajo de tesis, por mis materias y en general, por saber cómo estaba, también quiero agradecerles por tomarse un minuto para preguntar, muchas gracias a: M.C. Raúl Rodríguez, Biól. Chava Narvaez, M.C. Anwar Medina, QBF Patricia Guerrero, Al pequeño Sagan Medina Guerrero, M.C. Mariana Herrera, M.C. Paulo Razo, M.C. Abigail Robles, cDr. Carlos Barriga, M.C. Sergio Luna, Biól. Sion Carreón, Dulce y Verito y los demás que no recuerdo, Muchas gracias amigos por preocuparse.

A mis colegas de la Maestría, sobre todo a: Franco, Gaby, Greta, Miros, Ale, gracias porque hicimos buenos equipos, salidas a campo y tareas nocturnas. Gracias por los tips y las alivianadas!

Quiero agradecer también a mis colegas de Wolfpack, con quienes me quitaba el estrés de encima para jugar un poco al futbol, bromear o echarnos unas cheves. Muchas gracias amigos por estar ahí, en especial a: El Dave, Lalo, Jaime, Chava, Fer, Alex, Hernán, Javy y el resto del equipo.

Agradecer también a mis amigos de Memento Mori quienes también ocuparon un lugar en mis pensamientos e hicieron de estos dos años un poco más ligeros: Chok, Carl, Conejo, Philippe, Fabian, Fofó, Pedrus, Mario y Octavio (aunque este último ya ni iba) y claramente, a sus respectivas parejas.

Extiendo mis agradecimientos también al H. C. LQCLB-CONACYT principalmente a Silvano, Florentino, Itandehui, Virimar, Lord Kusta y Laura Núñez. Gracias amigos!

Mis amigos de la prepa y agregados, gracias por preguntar qué era lo que hacía y poner cara de “no entiendo nada pero está bien...”: René Dávila, Kike Zamacona, Zamantha Peña, José González, Mariana Elizondo, Lulú Peña, Caro Villarreal, Cecy Flores, Nelly Zamarripa. Gracias amigos!!

Finalmente quise dejar este último agradecimiento en una hoja especial.

**María Fernanda Estrada Puente**, gracias mi vida por todo lo que has hecho por mí, por que también luchaste a mi lado para dar este paso, por creer en mí y confiar en que todo saldrá bien. Gracias por ser la persona que me ve con una sonrisa y se enorgullece de lo que hago, muchas gracias por tu pasión y tu amor. Muchas gracias por todos los consejos, por las preocupaciones, por reconocer el esfuerzo y sobretodo no desesperarte de los días que tuve que llegar tarde a algún evento. Eres el motor de mi existencia. Te amo!

## DEDICATORIA

Pequeña, cuando leas esto quiero que sepas que desde que supe que ibas a nacer, iluminaste mi vida. Hace 9 meses y 17 días luché aún más por terminar este peldaño de la escalera de la vida, ahora sonrío todo el tiempo y veo un futuro lleno de alegría. Prometo guiarte y procurar que tu andar sea sereno y que en lo único que te preocupes sea en salir adelante, aprender y conocer...

Dedico este trabajo de investigación por esta pequeña que llena mis días de alegría, te la dedico a ti mi Princesa, con mucho amor:

*Iza Irlanda*

# ÍNDICE GENERAL

<b>1</b>	<b>Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Antecedentes</b> .....	<b>3</b>
2.1	Factores ecológicos .....	3
2.2	Factores fisicoquímicos.....	4
2.3	Distribución Geográfica .....	6
2.4	Filogenia.....	7
2.5	Ecología Filogenética.....	8
<b>3</b>	<b>Justificación</b> .....	<b>10</b>
<b>4</b>	<b>Hipótesis</b> .....	<b>11</b>
<b>5</b>	<b>Objetivos del Trabajo</b> .....	<b>11</b>
5.1	Objetivo General .....	11
5.2	Objetivos Particulares .....	11
<b>6</b>	<b>Material y Métodos</b> .....	<b>12</b>
6.1	Trabajo de campo y laboratorio. ....	12
6.1.1	Colecta de organismos.....	12
6.1.2	Relaciones Ecológicas. ....	13
6.1.3	Toma de datos fisicoquímicos.....	13
6.2	Pedología del Suelo.....	14
6.2.1	Temperatura.....	14
6.2.2	pH.....	14
6.3	Biología Molecular.....	17
6.3.1	Extracción de ADN.....	17
6.3.2	Amplificación - PCR .....	17
6.3.3	Secuenciación .....	19
6.3.4	Selección del Grupo Externo .....	20
6.3.5	Análisis de Datos .....	20
6.3.5.1	Análisis de Secuencias.....	20

6.3.5.2	Construcción de árboles filogenéticos .....	21
6.4	Ecología Filogenética .....	22
6.4.1	Coeficiente de Autocorrelación de Morán .....	23
6.4.2	Lambda de Pagel .....	24
6.4.3	K de Blomberg .....	24
6.4.4	Modelos de Evolución Avanzada .....	25
6.4.4.1	Modelos de Movimientos Brownianos .....	25
6.4.4.2	Modelos Ornstein-Unhlenbeck .....	25
<b>7</b>	<b>Resultados .....</b>	<b>27</b>
7.1	Relaciones Ecológicas .....	27
7.1.1	Abundancia .....	27
7.1.2	Diversidad .....	29
7.1.3	Textura .....	31
7.1.4	Análisis Físicoquímicos .....	32
7.1.4.1	pH .....	32
7.1.4.2	Sales Solubles .....	32
7.1.4.3	Salinidad .....	32
7.1.4.4	Temperatura .....	33
7.1.4.5	Materia Orgánica .....	33
7.1.5	Caracterización Ambiental .....	36
7.2	Filogenia .....	38
7.2.1	Filogenia Molecular .....	38
7.2.1.1	Región 12S .....	38
7.2.1.2	Región 16S .....	38
7.2.1.3	Región Citocromo Oxidasa I .....	38
7.2.1.4	Regiones concatenadas .....	39
7.2.2	Método de Sustitución Nucleotídica .....	39
7.2.3	Divergencia evolutiva .....	39
7.2.4	Construcción de árboles filogenéticos .....	40
7.2.4.1	Neighbor-Joining (NJ) .....	40

7.2.4.2	Maximum-Likelihood (ML) .....	43
7.3	Ecología Filogenética .....	45
7.3.1	Conservadurismo Filogenético de Nicho Ecológico (CFNE).....	45
7.3.2	Coefficiente de Morán ( I ).....	48
7.3.3	Lambda de Pagel y K de Bloomerg .....	50
7.3.4	Modelos de Evolución de Caracteres.....	51
7.3.4.1	Estado Ancestral de Carácter (MV).....	51
7.3.4.2	Estado Ancestral de Carácter (Movimientos Brownianos) .....	62
7.3.4.3	Modelos Evolutivos Comparativos.....	63
7.3.4.3.1	BM1.....	64
7.3.4.3.2	OU1 .....	65
7.3.4.3.2	OUMVA.....	65
7.3.4.3.4	Comparación de Modelos .....	66
<b>8</b>	<b>Discusión .....</b>	<b>67</b>
8.1	Ecología.....	67
8.2	Filogenia.....	68
8.3	Ecología Filogenética .....	71
<b>9</b>	<b>Conclusiones .....</b>	<b>76</b>
9.1	Ecología.....	76
9.2	Filogenia.....	76
9.3	Ecología Filogenética.....	76
<b>10</b>	<b>Referencias Bibliográficas .....</b>	<b>77</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación de Ph .....	14
Tabla 2 Clasificación de la saturación salina.....	15
Tabla 3 Clasificación de la materia orgánica .....	16
Tabla 4 Primers .....	18
Tabla 5 Programa para PCR de la región ribosomal 16S.....	18
Tabla 6 Programa para PCR de la región mitocondrial Citocromo Oxidasa I .....	18
Tabla 7 Programa para PCR de la región ribosomal 12S.....	18
Tabla 8 Abundancia de especies .....	28
Tabla 9 Diversidad de Shannon .....	29
Tabla 10 Dominancia de Simpson .....	29
Tabla 11 Riqueza, diversidad y equidad específica.....	30
Tabla 12 Análisis de T de Hutchinson.....	30
Tabla 13 Datos de características fisicoquímicas .....	37
Tabla 14 Sitios variables, informativos y longitud de las regiones utilizadas.....	39
Tabla 15 Relación de la divergencia evolutivas entre las especies del género <i>Uca</i> ...	40
Tabla 16 Diversidad filogenética de Faith (1992).....	45
Tabla 17 Determinación de la Uniformidad Filogenética (UF) .....	46
Tabla 18 Determinación de la distancia media del vecino más cercano .....	46
Tabla 19 Diversidad filogenética beta entre localidades .....	47
Tabla 20 <i>I</i> de Morán .....	49
Tabla 21 Lambda de Pagel.....	50
Tabla 22 <i>K</i> de Bloomerg .....	50
Tabla 23 Modelos evolutivos derivados de MB.....	64

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Mapa de Distribución del género <i>Uca</i> .....	7
Figura 2 Árbol filogenético obtenido de Shih et al (2016) fam. Ocypodidae. ....	9
Figura 3 Mapa de las zonas de colecta de muestreo. ....	12
Figura 4 Distribución de la abundancia de las seis especies en las localidades. ....	28
Figura 5 Triángulo de textura (Edward, 2000) .....	31
Figura 6 Clasificación del pH del suelo .....	33
Figura 7 Solubilidad de sales.....	34
Figura 8 Salinidad .....	34
Figura 9 Temperatura.. ....	35
Figura 10 Materia Orgánica .....	35
Figura 11 Relaciones filogenéticas del género <i>Uca</i> utilizando el método NJ. ....	41
Figura 12 Árbol consenso NJ. ....	42
Figura 13 Árbol filogenético Máxima-Verosimilitud.....	43
Figura 14 Diversidad filogenética beta.....	48
Figura 15 Estimación del Coeficiente <i>I</i> de Morán.....	49
Figura 16 Estado ancestral de caracter Máxima-Verosimilitud de Temperatura....	52
Figura 17 Estado ancestral de caracter Máxima-Verosimilitud de Sales Solubles...	52
Figura 18 Estado ancestral de caracter Máxima-Verosimilitud para Salinidad. ....	53
Figura 19 Estado ancestral de caracter Máxima-Verosimilitud de pH. ....	53
Figura 20 Estado ancestral de caracter Máxima-Verosimilitud de MO.....	54
Figura 21 Comparación de estados de caracter entre Temp y Sol Sal.....	54
Figura 22 Comparación de estados de caracter entre Temperatura y Salinidad. ....	55
Figura 23 Comparación del estado ancestral de caracter entre Temperatura y pH.55	
Figura 24 Comparación del estado de caracter entre Temperatura y MO.....	56
Figura 25 Comparación del estado de caracter entre Solubilidad Salina y MO.....	56
Figura 26 Comparación de estados de caracter entre Sal y Sol Sal. ....	57
Figura 27 Comparación del estado de caracter entre Salinidad y pH. ....	57
Figura 28 Comparación entre el estado ancestral de caracter de Sal y MO. ....	58
Figura 29 Comparación entre el estado ancestral de caracter de pH y Sol Sal. ....	58

<b>Figura 30 Comparación entre el estado ancestral de caracter de pH y MO. ....</b>	<b>59</b>
<b>Figura 31 Compilado de estado ancestral de caracter.....</b>	<b>60</b>
<b>Figura 32 Estimación del estado ancestral de caracter utilizando MB.....</b>	<b>63</b>

## RESUMEN

Frente al desafío que afrontan los ecosistemas costeros, debido a las acciones antrópicas y el cambio climático, es necesario comprender el comportamiento de los ecosistemas estuarinos y marinos. En estos ambientes los cangrejos del género *Uca* favorecen de manera importante las redes tróficas de los ecosistemas, ayudando a mantener la estabilidad ambiental, el flujo de energía y nutrientes en zonas mareales e intermareales, por lo que es primordial evaluar los efectos de su dinámica poblacional en las comunidades de las cuales forman partes y en los ecosistemas. Diversos métodos se han utilizado para evaluar los efectos en comunidades de organismos entre los que destacan la ecología filogenética, que refiere a la relación entre los caracteres ecológicos en donde habitan las especies y la filogenia molecular, en donde se calcula la velocidad evolutiva de un rasgo en relación al grupo de estudio, lo cual ayudaría al conocimiento ecológico, biológico y el estatus de conservación de las especies. Considerando este contexto, en el presente estudio se obtuvieron, de siete sitios de colecta, datos de salinidad, pH, solubilidad salina, temperatura, materia orgánica y textura del suelo, como caracteres ecológicos a evaluar, la abundancia y diversidad de especies, en donde se encontraron seis especies de las cuales se obtuvieron secuencias nucleotídicas de los genes ribosomales 16s y 12s, como el mitocondrial Citocromo Oxidasa I. Las zonas de tipo arcillo-arenosas mostraron valores altos de salinidad, bajos de pH y cantidades de MO altas, en donde la comunidad de cangrejos violinistas es mayor, sin embargo, las zonas arenosas, que se localizaron en la zona eulitoral, de tipo polihalino y clasificadas como fuertemente ácidas, con cantidades de MO bajas, se caracterizaron además por una baja sensible en la biodiversidad. Utilizando el método de sustitución de nucleótidos HKY+G,  $nst=2$  se obtuvieron árboles filogenéticos NJ y ML que permitieron agrupar a las especies que pertenecen al subgénero *Leptuca* (*U. panacea*, *U. marguerita*, *U. spinicarpa* y *U. subcylindrica*) debido a la baja divergencia evolutiva entre ellas. Sin embargo, *U. rapax* y *U. vocator* situadas filogenéticamente en el subgénero *Minuca* presentan valores altos al realizar las similares con el resto de las especies, de tal modo que de manera general, la divergencia evolutiva de estas dos especies resulta mayor. Se realizó un análisis de Conservadurismo Filogenético de Nicho Ecológico (CFNE) en donde se obtuvo que las localidades se encuentran muy bien relacionadas, por lo que los cambios en las características del ambiente afectarán a todos los sitios por igual. También se realizaron los análisis de la  $I$  de Morán,  $\lambda$  de Pagel y la  $K$  de Bloomer, sin embargo, estos no fueron significativos ( $P < 1$ ), por lo que se realizaron modelos complejos (Ornstein-Uhlenbeck) en donde se obtuvo que la salinidad, temperatura y pH presentan señal filogenética mientras que la solubilidad salina y la MO son caracteres que se encuentran coligados a movimientos brownianos. Al obtener las relaciones ecológicas-filogenéticas se determinó que las características ambientales del hábitat delimitan la presencia y abundancia de las especies del género *Uca* y estas se encuentran relacionadas con aspectos ecofisiológicos, por su parte, las relaciones filogenéticas resultaron ser claras, utilizando las regiones mitocondriales COI y ribosomales 16s y 12s, lo que permitió constatar la ampliación del rango de distribución de los subgéneros *Minuca* y *Leptuca* al Golfo de México y específicamente que *U. marguerita* es una especie que pertenece al subgénero *Leptuca* y se encuentra más relacionada con *U. thayeri*, localizada en Florida que con las especies presentes en México. Finalmente la salinidad, temperatura y pH presentan señal filogenética lo cual indica su gran importancia en el hábitat, con relación a la filogenia del grupo; sin embargo, el CFNE reveló que el conjunto de características ambientales es fundamental para la adaptación y singularidad específica, que podrían ser clave para delimitar al grupo.

## ABSTRACT

Upon the challenge that coastal ecosystems face due to anthropogenic actions and climate change, it is necessary to comprehend the behavior of estuarine and marine ecosystems. In these environments, crabs belonging to the *Uca* genus strongly favor the trophic networks of the ecosystems, helping maintain environmental stability and the flow of energy and nutrients present in tidal and intertidal areas, having this in mind it is essential to evaluate the effects of their population dynamics in the communities of which they are part and in the ecosystems. Several methods have been used to evaluate the effects on communities of organisms, among which one that stands out is phylogenetic ecology, which refers to the relationship between the ecological characters from where the species live and the molecular phylogeny, then the evolutionary speed of a trait is calculated in relation to the study group, which would help the ecological and biological knowledge as well as the conservation status of the species. Taking this context into consideration, in the present study data from salinity, pH, saline solubility, temperature, organic matter and soil texture were obtained from seven collection sites, as ecological characters to be evaluated, the abundance and diversity of species, where six species were found, from which nucleotide sequences of the 16s and 12s ribosomal genes were obtained, such as the mitochondrial Cytochrome Oxidase I. The clay-sandy type zones showed high salinity values, low pH and high MO quantities, where the community of fiddler crabs is higher, however, the sandy areas, which were located in the eulittoral zone, of polyhalide type and classified as strongly acidic, with low OM quantities, were also characterized by a low level of biodiversity. Using the nucleotide substitution method HKY + G,  $nst = 2$ , phylogenetic trees NJ and ML were obtained, which allowed the grouping of the species belonging to the subgenus *Leptuca* (*U. panacea*, *U. marguerita*, *U. spinicarpa* and *U. subcylindrica*) due the low evolutionary divergence between them. However, *U. rapax* and *U. vocator* phylogenetically located in the subgenus *Minuca* show high values when performing the similes with the rest of the species, meaning that in general, the evolutionary divergence of these two species is greater. A Phylogenetic Ecological Niche Conservatism (PENC) analysis was carried out, where obtained data show that the localities are very well related, indicating that changes in the characteristics of the environment will affect all the sites equally. Moran I, Pagel  $\lambda$  and Bloomer K analyzes were also performed, however, these were not significant ( $P < 1$ ), because of which complex models (Ornstein-Uhlenbeck) were carried out proving that salinity, temperature and pH show phylogenetic signal, while saline solubility and Organic Matter are characters that are linked to brownian motions. Obtaining these ecological-phylogenetic relationships, allowed to determine that the environmental characteristics of the habitat delimit the presence and abundance of the *Uca* species and these are related to ecophysiological aspects, meanwhile, the phylogenetic relationships turned out to be clear, using the mitochondrial regions COI and ribosomal 16s and 12s, which allowed to verify the extension of the distribution rate of the subgenus *Minuca* and *Leptuca* to the Gulf of Mexico and specifically that *U. marguerita* is a species that belongs to the subgenus *Leptuca* and is more related to *U. Thayeri*, located in Florida, than with the species present in Mexico. Finally, salinity, temperature and pH show a phylogenetic signal which indicates it is of great importance in the habitat, in relation to the phylogeny of the group; nevertheless, the PENC revealed that the set of environmental characteristics is fundamental for the adaptation and specific singularity, which could be key to delimit the group.

## 1 Introducción

Para evaluar la creciente pérdida de ambientes costeros debido principalmente a las actividades económicas, servicios económicos, urbanización y el cambio climático, es necesario comprender la evolución y el comportamiento de los ecosistemas estuarinos y marinos (Vermeiren y Sheaves, 2015). En estos ambientes los cangrejos del género *Uca* contribuyen de manera importante a las redes tróficas de los ecosistemas costeros del mundo, directamente por ser fuente de alimento de diversos organismos, como peces (Krumme et al., 2006), otros cangrejos (Daleo et al., 2003), aves (Koga et al., 2001, 2015) y mamíferos (Rulison et al., 2012), e indirectamente por la bioturbación del sedimento que generan durante la construcción de madrigueras (Kristensen, 2008; Michaels y Ziemann, 2013). Así mismo, juegan un importante papel en la conexión del flujo de energía y nutrientes en las zonas mareales e intermareales, por consiguiente resulta esencial conocer su distribución con la finalidad de evaluar los efectos de su dinámica poblacional en las comunidades y en los ecosistemas de los cuales forman parte (De Grande, 2016).

Muchas especies de cangrejos violinistas coexisten en las zonas intermareales, en donde comparten recursos incluyendo el alimento y el espacio. Su distribución está regulada por factores a nivel de macroescala tales como la diferencia en latitud (Crane, 1975, Sanford et al., 2006), mientras que a nivel de microescala sobresale la zonificación específica entre áreas intermareales (Costa y Negreiros-Fransozo, 2001; Nobbs, 2003; Ribeiro et al., 2005). Igualmente, intervienen los factores abióticos dentro de los que destacan la cantidad de materia orgánica, temperatura, mareas, salinidad y las condiciones del suelo (Teal et al., 1958; Icely y Jones, 1978; Genoni, 1985; Reinsel y Rittschof, 1995; Ribeiro et al., 2005; Sanford et al., 2006; Thurman et al., 2013; Mokhtari et al., 2015) que controlan dichas distribuciones, y los factores bióticos como la dispersión, propagación larval, depredación, habilidad reproductiva, capacidad de tolerar estresores ambientales y la vegetación (Epifanio et al., 1988; Daleo et al., 2003; Nobbs, 2003; Thurman et al., 2013).

Las diferencias ecológicas y ambientales de los cangrejos violinistas se deben en gran medida a sus adaptaciones al medio, pero a su vez, atienden a la especificidad del grupo, dicha divergencia es marcada por sus relaciones filogenéticas (Nabout et al., 2009). En el Golfo de México se registran dos subgéneros (*Minuca* y *Leptuca*), sobre los cuales existen controversias filogenéticas, ya que frecuentemente se reubican especies dentro del mismo género, sin embargo, estas diferencias persisten ya que los trabajos comparativos entre filogenia y ecología son escasos (eg. Bohning-Gaese et al., 2006; Nabout et al., 2009; Hampton, et al., 2014; Hopkins, et al., 2016; Coelho, et al., 2017).

La idea de que las especies estrechamente relacionadas filogenéticamente son ecológicamente similares se ha venido reforzando con el tiempo, provocando que los ecólogos valoren y adopten cada vez más las perspectivas evolutivas (Losos, 2008). Consecuentemente se han incrementado los trabajos basados en la evaluación filogenética de las especies (Bohning-Gaese et al., 2006; Nabout et al., 2009, Coelho, et al., 2017), que han permitido elucidar las señales filogenéticas, que relacionan la filogenia y las características fenotípicas, ecológicas y/o biogeográficas de las especies. Paralelamente, al término Conservadurismo Filogenético de Nicho Ecológico (PNC por sus siglas en inglés), que se refiere a que las adaptaciones de la especie ancestral a un conjunto de condiciones ambientales tenderán a ser conservadas por las especies descendientes (Pyron, 2015), dichos conceptos refieren al término “Ecología Filogenética” o “Ecofilogenia”. A este respecto, Losos, (2008) y Nabout et al., (2009) enfatizan que el uso de estas herramientas (Señales filogenéticas y PNC) sumadas a la disponibilidad de datos ecológicos, biogeográficos y filogenéticos podrían ampliar el conocimiento ecológico, biológico y el estatus de conservación de las especies. Bajo este contexto, en el presente estudio se pretende investigar la relación entre la ecología y la filogenia de las especies del género *Uca* de las costas de Laguna Madre, Tamaulipas y comprobar si el concepto de ecología filogenética podría aplicarse a los resultados derivados de este trabajo.

## 2 Antecedentes

### 2.1 Factores ecológicos

Varios autores mencionan que los ecosistemas costeros atraviesan por un peligro inminente y puntualizan la importancia de conocer y preservar dichos ecosistemas (Valiela et al., 2001; Alongi, 2002, 2008; Duke et al., 2007; Lovelock y Ellison, 2007; Seto, 2011). Por tal motivo, se han redoblado los esfuerzos dirigidos a la conservación de estos hábitats, incrementando la cantidad de metodologías y modelos para realizar con precisión predicciones acerca del funcionamiento de las áreas tropicales y subtropicales como marco principal para un manejo sustentable de dichas zonas (Hartnoll et al., 2002; Skov et al., 2002; Jaroensutasinee y Jaroensutasinee, 2004).

Específicamente, los cangrejos violinistas del género *Uca* constituyen un grupo de crustáceos de importancia para las zonas tropicales y subtropicales alrededor del mundo (Crane, 1975; Macnae, 1968; Icely y Jones, 1978; Heard, 1982; Britton y Moron, 1989; Rosenberg, 2001; Naderloo et al., 2010; Machado, et al., 2012; González-Treviño, 2015), principalmente en áreas salinas y manglares pantanosos (Powers, 1975; Britton y Morton, 1989; Rosenberg, 2001, Machado et al., 2012). Esto es debido a que su nicho y hábitos, como la alimentación, la interacción con otros conspecíficos, así como la elaboración de su complejo sistema de madrigueras, resultan fundamentales para incrementar la superficie del área de sedimento y consecuentemente la interface de procesos químicos que ocurren en estas zonas, tales como: descomposición, la reducción de sulfatos y la liberación de nitrógeno inorgánico, solo por mencionar algunos (Rathbun, 1918). Por otra parte, la importancia de estos organismos en el área de los manglares y las zonas aledañas no reside solo en dichas actividades, sino que además contribuyen al transporte de materia orgánica a la superficie y estimulan el crecimiento microbiano. A este respecto, cabe mencionar que se ha reportado que la construcción de madrigueras está relacionada con la alimentación, ya que cuando escasea el alimento, los cangrejos violinistas cavan un mayor número de madrigueras para incrementar la fuente de nutrientes, acrecentando también la aireación del suelo lo que conlleva a una mayor

disponibilidad de nutrientes, y que finalmente repercute en el crecimiento de los mangles y otras especies de plantas asociadas como *Spartina sp.* (Genoni, 1985, 1991).

Existen diversas variables que pueden afectar a las especies y causar diferencias inclusive entre las mismas poblaciones, tales como la variación en el crecimiento, que está relacionada con la disponibilidad de alimento, estresores ambientales y la latitud (Conde y Díaz 1989 a, b y Hines, 1989). Las dimensiones morfológicas de los cangrejos violinistas se encuentran asociadas a dichas variables, por lo que el crecimiento alométrico positivo podría indicar una influencia favorable de las variables ambientales de la zona, como mencionan Costa y Soares-Gómez (2008). Además, la latitud juega un papel muy importante y se han reportado casos en donde cangrejos del género *Uca* no coinciden en sus dimensiones conforme a otros colectados en otras áreas de estudio, como lo menciona Bezerra y Coelho (2009) quienes mencionan la presencia de ejemplares de *U. rapax* más grandes en manglares del sureste de Brasil en comparación con las especies del noreste.

## **2.2 Factores fisicoquímicos**

### *Temperatura*

Un ejemplo claro de especificidad basado en los aspectos ecológicos del hábitat es la temperatura. Por lo que respecta a este factor Crane (1975), Meusy y Payen (1988) y Bezerra et al. (2009) mencionan que la temperatura afecta severamente la actividad metabólica de los crustáceos de las regiones tropicales y subtropicales alrededor del mundo, ya que resulta determinante en la regulación de la muda, la producción somática y el crecimiento gonadal en estos cangrejos, características que definen, en muchos casos, a las especies.

Por otra parte, diversos autores (Sastry 1983; Meusy y Payen 1988; Zimmerman y Felder 1991; Flores y Negreiros-Fransozo 1998; Leme y Negreiros-Fransozo 1998; Cobo 2002 a, b; Pinheiro & Fransozo 2002; Cobo y Fransozo 2003; Litulo 2004) señalan que la temperatura sumada a la cantidad de horas de luz, alimento, lluvia y fotoperiodo

son los mayores moduladores de reproducción en crustáceos. Mientras que, Litulo (2004) reporta para cangrejos violinistas que la temperatura está relacionada con la ocurrencia de hembras ovígeras, como ha sido reportado por otros autores (Conde y Diaz, (1989 a, b; Leme y Negreiros-Fransozo, 1998; Flores y Negreiros-Fransozo, 1998; Negreiros- Fransozo et al. ,2002) para otros braquiuros. Lo anterior, como mencionan Sastry (1983) y Zimmerman y Felder (1991), es consecuencia del papel de la temperatura como modulador metabólico, bioquímico y hormonal de los crustáceos, desencadenando los procesos de ecdisis, apareamiento y desarrollo gonadal. Esto explica el retraso en la maduración de los ovocitos en condiciones de baja temperatura, lo cual se ve reflejado en mayores tiempos de incubación (Yamaguchi, 2001b). Sin embargo, cabe mencionar que la cantidad de larvas aumenta a medida que la temperatura disminuye (Spivak y Cuesta, 2017). Esto confirma que los períodos de reproducción varían gracias al gradiente latitudinal como consecuencia de los cambios ambientales (Leme y Negreiros-Fransozo 1998).

### *Salinidad*

Además de la temperatura se ha establecido que la salinidad y consiguientemente la capacidad osmoregulatoria son también factores determinantes en la adaptación al medio en *U. subcylindrica* (Charmantier et al. 1998 y Rabalais y Cameron 1985b). Aunque no es clara esta relación, se ha asumido que la salinidad tiene implicaciones ecológicas importantes así como una importante significancia evolutiva (Lin et al., 2002) lo que se refleja en la capacidad de hiper e hiposmoregular rápidamente y agrega que incluso en los estadios juveniles, existen variaciones extremas de salinidad. Por consiguiente, se esperaría observar una relación entre *U. rapax* y *U. subcylindrica*, ya que presentan rangos de salinidad muy amplios, a diferencia de otras especies de cangrejos (Rabalais y Cameron, 1985a; Zanders y Rojas, 1996; Lin et al., 2002).

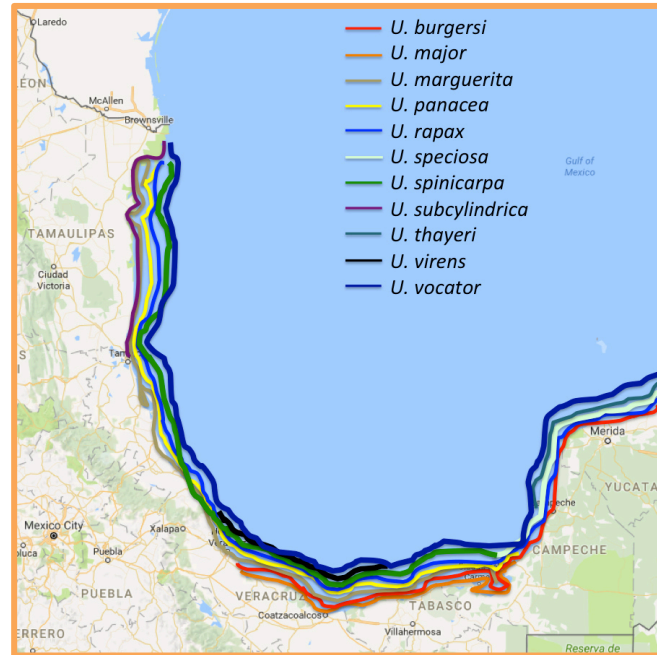
### *Sustrato*

El sustrato es otro factor que aparentemente delimita la estancia específica de poblaciones en ciertas zonas. Sobre este aspecto, Rosenberg (2000) argumenta que el tipo de sustrato es un factor limitante para la presencia de cangrejos violinistas,

respaldando las observaciones de Pérez-Mosqueda et al. (2014), en relación con el tipo de sustrato preferencial en poblaciones de *U. rapax*, *U. virens*, *U. vocator*, *U. speciosa*, *U. pugilator*, *U. burgersi* y *U. marguerita*. Esta última, habitando suelos ácidos y pantanosos (Alejandro-González et al., 2015). Adicionalmente a la preferencia por el sustrato, Robertson (1986), Nielsen et al. (2003) y Bezerra y Coelho (2009) reportan que la actividad en las madrigueras en los cangrejos violinistas, podría contribuir en la oxidación del sedimento, reduciendo el contenido orgánico, como fue documentado por Nielsen et al. (2003). Wenner (1972), destaca que la profundidad y forma de las madrigueras favorecen el desarrollo embrionario y el crecimiento larval.

### 2.3 Distribución Geográfica

De acuerdo con Thurman et al. (2013), Utrera-López y Capistrán-Barradas (2013), Hopking y Thurman (2010), Thurman et al. (2010), Felder et al. (2009), Pérez-Mosqueda et al. (2014), González-Treviño (2015), se reconocen 11 especies de cangrejos violinistas del género *Uca* con distribución en las costas del Golfo de México y Caribe Mexicano: *U. burgersi* (desde Veracruz hasta Quintana Roo), *U. major* (desde Veracruz hasta Tabasco), *U. marguerita* (desde Tamaulipas hasta Tabasco), *U. panacea* (desde Tamaulipas hasta Campeche), *U. rapax* (a lo largo de todo el Atlántico Mexicano), *U. speciosa* (desde Tabasco hasta Yucatán), *U. spinicarpa* (desde Tamaulipas hasta Tabasco), *U. subcylindrica*, (endémica en las costas de Tamaulipas), *U. thayeri* (localizada solamente en la Península de Yucatán), *U. virens* (en México solo se ha reportado en Veracruz), *U. vocator* (a lo largo del Atlántico Mexicano) (Fig. 1)



**Figura 1** Mapa de Distribución en donde se muestran por colores los rangos de presencia de especies del género *Uca* (Thurman et al., 2013; Utrera-López y Capistrán-Barradas, 2013; Hopking y Thurman, 2010; Thurman et al., 2010; Pérez-Mosqueda et al., 2014; González-Treviño, 2015).

## 2.4 Filogenia

La filogenia del género a nivel global continúa siendo controversial, de aquí que diversos trabajos aborden ésta problemática taxonómica (Levinton et al., 1996; Sturmbauer et al., 1996; Rosenberg, 2001; Shih et al., 2009; Shih et al., 2010; Landstorfer y Schubart, 2010; Shih et al., 2012; Shih et al., 2013 b, Shih, 2015 y Shih, 2016). Varios de estos autores discrepan entre sí en cuanto a las relaciones filogenéticas de las subespecies y presentan constantes cambios en su estatus. No obstante, se ha generado menos controversia para las especies presentes en el Golfo de México y el Caribe Mexicano, ya que el trabajo cladístico de Rosenberg (2001) y los trabajos moleculares de Shih et al., (2009; 2012 y 2013b, 2016) han contribuido a una adecuada identificación y filogenia acertada del grupo presente en el Golfo de México, sin embargo los subgéneros *Minuca* y *Leptuca* no cuentan con una filogenia completa, ya que no se ha incluido a *U. marguerita* y su posición filogenética es incierta, como se observa en el árbol filogenético generado por Shih et al., (2016) (Fig. 2).

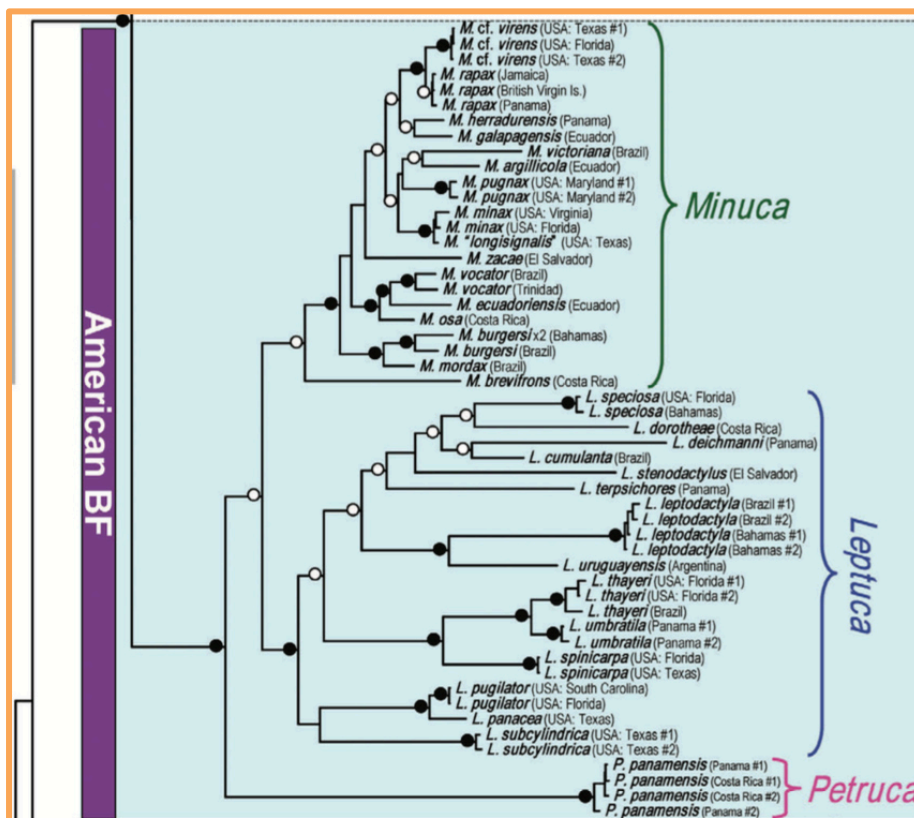


Figura 2 Árbol filogenético generado por Shih et al., (2016) de la familia Ocyrodidae, en donde se muestran los subgéneros *Minuca* y *Leptuca*, sin la inclusión de *U. marguerita*.

## 2.5 Ecología Filogenética

La evolución convergente se encuentra entre las líneas de evidencia más fuertes del poder de la selección natural hacia la plasticidad de los organismos en los ambientes, (Losos, 2011), lo que ha llevado a escudriñar entre las variables particulares del hábitat para relacionar dicha plasticidad, desde una perspectiva filogenética, haciendo que cada vez más autores se inclinen hacia estas nuevas tendencias (Ingram, 2013).

Hasta el momento existen pocos trabajos que detallan la correlación entre la filogenia y los aspectos ecológicos de los ambientes en donde se encuentra el género *Uca* (Coelho-Faria et al., 2016). A este respecto, la primera investigación sobre el tema fue publicada por Nabout et al. (2009), quienes realizaron un estudio analizando procesos de evolución

browniana para estimar los niveles de herencia filogenética entre la posición, forma y tamaño de los rangos geográficos de 88 especies de cangrejos violinistas. Estos autores concluyeron que era necesario evaluar los procesos evolutivos tales como la adaptación ecológica para explicar su dinámica, debido a que no resultaba posible explicar la evolución de estos cangrejos mediante un modelo simple de herencia neutra.

Lo anterior tiene sustento en que el hábitat llega a afectar de manera contundente a cualquier organismo, y las alteraciones en el mismo contribuyen a la adaptación de las especies, proceso que a través del tiempo podría ocasionar una divergencia evolutiva o contrario a esto, la desaparición de especies, como menciona Thurman (1985). Este autor observó que la baja fertilidad y fecundidad de *U. subcylindrica* eran resultado de sus adaptaciones a los hábitats terrestres. En el mismo sentido Costa y Soares-Gómez (2008) mencionan que la plasticidad fenotípica en la quela mayor del macho, en estos cangrejos, está comúnmente relacionada con el ambiente en el que habitan, así como con otras variables como la disponibilidad de alimento, densidad de la población, competencia inter e intraespecífica, así como con la proporción en sexos. La repercusión de la “ecofilogenia” o “Ecología Filogenética” en los ambientes costeros, principalmente en los hábitats en donde se presentan los cangrejos *Uca* ha llevado a la realización de investigaciones puntuales en el tema, como el reciente trabajo de Coelho-Faria et al. (2016), quienes analizando características específicas de la osmoregulación de los cangrejos violinistas, lograron determinar la importancia y la relación evolutiva de la salinidad como conductor primario de la evolución en éstos decápodos y su diferenciación entre diversos nichos osmóticos. Así, estos autores concluyen que, aunque la salinidad ha contribuido a las adaptaciones osmoregulatorias que les han permitido la diversificación del hábitat, algunas de las características osmoregulatorias se encontrarían aparentemente limitadas filogenéticamente.

Cabe mencionar que, en ocasiones, la utilización de un solo modelo de señales filogenéticas podría provocar una mala señalización, por lo que, se ha puntualizado la necesidad de realizar pruebas con diversos análisis para corroborar los resultados (Cooper, et al., 2016).

### 3 Justificación

Actualmente se encuentran en peligro varios ecosistemas costeros, como los mangles, estuarios y lagunas costeras, principalmente a causa del cambio climático y las actividades antropogénicas (Vermeiren y Sheaves, 2015). Por lo que resulta necesario desarrollar investigaciones en las que se correlacionen la filogenia y la ecología de las especies, con el fin de conocer su relación evolutiva, lo que contribuiría a su conservación y daría pauta para realizar esfuerzos de manejo dirigidos a aminorar el deterioro de estas zonas. En este contexto, los cangrejos del género *Uca* están consideradas como especies clave ya que contribuyen en la formación y mantenimiento de los suelos (Crane, 1975) y son importantes eslabones en las tramas tróficas de estos ecosistemas (Krumme et al., 2006; Daleo et al., 2003; Koga et al., 2001, 2015; Rulison et al., 2012). De aquí, que el estudio de su filogenia y su relación con las características ecológicas del medio contribuya a determinar el efecto de las alteraciones ambientales en dichos ecosistemas costeros.

## **4 Hipótesis**

Existe una correlación entre las adaptaciones ecológicas y la filogenia de las poblaciones de cangrejos del género *Uca* que habitan en las costas de la Laguna Madre, Tamaulipas, México.

## **5 Objetivos del Trabajo**

### **5.1 Objetivo General**

Determinar la posible existencia y el nivel de correlación entre la filogenia y los aspectos ecológicos del nicho del género *Uca* en la Laguna Madre, Tamaulipas, México, utilizando la ecología filogenética.

### **5.2 Objetivos Particulares**

1. Analizar las relaciones filogenéticas de las especies del género *Uca* que habitan en la Laguna Madre, Tamaulipas, México, utilizando las regiones mitocondriales de Citocromo Oxidasa I y ribosomales 16s y 12s.
2. Determinar las relaciones ecológicas de estas especies en sus hábitats particulares, para su ulterior extrapolación a nivel regional.
3. Establecer la existencia de una relación entre el hábitat de las especies y sus características evolutivas utilizando la ecología filogenética.

## 6 Material y Métodos

### 6.1 Trabajo de campo y laboratorio.

#### 6.1.1 Colecta de organismos.

Los muestreos se llevaron a cabo en siete sitios de la Laguna Madre (Fig. 2), excavando directamente en la periferia de las madrigueras donde se observaba o infería la presencia del cangrejo. El material biológico se depositaba en bolsas de debidamente etiquetadas y colocadas en hielo para ser transportados a tierra, para finalmente ser fijados en alcohol etílico al 96% y ser tratadas de acuerdo a los métodos de análisis establecidos en el proyecto. Es importante señalar que los organismos fueron depositados y catalogados en la Colección Carcinológica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León CC-FCB-UANL. Asimismo, en estas colectas se tomaron parámetros fisicoquímicos como tipo de suelo, salinidad, pH, temperatura y materia orgánica (MO); y se registró información de las poblaciones y de la vegetación asociada.

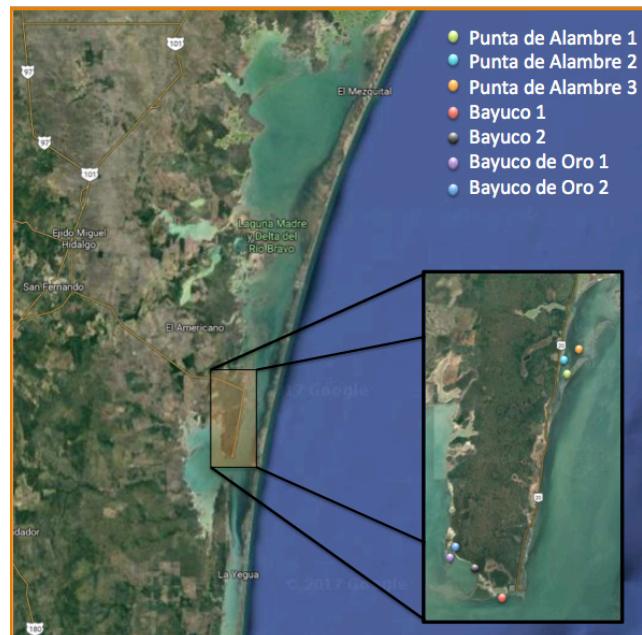


Figura 3 Mapa de las zonas de colecta de organismos y parámetros fisicoquímicos.

## **6.1.2 Relaciones Ecológicas**

### **6.1.2.1 Abundancia**

Se realizó un análisis de clasificación jerárquica UPGMA utilizando un mapa de calor para obtener la distribución de la abundancia entre las localidades y las especies.

### **6.2.1.2 Diversidad**

El análisis de diversidad se realizó utilizando la Diversidad de Shannon-Weiner en donde se mide contenido de información por individuo en las muestras obtenidas al azar (localidades), también se considera como una medida de la incertidumbre para predecir a qué especie pertenecerá el individuo elegido al azar.

La Dominancia de Simpson también fue empleada para este trabajo, que deriva de la teoría de probabilidades, y mide la probabilidad de encontrar dos individuos de la misma especie en dos zonas sucesivas al azar sin reposición, esto quiere decir que la  $D'$  de Simpson indica la probabilidad de encontrar dos individuos de especies diferentes en dos sitios diferentes, en donde se da mayor peso a las especies abundantes subestimando las especies raras, tomando valores de 0 como nula diversidad y valores de 1 como diversidad máxima.

### **6.2.1.3 Equidad**

Se realizó un análisis de Equidad de Pielou en donde se mide la proporción de la diversidad observada con relación a la máxima diversidad esperada. Sus valores van de 0-1 en donde 1 corresponde a situaciones en donde las especies son igualmente abundantes (Moreno, 2001).

## **6.1.2 Toma de datos fisicoquímicos**

Para llevar a cabo los estudios de suelo y parámetros fisicoquímicos, basados en la obtención de muestras, se extrajo desde la superficie hasta 30 cm<sup>2</sup> de profundidad una muestra de sedimento con aproximadamente 3 kg por cada localidad, misma que se

colocó en un recipiente para ser trasladada al laboratorio y procesarla de acuerdo con las metodologías establecidas para llevar a cabo los análisis de textura y materia orgánica, así como el reconocimiento de la concentración de sales, solubilidad salina y pH.

## 6.2 Pedología del Suelo

### 6.2.1 Temperatura

La temperatura de la localidad se obtuvo con un termómetro tipo Taylor con escala de -50°C a +150°C, de un segundo de precisión.

### 6.2.2 pH

Para realizar las mediciones de pH, se utilizó un potenciómetro Corning modelo 5 previamente calibrado, usando una relación de suelo:agua 1:2. El resultado se clasificó en Ácido, Neutro y Alcalino de acuerdo a los rangos establecidos en la Tabla 1.

Tabla 1 Los rangos de pH y su clasificación desde el más ácido hasta el más alcalino

Rango de pH	Clasificación
Menos de 4.60	Extremadamente ácido
4.60 - 5.19	Muy fuertemente ácido
5.20 - 5.59	Fuertemente ácido
5.60 - 6.19	Medianamente ácido
6.20 - 6.59	Ligeramente ácido
6.60 - 6.79	Muy ligeramente ácido
6.80 - 7.19	Neutro
7.20 - 7.39	Muy ligeramente alcalino
7.40 - 7.79	Ligeramente alcalino
7.80 - 8.39	Medianamente alcalino
8.40 - 8.79	Fuertemente alcalino
8.80 - 9.39	Muy fuertemente alcalino
Más de - 9.4	Extremadamente alcalino

### 6.2.3 Salinidad y Sales solubles totales

Se obtuvo la salinidad, registrando la conductividad eléctrica (CE) a 25°C en mmhos/cm, utilizando una modificación del método del Puente de Wheatstone (Rhoades et al., 1989). Los valores obtenidos se clasificaron por el porcentaje de sales desde no salino hasta muy fuertemente salino, como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2 Clasificación de la saturación salina.

Lectura (mmhos/cm)	Clasificación	Porcentaje de sales
0–2	No salino	0–01
2.1–4	Muy ligeramente salino	0.1–0.3
4.1–8	Moderadamente salino	0.3–0.5
8.1–16	Fuertemente salino	0.5–1.0
Más de 16	Muy fuertemente salino	Más de 1

### 6.2.4 Textura (Método del Hidrómetro de Bouyoucos)

Este método utiliza para determinar la estructura del suelo, estimando la densidad de suspensión de las partículas mediante un hidrómetro o densímetro. Se cuenta el tiempo que le toma a las partículas suspendidas en el medio acuoso en precipitarse, tomando lecturas a los 40 segundos (tiempo necesario para sedimentación de las arena) y a las dos horas por la caída al fondo de los limos. Dichos porcentajes fueron sometidos a un triángulo de Edwards para definir el tipo de suelo (Edward, 2000).

### 6.2.5 Materia Orgánica (Método de Walkley-Black)

Se estimó la materia orgánica utilizando el método de Walkley-Black (Walkley, 1947) que consiste en una oxidación húmeda de la muestra de suelo embebida en dicromato de potasio, en donde la reducción de este compuesto es equivalente al contenido de carbono que ha sido oxidado. De dicha oxidación se obtuvieron los datos del porcentaje de materia orgánica y se clasificaron de acuerdo a la norma (Tabla 3).

**Tabla 3 Clasificación de la materia orgánica del suelo mediante el método de Walkley-Black**

<b>% Mat. Orgánica</b>	<b>Clasificación</b>
0.0 – 0.25	Extremadamente pobre
0.26 – 0.50	Pobre
0.51 – 1.00	Mediamente pobre
1.01 – 2.00	Mediano
2.01 – 3.00	Medianamente rico
3.01 – 4.00	Rico
Más de 4.00	Extremadamente rico

## **6.3 Biología Molecular**

### **6.3.1 Extracción de ADN.**

Se extrajo ADN genómico tomando una muestra de 5 a 10mg de músculo de quela o branquia de al menos un organismo por especie, siguiendo el método de extracción por precipitación de proteínas del kit comercial Genra Puregene Tissue Kit de Qiagen (modificado de Ibrasheva, 2011). El ADN genómico obtenido se cuantificó y se determinó la pureza de la muestra utilizando el espectrofotómetro NanoDrop 2000 (UV-Vis Spectrophotometer, Thermo Scientific) a 260 nm de absorbancia, con la finalidad de estandarizar la cantidad de ADN utilizada en cada reacción. Posteriormente se observó la calidad de las muestras por medio de una electroforesis en gel de agarosa al 1% utilizando un Buffer Sodio-Borato (SB 1X). Dicha electroforesis se realizó por un lapso de 35 minutos a 140v y 400ma y el gel se tiñó con 1ul de GelRed Nucleic Acid Gel Stain, 100X (Biotium, 2013) por muestra, adicionado directamente en la muestra cargada en el gel de agarosa. Finalmente, el ADN se observó en un fotodocumentador UVP MultiDoc-it (Digital Imaging System).

### **6.3.2 Amplificación - PCR**

Después de observar la calidad del ADN genómico se procedió a amplificar los fragmentos mitocondriales 16S (Palumbi, et al., 1991), Citocromo Oxidasa I (Modificado de: Folmer et al., 1994) y 12S (Schubart, et al., 2006) (Tabla 4) mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) haciendo uso de un termociclador Corning Axygen MaxyGene Thermal Cycler 110V, programando las condiciones de reacción específicas para cada fragmento (Tabla 5-7).

**Tabla 4 Nombre de las regiones a utilizar, nucleótidos integrados en los primers y los autores a quien se refieren dichos primers.**

Región	Primer	Secuencia	Autor
16S	16Sar	CGCCTGTTTATCAAAAACAT	Palumbi et al., 1991
16S	16Sbr	CCGGTCTGAACTCAGATCACGT	Palumbi et al., 1991
Citocromo Oxidasa I	COI LCO-F Variant1	ACTGCCATCTTGGAGGACATTTTCTACAAAYCATAARVATATYRG	Sintetizados para este trabajo
Citocromo Oxidasa I	COI LCO-F Variant2	ACTGCCATCTTGGAGGACATTTTCTACAAAYCATAARVATATYRC	Sintetizados para este trabajo
Citocromo Oxidasa I	COI HCO-R Variant	CCCAGGATTATGGAACGGTAAACTTCTGGRTGNCYGAARAAAYCA	Sintetizados para este trabajo
12S	12Sai	AAACTAGGATTAGATACCCTATTAT	Schubart, et al., 2006
12S	12Sbi	AAGAGCGACGGGCGATGTGT	Schubart, et al., 2006

**Tabla 5 Programa para PCR de la región ribosomal 16S**

Región 16s	Temp	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización Inicial	95.0°C	03:00 min	
Desnaturalización	95.0°C	01:00 min	30 ciclos
Alineamiento	56.5°C	01:00 min	
Elongación	72.0°C	01:30 min	
Elongación final	72.0°C	10:00 min	

**Tabla 6 Programa para PCR de la región mitocondrial Citocromo Oxidasa I**

Región COI	Temp	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización Inicial	94.0°C	02:00 min	
Desnaturalización	94.0°C	00:30 min	13 ciclos +1°C/ciclo
Alineamiento	47.0°C	00:45 min	
Elongación	72.0°C	01:10 min	
Desnaturalización	94.0°C	00:30 min	34 ciclos
Alineamiento	60.0°C	00:45 min	
Elongación	72.0°C	01:10 min	
Elongación final	72.0°C	10:00 min	

**Tabla 7 Programa para PCR de la región ribosomal 12S**

Región 12s	Temp	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización Inicial	92.0°C	02:00 min	
Desnaturalización	92.0°C	02:00 min	25 ciclos
Alineamiento	55.4°C	02:00 min	
Elongación	72.0°C	03:00 min	
Elongación final	72.0°C	10:00 min	

Las reacciones de PCR fueron preparadas a un volumen final de 30  $\mu$ l con la finalidad de reservar 25  $\mu$ l para la secuenciación y realizar confirmación con los 5  $\mu$ l restantes. La mezcla consistió en los siguientes reactivos para la región ribosomal 16S: 8.9  $\mu$ l de agua ultrapura grado molecular, 1.25  $\mu$ l de buffer 1x (Bioline), 1  $\mu$ l 2.5mM MgCl<sub>2</sub>, 0.25  $\mu$ l 0.2nM dNTP's, 0.25  $\mu$ l 100 $\mu$ M Primer y 0.1  $\mu$ l Taq polimerasa (Bioline). Para la región mitocondrial COI: 12.5  $\mu$ l de agua ultrapura grado molecular, 2.0  $\mu$ l de buffer 1x (Bioline), 2  $\mu$ l 2.5mM MgCl<sub>2</sub>, 0.4  $\mu$ l 0.2nM dNTP's, 1  $\mu$ l 100 $\mu$ M Primer, 0.1  $\mu$ l Taq polimerasa (Bioline), y para la región ribosomal 12S, 19.56  $\mu$ l de agua ultrapura grado molecular, 3.0  $\mu$ l de buffer 1x (Bioline), 4.8  $\mu$ l 2.5mM MgCl<sub>2</sub>, 0.6  $\mu$ l 0.2nM dNTP's, 0.3  $\mu$ l 100 $\mu$ M Primer y 0.24  $\mu$ l Taq polimerasa (Bioline). Para cada región se incluyó un tubo control sin ADN genómico, pero conteniendo todos los componentes, para descartar alguna contaminación.

Se colocaron 5  $\mu$ l de cada producto de PCR en un gel de agarosa al 1% para la realización de la electroforesis utilizando un Buffer SB1X y un marcador de peso molecular (100pb, Bioline) que sirvió de referencia para saber si el fragmento amplificado es del peso esperado. La electroforesis se realizó durante 45 minutos a 140v y 400mA, el gel se tiñó con 1  $\mu$ l de GelRed Nucleic Acid Gel Stain, 100X (Biotium, 2013) por muestra y se observó en el fotodocumentador para visualizar el fragmento amplificado.

### **6.3.3 Secuenciación**

Una vez amplificado cada gen, se enviaron 25  $\mu$ l del producto de PCR y 40  $\mu$ l 10pm/  $\mu$ l de cada primer para purificar y secuenciar, a la empresa Macrogen USA Corp bajo los estándares que ahí requieren.

Dichas muestras fueron alineadas utilizando el software CLUSTAL W (versión 1.4, Thompson et al., 1994) y CodonCode Aligner 5.15 (CodonCode Corporation, USA). Las secuencias se depositaron en la base de datos del Código de Barras (*BOLD*) (Sujeevan y Herbert, 2007) y National Center of Biotechnology Information (NCBI).

### 6.3.4 Selección del Grupo Externo

Se seleccionó como grupo externo a *Ocypode cordimanus*, que es un género hermano del grupo de estudio (Familia: Ocypodidae (Rafinesque, 1815)), con el fin de enraizar los árboles y obtener una mejor resolución de las relaciones intraespecíficas.

### 6.3.5 Análisis de Datos

#### 6.3.5.1 Análisis de Secuencias

Se realizaron análisis combinados utilizando ambos fragmentos mitocondriales (COI, 12S y 16S) concatenados con el programa R Studio, RStudio Team (2015), obteniendo el número de sitios variables y los sitios parsimoniosos de cada gen y de la conjunción de los tres genes.

#### Selección del Método de Sustitución de Nucleótidos.

Para obtener las distancias filogenéticas que mejor se ajusten a las secuencias obtenidas, se realizó una prueba estadística del modelo de sustitución de nucleótidos (Posada, 1998), teniendo en cuenta las frecuencias y tasas de variación de los nucleótidos.

$$\hat{p} = \frac{n_d}{n}$$

En donde  $n$  es el total de nucleótidos en la secuencia y  $n_d$  es el número de nucleótidos diferentes en un sitio entre las secuencias. Si la proporción de nucleótidos diferentes es pequeña,  $\hat{p}$  será aproximadamente igual al número de sustituciones por sitio, mientras que si la  $p$  es grande, la estimación del número de sustituciones será incierto.

Para realizar dicho análisis se utilizó el paquete Phangorn (Schliep et al., 2017) del programa [R] Studio (RStudio Team, 2015), en donde se obtuvieron los valores AIC

(Akaike) y BIC (Criterio de Información Bayesiana) y se seleccionó el modelo con menores valores con estos parámetros.

### **6.3.5.2 Construcción de árboles filogenéticos**

Se realizó un árbol filogenético utilizando prueba del vecino más cercano (Neighbor-joining (NJ)), Saitou y Nei, 1988, para obtener la distancia genética, en donde se reduce la longitud total del árbol produciendo una asociación de los OTU's (Operational Taxonomic Unit) más próximos (vecinos). Esto se calcula utilizando la divergencia de cada OTU en el árbol:

$$r(i) = di1 + di2 + di3 + \dots + dij$$

En donde:  $r(i)$  es la divergencia de la suma total de los OTU's. Con este cálculo se obtiene la matriz de distancias con la siguiente ecuación:

$$Mij = dij - \frac{[r(i) + r(j)]}{N - 2}$$

En donde  $Mij$  es la distancia entre los OTU's,  $dij$  representa la distancia actual entre los mismos,  $r$ , la divergencia entre los OTU's y finalmente  $N$  el número total de OTU's. Posteriormente se selecciona el que presente menor distancia entre los organismos y se realiza el cálculo de nuevo con el siguiente "vecino" para así computar el análisis final y generar el árbol.

Mientras que para obtener las relaciones filogenéticas entre especies y el grupo externo, se construyó un árbol filogenético mediante un análisis de Máxima Verosimilitud o Maximum Likelihood (ML) (Felsenstein, 1981) con los tres genes y en un árbol consenso, generado con el paquete Phangorn (Schliep et al., 2017) del programa [R] Studio (RStudio Team, 2015), en donde, bajo el supuesto de que los nucleótidos evolucionan independientemente en cada sitio (Modelo Markoviano), la suma de las

probabilidades de cada posible reconstrucción del estado ancestral (cada nucleótido que podría encontrarse en el sitio), dado por algún modelo de sustitución (mencionado arriba) es calculada para cada sitio ( $i$ ), y así mismo, para obtener la Verosimilitud del árbol se utiliza la siguiente ecuación:

$$L(\Phi) = \prod_{i=1}^n \mathbb{P}(\chi_i|\Phi)$$

En donde  $n$  es el número de sitios,  $\mathbb{P}(\chi_i|\Phi)$  es la probabilidad de que el nucleótido pudo haberse presentado en el OTU ( $X_i$ ),  $i$  es cada uno de los sitios variables y  $\Phi$  incluye la topología del árbol, la distancia de las ramas y los parámetros de los procesos evolutivos de Markov.

#### 6.4 Ecología Filogenética

Utilizando el programa R Studio, RStudio Team (2015) con el paquete Picante: R Tools for integrating phylogenies and ecology (Kembel, et al., 2010), se utilizaron los árboles filogenético en formato NEWICK y la base de datos fisicoquímicos, utilizando las especies encontradas en cada localidad y las localidades, esto para obtener la diversidad filogenética y la riqueza específica por comunidad, que determinarán si las especies se encuentran estrechamente relacionadas con la localidad, esto con la finalidad de determinar si una señal filogenética es alta, afectará a toda la población, y no solo a una especie. Este concepto se conoce como Conservadurismo Filogenético de Nicho Ecológico (CFNE), y se realiza antes de obtener los resultados definitivos de las señales filogenéticas. CFNE se refiere a las distancias medias que se encuentran dentro de las comunidades, en donde se relaciona la filogenia con las localidades. Existen dos funciones principales que son la media de la distancia de grupos (MPD por sus siglas en inglés), entre todas las especies en cada comunidad, del mismo modo, la función MNTD

la cual calcula la distancia media entre el taxón más cercano. Estas dos funciones difieren ligeramente de la distancia filogenética, la diferencia principal es que en estas pruebas se utilizan los objetos de la filogenia (taxones) y no la distancia. La importancia de este análisis (CFNE) radica en cuantificar la diversidad filogenética de la comunidad, en donde mientras más alta sea esta, significa que más espacio del nicho ecológico ha sido llenado (Duncan y Williams, 2002; Diez et al., 2008, Jiang et al., 2010; Thuiller et al., 2010).

#### 6.4.1 Coeficiente de Autocorrelación de Morán.

El coeficiente de Morán  $I$  es conocido como una medida de autocorrelación espacial, sin embargo, es posible utilizarlo como una medida de proximidad filogenética entre las especies en lugar de “proximidad espacial”.

Utilizando la matriz de proximidad filogenética creada con los árboles obtenidos mediante los genes mitocondriales mencionados en la sección anterior, será posible probar si una o más variables ambientales contienen señales filogenéticas, es decir que la estadística dependiente de dichas características se deba a las relaciones filogenéticas, o si se presenta bajo un modelo de movimientos brownianos (cuando el valor de  $I$  es menor a 0). Para dichos análisis, se utilizará el índice de Coeficiente de Moran  $I$  (Sokal y Oden, 1978):

$$I = \left(\frac{n}{S}\right) \left[ \frac{\sum_i \sum_j (y_i - \bar{y}) w_{ij}}{\sum_i (y_i - \bar{y})^2} \right]$$

En donde  $n$  es el número de especies;  $y$  es el valor de las características ecológicas,  $w$  es igual a uno si el dato  $y_j$  e  $y_i$  se encuentra entre el intervalo de clase de  $W$ .  $S$  es la conexión entre especies por cada intervalo de clase. Cada valor de Moran tendrá una significancia de 999 permutaciones y la significancia entre los correlogramas se establecerán utilizando el criterio de Bonferroni (Hochberg, 1988). La correlación filogenética y ecológica será calculada utilizando el paquete “Picante” compilado para [R Studio] (RStudio Team, 2015).

### 6.4.2 Lambda de Pagel

Este parámetro basado en Movimientos Brownianos (MB) mide la dependencia filogenética de un carácter en el cual cuando  $\lambda$  es igual a 0, el carácter evoluciona independientemente de la filogenia, mientras que si el valor es 1 significa que el parámetro estudiado evoluciona según los Movimientos Brownianos. Esto es que el coeficiente  $\lambda$  es la transformación de la filogenia que asegura el mejor ajuste de los datos (caracteres) a un modelo de MB (Pagel, 1999).

### 6.4.3 K de Blomberg

El método de  $K$  de Blomberg expresa la fuerza de la señal filogenética como la relación de la media del error cuadrático de los datos ( $MSE_0$ ) a partir de una media corregida y la media del error cuadrático basado en la matriz de las covarianzas que se derivan de la filogenia dada bajo la suposición de MB (Blomberg et al, 2003). Cuando la similitud de los valores (caracteres) se encuentra bien predicha por la filogenia, el MSE será bajo y por lo tanto  $MSE_0/MSE$  alto. Para utilizarse de manera eficiente, los valores se estandarizan bajo la evolución del MB. La  $K$  se calcula de la siguiente forma:

$$K = \frac{\frac{MSE_0}{MSE} \text{ observado}}{\frac{MSE_0}{MSE} \text{ esperado}}$$

## 6.4.4 Modelos de Evolución Avanzada

### 6.4.4.1 Modelos de Movimientos Brownianos

Primeramente, se obtuvo el modelo de Movimiento Browniano, en donde la variación genética de la población se presenta de forma aleatoria, sin seguir patrones evolutivos, filogenéticos, ecológicos y/o mutaciones (Clayton y Robertson, 1955; Lande 1979 y 1980) en donde:

$$E[\sigma_A^2(t + 1)] = \left(1 - \frac{1}{2N_e}\right)E[\sigma_A^2(t)] + \sigma_m^2$$

En donde  $t$  es el tiempo transcurrido en generaciones,  $N_e$  el tamaño efectivo de la población y  $\sigma_m^2$  la variación mutacional. Cabe mencionar que la ecuación  $\sigma_A^2$  refiere a la deriva genética, que va en decremento con el paso de las generaciones y que depende del tamaño efectivo de la población (Templeton, 2006).

### 6.4.4.2 Modelos Ornstein-Uhlenbeck

Para obtener mayor certeza en el análisis de señalización filogenética, se realizó un análisis utilizando el modelo Ornstein-Uhlenbeck (OU), el cual es un modelo de evolución limitada, en donde la divergencia de caracteres sigue un modelo aleatorio con tendencia central, de modo que las características se retraen hacia un valor óptimo (Hansen, 1997). Este modelo podría conceptualizarse como la evolución estocástica con una fuerza restrictiva debido a la selección estabilizadora (Hansen, 1997) representado de la siguiente forma:

$$dX(t) = \alpha[\theta - X(t)]dt + \sigma dB(t)$$

En donde  $\alpha[\theta - X(t)]dt$  representa la selección estabilizadora, con  $\alpha$  como la fuerza de la selección del valor óptimo del carácter ( $\theta$ ). Debido a que se encuentran relacionados

los caracteres, esperaríamos generalmente el modelo OU una mejor caracterización del modelo de evolución.

Este modelo es necesario compararlo con alternativas, esto se puede realizar comparando los ajustes del modelo usando la prueba de proporciones de probabilidad, observando que el modelo OU tiene dos parámetros adicionales ( $\alpha$  y  $\theta$ ). Sin embargo, este modelo también nos proporciona otros ajustes estadísticos que podemos comparar fácilmente utilizando el Criterio de Información de Akaike (AIC); Para este trabajo se utilizó la correlación para muestras de tamaño pequeño ( $AIC_c$ ), que siguiendo la convención se consideró una diferencia de  $AIC > 3$  para sugerir el soporte del modelo sobre la alternativa y una diferencia  $> 10$  que indica un soporte robusto del modelo (Burnham y Anderson, 2002).

Después de obtener los valores  $AIC_c$ ,  $\alpha$  y  $\theta$ , se realizó una comparación de modelos (Brownianos y OU), identificados de la siguiente forma: BM1 (Movimientos Brownianos de tasa simple), BMS (Movimientos Brownianos de tasa múltiple), OU1 (Ornstein-Uhlenbeck Óptimo simple), OUM (Ornstein-Uhlenbeck Óptimo múltiple), OUMV (Ornstein-Uhlenbeck óptimo múltiple con múltiples tasas) y OUMVA (Ornstein-Uhlenbeck óptimo multiple con múltiples tasas y múltiples alfas). Esto quiere decir que utilizando la fuerza del carácter y la optimización del carácter se realizaron comparaciones para determinar si existe señal filogenética por característica, siguen un patrón de movimientos brownianos o no existe relación entre el carácter y los organismos.

## 7 Resultados

### 7.1 Relaciones Ecológicas

#### 7.1.1 Abundancia

Se obtuvieron un total de 154 cangrejos violinistas, distribuidos en seis especies pertenecientes al género *Uca*, donde *U. marguerita* fue la más abundante (41.6%), seguida por *U. rapax* (29.2%), *U. subcylindrica* (14.29%), *U. vocator* (7.79%), *U. panacea* (5.84%) y *U. spinicarpa* (1.3%).

##### 7.1.1.1 Riqueza por sitios de muestreo

La mayor riqueza se registró en la localidad designada como Bayuco 1 (cuatro especies); Punta de Alambre 1 y Bayuco de Oro 1 con tres especies cada una (Tabla 9). El mayor número de ejemplares fue recolectado en Bayuco 2 y Bayuco de Oro 2 con 51 (33%) y 39 (25%), respectivamente. Dichas relaciones se representaron con un mapa de calor en donde se utilizó una clasificación jerárquica UPGMA y se generaron dos dendrogramas (Fig. 3, parte superior) y de las localidades (Fig. 3, izquierda), en donde se agrupan las zonas de muestreo con base en la abundancia de organismos y la abundancia de especies en las localidades.

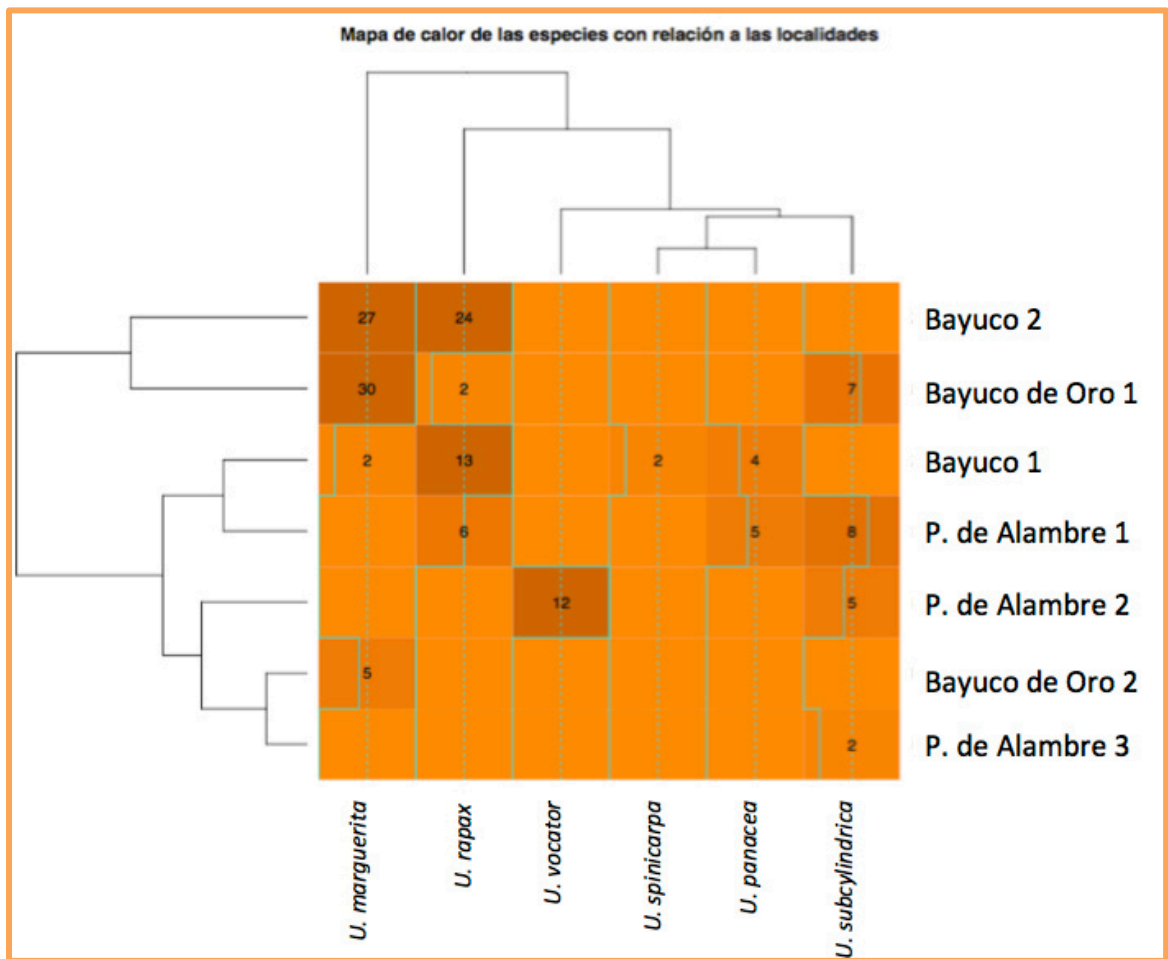


Figura 4 Distribución de la abundancia de las seis especies en las localidades. Las especies y localidades fueron ordenadas mediante un análisis de clasificación jerárquica UPGMA. Las líneas horizontales separan las localidades y verticales las especies.

Tabla 8 Abundancia de especies por localidad.

Localidad	<i>U. marguerita</i>	<i>U. spinicarpa</i>	<i>U. panacea</i>	<i>U. rapax</i>	<i>U. subcylindrica</i>	<i>U. vocator</i>
Bayuco 1	2	2	4	13	0	0
Bayuco 2	27	0	0	24	0	0
Bayuco de Oro 1	30	0	0	2	7	0
Bayuco de Oro 2	5	0	0	0	0	0
Punta de Alambre 1	0	0	5	6	8	0
Punta de Alambre 2	0	0	0	0	5	12
Punta de Alambre 3	0	0	0	0	2	0

### 7.1.2 Diversidad

Los valores máximos de diversidad, estimados por especie, entre las localidades, se presentaron en *U. subcylindrica* ( $H'=1.28$ ) y *U. rapax* ( $H'=1.10$ ), respectivamente). Cabe señalar que *U. rapax* se muestreo en áreas con suelos arcillosas, mientras que *U. subcylindrica* en áreas franco arcillo-arenosas (Tabla 8).

El análisis de la diversidad específica entre las localidades, reveló que la localidades Bayuco 1 y Punta de Alambre 1, presentaron la mayor diversidad con  $H'=1.06$  y  $H'=1.07$ , respectivamente (Tabla 11). Estos datos fueron corroborados al realizar una prueba T de Hutchenson (1970) para estimar la diferencia entre la diversidad (Tabla 12). Asimismo, se encontró que no existieron diferencias significativas entre las localidades Bayuco 2 ( $H'=0.69$ ), Punta de Alambre 2 ( $H'=0.6$ ) y Bayuco de Oro 1 ( $H'=0.66$ ), por lo que durante los periodos de muestreo la diversidad específica en estas tres zonas resultaron similares.

Las especies dominantes, de acuerdo al índice de Simpson fueron: *U. subcylindrica* ( $D'=0.706$ ) y *U. rapax* ( $D'=0.612$ ), este último valor casi a la par que el registrado para *U. marguerita* ( $D'=0.595$ ). La especie con menor dominancia fue *U. panacea* ( $D'=0.493$ ), sin embargo, debido a que *U. spinicarpa* y *U. vocator* solo se colectaron en un sitio cada una, no presentan dominancia sobre las demás (Tabla 6).

Tabla 9 Diversidad de Shannon por especie

Especie	Shannon ( $H'$ )
<i>U. marguerita</i>	1.027
<i>U. spinicarpa</i>	0
<i>U. panacea</i>	0.687
<i>U. rapax</i>	1.101
<i>U. subcylindrica</i>	1.287
<i>U. vocator</i>	0

Tabla 10 Dominancia de Simpson por especie

Especie	Simpson ( $D'$ )
<i>U. marguerita</i>	0.595
<i>U. spinicarpa</i>	0
<i>U. panacea</i>	0.493
<i>U. rapax</i>	0.612
<i>U. subcylindrica</i>	0.706
<i>U. vocator</i>	0

En cuanto a la proporción de la diversidad observada con relación a la máxima diversidad esperada (Índice de Pielou ( $J$ )), los valores obtenidos mostraron que las especies en las localidades Bayuco 2 y Punta de Alambre 1 fueron las más abundantes, esto es debido a que la proporción de individuos es similar en las especies (como es el caso de las primeras dos localidades mencionadas) (Tabla 8), mientras que en Bayuco de Oro 1 casi el 100% de los individuos pertenecen a una sola especie y el restante a diferentes especies, sin embargo no hay diferencia significativa en la abundancia de las especies (Tabla 11). Cabe mencionar que no fue posible determinar el índice de equidad de Pielou en Bayuco de Oro 2 y Punta de Alambre 3 ya que no presentaron diversidad específica.

**Tabla 11** Riqueza, diversidad y equidad específica para las localidades

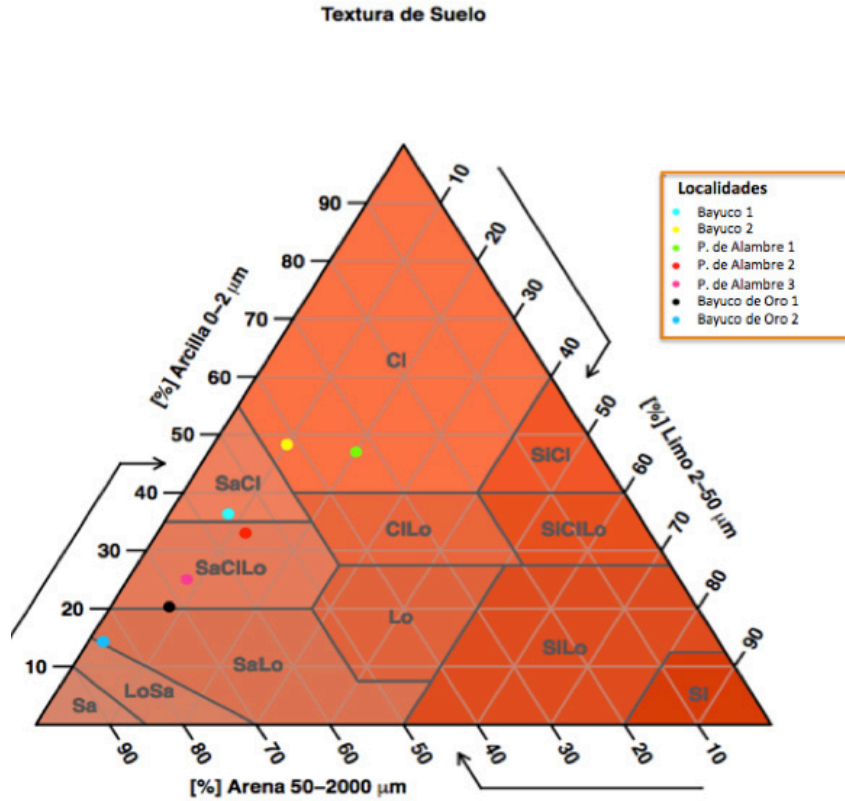
Localidad	Riqueza (S)	Shannon (H)	Simpson (D)	Pielou (J')
Bayuco 1	21	1.06	0.562	0.765
Bayuco 2	51	0.69	0.498	0.997
P. de Alambre 1	19	1.07	0.653	0.982
P. de Alambre 2	17	0.6	0.415	0.873
Bayuco de Oro 2	5	0	0	NA
Bayuco de Oro 1	39	0.66	0.3734	0.602
P. de Alambre 3	2	0	0	NA

**Tabla 12** Análisis de T de Hutchinson para estimar diferencia significativa entre diversidad de Shannon

Localidad	Bayuco 1	Bayuco 2	P. de Alambre 1	P. de Alambre 2	P. de Alambre 3	Bayuco de Oro 1	Bayuco de Oro 2
Bayuco 1	0						
Bayuco 2	2.19	0					
P. de Alambre 1	-0.05	-8.33	0				
P. de Alambre 2	2.37	0.92	4.40	0			
P. de Alambre 3	6.30	83.79	23.84	6.20	0		
Bayuco de Oro 1	1.91	0.24	3.11	-0.38	-5.33	0	
Bayuco de Oro 2	6.30	83.79	23.84	6.20	0	5.33	0

### 7.1.3 Textura

El análisis de textura de suelo, utilizando el triángulo de Edward (2000), permitió delimitar las localidades con base en las características del suelo (Fig. 3), en donde de manera general, son suelos mayoritariamente arcillosos y francos.



**CI:** Arcilloso, **SaCl:** Arcillo-Arenoso, **SaCILo:** Franco-Arcillo-Arenoso, **SaLo:** Franco-Arenoso, **LoSa:** Areno-Francoso, **Sa:** Arenoso, **Lo:** Franco, **CILo:** Franco-arcilloso, **SiCl:** Arcillo-Limoso, **SiCILo:** Franco-Arcillo-Limoso, **SiLo:** Franco-Limoso, **Si:** Limoso.

**Figura 5** Textura del suelo de los sitios de colecta, utilizando el triángulo de textura (Edward, 2000)

## **7.1.4 Análisis Fisicoquímicos**

### ***7.1.4.1 pH***

Las condiciones de pH de las localidades de muestreo permitieron clasificarlas desde muy ligeramente alcalinas hasta muy fuertemente alcalinas, siendo la mayoría cercanas a ocho puntos de pH (Fig. 5). Los valores mayores de pH se registraron en los ambientes de P. de Alambre 3 y Bayuco de Oro 1, ambos con suelos de tipo Franco arcillo arenoso. A diferencia de estos sitios, la localidad de Punta de Alambre 2, que presenta el mismo tipo de suelo, mostró un valor menor a ocho (Ligeramente alcalino).

### ***7.1.4.2 Sales Solubles***

Las condiciones de solubilidad salina presentes en las localidades variaron de fuertemente salinos a extremadamente salinos. A este respecto, las localidades Bayuco 1 y Punta de Alambre 3 se encuentran clasificadas como suelos extremadamente salinos. Cabe mencionar que, en el límite entre suelos fuertemente salinos y extremadamente salinos se encuentran la mayoría de las localidades (cinco de las siete) (Fig. 6). Del total de localidades, Punta de Alambre 1 y Bayuco de Oro 1 presentaron valores inferiores de salinidad, esto puede deberse a que son zonas un tanto menos fangosas que el resto de las localidades, además de estar más alejadas de la zona eulitoral y contar con vegetación asociada.

### ***7.1.4.3 Salinidad***

Los valores de salinidad obtenidos se denominaron como oligohalina, mesohalina y polihalina, en donde Punta de Alambre 3, Bayuco de Oro 1 y 2 son los que presentaron un tipo de salinidad oligohalina, mientras que en Punta de Alambre 2 y Bayuco 2, se registraron condiciones de salinidad media (mesohalina) y polihalina en las zonas de Punta de Alambre 1 y Bayuco 1 (Fig. 7).

#### 7.1.4.4 Temperatura

Tomando en cuenta la temperatura media del área meridional de Laguna Madre, que es de 24°C en promedio, las temperaturas obtenidas en este estudio siguieron un patrón cercano al fluctuar entre 23°C y 26°C. La temperatura más baja fue registrada en Punta de Alambre 3, que es la zona con mayor influencia de mareas, mientras que las temperaturas más altas se registraron en las localidades situadas hacia la zona supralitoral (Fig. 8)

#### 7.1.4.5 Materia Orgánica (MO)

Punta de Alambre 1 es una zona altamente arcillosa, localizada en el área supralitoral, con datos de MO de 2.76. Bayuco 2 y Punta de Alambre 2 y 3, presentaron valores de 1.75, 1.91 y 1.97, respectivamente. Las últimas localidades son similares en el porcentaje de MO. Las localidades hasta ahora mencionadas son zonas más arcillosas o limosas. Bayuco 1 y Bayuco de Oro 1 son zonas con baja MO (apenas el 1%) (Fig. 9).

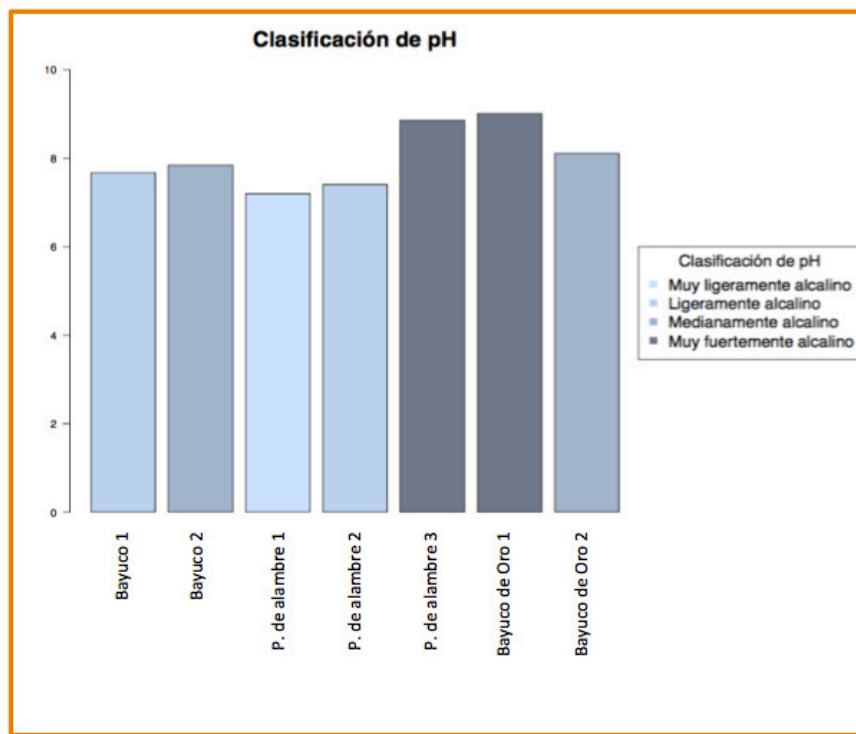


Figura 6 Clasificación del pH del suelo, obteniendo valores alcalinos en el total de las localidades

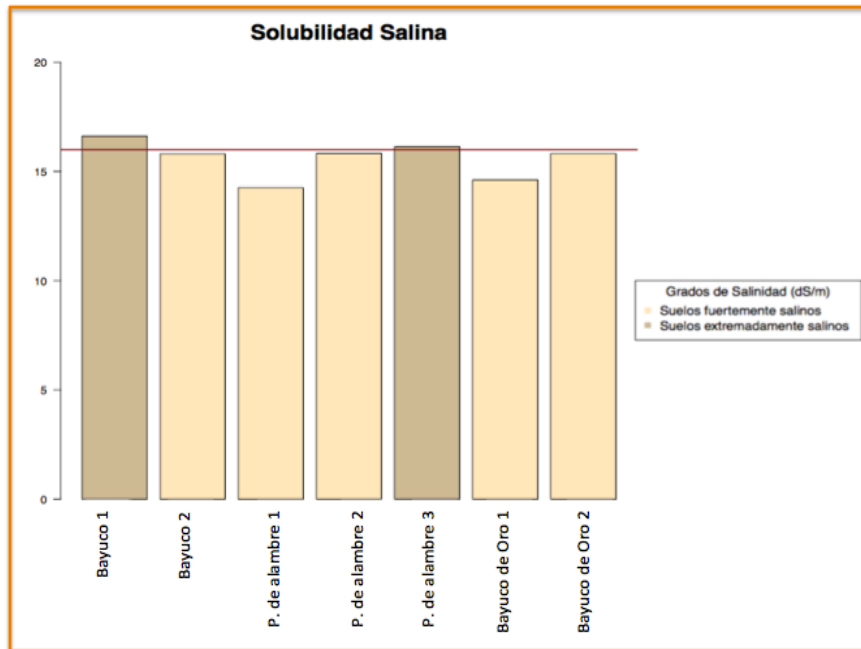


Figura 7 Solubilidad de sales en los seis sitios de muestreo. Se recrea con una línea roja el nivel de separación entre suelos fuertemente salinos y suelos extremadamente salinos.

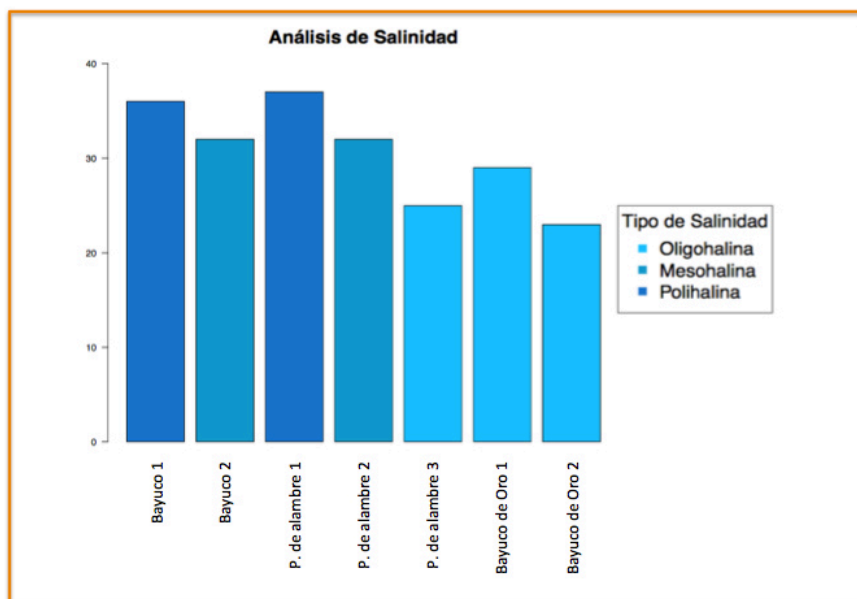


Figura 8 Tipo de salinidad obtenido en el análisis

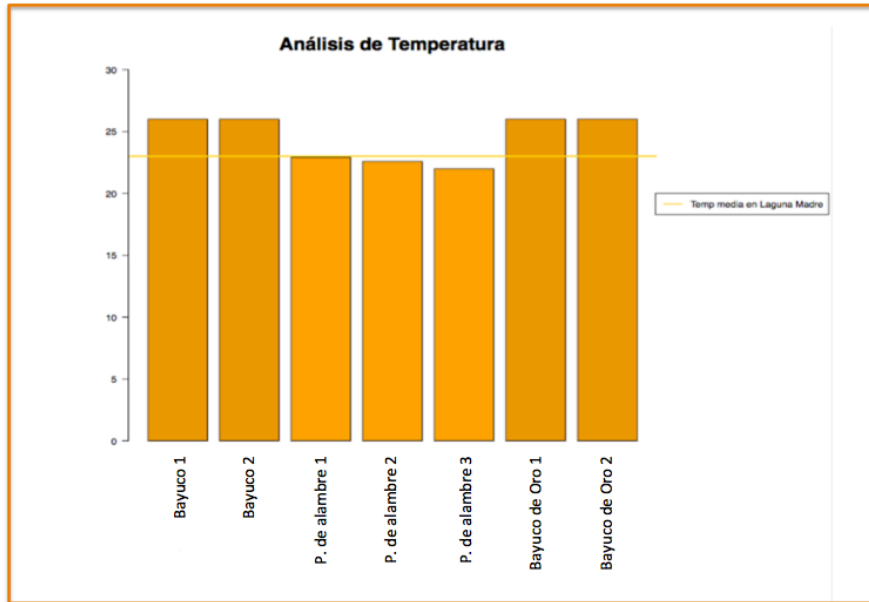


Figura 9 Análisis de temperatura. La línea horizontal amarilla indica la temperatura media del área meridional de la Laguna Madre, Tamaulipas.

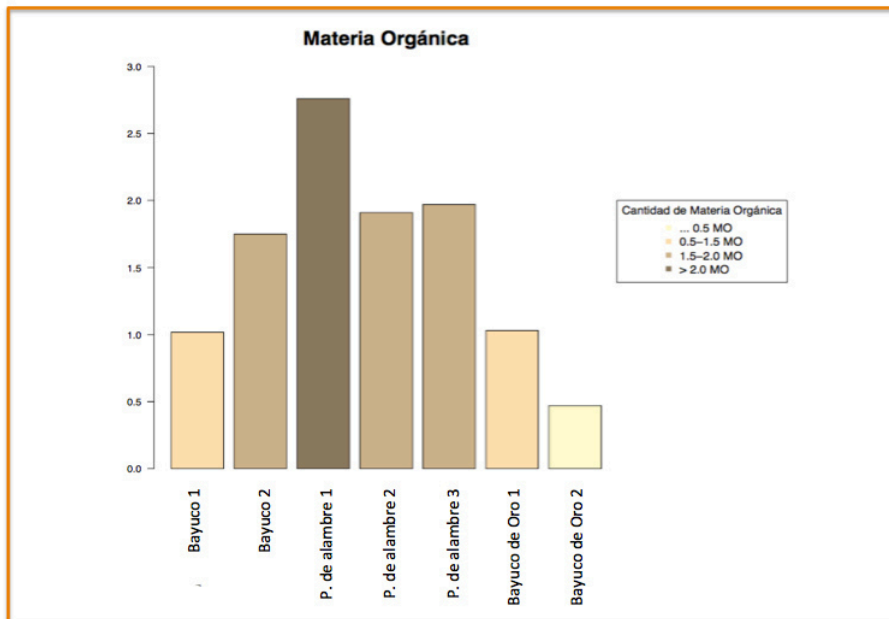


Figura 10 Cantidades de Materia Orgánica obtenidas por localidad

### 7.1.5 Caracterización Ambiental

Con base en el análisis de riqueza, abundancia y densidad, la distribución espacial de los cangrejos violinistas se mostró bien definida (Tabla 11). En las zonas arcillo-arenosas, ubicadas en el área supralitoral, se encontró la mayor cantidad de especies, sobresaliendo *U. marguerita* y *U. rapax* con el 42% y 29% de los individuos, respectivamente. Cabe mencionar que *U. marguerita* solamente fue recolectada en las localidades “Bayuco 2” y “Bayuco de Oro 1 y 2”, aparentemente por ser la especie con distribución en las costas de Tamaulipas con mayor afinidad a los ambientes estuarinos dentro del género *Uca*. En contraste, *U. rapax* se capturó en varias las localidades, sin embargo, también fue más abundante en los sedimentos de tipo arcillo-arenosos (Tabla 8) con una textura con casi el 50% de arcillas (Figura 3). Dicha área se caracterizó por tener, salinidades superiores a 32 ppm (euhalino), pH menores a 8 (entre ligeramente alcalina y alcalina) y cantidades de Materia Orgánica entre 1 y 2 (Tabla 8). Por otro lado, la zona arenosa, localizada en la zona eulitoral, se caracterizó por una baja sensible de la biodiversidad, además porque los sedimentos característicos de ese hábitat concentran menor salinidad (polihalino) que las zonas arcillo-arenosas. Así mismo, las zonas arenosas son áreas con pHs por arriba de 8 (clasificadas entre fuertemente y muy fuertemente alcalino) y cantidades reducidas de materia orgánica (Tabla 13). Cabe señalar que las temperaturas en las localidades Bayuco de Oro 1 y 2 fueron superiores a las P. de Alambre 1, 2 y 3 debido a que son áreas más someras y con menor exposición mareal por encontrarse extremadamente protegidas e incluso por contar con una influencia continental muy marcada.

**Tabla 13 Datos de características fisicoquímicas obtenidas para el estudio, por localidad**

Localidad	M.O.	pH	Salinidad	Solubilidad Salina	Temperatura
Bayuco 1	1.017	7.67	36	16.61	26
Bayuco 2	1.751	7.84	32	15.81	26
P. de Alambre 1	2.757	7.20	37	14.25	22.9
P. de Alambre 2	1.909	7.41	32	15.83	22.6
P. de Alambre 3	1.966	8.86	25	16.13	22
Bayuco de Oro 1	1.034	9.01	29	14.61	26
Bayuco de Oro 2	0.468	8.11	23	15.82	26

## **7.2 Filogenia**

### **7.2.1 Filogenia Molecular**

En el presente trabajo se obtuvieron secuencias parciales de los genes 12s, 16s y Citocromo Oxidasa I de seis especies de cangrejo violinista, más el grupo externo *Ocypode cordimanus*. Además, se realizó un análisis conjunto utilizando la concatenación de los tres genes (Tabla 14).

#### **7.2.1.1 Región 12S**

En la alineación del gen 12S se obtuvieron un total de 364 pb de los cuales 35 fueron sitios variables y 16 sitios parsimoniosamente informativos (Tabla 14), asimismo se consideró que la composición nucleotídica de las secuencias era homogénea, por su porcentaje A-T (38.5% y 36.6%, respectivamente).

#### **7.2.1.2 Región 16S**

Para el gen 16S la alineación se realizó con un total de 522 pb de las cuales 54 fueron sitios variables y 33 sitios parsimoniosamente informativos, con una proporción de A-T de 28.8% y 35%, respectivamente, por lo que se consideró homogénea.

#### **7.2.1.3 Región Citocromo Oxidasa I**

Para el gen COI en el alineamiento se obtuvieron 554 pb con 267 sitios variables y 29 sitios parsimoniosamente informativos, con una proporción A-T de 34% y 38.2%, respectivamente, por lo que se considera que la composición nucleotídica fue homogénea.

#### 7.2.1.4 Regiones concatenadas

Se realizó una concatenación de las tres regiones del cual se obtuvieron 1439 pb en total con 356 sitios variables y 78 sitios parsimoniosamente informativos y de igual forma, al obtener la composición nucleotídica de las secuencias, se consideró homogénea por su relación A-T (33.1% y 36.6% respectivamente).

Tabla 14 Sitios variables, informativos y longitud de las regiones utilizadas, con las seis especies.

Gen	Var	Pi	Long de región
12s	35pb	16ob	364pb
16s	54pb	33pb	522pb
COI	267pb	29pb	554pb
Concat	356pb	78pb	1439pb

#### 7.2.2 Método de Sustitución Nucleotídica

El método de sustitución que mejor se ajustó a las secuencias utilizando los criterios estadísticos de Akaike (AIC) y el Criterio de Información Bayesiano (BIC) fue Hasegawa-Kishino-Yano con distribución Gama (HKY+G, nst=2), con el cual se realizó una tabla de divergencia entre secuencias (Tabla 15) para posteriormente realizar los árboles pertinentes para el estudio.

#### 7.2.3 Divergencia evolutiva

La alineación y concatenación de las secuencias nucleotídicas (16s, 12s y COI) permitió percibir la variación de los sitios de las secuencias y así observar mutaciones entre especies mediante la divergencia obtenida. Esto permitió agrupar a las especies en dos subgéneros, *Minuca* y *Leptuca*; en este último, la diferencia entre *U. panacea* y *U. marguerita* es mínima (0.006), mientras que la relación entre esta última y *U.*

*spinicarpa*, aunque sigue siguiendo baja (0.041), es claramente mayor que su correlación con *U. panacea* y muy poco divergente de *U. subcylindrica* (0.044) en comparación con *U. spinicarpa*. De esta manera, la relación de la divergencia evolutiva en el género, permite agrupar a las especies que pertenecen al subgénero *Leptuca* (*U. panacea*, *U. marguerita*, *U. spinicarpa* y *U. subcylindrica*). Sin embargo, *U. rapax* y *U. vocator* situadas filogenéticamente en el subgénero *Minuca* presentan valores altos al realizar las similes con el resto de las especies, de tal modo que de manera general, la divergencia evolutiva de estas dos especies resulta mayor (Tabla 15).

**Tabla 15** Relación de la divergencia evolutivas entre las especies del género *Uca*

<b>Especies</b>	<i>U. marguerita</i>	<i>U. panacea</i>	<i>U. rapax</i>	<i>U. spinicarpa</i>	<i>U. subcylindrica</i>	<i>U. vocator</i>
<i>U. panacea</i>	0.0064					
<i>U. rapax</i>	0.2275	0.2264				
<i>U. spinicarpa</i>	0.0417	0.0364	0.2391			
<i>U. subcylindrica</i>	0.0447	0.0394	0.1929	0.0484		
<i>U. vocator</i>	0.1025	0.0967	0.2164	0.1073	0.0823	
<i>Ocypode cordimanus</i>	0.3283	0.3223	0.4112	0.3283	0.3036	0.3364

## 7.2.4 Construcción de árboles filogenéticos

### 7.2.4.1 Neighbor-Joining (NJ).

A partir del análisis de las secuencias, se generaron dos árboles de distancias genéticas a través del modelo del vecino más cercano, utilizando el método de sustitución HKY + G con 10,000 pseudoreplicaciones de bootstrap para ampliar el nivel de confianza de los árboles resultantes (Original y Consenso) (Fig. 9 y Fig. 10).

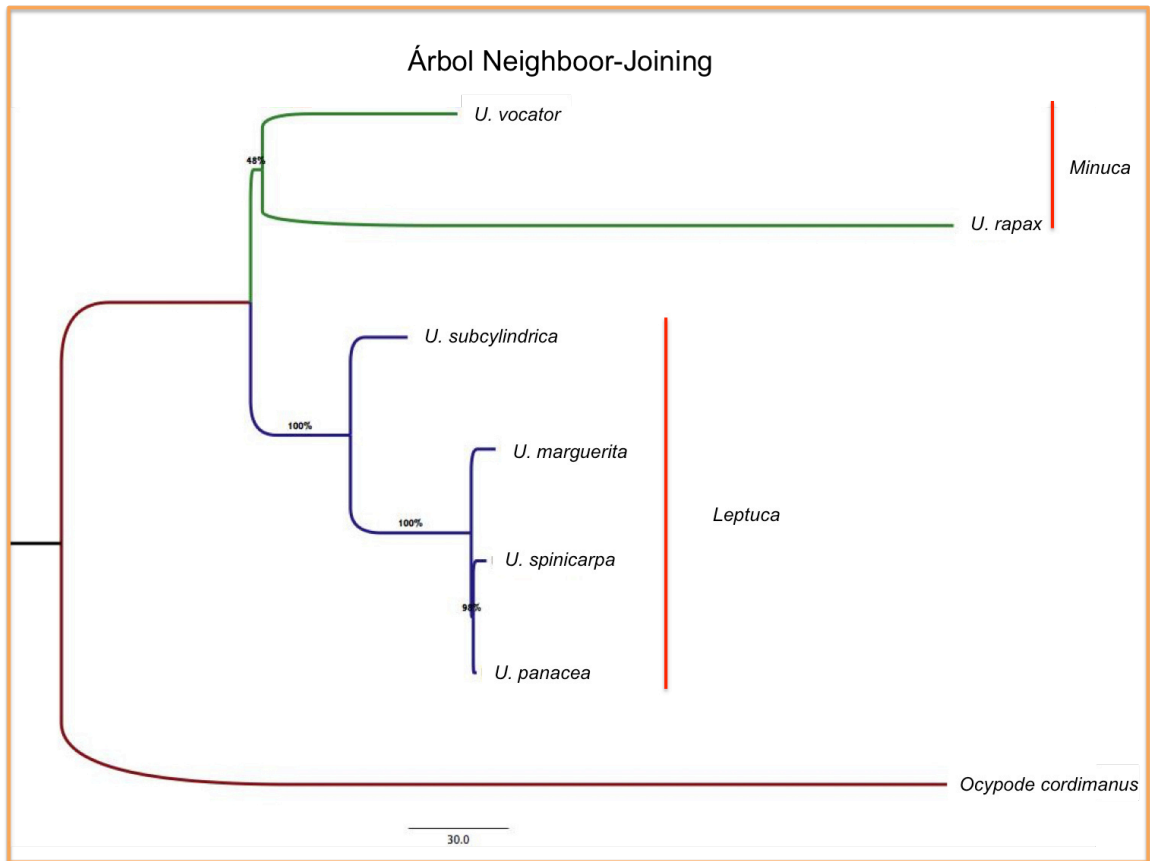


Figura 11 Las relaciones filogenéticas del género *Uca* en Laguna Madre utilizando el método NJ con un clustering de asociación de especies y prueba de bootstrap de 10,000 pseudoreplicaciones.

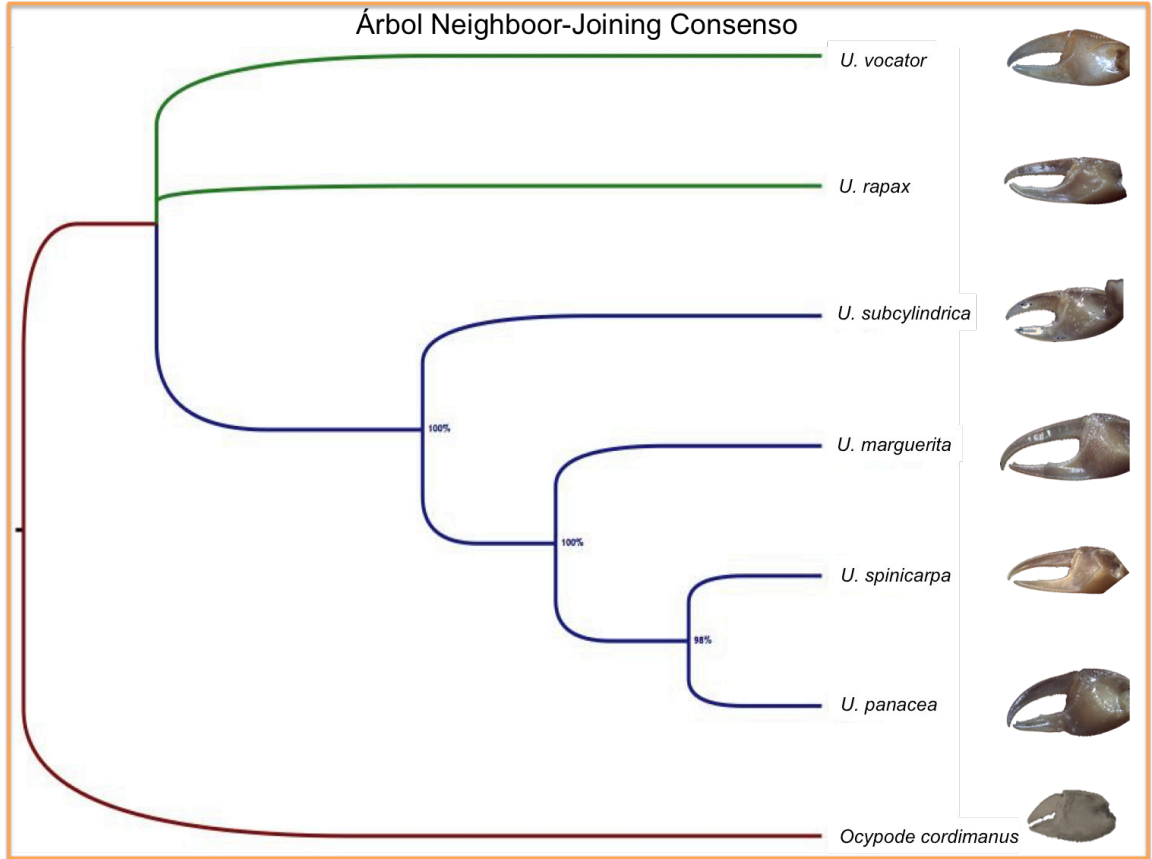


Figura 12 Árbol consenso NJ con prueba de bootstrap de 10,000 pseudoreplicaciones (valores en los nodos) para percibir las relaciones entre las especies del género *Uca* presentes en el área de estudio.

En donde *U. vocator* y *U. rapax*, especies pertenecientes al subgénero *Minuca* se encuentran relacionadas, sin embargo, el nivel de confiabilidad (bootstrap) es bajo. Mientras tanto, en el clado inferior, se encuentran con 98% de confiabilidad *U. spinicarpa* y *U. panacea* teniendo como especie hermana a *U. marguerita* con una confiabilidad del 100% en relación a la correlación mencionada con anterioridad, y a su vez *U. subcylindrica* como especie hermana de este grupo en 100% de confianza de bootstrap, agrupando así al subgénero *Leptuca*.

Para observar de manera global la relación de los organismos se realizó un árbol consenso (Fig 10) en donde, como se describió recientemente, las especies permanecen ordenadas en los subgéneros *Minuca* (en color azul) y *Leptuca* (en color rojo).

#### 7.2.4.2 Maximum-Likelihood (ML)

A partir del análisis de las secuencias nucleotídicas se obtuvo un árbol filogenético de Máxima Verosimilitud (ML) para obtener las relaciones filogenéticas del complejo de especies, utilizando 10,000 pseudoreplicaciones y el modelo evolutivo antes señalado (HKY+G).

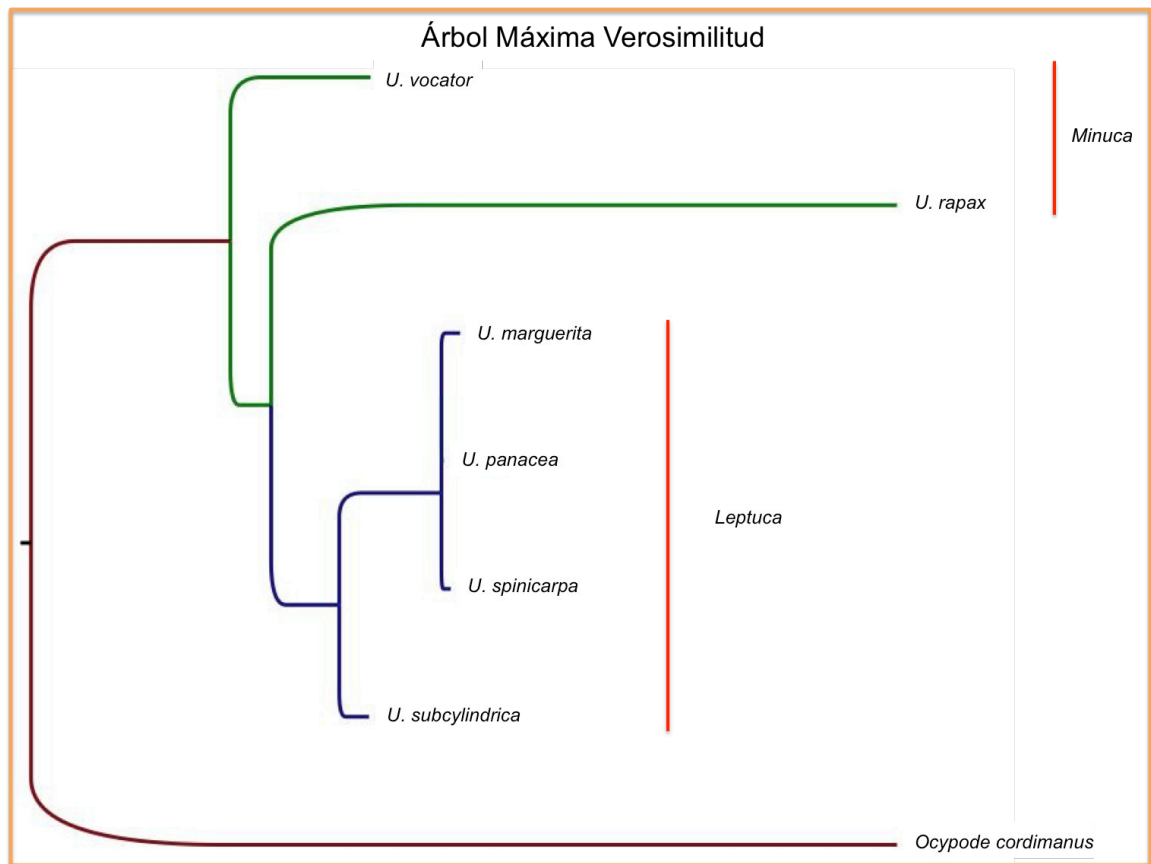


Figura 13 Árbol filogenético generado con el método de Máxima-Verosimilitud y el modelo evolutivo HKY+G con 10,000 pseudoreplicaciones para obtener las relaciones filogenéticas del grupo.

Las relaciones entre especies se encuentran bien representadas, aunque con algunos cambios a diferencia del árbol anterior. Primeramente, se encuentra una relación entre *U. marguerita* y *U. spinicarpa* con una confianza (bootstrap) de 54%, poniendo en duda esta relación. Sin embargo, estas especies se encuentran agrupadas con *U. panacea*

como especie hermana con una confiabilidad del 100% y a su vez, este clado constituido por las tres especies se relaciona con 88% de confianza con *U. subcylindrica*; conformando así al subgénero *Leptuca*. Cabe mencionar que la relación disímil al árbol generado por la distancia de las ramas (NJ) es relativamente baja, ya que el clado donde concuerda *U. marguerita*, *U. spinicarpa* y *U. panacea* sigue formándose con *U. subcylindrica* como especie hermana, con la discrepancia de la estrecha relación de *U. marguerita* y *U. panacea* que se aprecia en la Figura 11.

Por otro lado, *U. rapax* y *U. vocator* no se agrupan de la misma manera, i.e. *U. rapax* se concentra como especie cercana al subgénero *Leptuca* mientras que *U. vocator* (perteneciente al mismo subgénero que *U. rapax* (*Minuca*)) se relaciona mejor con *U. rapax*, ya que la distancia entre ésta y el subgénero *Leptuca* es mayor. Sin embargo, el nivel de confianza de estas relaciones (Subgénero *Minuca*) es dudoso, ya que el porcentaje de bootstrap en el nodo que las separa es de solo 62%.

### 7.3 Ecología Filogenética

#### 7.3.1 Conservadurismo Filogenético de Nicho Ecológico (CFNE)

Se obtuvo la diversidad filogenética de Faith (1992) a partir de la relación filogenética, las comunidades y la riqueza específica utilizando la cantidad de organismos por especie, determinados por localidad, lo que reveló que el 83.5% de la diversidad se encuentra en las comunidades del Bayuco 1, Bayuco 2, Bayuco de Oro 1 y Punta de Alambre 1, mientras que el resto de las localidades presentan una menor diversidad filogenética (Tabla 16).

Tabla 16 Diversidad filogenética de Faith (1992) y la riqueza de especies en las localidades

Comunidad	Diversidad Filogenética	Riqueza Específica
Bayuco 1	0.2066	4
Bayuco 2	0.2026	2
Bayuco de Oro 1	0.2150	3
Bayuco de Oro 2	0.0520	1
P. de Alambre 1	0.2109	3
P. de Alambre 2	0.0781	2
P. de Alambre 3	0.0335	1

Asimismo se obtuvo la uniformidad filogenética (UF) entre las especies por localidad, obteniendo valores negativos en tres de las cuatro localidades analizadas (UF obs Z), así como valores de  $P$  bajos (Tabla 18). Sin embargo, en la localidad Bayuco 2 se obtuvo una alta distancia y uniformidad filogenética, esto podría deberse a que en ese sitio se encontró gran abundancia de cangrejos de las dos especies registradas (*U. marguerita* y *U. rapax*), mientras que en el Bayuco 1 fue el sitio de muestreo en el que mayor diversidad específica se encontró (Tabla 17). Cabe mencionar que las localidades de Bayuco de Oro 2 y Punta de Alambre 3 son sitios que no se incorporaron al análisis debido a que la riqueza específica fue de una sola especie.

**Tabla 17 Determinación de la Uniformidad Filogenética (UF) para los siete sitios de muestreo, utilizando las distancias filogenéticas, abundancia y diversidad específica.**

Comunidad	RE	UF	UF mean	UF sd	UF rangos	UF obs z	UF obs p	Rep
Bayuco 1	4	0.0948	0.0780	0.0403	67	0.4158	0.67	99
Bayuco 2	2	0.1009	0.0657	0.0477	79	0.7360	0.79	99
Bayuco de Oro 1	3	0.0313	0.0556	0.0336	34	-0.7235	0.34	99
Bayuco de Oro 2	1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	99
P. de Alambre 1	3	0.0906	0.1034	0.0539	38.5	-0.2363	0.385	99
P. de Alambre 2	2	0.0324	0.0701	0.0440	29	-0.8572	0.29	99
P. de Alambre 3	1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	99

Utilizando el taxón más cercano en el árbol filogenético y las especies observadas para cada comunidad. La distancia media del vecino más cercano (MNTD) que se obtuvo de las localidades, demuestra que hay gran similitud entre las comunidades, ya que los valores de distancia media (MNND Z) son negativos y los valores de *p* bajos, a excepción de las localidades de Bayuco 1 y Bayuco 2. (Tabla 18)

**Tabla 18 Determinación de la distancia media del vecino más cercano en relación con las comunidades**

Comunidad	RE	MNNS obs	MNND mean	MNND sd	MNND rangos	MNND z	MNND p-val	Rep
Bayuco 1	4	0.1245	0.0934	0.0605	68.5	0.5135	0.685	99
Bayuco 2	2	0.2026	0.1768	0.1090	65	0.2362	0.65	99
Bayuco de Oro 1	3	0.0504	0.1196	0.0845	34	-0.8175	0.34	99
Bayuco de Oro 2	1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	99
P. de Alambre 1	3	0.0849	0.1065	0.0696	41	-0.3098	0.41	99
P. de Alambre 2	2	0.0781	0.1581	0.1102	27.5	-0.7333	0.275	99
P. de Alambre 3	1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	99

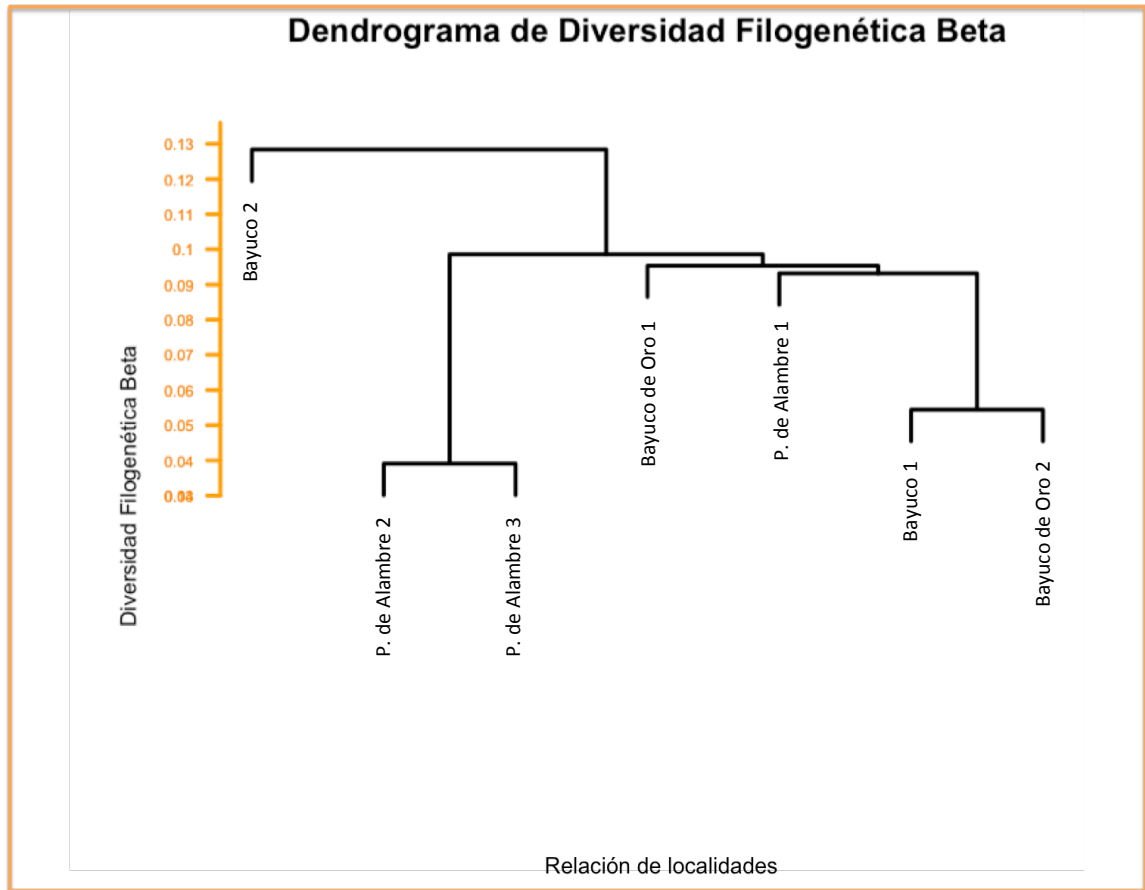
Se obtuvo la diversidad filogenética beta de las localidades para observar su relación, observándose valores entre 0.1 y 0.03 (Tabla 19) en donde se aprecia una importante relación entre la localidad del Bayuco 2 y el resto de las localidades, como consecuencia

de su mayor diversidad, producto de la gran riqueza de organismos, aún y cuando su diversidad específica sea baja (dos especies).

**Tabla 19 Diversidad filogenética beta entre localidades, en donde 1 es una gran similitud y 0 que no existe similitud entre ellas.**

	Bayuco 1	Bayuco 2	Bayuco de Oro 1	Bayuco de Oro 2	P. de Alambre 1	P. de Alambre 2
Bayuco 2	0.1024					
Bayuco de Oro 1	0.0939	0.1054				
Bayuco de Oro 2	0.0543	0.1013	0.0819			
P. de Alambre 1	0.0931	0.1058	0.0953	0.0840		
P. de Alambre 2	0.0976	0.1283	0.0986	0.0699	0.0972	
P. de Alambre 3	0.0769	0.1137	0.0758	0.0435	0.0744	0.0390

Basado en la similitud filogenética (diversidad filogenética beta) se obtuvo un dendrograma que muestra las similitudes en las comunidades, considerando a las especies con menor diversidad filogenética a aquellas agrupadas en las comunidades Punta de Alambre 2 y 3, mientras que en otro clado se conjuntaron, cuatro comunidades que presentaron diversidades que fluctuaron de 0.04 hasta casi 0.09, separadas en Bayuco 1 y Bayuco de Oro 2 en un clado, ya que mostraron diversidades similares (0.04) y Punta de Alambre 1 como localidad relacionada, ya que estos presentaron relación con Bayuco de Oro 1. A su vez, la comunidad con mayor diversidad filogenética se encontró en el Bayuco 2 como un clado aislado de los antes mencionados (Fig. 13).



**Figura 14** Relación de las comunidades basado en la diversidad filogenética beta

### 7.3.2 Coeficiente de Morán (I)

El correlograma filogenético muestra los coeficientes de Morán de cada uno de los caracteres, los cuales revelan la existencia de señal filogenética en Salinidad y Materia Orgánica, mientras que en Temperatura, pH y Sales Solubles, no presentan señal filogenética, ni movimientos brownianos. Los bajos valores de *P* (Salinidad y M.O.) indican que este carácter ecológico presenta adaptación filogenética, mientras que valores altos indican distribuciones aleatorias (Fig. 14 y Tabla 20).

## Índice de Morán

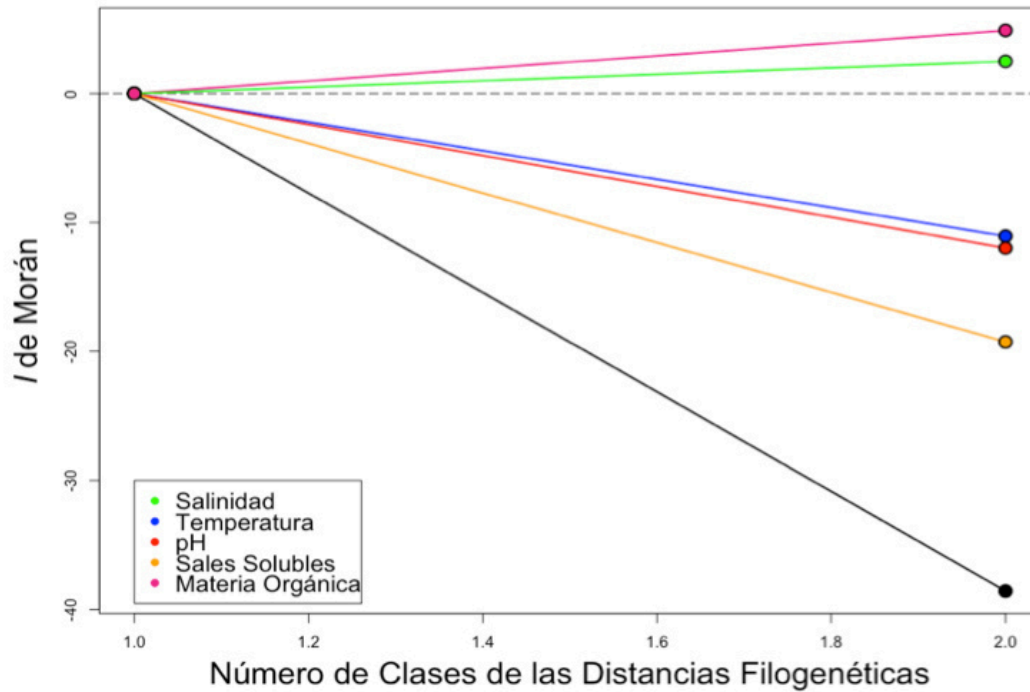


Figura 15 Estimación del Coeficiente de Morán de las cinco características fisicoquímicas utilizadas en el estudio. La línea punteada (0,1) indica el valor esperado bajo la hipótesis nula de no correlación

Tabla 20 *I* de Morán, valores ajustados y su valor de *P* en donde se observa que no hay diferencia significativa en Temperatura, pH y Sales Solubles.

<i>I</i> Morán	Salinidad	Temp	pH	Sales Solubles	Materia Orgánica
Obs	0.2751109	-0.1906357	0.03215828	-0.39748143	0.83255313
Std.Obs	0.7812862	-0.1075981	1.2585923	-1.1527818	0.9168912
Alter	greater	greater	greater	greater	greater
Pvalue	0.022	<b>0.496</b>	<b>0.124</b>	<b>0.892</b>	0.0407

### 7.3.3 Lambda de Pagel y K de Bloomerg

Se realizaron otros dos análisis para observar si existían diferencias entre el coeficiente de Morán ( $I$ ), la Lambda de Pagel ( $\lambda$ ) y K de Bloomerg ( $K$ ).

Se obtuvieron valores de  $\lambda$  tan altos como 0.999 para pH con una  $p < 0.069$  y tan bajos como  $6.610 \times 10^{-5}$  y valores de  $P < 1$  para Materia Orgánica (Tabla 21), los cuales son muy diferentes a los obtenidos mediante la  $I$  de Morán, aunque cabe mencionar que los valores de  $P$  son muy altos, por lo que no son significativos, excepto la temperatura, aunque es marginalmente significativo.

Tabla 21 Lambda de Pagel, logaritmos y valor de  $P$  obtenido para las características fisicoquímicas.

Pagel	Salinidad	Temp	pH	Sales Solubles	Materia Orgánica
lambda	0.8433412	0.9882811	0.9999339	0.987612	6.61E-05
logL	-23.49064	-19.43722	-11.98018	-16.45659	-5.698623
logL0	-24.21871	-21.38202	-13.62848	-18.09641	-5.698552
P	0.227545	0.04858617	0.06942326	0.07014415	1.

Asimismo, se realizó el análisis con el método de  $K$  de Bloomerg, el que reveló altos valores excepto en Materia Orgánica, sin embargo, los valores de  $P$  muestran que los valores obtenidos por este método tampoco son significativos. (Tabla 22).

Tabla 22 El coeficiente  $K$  de Bloomerg y su valor de  $P$  para las características fisicoquímicas utilizadas en el estudio.

Bloomerg	Salinidad	Temp	pH	Sales Solubles	Materia Orgánica
K	0.9937911	1.933903	1.899961	1.894522	0.1626804
P	0.05605606	0.02902903	0.06206206	0.1361361	0.3503504.

Los altos valores del coeficiente ( $I$ ) de Morán (mayores a cero, en Salinidad, pH y Materia Orgánica) (Tabla 20), revelan la existencia de señal filogenética para estas tres características, sin embargo, el pH presenta valores de  $P$  muy altos, por lo que su significancia es negativa. Los valores negativos indican que conforme aumenta la distancia filogenética, las distancias de los valores de las variables se hacen menores, es decir que las especies más distantes tienen mayor similitud en los valores de las variables.

### **7.3.4 Modelos de Evolución de Caracteres**

#### **7.3.4.1 *Estado Ancestral de Carácter (MV)***

Se estimó el estado ancestral de los caracteres de cada nodo de un árbol filogenético, utilizando el método Máxima Verosimilitud para caracteres continuos (Fig 15-19), con la finalidad de observar la relación evolutiva entre la divergencia filogenética y los valores obtenidos para cada parámetro. Dichos árboles fueron conjugados para observar las relaciones entre caracteres (Fig. 20-30)

### Estimación del Estado Ancestral (ML) Temperatura

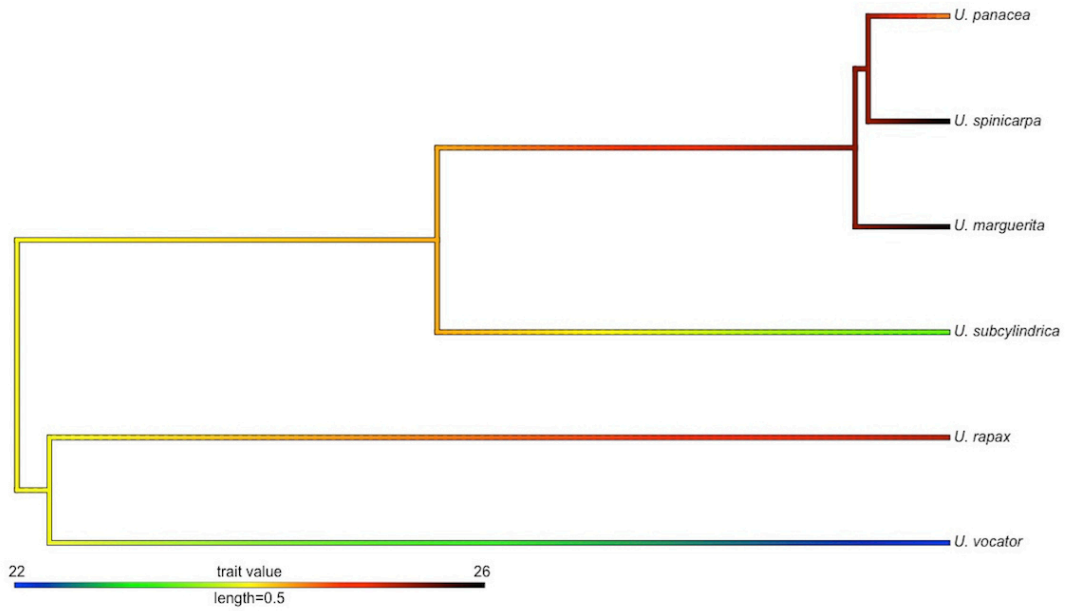


Figura 16 Estimación del estado ancestral de caracter utilizando el método de Máxima-Verosimilitud con el caracter ecológico de Temperatura.

### Estimación del Estado Ancestral (ML) Sales Solubles

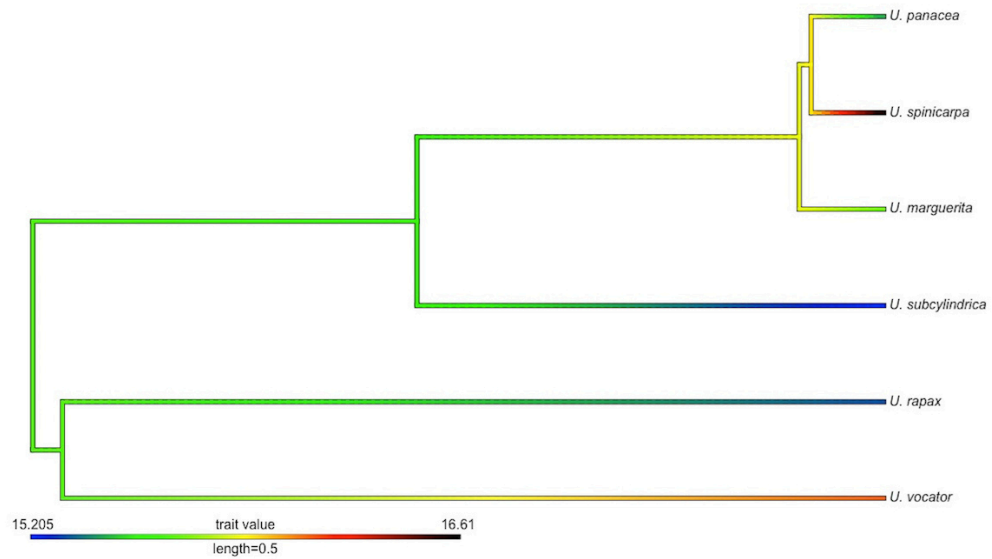


Figura 17 Estimación del estado ancestral de caracter utilizando el método de Máxima-Verosimilitud con el caracter ecológico de Solubilidad Salina (Sales Solubles).

### Estimación del Estado Ancestral (ML) Salinidad

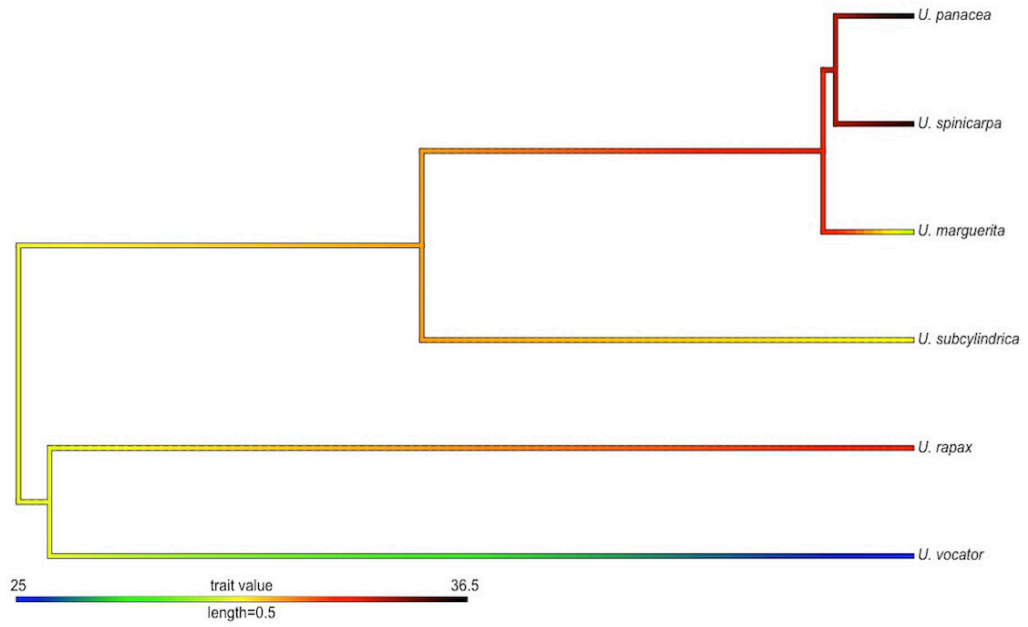


Figura 18 Estimación del estado ancestral de caracter utilizando como modelo Máxima-Verosimilitud para Salinidad.

### Estimación del Estado Ancestral (ML) pH

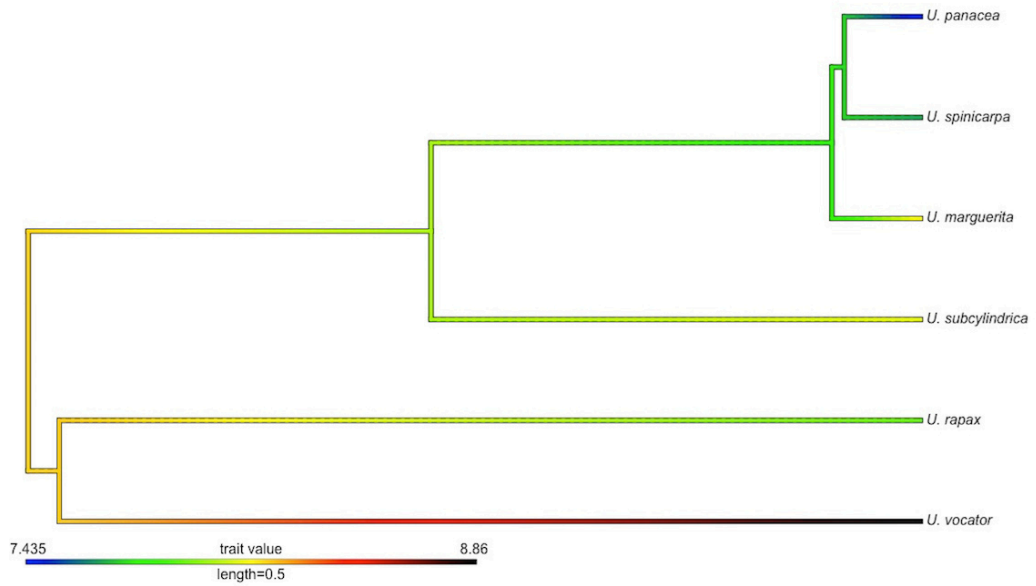


Figura 19 Estimación del estado ancestral de caracter utilizando el modelo de Máxima-Verosimilitud con el caracter ecológico de pH.

### Estimación del Estado Ancestral (ML) Materia Orgánica

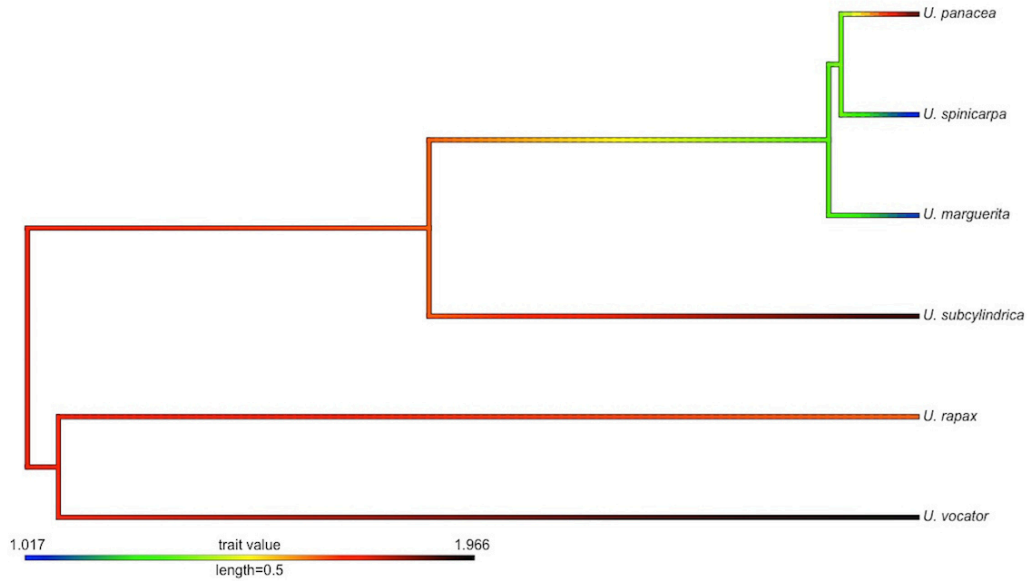


Figura 20 Estimación del estado ancestral de carácter utilizando el método de Máxima-Verosimilitud para el carácter de Materia Orgánica.

### Relación filogenética entre caracteres ecológicos Temperatura y Solubilidad Salina

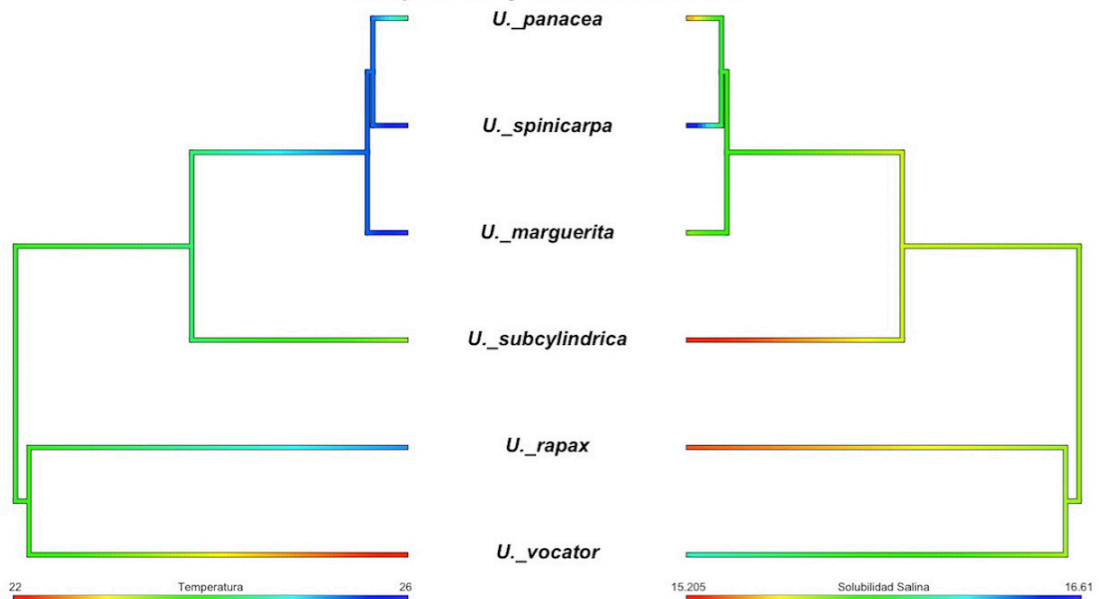
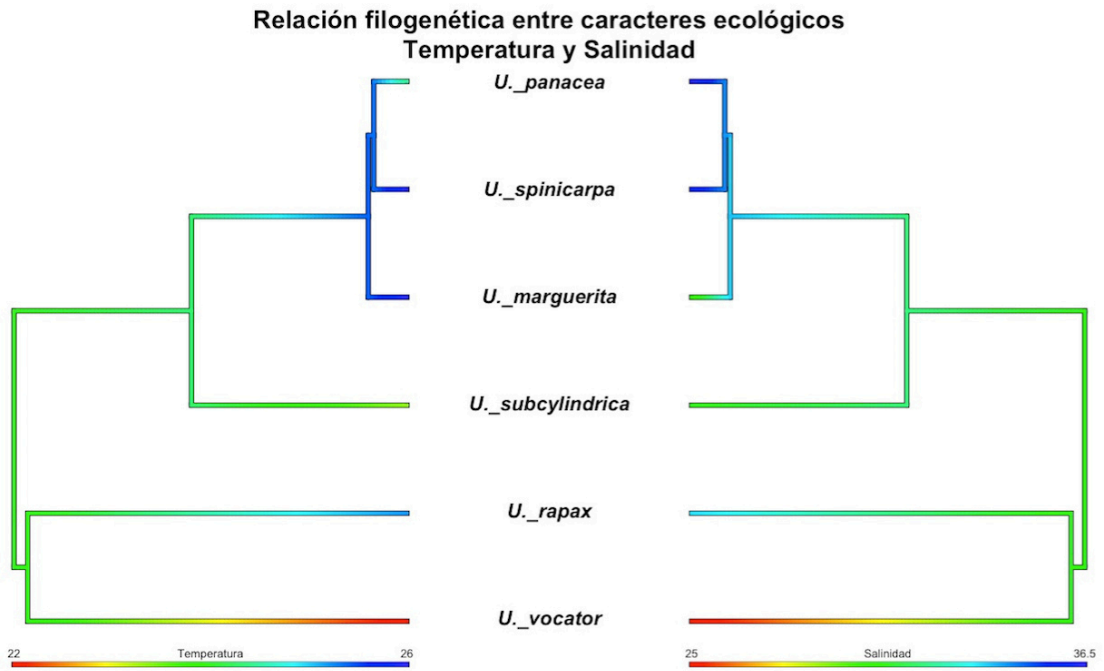
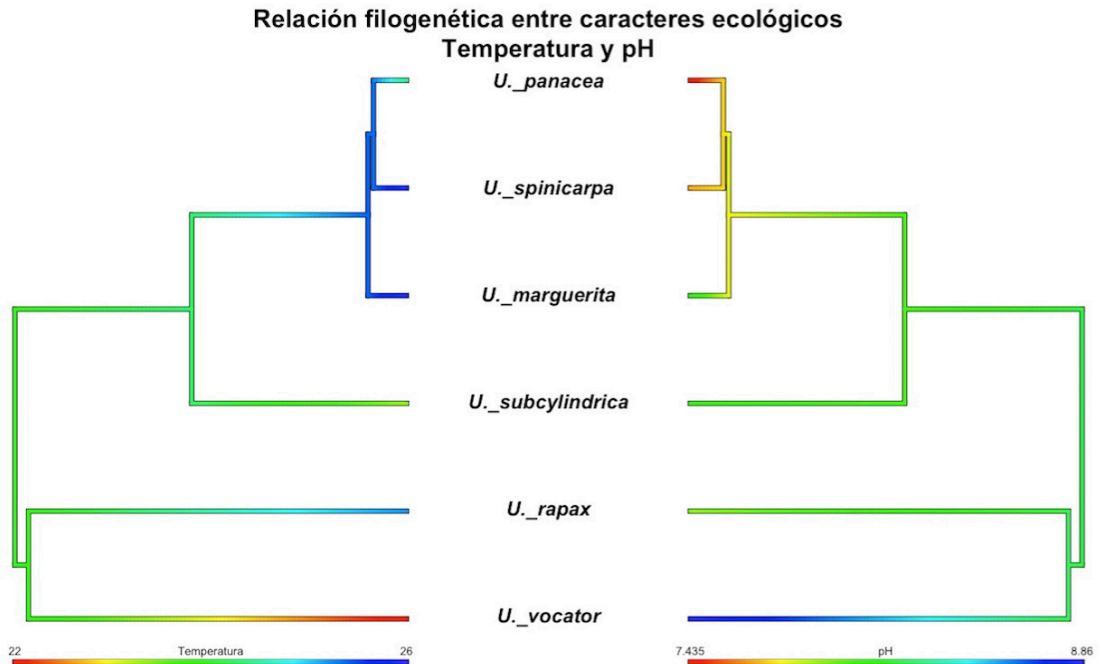


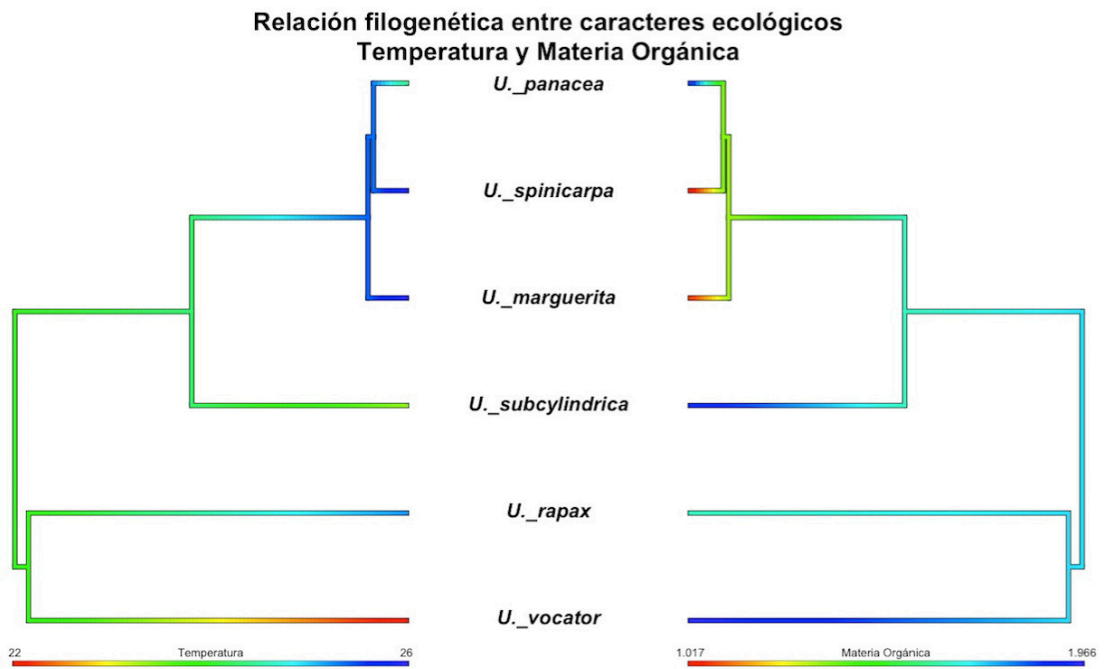
Figura 21 Comparación de estados de carácter entre Temperatura y Solubilidad Salina.



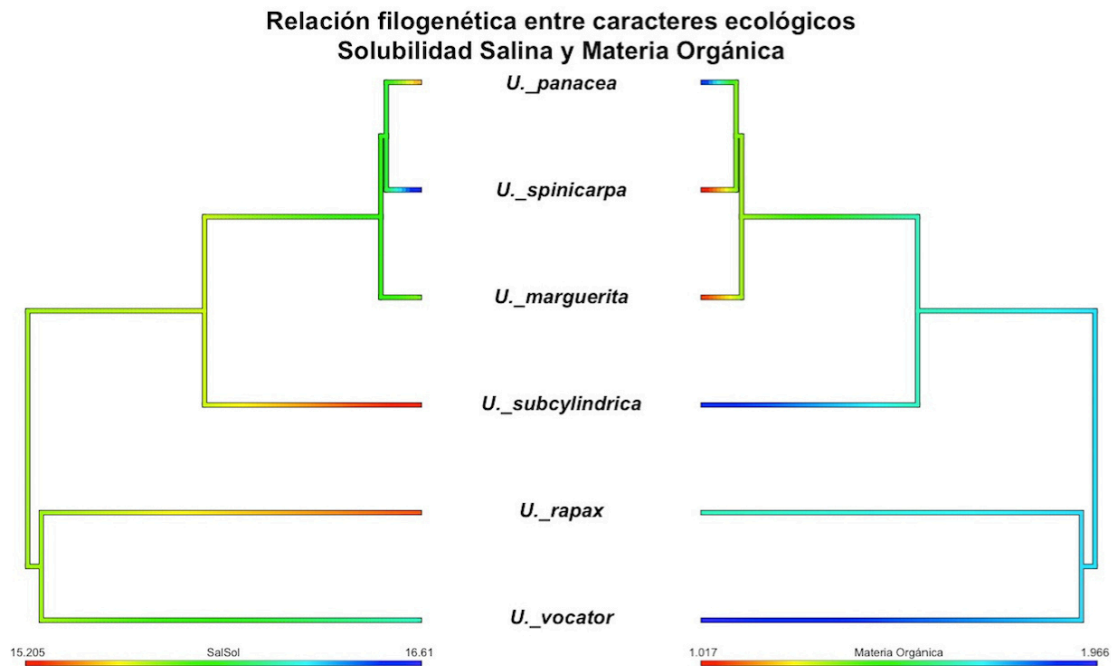
**Figura 22** Comparación de estados de caracter entre Temperatura y Salinidad.



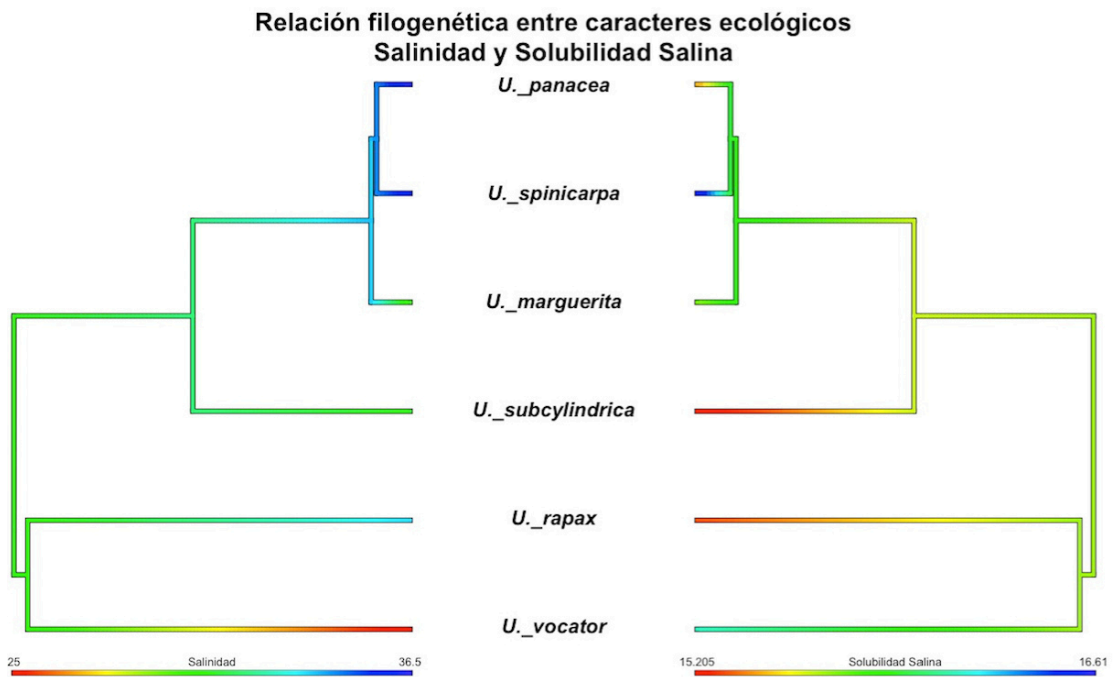
**Figura 23** Comparación del estado ancestral de caracter entre Temperatura y pH.



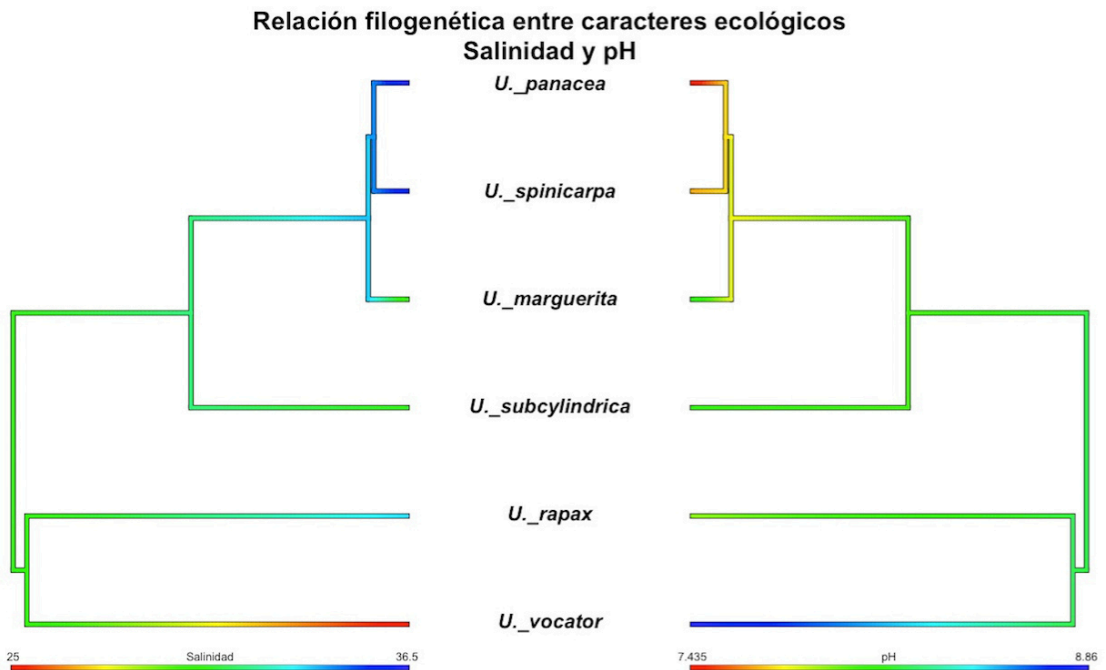
**Figura 24** Comparación del estado de caracter entre Temperatura y Materia Orgánica.



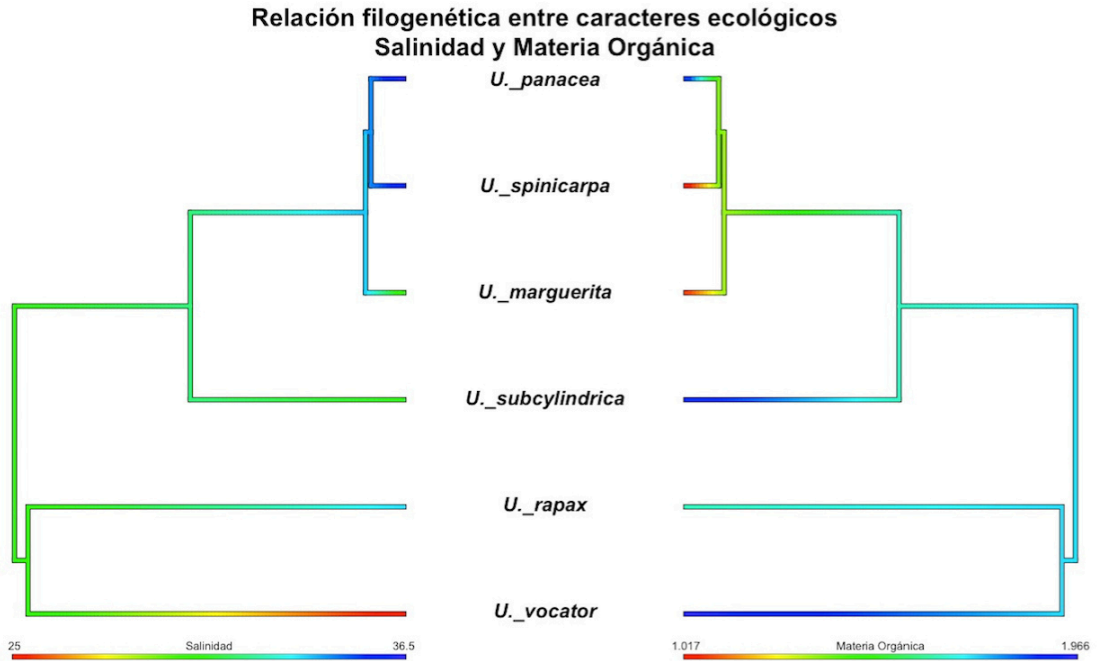
**Figura 25** Comparación del estado de caracter entre Solubilidad Salina y Materia Orgánica.



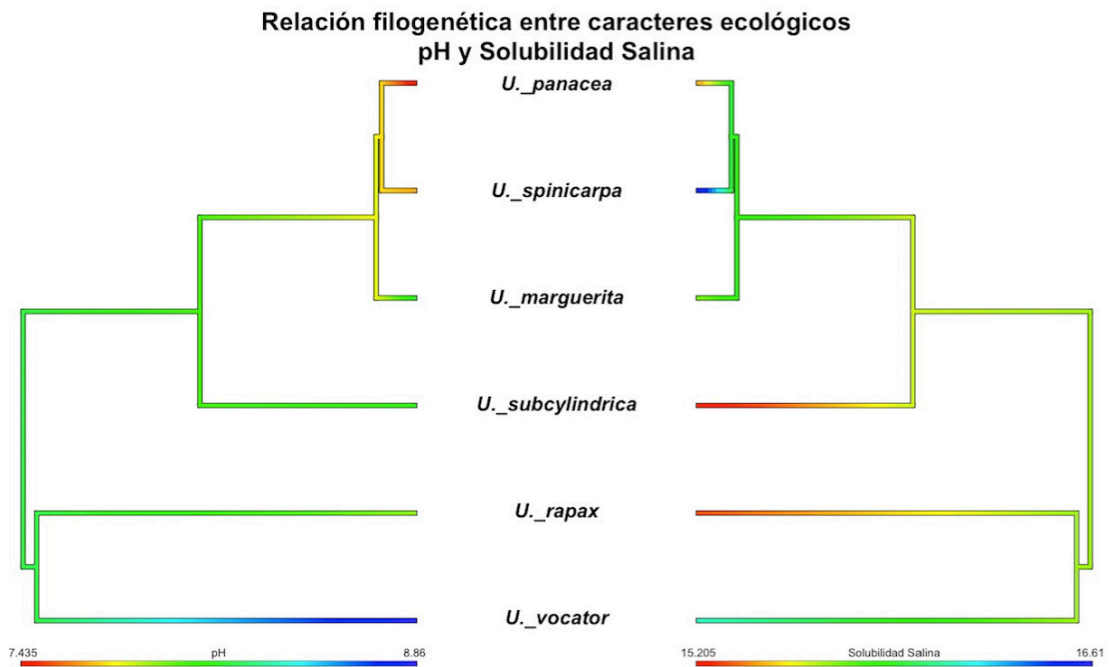
**Figura 26** Comparación de estados de caracter entre Salinidad y Solubilidad Salina.



**Figura 27** Comparación del estado de caracter entre Salinidad y pH.



**Figura 28** Comparación entre el estado ancestral de caracter de Salinidad y Materia Orgánica.



**Figura 29** Comparación entre el estado ancestral de caracter de pH y Solubilidad Salina.

Relación filogenética entre caracteres ecológicos  
pH y Materia Orgánica

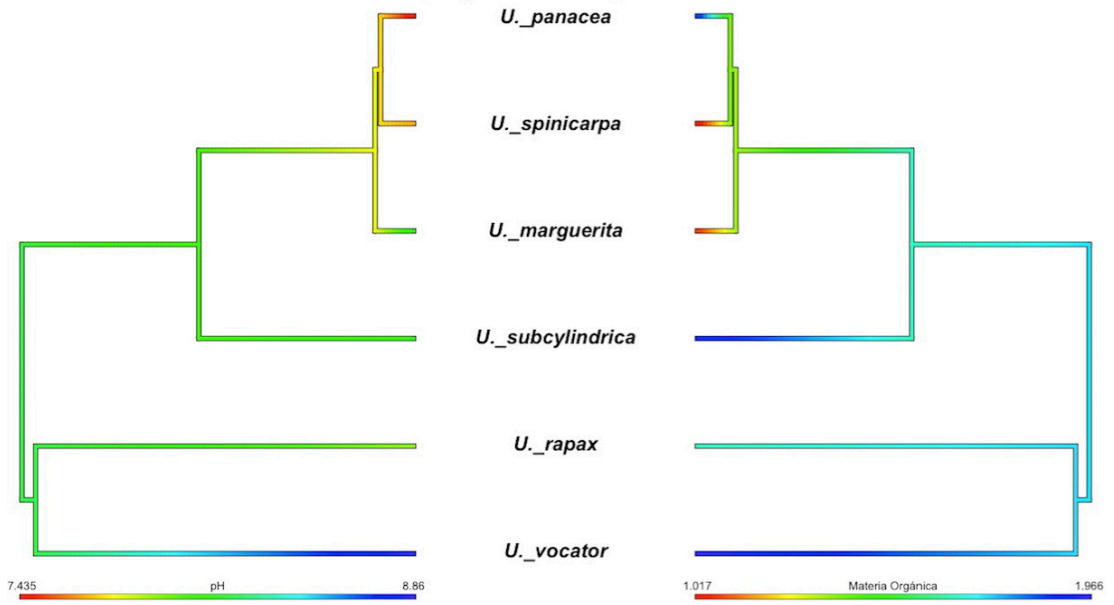


Figura 30 Comparación entre el estado ancestral de caracter de pH y Materia Orgánica.

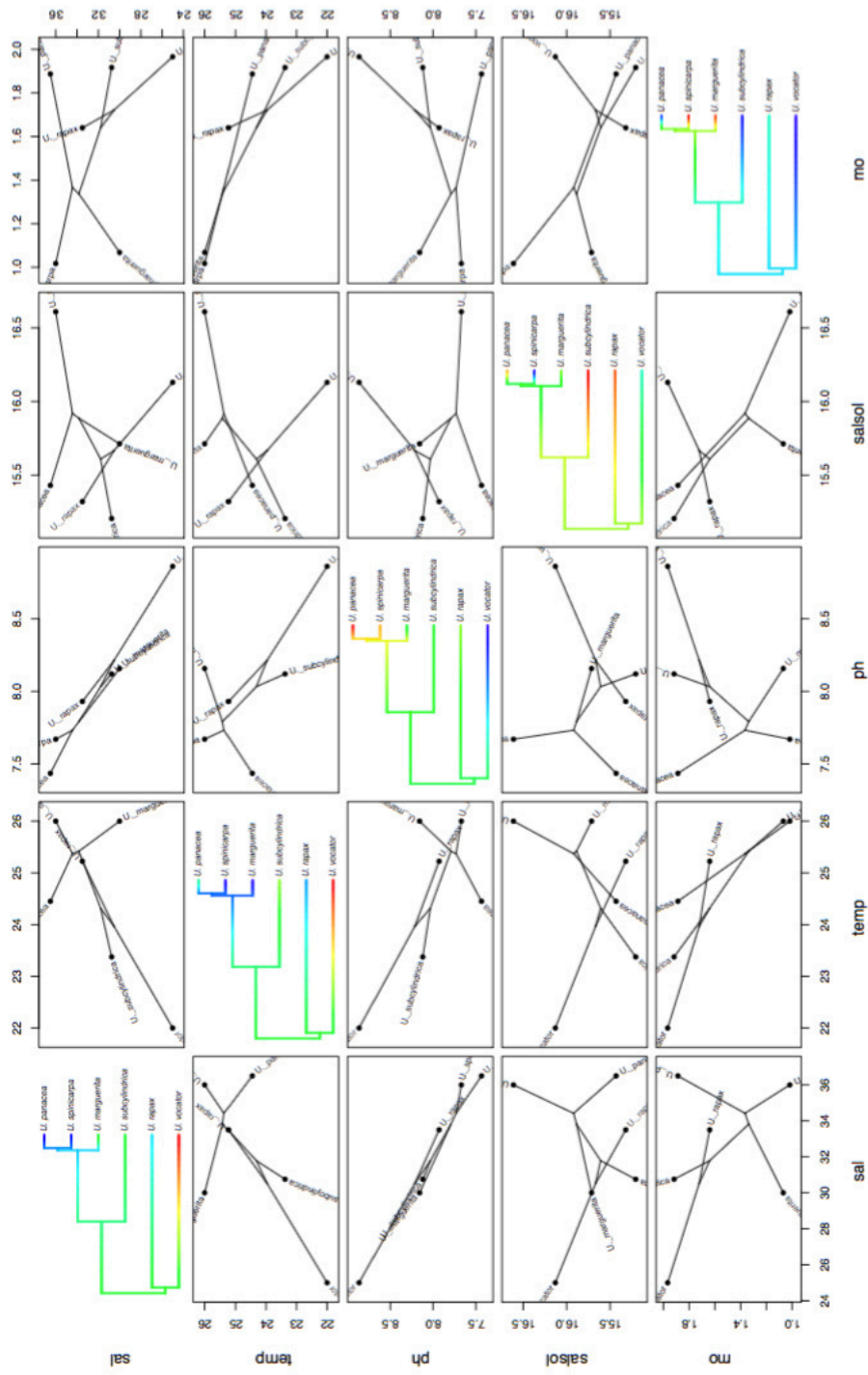


Figura 31 Compilado de estado ancestral de caracter de los cinco caracteres y sus relaciones.

En función de los datos anteriores se observó que a temperaturas por encima de los 23°C la salinidad aumentaba, para todas las especies excepto para *Uca vocator* ya que su valor de salinidad resultó inferior a 24 ppm. Asimismo, se observó una correlación lineal positiva entre pH y Salinidad. Adicionalmente, la relación entre la salinidad con la solubilidad salina está representada de manera más homogénea, sin embargo, el valor de solubilidad salina en *Uca vocator* nuevamente difiere del resto, ya que se relaciona con salinidades bajas y solubilidades medias, mientras que el resto de las especies presenta relaciones de salinidad mayores a 30 ppm. De igual manera la Materia Orgánica presenta valores altos correlacionados con la salinidad, exceptuando a *Uca marguerita* y *Uca spinicarpa* que presentan valores menores de Materia Orgánica. La relación entre temperatura y pH resultó lineal, ya que a mayor temperatura se registraron valores de pH bajos. Por otra parte, la solubilidad salina con relación a la temperatura parece tener poca relación ya que *Uca vocator* y *Uca subcylindrica* se encontraron en ambiente caracterizados por sus niveles altos de solubilidad salina, pero totalmente opuestos a la elevación de temperatura. Mientras que la Materia Orgánica mostró una relación no lineal negativa con respecto a la temperatura, en donde los valores de MO permanecieron altos conforme la temperatura aumentaba, sin embargo, al rebasar los 25° C, la cantidad de MO decreció y al alcanzar los 26° C, la Materia Orgánica disminuyó a valores menores a uno. La relación entre la solubilidad salina y el pH no resultó del todo clara, ya que aunque la mayoría de los valores se situó por debajo de los 16% de solubilidad salina y por debajo de los 8.0 de pH, *Uca spinicarpa* y *Uca vocator* presentaron valores totalmente contrarios, puesto que en *U. spinicarpa* los valores de solubilidad salina fueron los más altos, pero los valores de pH se mantuvieron cercanos a 7.0, mientras que *U. rapax* presentó valores de pH superiores a los 8.5 y salinidades superiores a 16%. De la misma manera, los valores entre pH y MO resultaron muy homogéneos, por lo que dicha relación podría no apreciarse claramente, ya que los valores de MO variaron entre 7.5 y 8.5 de pH, sin embargo *U. vocator* presentó altos valores de pH y de MO. Igualmente, se registró una baja correlación entre la solubilidad salina y la MO entre las especies, ya que aunque la mayoría de las especies se encontró por debajo de 16% de la solubilidad salina y por encima de 1.5ppm de MO, *U. marguerita* se caracterizó por encontrarse en ambientes de bajos valores de MO y

medios de solubilidad salina, mientras que los ambientes en los que se localizó a *U. spinicarpa* la materia orgánica para fue muy baja y la solubilidad salina muy alta.

#### 7.3.4.2 *Estado Ancestral de Carácter (Movimientos Brownianos)*

Los Movimientos Brownianos constituyen otro modelo para estimar el estado ancestral de carácter, para lo que se consideró un intervalo de confianza del 95%. Se logró observar que el subgénero *Leptuca* presentó valores de salinidad que se incrementaban en los nodos, i.e. que *U. panacea* y *U. spinicarpa*, presentaban nodos con valores de salinidad de 34.4, mientras que el nodo para su especie hermana *U. marguerita* fue de 33.8 de salinidad. Considerando su relación evolutiva, el grupo *Leptuca* presentó valores de 31.8 de salinidad, mientras que *Minuca* sólo de 30.5. Asimismo, se registraron incrementos en los valores de los nodos de Temperatura y Solubilidad Salina, sin embargo los valores de los nodos de Materia Orgánica, pH fueron en decremento en el grupo *Leptuca*, interesantemente de manera contrastante se presentaron valores opuestos en el clado *Minuca*, como se puede observar en la figura 31.

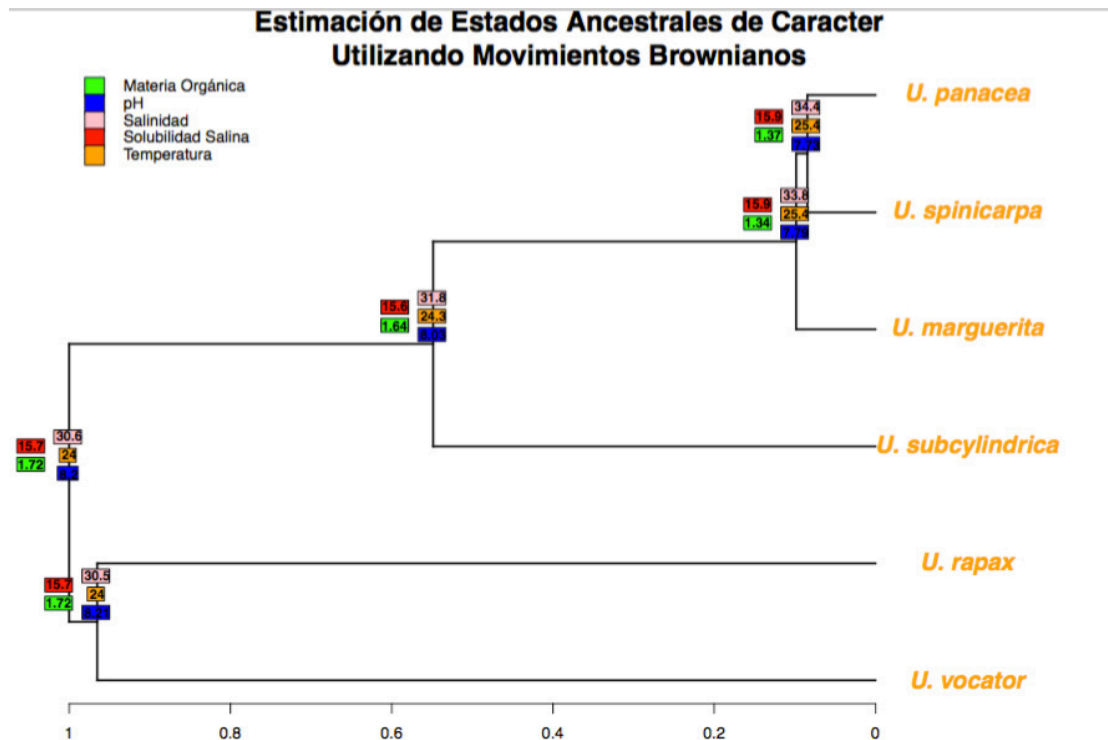


Figura 33 Estimación del estado ancestral de caracter utilizando Movimientos Brownianos, en donde se observa la relación de cada caracter en los nodos que delimitan la separación de los clados.

### 7.3.4.3 Modelos Evolutivos Comparativos

Se estimaron los modelos BM1, BMS, OU1 y OUMV para todos los caracteres ecológicos (tabla 23), obteniendo datos de AIC,  $\alpha$  y  $\sigma$ , en donde se reconoce que el modelo que mejor se ajusta a la filogenia del grupo es el de valor simple utilizando movimientos brownianos (BM1), sin embargo, utilizando un modelo Óptimo Simple de Ornstein-Uhlenbeck se obtienen valores de AIC positivos, así como  $\alpha$  y  $\sigma$ , por lo que dicho modelo, igualmente se ajusta a las relaciones filogenéticas del grupo.

**Tabla 23 Modelos evolutivos derivados de MB, o simulaciones de evolución aleatoria, mostrando los valores de criterios de información de Akaike (AIC) como parámetro para medir la calidad del modelo presentado los valores  $\alpha$  para determinar la fuerza de la selección del modelo y los valores de  $\sigma$  que determina las diferencias**

Modelos	Valores	Salinidad	Temperatura	pH	Solubilidad Salina	Materia Orgánica
Valor Simple Movimientos Brownianos	AIC	40.75	26.428	13.72	19.948	16.952
	$\alpha$	NA	NA	NA	NA	NA
	$\sigma$	41.75	4.75	0.572	1.615	0.986
Valor Múltiple Movimientos Brownianos	AIC	39.2	33.13	9.16	19.965	17.028
	$\alpha$	NA	NA	NA	NA	NA
	$\sigma$	0.87	2.06x10 <sup>-09</sup>	2.06x10 <sup>-09</sup>	0.35	2.06x10 <sup>-09</sup>
Óptimo Simple Ornstein-Uhlenbeck	AIC	41.32	28.7	15.053	16.581	13.904
	$\alpha$	7.4	2.93	4.893	117.829	175.288
	$\sigma$	230.39	12.74	1.998	57.675	54.91
Óptimo Múltiple con Valores Múltiples Ornstein-Uhlenbeck	AIC	-6.135	-6.82	-19.062	28.91	21.02
	$\alpha$	8.22x10 <sup>00</sup>	1.61x10 <sup>01</sup>	1.365x10 <sup>01</sup>	22.31	63.771
	$\sigma$	2.0x10 <sup>-09</sup>	2.06x10 <sup>-09</sup>	2.061x10 <sup>-09</sup>	5.479	1.972

#### 7.3.4.3.1 Valores Simples de Movimientos Brownianos (BM1)

Los valores de AIC en este modelo (BM1) muestran valores positivos para los cinco parámetros (**40.74, 26.42, 13.72, 19.94 y 16.95**) (Tabla 23). El valor  $\alpha$ , muestra la fuerza de la selección del modelo, sin embargo, en estos modelos (BM1) no es posible determinar dicho valor, ya que éste valor representa la proximidad evolutiva hacia un movimiento browniano, i.e. BM1 es el modelo base con el cual se compararía el resto. Sin embargo, su valor de  $\sigma$ , aclara la existencia de diferencias en las tasas de evolución entre los clados, utilizando los valores de los nodos y el valor de AIC, que para el total de los caracteres presenta valores positivos.

#### 7.3.4.3.2 Modelo Óptimo Ornstein-Uhlenbeck Simple (OU1)

el OU1 mostró una relación evolutiva muy estrecha entre las especies, utilizando los caracteres ecológicos, ya que los valores de AIC fueron positivos (Tabla 23). No obstante, en el caso de Salinidad, se encontró que el valor de  $\sigma$  era muy alto (**230.39**), por lo que las diferencias en la tasa de evolución de los clados era bastante elevada y de manera contraria, la fuerza de selección del modelo (el cual compara con el resto de los modelos) era baja (**7.4**), por lo que podría ser un aproximado al tipo de evolución browniana. Caso contrario, Solubilidad Salina y Materia Orgánica presentaron valores de  $\alpha$  muy elevados y con una relación evolutiva igualmente alta ( $\sigma = 57.675$  y  $\sigma = 54.91$ , respectivamente). La Temperatura y el pH presentaron valores bajos para ambos parámetros, por lo que podrían también presentar un tipo de evolución browniana.

#### 7.3.4.3.3 Modelo Óptimo Múltiple con valores Múltiples de Ornstein-Uhlenbeck (OUMVA)

Se presentaron valores bajos de AIC para Salinidad, Temperatura y pH (**-6.135**, **-6.82** y **-19.062**, respectivamente), así como de  $\alpha$ , por lo que tienden hacia un modelo de evolución browniana. Para Solubilidad Salina y Materia Orgánica, utilizando este modelo, estos caracteres presentaron una relación entre el clado, i.e. la Solubilidad Salina y la Materia Orgánica son parámetros que se encuentran relacionadas filogenéticamente con las especies del género *Uca* analizadas. Sin embargo, para el resto de las características ambientales, se encuentran influenciados bajo el modelo de movimientos brownianos debido a que los valores de  $\alpha$  son cercanos a cero, en comparación con el modelo anterior (OU1).

#### 2.3.4.3.4 Comparación de Modelos

El modelo que mejor se ajustó fue OUMVA para Salinidad, Temperatura y pH y el OU1 para Solubilidad Salina y Materia Orgánica, en donde los valores fueron menores a los obtenidos en el modelo BM1. Al comparar dichos modelos, se rechaza el modelo de movimientos brownianos (tabla 23). Asimismo, los valores de diferenciación de tasa de evolución entre los clados, mostró valores altos utilizando los modelos descritos anteriormente. Esto es debido a que los valores de  $\alpha$  fueron mayores en los modelos OUMVA para Salinidad, Temperatura y pH (aunque en general, son valores bajos), así como en OU1 y OUMVA para Solubilidad Salina y Materia Orgánica, lo que significa que el modelo presenta mayor fuerza (para estos dos parámetros), o se encuentra mejor representado; marcado por datos altos en el valor  $\alpha$ , lo que significaría que la evolución de estas características adaptativas expresan esencialmente una explosión evolutiva rápida hacia el presente.

## 8 Discusión

### 8.1 Ecología

La actividad metabólica y en consecuencia los procesos de supervivencia, crecimiento y reproducción de los organismos, particularmente los poiquiloterms, se ven afectadas severamente debido a la temperatura lo que determina la diversidad y abundancia de especies (Crane, 1975; Meusy y Payen, 1988; Bezerra et al., 2009; Sastry, 1983; Zimmerman y Felder, 1991; Flores y Negreiros-Fransozo, 1998; Leme y Negreiros-Fransozo, 1998; Cobo, 2002a,b; Pinheiro & Fransozo, 2002; Cobo y Fransozo, 2003 y Litulo, 2004). La temperatura constante de las localidades, que osciló entre 22°C y 26°C, contribuye a explicar que las especies en todas las localidades son igualmente abundantes, como lo indicó el índice de equidad de Pielou. Por otra parte, los valores de salinidad demostraron que la mayoría de estas zonas son áreas con salinidades extremas o fuertemente salinas, ejerciendo así una fuerte presión sobre la supervivencia de las especies y por ende de la biodiversidad. No obstante, especies como *U. subcylindrica* y *U. rapax* que son excelentes osmoreguladores, son abundantes en estas zonas ya que se localizaron en cuatro sitios cada una de estas especies, siendo algunos de estos sitios en donde se registró el mayor número de individuos. Aunque en menor medida *U. marguerita* fue también abundante y a pesar de no disponer de datos sobre su capacidad osmoregulatoria, su presencia en estos ambientes indica que igualmente son organismos extremófilos eurihalinos. La abundancia específica de estos crustáceos se encuentra ligada a su capacidad osmoregulatoria ya que de ésta depende su metabolismo, rasgos nutricionales, reproducción y relaciones ecofisiológicas, que en estos ambientes severos, con salinidades altas, son clave esencial para su desarrollo y adaptación específica (Charmantier et al., 1998; Rabalais y Cameron, 1985b; Rabalais y Cameron, 1985<sup>a</sup>; Zanders y Rojas, 1996 y Lin et al., 2002).

Otro aspecto de gran importancia para la supervivencia y desempeño adaptativo de los cangrejos violinistas es el sustrato, ya que puede resultar limitante en la presencia de especies del género *Uca* como lo expone Rosenberg (2000). El sustrato se compone de varios elementos, en donde se encuentra inmersa la textura del suelo y la materia

orgánica, como principales componentes. Las localidades referenciadas como Punta de Alambre 1, 2 y 3 se clasificaron en este estudio como de contenido mediano a medianamente rico de materia orgánica, coincidiendo con la baja diversidad específica del grupo. La relación inversamente proporcional entre la cantidad de materia orgánica y la presencia de los cangrejos violinistas podría explicarse en función de su contribución a la oxidación del sedimento y a la reducción de materia orgánica, (Robertson, 1986; Nielsen et al., 2003; Bezerra y Coelho, 2009), esto quedaría corroborado por las abundancias superiores en la localidad del Bayuco de Oro 2 que presentó menores cantidades de materia orgánica y una salinidad, relativamente baja (23 ppt). De igual manera, las zonas con mayor diversidades y abundancia fueron las localidades del Bayuco, con cantidades de materia orgánica pobres y medianamente pobres.

## 8.2 Filogenia

En la mayoría de los trabajos acerca de la filogenia del género *Uca* se utiliza el gen ribosomal 16s que no resuelve la complejidad filogenética del grupo (Levinton et al., 1996; Sturmbauer et al., 1996). A este respecto, otros autores han incluido más regiones, como la Citocromo Oxidasa I y 28s, con los cuales han logrado clarificar las relaciones entre los subgéneros *Minuca* y *Leptuca* (Shih et al., 2009; Shih et al., 2010; Landstorfer y Schubart, 2010; Shih et al., 2012; Shih et al., 2013b, Shih, 2015 y Shih et al., 2016). La originalidad de la presente investigación es que es el primer trabajo documentado que se realiza sobre las especies asociadas al Golfo de México en donde se incluyen los subgéneros *Minuca* y *Leptuca*. Shih et al., (2016) hacen referencia a que la utilización de las regiones COI, 16s y 28s resulta suficiente para corroborar las relaciones filogenéticas entre los grupos distribuidos en el Golfo de México, sin embargo, en este estudio aunque no se utilizó el gen 28s, se incluyó la región 12s, lo que permitió que las relaciones filogenéticas se corroboraran de acuerdo con los resultados obtenidos por estos autores.

Considerando la distribución de las 11 subespecies, Rosenberg (2014) incluyó en su mapa de rangos de distribución al subgénero *Leptuca* ya que éste se encuentra

ampliamente distribuido en el Golfo de México y el Atlántico Norte, sin embargo, el subgénero *Minuca* lo propone solo al sur de México hasta Veracruz ([www.fiddlercrab.info/index.html](http://www.fiddlercrab.info/index.html); Rosenberg, 2014), mientras que en el presente estudio, representando al subgénero *Minuca* se encontraron *U. rapax* y *U. vocator*, por lo que el rango de distribución del subgénero debería de ser ampliado hasta Laguna Madre, Tamaulipas.

Cabe mencionar que las relaciones entre subgéneros presentadas en este trabajo, coinciden en gran medida con las descripciones morfológicas para su identificación taxonómica (Shih, et al., 2016). Así, el subgénero *Leptuca* está representado tanto por especies pequeñas como de gran tamaño (alrededor de 5-25 mm en adultos) con márgenes anterolaterales cortos; entre 0-2 estrías posterolaterales en la superficie del caparazón; frente ancha; córnea redonda; la quela del macho muy larga; el pollex en ocasiones con una carina ventral; la superficie de la mano mayor lisa y con una distribución restringida al Atlántico y Pacífico este en las costas de América. Mientras que el subgénero *Minuca* está caracterizado por especies de medianas a grandes (10-30 mm en adultos); con márgenes anterolaterales largos curveándose hacia los dorsolaterales; con dos estrías en la parte dorsal del caparazón; frente ancha; córnea redonda; quela mayor muy larga; pollex sin carina ventral; superficie exterior de la mano mayor lisa o con tubérculos pequeños o medianos; con distribución en el Atlántico y Pacífico este de las costas de América. En el presente estudio no se consideró el molino gástrico como una característica que podría diferenciar a las especies, como se ha propuesto por varios autores (Beinlich y von Hagen, 2006; Ng et al., 2008; Bezerra, 2012 y Shih, 2015, 2016), ya que para poder observar el molino gástrico se requiere disectar al organismo y en ocasiones destruirlo por completo.

El trabajo de Shih et al., (2016), presenta árboles con la mayoría de las especies conocidas de cangrejos violinistas (Fig. 2), en donde dentro del grupo *Minuca* tanto *U. rapax* como *U. vocator* se sitúan en clados muy distantes, esto a pesar de que la distancia evolutiva es relativamente similar (en comparación con el resto de las especies), por lo que aún y cuando los niveles de bootstrap en este trabajo (55% NJ y

62% ML), resultarían bajos, éstos podrían estar bien fundamentados, debido a las distancias evolutivas entre las especies obtenidas en Laguna Madre. Esto vendría a ser confirmado en función de sus características morfológicas que los mantienen bien agrupados. En efecto, ambas son especies grandes (20-30mm) con quelas de tamaños similares (hasta 2 veces más grandes que su cuerpo), sin embargo *U. vocator* presenta vellosidades características en el caparazón, que *U. rapax* no presenta, ejemplificando la disimilitud específica.

Las especies del subgénero *Leptuca* se encuentran en una situación similar ya que *U. marguerita* se separa como especie hermana de *U. spinicarpa* y *U. panacea*, tomando en cuenta el cladograma generado con el método de NJ con 100% y 99% de bootstrap, mientras que en el árbol filogenético generado con ML se encuentra *U. panacea* como especie hermana y 100% de bootstrap de la relación *U. marguerita* y *U. spinicarpa*, que solo muestra bootstrap de 54%. Finalmente, *U. subcylindrica* se relaciona con ambos clados como especie hermana, claramente separada del grupo anterior. Sin embargo en ambos árboles, *U. spinicarpa*, *U. marguerita* y *U. panacea*, se encuentran relacionadas, lo que concuerda con sus características morfológicas, ya que estas tres especies del grupo *Leptuca* se distinguen por ser de dimensiones superiores (20 mm aproximadamente), con quelas grandes y largas, en ocasiones mayores que su cuerpo, lo cual contrasta con las características morfológicas de *U. subcylindrica* que es una especie pequeña (máximo 10 mm), la cual posee una quela mayor casi subigual a su cuerpo, más ancha que larga. Esta relación, al compararla con los árboles generados por Shih et al., (2016), muestra una correlación interesante, ya que *U. panacea* se encuentra situada en un clado semidistante del resto del subgénero, relacionada con *U. pugilator* y como especie hermana de *U. subcylindrica*, mientras que *U. spinicarpa* se encuentra relacionada con *U. umbratila* (Panamá) y *U. thayeri* (Brasil y Estados Unidos). Considerando lo anterior, la baja relación de *U. subcylindrica* con *U. marguerita* podría deberse a que, ésta última se encuentra asociada al clado antes mencionado, pero no como especie tan cercana a *U. spinicarpa*, sino probablemente más asociada al grupo *U. thayeri*, por su distribución geográfica al Norte del Atlántico Mexicano, y no a *U. umbratila* debido a que su distribución se restringe al Pacífico Mexicano, Centroamérica y Sudamérica.

El trabajo cladístico de Rosenberg, (2001) muestra también una relación ya que sitúa a *U. marguerita* en el subgénero *Minuca* como especie hermana de *U. vocator*, *U. ecuadoriensis* y en otro clado a *U. thayeri* y *U. umbratila*, pero a diferencia del trabajo filogenético de Shih, (2016), dichas relaciones se encuentran alejadas. Sin embargo Rosenberg (2001) concluye que el grupo de América (*Minuca* y *Leptuca*) siguen generando conflictos, debido al bajo nivel de relación entre especies y menciona que deberían de llevarse a cabo futuros análisis comparativos con estos grupos, por lo que sería óptimo analizar las relaciones desde una perspectiva cladística y filogenética para dilucidar las relaciones entre grupos de América.

### **8.3 Ecología Filogenética**

Darwin (1859) fue el primer investigador en emitir hipótesis acerca de la relación entre especies taxonómicamente similares y sus interacciones por competencia, argumentando que la competencia entre congéneres se incrementaba al utilizar los mismos recursos. Desde entonces, una gran cantidad de investigadores han realizado trabajos que consideran relaciones evolutivas, filogenéticas y ecológicas, sobre todo para recrear hipótesis relacionadas con la diversidad filogenética de las comunidades, o como se conoce hoy en día el *Conservadurismo Filogenético de Nicho Ecológico*.

Bajo esta premisa, Losos (2011) relacionó la plasticidad de los organismos en los ambientes con la evolución convergente, como evidencia del poder de la selección natural, desde una perspectiva filogenética, como se refleja en el análisis de Conservadurismo Filogenético de Nicho Ecológico, en donde las relaciones de las localidades con las distancias filogenéticas de los organismos, el número de especies y la abundancia de los organismos, determinan una fuerte relación entre la filogenia y la ecología de estos ambientes (tabla 16). Esto implica que, al existir similitudes filogenéticas entre las comunidades, las especies tenderán a competir por los recursos del hábitat en donde se encuentran y así, los cambios que sufra el ecosistema, afectarán, indudablemente a las especies similares filogenéticamente dentro de la comunidad. Estas alteraciones, como menciona Thurman (1985) constituyen una presión de selección y

contribuyen así a la adaptación de las especies, de tal manera que la persistencia de la presión de selección a través del tiempo podría ocasionar una divergencia evolutiva o en caso contrario la desaparición de las especies.

Considerando este contexto, tanto la salinidad como la materia orgánica, que se consideran parámetros ambientales de suma importancia para la supervivencia y desarrollo de los cangrejos violinistas, presentaron valores positivos en el análisis de señales filogenéticas con el método de la *I* de Morán. Esto concuerda con las observaciones de Thurman (1985) y Soarez-Gómez (2008), quienes mencionan que el hábitat afecta de manera contundente a los cangrejos del género *Uca*, sobre todo por la importancia de la plasticidad fenotípica y su relación con las variables ambientales. Este tipo de relación queda ejemplificada por organismos como *U. rapax* y *U. subcylindrica* que son especies con una amplia capacidad osmoregulatoria (Charmantier et al. 1998 y Rabalais y Cameron 1985b) y asumen que las capacidades osmoregulatorias son de gran importancia ecológica así como evolutiva, ya que, como destacan con *U. subcylindrica* las relaciones ecofisiológicas se encuentran asociadas con las primeras etapas del ciclo de vida, etapas expuestas a variaciones extremas de salinidad, por lo que requieren gran capacidad de osmoregulación. Esto deja claro que la salinidad juega un papel sumamente importante en las relaciones evolutivas entre los cangrejos violinistas, principalmente en la Laguna Madre, una de las siete lagunas hipersalinas del mundo (Javor, 1989). Sin embargo, no solo la salinidad destaca dentro de las correlaciones evolutivas y ecológicas de estos organismos, ya que la materia orgánica, por ser parte esencial del sustrato (Rosenberg, 2000) está considerada como un factor que delimita la estancia específica de los organismos en ciertas zonas y agrega que el tipo de sustrato puede resultar limitante para la presencia de cangrejos del género *Uca*. Este aspecto fue corroborado por Mosqueda et al., (2014) quienes realizaron una asociación del sustrato con las especies presentes en dichas zonas. La materia orgánica es fundamental para determinar el tipo de sustrato presente en las localidades y por ende, constituye una parte fundamental de las condiciones idóneas para el establecimiento de las especies, las que a su vez generan aportes importantes al ecosistema con la oxidación del sedimento y la reducción del contenido orgánico (Neilsen et al., 2013).

Al analizar los datos con el índice de la  $I$  de Morán éste suele ser eficaz para generar árboles precisos, con bootstraps altos, particularmente al tratarse de un gran número de especies a analizar, por lo que el valor de  $P$  podría arrojar un árbol “defectuoso”, i.e. el árbol no se encontraría resuelto y, por ende, el valor de  $P$  presentaría incertidumbre en los caracteres ecológicos, generados por el análisis filogenético. De aquí, que, en ocasiones, para aumentar el grado de confiabilidad de los análisis, sea necesario emplear otro tipo de modelos, como la Lambda de Pagel ( $\lambda$ ) y la K de Bloomerger ( $K$ ). Sin embargo, estos análisis reflejan una interacción totalmente distinta, colocando a la temperatura como un parámetro con señal filogenética (Tabla 21 Y 22), cercano a 1, por lo que se asemejaría al movimiento browniano.

Aún y cuando los datos fueron analizados mediante estos tres modelos, los valores de  $P$  fueron altos en la mayoría de los casos, esto implicaría que estadísticamente dichos análisis no presentan certeza y por tanto los resultados podrían variar. A este respecto, Knaub (1985) y Royall (1986) mencionan que cuando se utilizan muestras pequeñas y sin un análisis muy riguroso el valor de  $P$  se incrementa, contrariamente con una muestra infinita el valor de  $P$  tiende tendería a cero, por lo que el valor de  $P$  puede ser engañoso si se utiliza solo. Como interpretación el valor de  $P$  no es la probabilidad de que la hipótesis sea correcta, sino que representa la probabilidad de que, con el tamaño de la muestra y si la muestra es apropiada para una hipótesis exacta, ésta sea correcta. Por lo que no fue posible, en el presente estudio, determinar con certeza las relaciones evolutivas de las especies del género *Uca* y los aspectos ambientales del hábitat utilizando los parámetros de la  $I$  de Morán, la Lambda de Pagel ( $\lambda$ ) y la K de Bloomerger ( $K$ ).

Realizando un análisis comparativo entre los caracteres utilizando el estado ancestral (Fig 29) se determinó, de manera general, que para la mayoría de las especies se relacionaban las variables ambientales con la filogenia. En mayor o menor medida estas relaciones conducen a las adaptaciones de las especies a dichos ambientes, no solo como caracteres únicos, sino como características ligadas al hábitat, que a su vez influyen

sobre la disponibilidad de alimento, densidad poblacional, competencia intra e interespecífica y las proporciones de sexo, como algunas de las repercusiones en las especies (Soarez-Gómez, 2008). De manera contraria, algunos factores no se pueden relacionar como sucede con las relaciones entre materia orgánica y solubilidad salina que no presentan correlación ni positiva ni negativa, aunque por sí sola la MO presenta, en algunos casos, señal filogenética y de la misma forma la solubilidad salina, aparentemente limitados filogenéticamente, aún y cuando contribuyen de manera individual a la diversificación del hábitat como lo mencionan Coelho-Faira et al., (2016) utilizando la osmoregulación como ejemplo.

Sin embargo, al asociar el estado ancestral de cada caracter con movimientos brownianos como parámetro, se obtuvieron para *Leptuca* valores de MO y pH en decremento y para salinidad, solubilidad salina y temperatura, valores en aumento. Mientras que para la subespecie *Minuca* se observaron valores poco variables en su mayoría (MO, Solubilidad Salina y Temperatura), aunque ligeramente mayores en pH, así como ligeramente menores en Salinidad (Fig. 29), de lo que se puede deducir la existencia de una relación marcada entre los valores de los caracteres (parámetros fisicoquímicos) y las subespecies, permitiendo distinguir afinidad específica con un cambio progresivo en las características, bajo el supuesto de evolución gradual o movimientos brownianos, lo que se podría interpretar como cambios evolutivos como condición ancestral, que coinciden en las subespecies, como ha sido documentado por Felsenstein, (1985). De esta manera, al realizar un análisis con cambios evolutivos aleatorios (como es el caso de los movimientos brownianos), los estados ancestrales del carácter actuarían de manera conjunta delimitando la especificidad de los grupos (*Leptuca* y *Minuca*), lo que a su vez conllevaría a una conjunción de características que aproximarían a las especies en un hábitat específico.

Finalmente, en el análisis comparativo de los modelos evolutivos (capítulo 2, sección 2.3.4.3) se determinó que los modelos que mejor se ajustaban al estudio eran OUMVA y OU1, siendo el OUMVA el que más caracteres ajustó (Salinidad, Temperatura y pH). Estos resultados sugieren que las relaciones evolutivas de Salinidad, Temperatura y pH

presentan señal filogenética, lo que implicaría que los organismos se encuentran ligados a estos caracteres, como menciona Thurman (1985) ya que las alteraciones de ciertas características del hábitat podrían contribuir a la adaptación de las especies, lo que a su vez podría ocasionar una divergencia evolutiva. A esto Losos (2011) agrega que la evaluación de las presiones ecológicas persistentes y la utilidad de los caracteres compartidos del hábitat, es una forma válida de observar los estados homoplásicos morfológicos entre las especies y evidencia de la adaptabilidad (o limitación adaptativa) de los organismos. La falta de señalización filogenética en Solubilidad Salina y Materia Orgánica se hace presente tras este análisis, lo que implicaría que dichos caracteres se encuentran coligados a movimientos brownianos.

## 9 Conclusiones

### 9.1 Ecología

Las características ambientales del hábitat delimitan la presencia y abundancia de las especies del género *Uca*, que se encuentran relacionadas con aspectos ecofisiológicos como la capacidad osmoregulatoria, eficacia amortiguadora o resistencia a fluctuaciones de pH por las relaciones oxidativas o alimenticias, así como por el contenido de materia orgánica. Asimismo, se logró corroborar que las especies del género *Uca* prefieren ambientes básicos, con salinidades altas, propias de la Laguna Madre, y una textura del suelo más arcillo limosas que arenosas.

### 9.2 Filogenia

Las relaciones filogenéticas entre las especies del género *Uca* en Laguna Madre, Tamaulipas, México resultan claras utilizando la región mitocondrial Citocromo Oxidasa I, y las ribosomales 16S y 12S, lo que permitió constatar la ampliación del rango de distribución de los subgéneros *Minuca* y *Leptuca* al Golfo de México.

De acuerdo a las relaciones filogenéticas establecidas *U. marguerita* es una especie perteneciente al subgénero *Leptuca* y podría estar más relacionada con la especie *U. thayeri* que *U. spinicarpa*, por su distribución geográfica.

### 9.3 Ecología Filogenética

La salinidad, temperatura y pH presentan señal filogenética, lo cual indica su importancia en el hábitat con relación a la filogenia del grupo; sin embargo, el análisis de Conservadurismo Filogenético de Nicho Ecológico, reveló que el conjunto de características ambientales es fundamental para la adaptación y singularidad específica, que podrían ser clave para delimitar el grupo.

## 10 Referencias Bibliográficas

- Alongi, D.M. (2002). "Present state and future of the world's mangrove forests". *Environmental Conservation* 29: 331–349.
- Alongi, D.M. (2008). "Mangrove forests: Resilience, protection from tsunamis, and responses to global climate change". *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 76: 1–13.
- Beinlich, B., & Von Hagen, H. O. (2006). "Materials for a more stable subdivision of the genus *Uca* Leach." *Zoologische Mededelingen*, 80(4), 9.
- Bezerra, L. E., y Coelho, P. A. (2009). "Intraspecific variation in preserved specimens of the fiddler crabs *Uca panacea* and *Uca pugilator* (Decapoda: Ocypodidae)". *Zoologia (Curitiba)*, 26(1), 175-182.
- Bezerra, L. E., y Coelho, P. A. (2009). "Intraspecific variation in preserved specimens of the fiddler crabs *Uca panacea* and *Uca pugilator* (Decapoda: Ocypodidae)". *Zoologia (Curitiba)*, 26(1), 175-182.
- Bezerra, L.E.A., (2012). "The fiddler crabs (Crustacea: Brachyura: Ocypodidae: genus *Uca*) of the South Atlantic Ocean. *Nauplius*, 20(2), pp.203-246.
- Biotium (2013) "Safety report of gelred and gelgreen. Nucleic acid detection technologies." <http://www.biotium.com>, accesado el 27 de Julio de 2016.
- Böhning-Gaese, K., Caprano, T., van Ewijk, K. y Veith, M., (2006). Range size: disentangling current traits and phylogenetic and biogeographic factors. *The American Naturalist*, 167(4), pp.555-567.
- Britton, J.C. y Morton, B., (2014). *Shore ecology of the Gulf of Mexico*. University of Texas Press.
- Charmantier, G., Charmantier-Daures, M. and Anger, K., (1998). Ontogeny of osmoregulation in the grapsid crab *Armases miersii* (Crustacea, Decapoda). *Marine Ecology-Progress Series*, 164, pp.285-292.
- Charmantier, G., Charmantier-Daures, M. and Anger, K., (1998). Ontogeny of osmoregulation in the grapsid crab *Armases miersii* (Crustacea, Decapoda). *Marine Ecology-Progress Series*, 164, pp.285-292.

- Cobo, V.J. y Fransozo, A., (2003). External factors determining breeding season in the red mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Latreille)(Crustacea, Brachyura, Grapsidae) on the São Paulo State northern coast, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 20(2), pp.213-217.
- Cobo, V.J. y Fransozo, A., (2003). External factors determining breeding season in the red mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Latreille)(Crustacea, Brachyura, Grapsidae) on the São Paulo State northern coast, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 20(2), pp.213-217.
- Cobo, V.J., (2002). Breeding period of the arrow crab *Stenorhynchus seticornis* from Couves Island, south-eastern Brazilian coast. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 82(06), pp.1031-1032.
- Cobo, V.J., (2002). Breeding period of the arrow crab *Stenorhynchus seticornis* from Couves Island, south-eastern Brazilian coast. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 82(06), pp.1031-1032.
- Cobo, V.J., (2002b). Breeding period of the spider crab *Mithraculus forceps* (A. Milne Edwards)(Crustacea, Majidae, Mithracinae) in the southeastern Brazilian coast. *Revista Brasileira de Zoologia*, 19, pp.229-234.
- Conde, J. E. y H. Diaz, (1989<sup>a</sup>). “Productividad del hábitat e historias de vida del cangrejo de mangle *Aratus pisonii* (H. Milne Edwards) (Brachyura: Grapsidae).” *Boletín do Instituto de Oceanografía de Venezuela. Universidad de Oriente* 28: 113–120.
- Conde, J. E. y H. Diaz, (1989<sup>b</sup>). “The mangrove tree crab *Aratus pisonii* in a tropical estuarine coastal lagoon.” *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 28: 639–650.
- Cooper, N., Thomas, G.H., Venditti, C., Meade, A. and Freckleton, R.P., (2016). A cautionary note on the use of Ornstein Uhlenbeck models in macroevolutionary studies. *Biological Journal of the Linnean Society*, 118(1), pp.64-77.
- Costa, T.A.R.S.O. and Soares-Gomes, A.B.I.L.I.O., (2008). “Relative growth of the fiddler crab *Uca rapax* (Smith)(Crustacea: Decapoda: Ocypodidae) in a

tropical lagoon (Itaipu), Southeast Brazil”. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3(2), pp.94-100.

- Costa, T.A.R.S.O. y Soares-Gomes, A.B.I.L.I.O., (2008.) “Relative growth of the fiddler crab *Uca rapax* (Smith)(Crustacea: Decapoda: Ocypodidae) in a tropical lagoon (Itaipu), Southeast Brazil”. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3(2), pp.94-100.
- Costa, T.M. y Negreiros-Fransozo M.L. (2001). “Morphological adaptation of second maxilliped in semiterrestrial of genus *Uca* Leach, 1814 (Decapoda, Ocypodidae) from a subtropical Brazilian mangrove”. *Nauplius*. 9, 123–131.
- Crane, J., (1975.) “Fiddler Crabs of the World Ocypodidae: genus *Uca*”, *first ed. Princeton University Press, New York*.
- Daleo, P., Ribeiro, P., Iribarne, O., (2003). “The SW Atlantic burrowing crab *Chasmagnathus granulatus* Dana affects the distribution and survival of the fiddler crab *Uca uruguayensis*” *Nobili. J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 291:255–267
- De Grande, F. R. (2016). “O conteúdo orgânico do sedimento causa a distribuição intra-específica dos caranguejos-chama-maré, (Tesis de Maestría)”. *Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”, Instituto De Biociências De Botucatu, Sao Paulo, Brasil*.
- Diniz-Filho JAF, Sant’Ana CER, Bini LM (1998) “An eigenvector method for estimating phylogenetic inertia.” *Evolution* 52:1247– 1262.
- Duke, N.C., J.O. Meynecke, S. Dittmann, A.M. Ellison, K. Anger, U. Berger, S. Cannicci, K. Diele, K.C. Ewel, C.D. Field, N. Koedam, S.Y. Lee, C. Marchand, I. Nordhaus, and F. Dahdouh-Guebas. (2007). “A world without mangroves”. *Science* 317: 41–42.
- Edward, J. P. (2000) "La ciencia del suelo y su manejo." *Editorial Paraninfo. Madrid, España*.
- Epifanio, C.E., Little, K.T., Rowe, P.M., (1988). “Dispersal and recruitment of fiddler crab larvae in the Delaware River estuary”. *Mar. Ecol-Prog. Ser.* 43, 181-188.

- Faria, S.C., Provete, D.B., Thurman, C.L. and McNamara, J.C., (2017). Phylogenetic patterns and the adaptive evolution of osmoregulation in fiddler crabs (Brachyura, Uca). *PloS one*, 12(2), p.e0171870.
- Felder, D.L., Álvarez, F., Goy, J. W., Lemaitre, R. “Capítulo 57 – Decapoda (Crustacea) of the Gulf of Mexico, with comments on the Amphionidacea en Gulf of Mexico – Its origins, waters and biota, diversity”, *TAMU Press, College Station*, pp. 1019-1104.
- Felsenstein, J. (1981). “Evolutionary trees from gene frequencies and quantitative characters: finding maximum likelihood estimates”. *Evolution*, 35:1229-1242.
- Felsenstein, J. (1985). “Phylogenies and the comparative method.” *American Nature*. 125: 1-15.
- Felsenstein, J. (1988). “Phylogenies and quantitative characters.” *Annual Review of Ecological Systematics*. 19:455-471.
- Flores, A. A. V. y M. L. Negreiros-Fransozo, (1998). “External factors determining seasonal breeding in a subtropical population of the shore crab *Pachygrapsus transversus* (Gibbes, 1850) (Brachyura: Grapsidae)”. *Invertebrate Reproduction and Development* 34: 149–155.
- Flores, A. A. V. y M. L. Negreiros-Fransozo, (1998). “External factors determining seasonal breeding in a subtropical population of the shore crab *Pachygrapsus transversus* (Gibbes, 1850) (Brachyura: Grapsidae)”. *Invertebrate Reproduction and Development* 34: 149–155.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, R V (1994) “DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates.” *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 294–299.
- Garland T Jr, Dickerman AW, Janis CM, Jones JA (1993) “Phylogenetic analysis of covariance by computer simulation.” *Syst Biol* 42:265–292.
- Genoni, G.P. (1985). “Food limitation in salt marsh fiddler crabs *Uca rapax* (Smith) (Decapoda: Ocypodidae)”. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 87, 97-110.

- Genoni, G.P., (1991). “Increased burrowing by fiddler crabs *Uca rapax* (Smith)(Decapoda: Ocypodidae) in response to low food supply”. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 147(2), pp.267-285.
- González-Treviño, A. (2015). “Distribución espacial, densidad y crecimiento poblacional del género *Uca* (Ocypodidae: Brachyura: Pleocyemata), en Laguna Madre, Tamaulipas, México.” *Tesis de Licenciatura sin publicar, Facultad de Ciencias Biológicas. UANL* 90 p.
- Guindon, S., Dufayard, J.F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W. y Gascuel, O., (2010). “New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0”. *Systematic biology*, 59(3), pp.307-321.
- Hampton, K.R., Hopkins, M.J., McNamara, J.C. and Thurman, C.L., (2014). Intraspecific variation in carapace morphology among fiddler crabs (Genus *Uca*) from the Atlantic coast of Brazil. *Aquatic Biology*, 20(1), pp.53-67.
- Hartnoll, R.G., S. Cannici, W.D. Emmerson, S. Fratini, A. Macia, Y. Mgaya, F. Porri, R.K. Ruwa, J.P. Shunula, y M.W. Skov. (2002). “Geographic trends in mangrove crab abundance in East Africa.” *Wetlands Ecology and Management* 10: 203–213.
- Heard, R. W. (1982). “Guide to common tidal marsh invertebrates of the northeastern Gulf of Mexico.” *Mississippi-Alabama Sea Grant Consortium, MASGP-79-004*, 82 p.
- Hines, AH. (1989). “Geographic variation in size at maturity in brachyuran crabs.” *Bulletin of Marine Science*.45(2):356-68.
- Hochberg Y. (1988). “A sharper Bonferroni procedure for multiple tests of significance”. *Biometrika*;75:800-802.
- Hopkins M. J. y Thurman C. L. (2010). “The geographic structure of morphological variation in eight species of fiddler crabs (Ocypodidae: genus *Uca*) from the eastern United States and Mexico”. *Biological Journal of the Linnean Society*, 10, 100: 248-270.

- Hopkins, M.J., Haber, A. and Thurman, C.L., (2016). Constraints on geographic variation in fiddler crabs (Ocypodidae: Uca) from the western Atlantic. *Journal of evolutionary biology*, 29(8), pp.1553-1568.
- Ibrasheva, D., (2011). “Phylogenetic Analysis of Freshwater Crayfish of Massachusetts: The genus *Procambarus*,” *Doctoral dissertation, WORCESTER POLYTECHNIC INSTITUTE*.
- Icely, J.D., Jones, D.A., (1978). “Factors affecting the distribution of the genus Uca (Crustacea: Ocypodidae) on an east African shore.” *Estuar. Coast. Mar. Sc.* 6, 315-325.
- Ingram, T. and Mahler, D.L., (2013). SURFACE: detecting convergent evolution from comparative data by fitting Ornstein-Uhlenbeck models with stepwise Akaike Information Criterion. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(5), pp.416-425.
- Jaroensutasinee, M., y K. Jaroensutasinee. (2004). “Morphology, density, and sex ration of fiddler crabs from southern Thailand (Decapoda, Brachyura, Ocypodidae).” *Crustaceana* 77: 533–551.
- Javor, B., (1989). “Hypersaline Environments” *New York: Springer-Verlag*. 328 pp.
- Kembel, S. W., Cowan, P.D., Helmus, M. R., Cornwell, W. K., Morlon H., Ackerly, D. D., Blomberg, S. P., Webb, C. O., (2010) “Picante: R tolos for integrating phylogenies and ecology.” *Bioinformatics Applications Note*, 26, 11-2010: 1463-1466.
- Klingenberg, C.P., (2011). MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular ecology resources*, 11(2), pp.353-357.
- Koga, T., Backwell, P.R.Y., Christy, J.H., Murai, M., Kasuya, E. (2001). “Male-biased predation of fiddler crab.” *Anim.Behav.*62, 201-207.
- Koga, T., Backwell, P.R.Y., Jennions, M.D., Christy, J.H., (2015). “Elevated predation risk changes mating behavior and courtship in fiddler crabs.” *Proc. R. Soc. Lond. B* 265, 1395-1390.
- Kristensen, E., (2008). “Mangrove crabs as ecosystem engineers; with emphasis on sediment processes”. *J. Sea Res.* 59, 30-43.

- Krumme, U., Keuthen, H., Saint-Paul, U., Villwock, W., (2007). “Contribution to the feeding ecology of the banded puffer fish *Colomesus psittacus* (Tetraodontidae) in north Brazilian mangrove creeks”. *Braz. J. Biol.* 67, 383–92.
- Landstorfer, R.B.; Schubart, C.D. (2010). “A phylogeny of Pacific fiddler crabs of the subgenus *Minuca* (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae: *Uca*) with the description of a new species from a tropical gulf in Pacific Costa Rica”. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 48(3): 214-218
- Landstorfer, R.B.; Schubart, C.D. (2010). “A phylogeny of Pacific fiddler crabs of the subgenus *Minuca* (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae: *Uca*) with the description of a new species from a tropical gulf in Pacific Costa Rica”. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 48(3): 214-218
- Leme, M. H. A. & M. L. Negreiros-Fransozo, (1998). “Reproductive patterns of *Aratus pisonii* (Decapoda: Grapsidae) from an estuarine area of Sao Paulo northern coast, Brazil”. *Revista de Biologia Tropical* 46: 673–678.
- Leme, M. H. A. & M. L. Negreiros-Fransozo, (1998). “Reproductive patterns of *Aratus pisonii* (Decapoda: Grapsidae) from an estuarine area of Sao Paulo northern coast, Brazil”. *Revista de Biologia Tropical* 46: 673–678.
- Levinton, J., Sturmbauer, C. and Christy, J., (1996). “Molecular data and biogeography: resolution of a controversy over evolutionary history of a pan-tropical group of invertebrates.” *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 203(1), pp.117-131.
- Levinton, J., Sturmbauer, C. and Christy, J., (1996). “Molecular data and biogeography: resolution of a controversy over evolutionary history of a pan-tropical group of invertebrates.” *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 203(1), pp.117-131.
- Lin, H. C., Su, Y. C., & Su, S. H. (2002). “A comparative study of osmoregulation in four fiddler crabs (Ocypodidae: *Uca*)”. *Zoological science*, 19(6), 643-650.
- Lin, H. C., Su, Y. C., & Su, S. H. (2002). “A comparative study of osmoregulation in four fiddler crabs (Ocypodidae: *Uca*)”. *Zoological science*, 19(6), 643-650.

- Litulo, C. (2004). “Reproductive aspects of a tropical population of the fiddler crab *Uca annulipes* (H. Milne Edwards 1837) (Brachyura: Ocypodidae) at Costa do Sol Mangrove, Maputo Bay, southern Mozambique”. *Hydrobiologia* 525: 167-173.
- Litulo, C. (2004). “Reproductive aspects of a tropical population of the fiddler crab *Uca annulipes* (H. Milne Edwards 1837) (Brachyura: Ocypodidae) at Costa do Sol Mangrove, Maputo Bay, southern Mozambique”. *Hydrobiologia* 525: 167-173.
- Losos, J. B. (2008), “Phylogenetic niche conservatism, phylogenetic signal and the relationship between phylogenetic relatedness and ecological similarity among species.” *Ecology Letters*, 11: 995–1003. doi:10.1111/j.1461-0248.2008.01229.x
- Lovelock, C.E., and J. Ellison. (2007). “Vulnerability of mangroves and tidal wetlands of the Great Barrier Reef to climate change. In *Climate change and the Great Barrier Reef: A vulnerability assessment*”, ed. J.E. Johnson and P.A. Marshall. Australia: Great Barrier Reef Marine Park Authority and Australian Greenhouse Office.
- Luczak, C., Janquin, M., Kupka, A. (1997). “Simple standard procedure for the routine determination of organic matter in marine sediment.” *Hydrobiologia*. 345, 87-94.
- Machado, B. O., Gusmao-Junior, J. B. L., y Costa M. T., (2012). “Burrow morphology of *Uca uruguayensis* and *Uca leptodactylus* Decapoda: (Ocypodidae) from a subtropical mangrove forest in the western Atlantic”. *Integrative Zoology* 2012, j. 1749-4877. 2012.00297.
- Macnae, W. (1968). “A general account of the fauna and flora of mangrove swamps and forests in the Indo-West-Pacific region. In: F. S Russell and M. Yonge (eds)”. *Advances in Marine Biology, Academic Press, London and New York, USA*, 6: 73-270
- Meusy, J. & G. G. Payen, (1988). “Female reproduction in malacostracan crustacea”. *Zoological Science* 5: 217–265.

- Meusy, J. & G. G. Payen, (1988). “Female reproduction in malacostracan crustacea”. *Zoological Science* 5: 217–265.
- Michaels, R.E., Zieman, J.C., (2013). “Fiddler crabs (*Uca spp*) burrows have a little effect surrounding sediment oxygen concentration”. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 448, 104-113.
- Mokhtari, M., Ghaffar, M.A., Usup, G., Cob, Z.C., (2015). “Determination of key environmental factors responsible for distribution patterns of fiddler crabs in a tropical mangrove ecosystem”. *PloS one.* 10, 01-17.
- Nabout, J. C., L. C. Terrible, L. M. Bini y J. A. F. Diniz-Filho (2009) “Phylogenetic autocorrelation and heritability of geographic range size, shape and position of fiddler crabs, genus *Uca* (Crustacea, Decapoda)” *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* (2010) 48(2), 102-108. DOI 10.1111/j.1439-0469.2009.00531.x
- Naderloo, R., Türkay, M., Chen H. (2010). “Taxonomic revision of the wide-front fiddler crabs of the *Uca* lacteal group (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Ocypodidae) in the Indo-West Pacific”. *Zootaxa* 2500: 1-38.
- Negreiros-Fransozo ML, Fransozo A, Bertini G. (2002) “Reproductive cycle and recruitment period of *Ocypode* quadrata (Decapoda, Ocypodidae) at a sandy beach in southeastern Brazil.” *Journal of Crustacean Biology.* 22(1):157-61.
- Ng, P. K., Guinot, D., & Davie, P. J. (2008).”Systema Brachyurorum: Part 1. An annotated checklist of extant brachyuran crabs of the world”. *The Raffles Bulletin of Zoology*, (17).
- Nielsen, O.I., Kristensen, E., Macintosh, D.J., (2003). “Impact of fiddler crabs (*Uca* spp.) on rates and pathways of benthic mineralization in deposited mangrove shrimp pond waste.” *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 59, 1e21.
- Nielsen, O.I., Kristensen, E., Macintosh, D.J., (2003). “Impact of fiddler crabs (*Uca* spp.) on rates and pathways of benthic mineralization in deposited mangrove shrimp pond waste.” *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 59, 1e21.

- Nobbs, M., 2003. “Effects of vegetation differ among three species of fiddler crabs (*Uca spp.*)” *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 284, 41–50.
- Palumbi et al., (1991) S.R. Palumbi, A. Martin, S. Romano, W.O. McMillan, L. Stice, G. Grabowski “Simple Fool's Guide to PCR” *University of Hawaii, Honolulu.*
- Pérez-Mozqueda, L. L., Del Castillo-Falconi, V., & Rosales, J. L. B. (2014). “Registros adicionales del género *Uca* (Brachyura: Ocypodidae) en la laguna de Tamiahua, Veracruz, México.” *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(3).
- Pérez-Mozqueda, L. L., Del Castillo-Falconi, V., & Rosales, J. L. B. (2014). “Registros adicionales del género *Uca* (Brachyura: Ocypodidae) en la laguna de Tamiahua, Veracruz, México.” *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(3).
- Pinheiro, M. A. A. & A. Fransozo, (2002). “Reproduction of the speckled swimming crab *Arenaeus cribrarius* (Brachyura: Portunidae) on the Brazilian coast near 23°30′” *S. Journal of Crustacean Biology* 22: 416–248.
- Pinheiro, M. A. A. & A. Fransozo, (2002). “Reproduction of the speckled swimming crab *Arenaeus cribrarius* (Brachyura: Portunidae) on the Brazilian coast near 23°30′” *S. Journal of Crustacean Biology* 22: 416–248.
- Powers, L. W. (1975). “The fiddler crab burrow: a study in behavioral ecology”. *Ph D. Thesis, University of Texas, Austin*, 170 p.
- Pyron, R.A., Costa, G.C., Patten, M.A. Y Burbrink, F.T., 2015. “Phylogenetic niche conservatism and the evolutionary basis of ecological speciation.” *Biological Reviews*, 90(4), pp.1248-1262.
- Rabalais N. N. y Cameron J. N. (1985b) “The effects of factors important in semi.arid environments on the early development of *Uca subcylindrica*.” *Biol. Bull* (Woods Hole) 168: 147-160.
- Rabalais N. N., Cameron J. N. (1985a) “Physiological and morphological environments.” *Biol. Bull* (Woods Hole) 168: 135-146.
- Rangel TFLVB, Diniz-Filho JAF, Bini LM (2006) “Towards an integrated computational tool for spatial analysis in macroecology and biogeography”. *Global Ecol Biogeogr* 15:321–431.

- Rathbun, M. J. (1918). “The grapsoid crabs of America.” *Bulletin of the United States National Museum*, 97: 1-461.
- Reinsel, K.A., Rittschof D., (1995). “Environmental regulation of foraging in the sand fiddler crab *Uca pugilator* (Bosc 1802).” *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 187, 269-287.
- Rhoades, J. D., Nahid A. M., P.J. Shouse. y Alves W.J., (1989). “Estimating soil salinity from saturated soil-paste electrical conductivity” *Soil Science American Society Journal.* 53:428-433.
- Ribeiro, P.D., Iribarne, O.O., Daleo P., (2005). “The relative importance of substratum characteristics and recruitment in determining the spatial distribution of the fiddler crab *Uca uruguayensis* Nobili”. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 314:99–111
- Robertson, A.I., (1986). “Leaf-burying crabs: their influence on energy flow and export from mixed mangrove forests (*Rhizophora spp.*) in northeastern Australia.” *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 102, 237e248.
- Robertson, A.I., (1986). “Leaf-burying crabs: their influence on energy flow and export from mixed mangrove forests (*Rhizophora spp.*) in northeastern Australia.” *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 102, 237e248.
- Rohlf, F.J., (1999). “TPS versión 1.18.” *Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, EE. UU.*
- Rosenberg M.S. (2001). “The systematics and taxonomy of fiddler crabs: a phylogeny of the genus *Uca*.” *Journal of Crustacean Biology*, 21, 839–869.
- Rosenberg M.S. (2001). “The systematics and taxonomy of fiddler crabs: a phylogeny of the genus *Uca*.” *Journal of Crustacean Biology*, 21, 839–869.
- Rosenberg, M. S. (2000). The comparative claw morphology, phylogeny, and behavior of fiddler crabs (genus *Uca*) (Doctoral dissertation, State University of New York at Stony Brook).
- Rosenberg, M. S. (2000). The comparative claw morphology, phylogeny, and behavior of fiddler crabs (genus *Uca*) (Doctoral dissertation, State University of New York at Stony Brook).

- Rosenberg, M.S. (2014) “Contextual cross-referencing of species names for fiddler crabs (genus *Uca*): An experiment in cyber-taxonomy.” *PLoS ONE* 9(7):e101704.
- RStudio Team (2015). “RStudio: Integrated Development for R.” *RStudio, Inc., Boston, MA* Disponible en: <http://www.rstudio.com/>.
- Rulison, E.L., Luiselli, L., Burke, R.L., (2012). “Relative Impacts of Habitat and Geography on Raccoon Diets”. *Am. Midl. Nat.* 168, 231-246.
- Sanford, E., Holzman, S.B., Haney, R.A., Rand, D.M., Bertness, M.D., (2006). “Larval tolerance, gene flow, and the northern geographic range limit of fiddler crabs.” *Ecology*. 87, 2882–94
- Sastry, A. N., 1983. “Ecological aspects of reproduction.” en “Vernberg, F. J. & W. B. Vernberg (eds), *The Biology of Crustacea, 7. Environmental Adaptations*”. *Academic Press, New York*: 179–270.
- Seto, K.C. (2011). “Exploring the dynamics of migration to mega-delta cities in Asia and Africa: Contemporary drivers and future scenario”. *Global Environmental Change* 21S: 94–107.
- Shih, H. T. (2012). “Distribution of Fiddler Crabs in East Asia, With a Note on the Effect of the Kuroshio Current”. *黑潮圈科学*, 6(1), 83-89.
- Shih, H. T., E. Kamrani, P. J. F., Davie. (2009), “Genetic evidence for the recognition of two fiddler crabs, *Uca iranica* and *U. albimana* (Crustacea: Brachyura: Ocypodidae), from the northwestern Indian Ocean, with notes on the *U. lacteal* species-complex.” *Hydrobiologia* 635:373-382. DOI 10.1007/s10750-009-9930-6.
- Shih, H. T., E. Kamrani, P. J. F., Davie. (2009), “Genetic evidence for the recognition of two fiddler crabs, *Uca iranica* and *U. albimana* (Crustacea: Brachyura: Ocypodidae), from the northwestern Indian Ocean, with notes on the *U. lacteal* species-complex.” *Hydrobiologia* 635:373-382. DOI 10.1007/s10750-009-9930-6.
- Shih, H.T., Naruse, T. and Ng, P.K., (2010). “*Uca jocelynae* sp. nov., a new species of fiddler crab (Crustacea: Brachyura: Ocypodidae) from the Western Pacific.”

- Shih, H.T., Naruse, T. and Ng, P.K., (2010). “*Uca jocelynae sp. nov.*, a new species of fiddler crab (Crustacea: Brachyura: Ocypodidae) from the Western Pacific.”
- Shih, H.T., Ng, P.K. and Liu, M.Y., 2013. “Systematics of the Indo-West Pacific broad-fronted fiddler crabs (Crustacea: Ocypodidae: genus *Uca*).” *Raffles Bulletin of Zoology*, 61(2).
- Shih, H.T., Ng, P.K. and Liu, M.Y., 2013. “Systematics of the Indo-West Pacific broad-fronted fiddler crabs (Crustacea: Ocypodidae: genus *Uca*).” *Raffles Bulletin of Zoology*, 61(2).
- Shih, H.T., Ng, P.K., Davie, P.J., Schubart, C.D., Türkay, M., Naderloo, R., Jones, D. and Liu, M.Y., 2016. “Systematics of the family Ocypodidae Rafinesque, 1815 (Crustacea: Brachyura), based on phylogenetic relationships, with a reorganization of subfamily rankings and a review of the taxonomic status of *Uca* Leach, 1814, sensu lato and its subgenera.” *Raffles Bulletin of Zoology*, 64.
- Shih, H.T., Saher, N.U., Kamrani, E., Ng, P.K., Lai, Y.C. y Liu, M.Y., (2015). “Population genetics of the fiddler crab *Uca sindensis* (Alcock, 1900)(Crustacea: Brachyura: Ocypodidae) from the Arabian Sea.” *Zoological Studies*, 54(1), p.1.
- Shih, H.T., Saher, N.U., Kamrani, E., Ng, P.K., Lai, Y.C. y Liu, M.Y., (2015). “Population genetics of the fiddler crab *Uca sindensis* (Alcock, 1900)(Crustacea: Brachyura: Ocypodidae) from the Arabian Sea.” *Zoological Studies*, 54(1), p.1.
- Skov, M., M. Vannini, J. Shunula, R. Hartnoll, y S. Cannicci. (2002). “Quantifying the density of mangrove crabs: Ocypodidae and Grapsidae.” *Marine Biology* 141: 725–732.
- Sokal RR, Oden NL (1978) “Spatial autocorrelation in biology. 1.” *Methodology. Biol J Linn Soc* 10:199–228.
- Spivak, E.D. and Cuesta, J.A., (2009). The effect of salinity on larval development of *Uca tangeri* (Eydoux, 1835)(Brachyura: Ocypodidae) and new findings of the zoeal morphology. *Scientia Marina*, 73(2), pp.297-305.
- Sturmbauer, C., Levinton, J.S. y Christy, J., (1996). “Molecular phylogeny analysis of fiddler crabs: test of the hypothesis of increasing behavioral

complexity in evolution.” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(20), pp.10855-10857.

- Sturmbauer, C., Levinton, J.S. y Christy, J., (1996). “Molecular phylogeny analysis of fiddler crabs: test of the hypothesis of increasing behavioral complexity in evolution.” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(20), pp.10855-10857.
- Sujeevan, R. and Hebert, P., (2007). “BOLD: the Barcode of Life Data System.” *Molecular Ecology Notes*, 7, pp.355-364.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. y Kumar, S., (2013). “MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0.” *Molecular biology and evolution*, 30(12), pp.2725-2729.
- Teal, J.M., (1958). “Distribution of fiddler crabs in Georgia salt marshes.” *Bull. Ecol. Soc. Am* 39: 186-193.
- Templeton, A. R. 2006. Population genetics and microevolutionary theory. John Wiley & Sons.
- Thompson, J. D., D. G. Higgins y T. J. Gibson, (1994). “CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequencing alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice.” *Nucleic Acid Research* 22: 4673-4680.
- Thurman, C., Hanna, J. y Bennett, C., (2010.) “Ecophenotypic physiology: osmoregulation by fiddler crabs (*Uca spp.*) from the northern Caribbean in relation to ecological distribution.” *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 43(5), pp.339-356.
- Thurman, C.L., (1985). “Reproductive biology and population structure of the fiddler crab *Uca subcylindrica* (Stimpson).” *The Biological Bulletin*, 169(1), pp.215-229.
- Thurman, C.L., (1985). “Reproductive biology and population structure of the fiddler crab *Uca subcylindrica* (Stimpson).” *The Biological Bulletin*, 169(1), pp.215-229.

- Thurman, C.L., Faria, S.C., McNamara, J.C. (2013). “The distribution of fiddler crabs (*Uca*) along the coast of Brazil: implications for biogeography of the western Atlantic“ *Ocean. Mar. Biodivers. Rec.* 6, 01-21.
- Utrera-López, M.E. y Capistrán-Barradas, A., (2013). “New record and range expansion of the narrow-fronted fiddler crab *Uca (uca) major* (Herbst, 1782), from the state of Veracruz, Mexico.” NOTES AND NEWS. *Crustaceana*, 86(3), pp.367-371.
- Valiela, I., J.L. Bowen, y J.K. York. 2001. “Mangrove forests: One of the world's threatened major tropical environments.” *Bioscience* 51: 807–815.
- Vermeiren, P. y Sheaves, M., (2015). “Predictable Habitat Associations of Four Crabs Species Across the Low Intertidal Landscape of a Tropical Estuary over Time.” *Estuaries and Coast* 38:285-295.
- Wenner AM. (1972). “Sex-ratio as a function of size in marine Crustacea.” *The American Naturalist*. 106:321-50.
- Zanders IP, Rojas WE (1996) “Osmotic and ionic regulation in the fiddler crab *Uca rapax* acclimated to dilute and hypersaline sea- water.” *Mar Biol* 125: 315–320
- Zanders IP, Rojas WE (1996) “Osmotic and ionic regulation in the fiddler crab *Uca rapax* acclimated to dilute and hypersaline sea- water.” *Mar Biol* 125: 315–320
- Zimmerman, T. L. & D. L. Felder, (1991). “Reproductive ecology of an intertidal brachyuran crab *Sesarma sp.* (nr. reticulatum), from the Gulf of Mexico.” *Biological Bulletin* 181: 387–401.
- Zimmerman, T. L. & D. L. Felder, (1991). “Reproductive ecology of an intertidal brachyuran crab *Sesarma sp.* (nr. reticulatum), from the Gulf of Mexico.” *Biological Bulletin* 181: 387–401.
- Darwin, C., 1859. On the origin of species by means of natural selection, or. *The Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*, London/*Die Entstehung der Arten durch natürliche Zuchtwahl*, Leipzig oJ.
- Felsenstein, J. 1985. Phylogenies and the comparative method. *American Naturalist* 125: 1-15.