

Distribución, riqueza e identificación molecular de cangrejos araña (Brachyura: Majoidea: Mithracidae) de Costa Rica

Distribution, richness, and molecular identification of spider crabs (Brachyura: Majoidea: Mithracidae) from Costa Rica

Distribuição, riqueza e identificação molecular de caranguejos-aranha (Brachyura: Majoidea: Mithracidae) da Costa Rica

Carolina Sancho-Blanco¹, Luis E. Salas-Arce¹, Jorge Alfaro-Montoya², Rita Vargas-Castillo³, Antonio Baeza^{4,5,6}, Rodolfo Umaña-Castro¹

Received: May/10/2021 • Accepted: Set/1/2021 • Published: Feb/14/2022

Resumen

El objetivo de este estudio fue determinar la distribución, riqueza e identificación molecular de cangrejos araña en las costas Pacífico y Caribe costarricenses. Se realizaron mapas de distribución de especies de la familia Mithracidae en las costas del Caribe y Pacífico de Costa Rica a partir de muestreos exploratorios y registros espacio-temporales de colectas (1960 al 2016) suministrados por el Museo de Zoología de la Universidad de Costa Rica (UCR). Además, se obtuvo un árbol filogenético mediante topología concatenada multigénica de fragmentos de genes mitocondriales y nuclear. Los registros históricos revelan la presencia de 24 especies de cangrejos mitrácidos y su distribución geográfica en el Pacífico y Caribe de Costa Rica, incluyendo islas de la plataforma continental y oceánica. Los análisis moleculares confirman relaciones de parentesco entre los clados *Ala-Maguimithrax*, *Omalacantha-Microphrys*, *Omalacantha+Microphrys-Teleophrys* y el clado bien soportado de las especies del género *Mithraculus*. Los resultados generados en este estudio contribuyen con información para el desarrollo de estrategias futuras de protección ambiental de los recursos marinos, al aportar una línea base para el monitoreo de la degradación ambiental y la destrucción del hábitat de cangrejos araña en las costas de Costa Rica. La información molecular obtenida, a futuro permitirá estudios de genética de poblaciones, filogeografía, flujo génico regional y divergencia entre especies del Caribe y Pacífico.

Palabras clave: ADNmt; decápodos; filogenética; identificación molecular; posicionamiento taxonómico.

Carolina Sancho-Blanco, carolina.sancho.blanco@una.ac.cr, Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0002-0378-001X>

Luis E. Salas-Arce, luisalas09@gmail.com, Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0002-4609-0473>

Jorge Alfaro-Montoya, jorge.alfaro.montoya@una.ac.cr, Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0002-1723-1521>

Rita Vargas-Castillo, rita.vargas@ucr.ac.cr, Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0003-0561-2121>

Antonio Baeza, jbaezam@clemson.edu, Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0002-2573-6773>

Rodolfo Umaña-Castro, rodolfo.umana.castro@una.ac.cr, Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0003-0041-2788>

1 Escuela de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Análisis Genómico (LAGEN), Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

2 Escuela de Ciencias Biológicas, Estación de Biología Marina: Lic. Juan Bertoglia Richards, Universidad Nacional, Puntarenas, Costa Rica.

3 Centro de Investigación en Biodiversidad y Ecología Tropical (CIBET), Universidad de Costa Rica, San Pedro, Costa Rica.

4 Department of Biological Sciences, Clemson University, Clemson, South Carolina, USA.

5 Smithsonian Marine Station at Fort Pierce, Fort Pierce, Florida, USA.

6 Departamento de Biología Marina, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile.

Abstract

The objective of this study was to determine the distribution, richness, and molecular identification of spider crabs in the Costa Rican Pacific and Caribbean coasts. Distribution maps were created for species of the Mithracidae family on the Caribbean and Pacific coasts of Costa Rica, based on exploratory samplings and spatio-temporal records of collections (1960 to 2016) provided by the Universidad de Costa Rica's Museum of Zoology. In addition, phylogenetic relationships were explored using a multigene concatenated phylogenetic tree based on mitochondrial and nuclear gene fragments. Historical records reveal the presence of 24 species of mithracid crabs and their geographic distribution in the Pacific and Caribbean of Costa Rica, including islands on the continental and oceanic shelf. Molecular analyses confirm sister relationships between the clades *Ala-Maguimithrax*, *Omalacantha-Microphrys*, *Omalacantha+Microphrys-Teleophrys*, and a well-supported clade of species belonging to the genus *Mithraculus*. However, our concatenated molecular data set suggests a monophyletic relationship between *Thoe*, *Petramithrax*, and *Hemus*, differing from what was previously reported. The results obtained in this study will help in the development of strategies for the environmental protection of these marine resources, by providing a baseline for monitoring environmental degradation and destruction of habitats used by spider crabs on the coasts of Costa Rica. Furthermore, the molecular information obtained in this study will help future studies focusing on understanding the population genetics, phylogeography, regional gene flow, and divergence among species between the Caribbean and Pacific coast.

Keywords: mtDNA; decapods; phylogenetics; molecular identification; taxonomic placement.

Resumo

O objetivo deste estudo foi determinar a distribuição, riqueza e identificação molecular de caranguejos-aranha no litoral costarricense do Pacífico e do Caribe. Foram realizados mapas de distribuição de espécies da família *Mithracidae* nas costas do Caribe e do Pacífico da Costa Rica a partir de amostragens exploratórias e registros de espaço-tempo de coletas (1960 a 2016) fornecidos pelo Museu de Zoologia da Universidade da Costa Rica (UCR). Além disso, foi obtido um posicionamento taxonômico por meio da topologia multigênica concatenada de fragmentos genéticos mitocondriais e nucleares. Registros históricos revelam a presença de 24 espécies de caranguejos *Mithracida* e sua distribuição geográfica no Pacífico e Caribe da Costa Rica, incluindo ilhas da plataforma continental e oceânica. As análises moleculares confirmam relações de parentesco entre os clados *Ala-Maguimithrax*, *Omalacantha-Microphrys*, *Omalacantha+Microphrys-Teleophrys* e o clado bem apoiado de espécies do gênero *Mithraculus*. Os resultados gerados neste estudo contribuem com informações para o desenvolvimento de futuras estratégias de proteção ambiental dos recursos marinhos, fornecendo uma linha de base para o monitoramento da degradação ambiental e a destruição do habitat do caranguejo-aranha no litoral da Costa Rica. As informações moleculares obtidas, no futuro, permitirão estudos de genética populacional, filogeografia, fluxo genético regional e divergência entre espécies do Caribe e do Pacífico.

Palavras-chave: mtDNA; decápodes; filogenética; identificação molecular; posicionamento taxonômico.

Introducción

Los cangrejos Mitrácidos pertenecen a la superfamilia Majoidea Samouelle, 1819, en donde se incluyen las especies comúnmente conocidas como cangrejos araña (Assugeni et al., 2017), presentan gran riqueza de especies, diversidad morfológica y ecológica (Ng, Guinot, y Davie, 2008). La familia Mithracidae se encuentra representada por 86 especies y 14 géneros; de los cuales aproximadamente 35 especies se encuentran en el Golfo de México y en la región occidental del Atlántico (De Grave et al., 2009; Klompmaker, Portell, Klier, Prueter y Tucker, 2015; Ng, Ho, Lin y Yang, 2018; Windsor y Felder, 2014), 27 especies en el Pacífico oriental y 30 especies en el Pacífico Indo-occidental (Windsor y Felder, 2014). Su distribución abarca zonas tropicales y subtropicales, desde zonas intermareales hasta los 450 m de profundidad, formando parte de las comunidades de arrecifes coralinos y también de escombros rocosos (Klompmaker et al., 2015). En Costa Rica, se ha reportado la presencia de cangrejos mitrácidos en zonas rocosas y arrecifes poco profundos (Alvarado y Vargas-Castillo, 2012; Vargas-Castillo y Vargas-Zamora, 2020).

El tamaño del cuerpo, los estilos de vida, hábitat y coloración varían de forma considerable entre las especies de esta familia, incluso dentro de una misma especie es posible observar variaciones morfológicas importante, por lo cual la identificación taxonómica de los representantes de este grupo es compleja (Cruz y Campos, 2003). Lo anterior ha llevado al uso de herramientas moleculares basadas en el código de barras de ADN, para resolver las relaciones filogenéticas que se mantenían inconclusas a partir de estudios morfológicos y ecológicos (Assugeni et al., 2017; Bucklin, Lindeque, Rodríguez-Ezpeleta, Albaina y Lehtiniemi, 2016; Bucklin, Steinke y Blanco-Bercial, 2011; Geiger et al., 2016; Toon, Finley, Staples, y Crandall, 2009; Wagner, 1990; Windsor y Felder, 2009).

Recientemente, la familia Mithracidae ha sido ampliamente analizada a partir de caracteres morfológicos e identificación molecular, con el propósito de la reubicación de géneros y establecimiento de nuevas relaciones filogenéticas (Windsor y Felder, 2009, 2014, 2017). Windsor y Felder (2014) reorganizaron algunos géneros de la familia Mithracidae tales como *Mithrax* Latreille (1816); *Mithraculus* (White, 1847); *Nemausa* A. (Milne-Edwards, 1875); *Nonala* (Windsor & Felder, 2014); *Omalacantha* (Streets, 1871) y *Petramithrax* (Windsor & Felder, 2014). Posteriormente, Klompmaker et al. (2015) añadieron el género *Maguimithrax*, anteriormente renombrado por Windsor y Felder (2014) como *Damithrax*. Finalmente, Windsor y Felder (2017) homologaron el género *Mithrax* con el nombre de *Amphithrax*, reasignando algunas especies de cangrejos araña de la familia Mithracidae (WORMS, 2020).

La asignación de la identidad taxonómica y el conocimiento de las áreas geográficas en que habitan las especies de cangrejos mitrácidos, mediante predicciones filogenéticas y mapas de distribución espacio-temporal, facilitan los estudios de biodiversidad, la generación de reportes sobre alteración del hábitat por actividades antropogénicas, planes de conservación y medidas de protección de los ecosistemas (Moscoso, 2012; Vargas, 2012; Wehrmann y Cortés, 2009). Por lo que este estudio busca revelar la riqueza de especies y la distribución espacial-temporal de la familia Mithracidae en las costas del Caribe y Pacífico

costarricenses, así como identificar molecularmente, por primera vez en Costa Rica, especies de cangrejos araña de esta familia.

Metodología

Área de estudio

Se obtuvieron muestras de tejido a partir de colecciones del Museo de Zoología de la Universidad de Costa Rica (UCR) (cuadro suplementario 1). Además, se seleccionaron puntos de muestreo basados en reportes previos de colectas y observaciones de campo en zonas rocosas intermareales y zonas arrecifales del Caribe costarricense, específicamente en Puerto Viejo, Punta Uva, Manzanillo, Cahuita e Isla Uvita y en la costa pacífica: el Golfo de Nicoya, Isla del Caño, Dominical, Esterillos, Caldera, Isla Negritos, Playa Buenavista, Playa Tambor, Cuajiniquil, Coyote y La Cruz (Moran y Dittel, 1993; Vargas, 2012; Wagner, 1990). Basados en estas localidades, se colectaron individuos de cada especie en ambas costas. Los especímenes se fotografiaron y los tejidos se conservaron en etanol al 70 % y 4°C, para sus posteriores análisis moleculares.

Mapas de distribución espacial y temporal de cangrejos Mitrácidos

Se realizaron mapas de distribución, a partir de los muestreos exploratorios realizados en la costa Pacífica y en el Caribe de Costa Rica, así como de información obtenida de registros de campo suministrados por el Museo de Zoología de la UCR. Además, se realizaron mapas de registros temporales de colectas en un periodo de 53 años (1963-2016). Para la creación de los mapas se emplearon un total de 11 géneros, 20 especies, y se utilizó el programa estadístico R (R versión 3.4.0, 2017) con el paquete de ggplot2 v. 2.2.1 (Wickham, 2016).

Extracción de ADN y amplificación de genes específicos por PCR

La extracción de ADN total se realizó mediante el kit comercial PureLink® Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, USA) a partir de 30 mg de tejido muscular abdominal y de la coxa del cuarto pereiópodo de cada cangrejo analizado. La amplificación de secuencias mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fue dirigida a regiones específicas del gen nuclear: Histona 3 (H3), y tres genes mitocondriales: ADN ribosomal 16S (ADNr 16S), ADN ribosomal 12S, y citocromo oxidasa I (COI). Las reacciones de PCR se optimizaron a un volumen final de 25 µl: 2,5 µl de 10X Taq buffer, 2,5 µl de MgCl₂ (25 mM), 0,5 µl de dNTPs (10 mM), 1,875 µl de cada cebador (10 mM), 0,25µl Taq (5U), 2 µl del ADN (100 ng) y 13,5 µl agua ultrapura doble desionizada. Las condiciones de termociclado para los genes fueron: desnaturalización inicial 94°C por 5 min, seguido por 36 ciclos de 94°C por 1 min, 50°C (COI y 12S) o 52°C (16S y H3) por 1 min y 72°C por 1 min, seguido por una extensión final a 72°C por 5 min. Los cebadores utilizados fueron: Histona 3 (H3Af: 5'-ATG GCT CGT ACC AAG CAG ACV GC-3' y H3Ar: 5'-ATA TCC TTR GGC ATR ATR GTG AC-3') (Colgan et al., 1998), ADNr 16S (16L2: 5'-TGC CTG TTT ATC AAA AAC AT-3' y 1472: 5'-AGA TAG AAA CCA ACC TGG-3') (Baeza et al., 2010), ADN 12S (12Sf: 5'-

GAA ACC AGG ATT AGA TAC CC- 3' y 12S1r: 5'-AGC GAC GGG CGA TAT GTA C-3') (Mokady, Rozenblatt, Graur y Loya, 1994) y COI (HCO2198: 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAR AAY CA-3'y LCO1490: 5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG AYA TYG G-3') (Folmer, Black, Hoeh, Lutz y Vrijenhoek, 1994). La confirmación de los productos PCR se realizó mediante movilidad electroforética a 90 V, 400 mA por 45 min, en geles de agarosa al 2 % en buffer TAE 1X. Los amplicones fueron purificados, para posterior secuenciación, mediante el kit de aislamiento y purificación de productos retenidos en geles de agarosa Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (PROMEGA, USA), según las indicaciones de manufactura.

Secuenciación genética de los productos de PCR y análisis bioinformáticos

La secuenciación de los productos de PCR se realizó en ambas direcciones para cada fragmento con una química Big Dye Terminator Mix v3.1, utilizando el analizador genético ABI 3130 (Applied Biosystems), del Laboratorio de Análisis Genómico (LAGEN) de la Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional. Las secuencias obtenidas fueron editadas y alineadas utilizando el software Geneious® versión R9 (Biomatters Ltda) y sometidas a un análisis de alineamiento local (BLASTn) del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) para confirmar su identidad. Posteriormente, las secuencias nucleotídicas fueron accedidas en el GenBank con los siguientes números de acceso: KX033404-KX033407 para COI y KU951436-KU951440 para el gen 16S ribosomal, y previamente para los genes Histona 3 (H3) y ADN ribosomal 12S. Para determinar el posicionamiento taxonómico de los especímenes (*DNA barcoding*) se realizó un análisis filogenético multilocus, concatenando las secuencias de este estudio y posicionándolas con las obtenidas desde Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) (Cuadro suplementario 2). Inicialmente, se elaboraron matrices de secuencias para cada gen (COI, 12S, 16S y H3) y se alinearon con el programa MAFFT v7.308 (Katoh y Standley, 2013) con el método de refinamiento iterativo (G-INS-i) y el parámetro 1 PAM/k=2. Seguidamente, se realizó una selección de bloques conservados mediante parámetros menos estrictos empleando el programa Gblocks (Castresana, 2000). El mejor modelo de sustitución nucleotídica se determinó mediante el programa ModelFinder (Kalyaanamoorthy, Minh, Wong, von Haeseler, y Jermin, 2017) lo que arrojó que el mejor modelo fue el TVM+F+G4 con asignación de frecuencia de bases empírica, modelo GAMMA discreto de cuatro categorías.

La elaboración de inferencias de posicionamiento taxonómico se realizó mediante la plataforma en línea IQ-TREE (<http://iqtree.cibiv.univie.ac.at>) (Nguyen, Schmidt, von Haeseler y Minh, 2015; Trifinopoulos, Nguyen, von Haeseler y Minh, 2016) con el método de máxima verosimilitud (ML) empleando un algoritmo estocástico. Los parámetros utilizados para la inferencia filogenética fueron el uso de heterogeneidad de tasa libre, cálculo de soporte de los nodos derivado del método bootstrap UFboot de 5000 permutaciones (Minh, Nguyen y von Haeseler, 2013), con un máximo de 5 000 iteraciones y una prueba de rama única (SH-aLRT) con 5 000 réplicas. Se utilizó a *Micippa thalia* como grupo externo. Los árboles obtenidos se visualizaron y editaron con el programa FigTree v1.4 (Rambaut, 2010). Finalmente, se garantizó que no existieran topologías individuales en conflicto entre

los árboles obtenidos y se procedió a concatenar las matrices alineadas de los genes COI, 12S, 16S y H3 con 658, 351, 419 y 328 posiciones informativas, respectivamente, mediante el programa SequenceMatrix v1.7.8 (Vaidya, Lohman y Meier, 2011) con el fin de obtener una topología multigénica consenso mediante el método ML y el modelo TVM+F+G4.

Análisis y resultados

Los mapas de ubicación geográfica generados a partir de los registros de muestreo de los especímenes de la familia Mithracidae permitieron determinar la distribución y riqueza espacio-temporal de las especies de cangrejos araña en la costa Caribe y Pacífico de Costa Rica, revelando la presencia de las siguientes 24 especies: *Ala cornuta* Stimpson, 1860; *Maguimithrax spinosissimus* Lamarck, 1818 (syn. *Mithrax spinosissimus*); *Hemus finneganae* Garth, 1958; *Microphrys branchialis* Rathbun, 1898; *Microphrys platysoma* Stimpson, 1860; *Mithraculus cinctimanus* Stimpson, 1860; *Mithraculus coryphe* Herbst, 1801; *Mithraculus denticulatus* Bell, 1836; *Mithraculus fórceps* A. Milne-Edwards, 1875; *Mithraculus sculptus* Lamarck, 1818; *Amphithrax aculeatus* Herbst, 1790 (syn. *Mithrax aculeatus*); *Amphithrax tuberculatus* Stimpson, 1860 (syn. *Mithrax tuberculatus*); *Nemausa sinensis* Rathbun, 1892 (syn. *Mithrax sinensis*); *Omalacantha bicornuta* Latreille, 1825 (syn. *Microphrys bicornutus*); *Omalacantha interrupta* Rathbun, 1920 (syn. *Microphrys interruptus*); *Petramithrax pygmaeus* Bell, 1836 (syn. *Mithrax pygmaeus*); *Teleophrys cristulipes* Stimpson, 1860; *Teleophrys tumidus* Cano, 1889; *Thoe puella* Stimpson, 1860; *Thoe erosa* Bell, 1836; *Pitho lherminieri* Desbonne in Desbonne & Schramm, 1867; *Pitho picteti* De Saussure, 1853; *Pitho quinquedentata* Bell, 1836 y *Pitho sexdentata* Bell, 1836 (Cuadro suplementario 1).

Se muestra una distribución individual de los reportes de cada una de las especies de la familia Mithracidae, en la región Caribe o Pacífico, incluidas islas continentales (Isla Uvita, Isla del Caño, Islas Murciélago, Isla Juanilla, Isla David, Isla Bolaños, Islas Huevos) y oceánicas (Isla del Coco) (Figura 1). Las localidades que presentaron la mayor cantidad de especies reportadas en este estudio, según la región son: Caribe, provincia de Limón (Puerto Viejo de Talamanca, Isla Uvita, Manzanillo, Punta Uva, Cahuita, Puerto Vargas, Portete), Pacífico Norte, provincia de Guanacaste (islas Murciélago, Cuajiniquil, Golfo Santa Elena, Camaronal, Santa Cruz, Samara, Nandayure, La Cruz, Bahía Culebra, Bahía Junquillal, Bahía Huevos, Carrillo) y Pacífico Central, provincia de Puntarenas (Golfo de Nicoya, Esterillos, Herradura, Jacó, Manuel Antonio, Tambor, Agujas e Isla del Coco), Pacífico Sur, Provincia de Puntarenas (Isla del Caño, Golfo Dulce, Punta Dominical, Bahía Ballena) (Cuadro suplementario 1).

En la distribución temporal, se observa una mayor incidencia de registros u observaciones de este grupo de cangrejos a partir de 1990 y hasta la actualidad, lo cual puede deberse a un aumento en el esfuerzo de muestreo, producto de las investigaciones referentes a la diversidad y riqueza de crustáceos marinos en diferentes zonas del país, y a través de muestreos exhaustivos en las costas del Pacífico y el Caribe costarricenses (Moran y Dittel, 1993; Vargas, 2012; Wehrtmann y Cortés, 2009) (Figura 2). Se observaron especies cuya aparición en el tiempo es baja, tales como *T. puella*, *T. tumidus*, *O. interrupta*, *A. aculeatus* (syn. *Mithrax aculeatus*) y *M. sculptus*, lo cual puede deberse a una baja prevalencia en el

país a lo largo de los años, además de las dificultades asociadas a su localización en el campo como consecuencia de su camuflaje con los corales y las algas de los sustratos coralinos que dificulta su observación. Sin embargo, está descrito que la abundancia de *M. sculptus* y *M. coryphe* es alta en hábitats de pastos marinos y arrecifes de coral en localidades evaluadas en la península Yucatán, México y la bahía de Nenguange, Caribe y Colombia (González-Gómez, Briones-Fourzán, Álvarez-Filip y Lozano-Álvarez, 2018; Gutiérrez-Salcedo, Aguilar-Pérez, Bermúdez, Campos y Navas, 2007), y en el Atlántico Occidental, abarcando la región de Florida (EE. UU), las Antillas y Brasil; en São Paulo (Mantelatto et al., 2020) y Ilha Vitória (Alves et al., 2012). Por su parte, *T. puella* se reporta como abundante en las costas poco profundas del litoral de Santiago de Cuba asociado a rocas coralinas y arrecife de coral (García y Capote, 2015). En contraposición, existen múltiples registros locales de especies como *M. denticulatus*, *M. coryphe*, *M. platysoma*, *A. cornuta* y *T. erosa*, lo cual podría ser un indicador de la abundancia de estas especies o de la cantidad de territorio y hábitats en los que se pueden localizar. Mientras que la aparición contemporánea de algunas especies como *M. cinctimanus*, *M. sculptus*, *M. branchialis* y *P. pygmaeus* puede deberse a la direccionalidad del muestreo hacia la búsqueda de estas especies en específico (Figura 2).

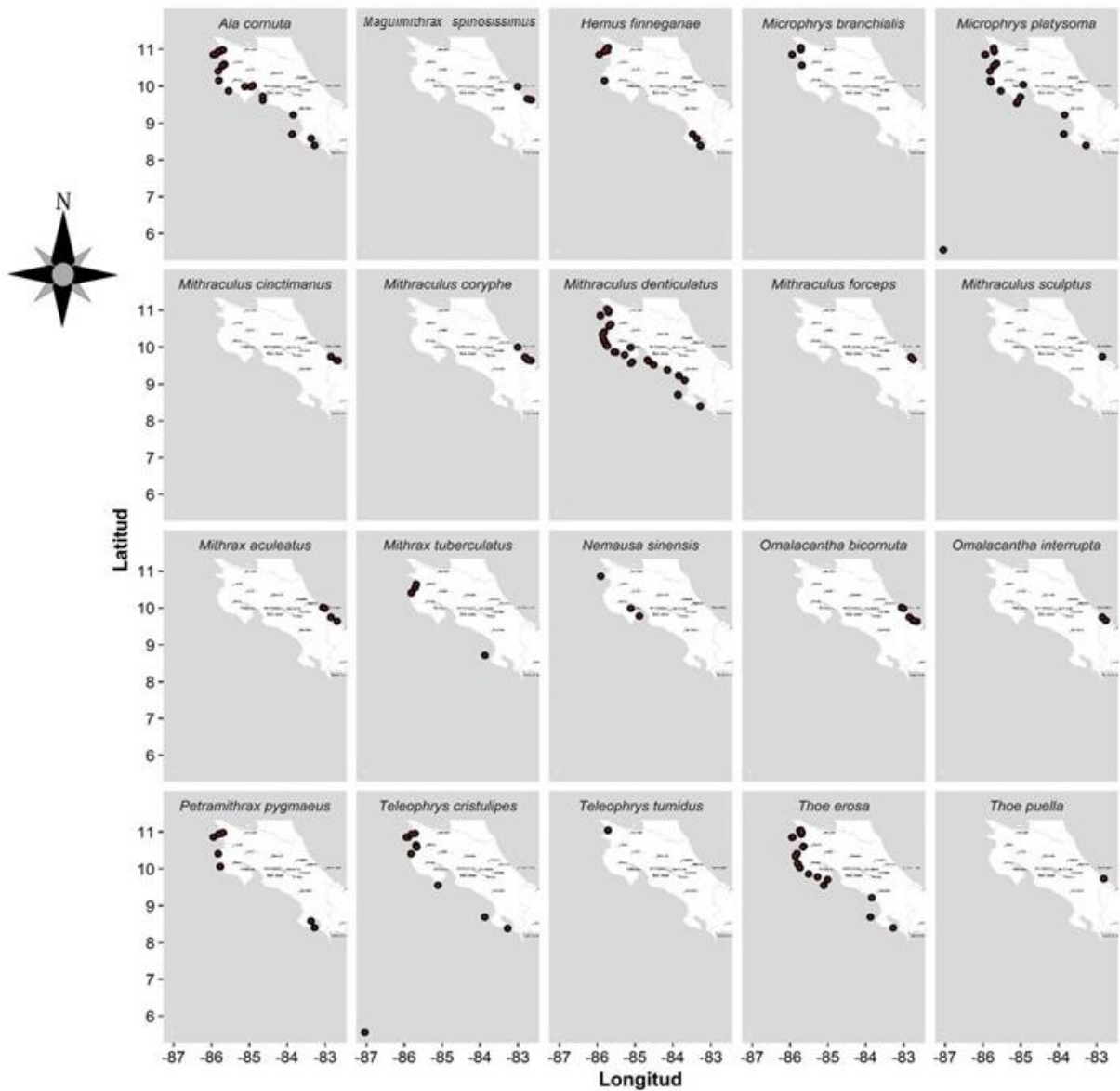


Figura 1. Mapas de distribución por especie de cangrejos mitrácidos de la región noreste del Caribe y el suroeste del Pacífico costarricense periodo (1963-2016). Nota: Fuente propia de la investigación (2016).

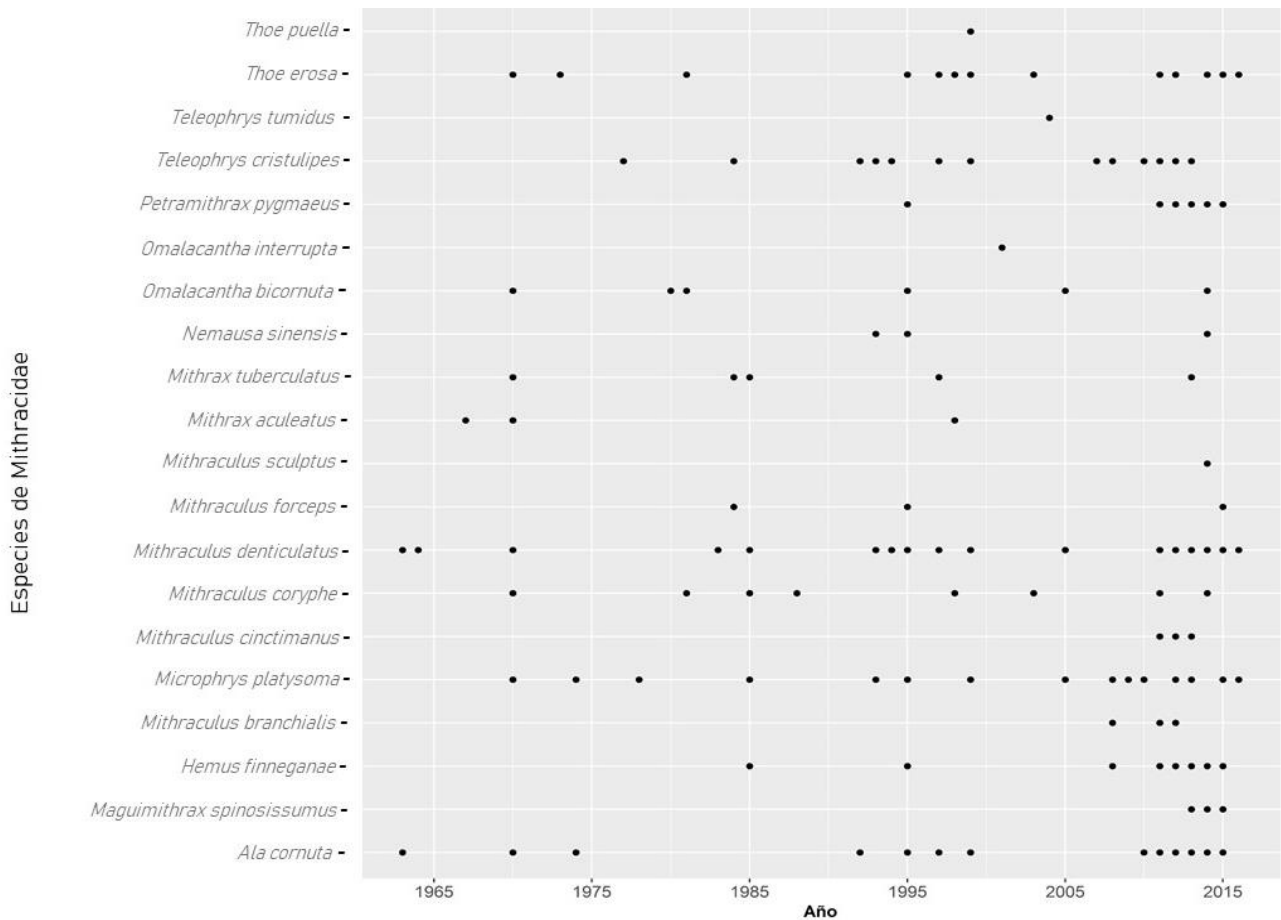


Figura 2. Registro de distribución temporal de mitrácidos en Costa Rica, según los registros de campo obtenidos por medio de colectas de especies de cangrejos araña en un periodo de 53 años (1963-2016). Nota: Fuente propia de la investigación.

Los mapas de distribución espacio-temporal constituyen una importante herramienta para realizar estudios de monitoreo local sobre la prevalencia y estado de las poblaciones, la elaboración de metodologías de muestreo y la planificación de expediciones en campo dirigidas en la búsqueda de especímenes. Así, por ejemplo, *T. cristulipes* y *M. platysoma* se encuentran, además de en la zona continental, en la Isla del Coco a 500 km del continente. Mientras que *M. spinosissimus*, especie de consumo local y de explotación comercial a pequeña escala, abarca los principales puntos de pesca y turismo de la región Caribe como Cahuita, Puerto Viejo, Punta Uva, Cocles y Manzanillo, lo cual la hace vulnerable a la sobreexplotación. Igualmente, especies como *M. cinctimanus* y *M. coryphe* se localizan en el Caribe y son utilizados en el mercado de la acuariofilia (Rhyne, Fujita y Calado, 2004), por lo que son potencialmente susceptibles a su reducción poblacional.

La monofilia de Mithracidae ha sido ampliamente discutida, algunos reportes plantean esta condición dentro del grupo (Hultgren y Stachowicz, 2008; Hultgren et al., 2009), mientras que otros se inclinan hacia la ausencia de un ancestro común (Martin y Davis,

2001). Asimismo, las clasificaciones internas son aún más discutidas y menos estables, requiriendo de investigaciones enfocadas a esclarecer las relaciones taxonómicas de este grupo (Hultgren y Stachowicz, 2008). Nuestros hallazgos permitieron agrupar 9 géneros y 16 especies de la familia Mithracidae, mediante topología concatenada multigénica de secuencias nucleotídicas obtenidas en este estudio; regiones mitocondriales 12S (27 secuencias), 16S (21) y COI (33) y la región nuclear H3 (17), así como secuencias reportadas en el GenBank (Cuadro suplementario 1), lo que revela géneros monofiléticos como *Thoe* (Bell, 1836), *Hemus* (A. Milne-Edwards, 1875) y *Mithraculus* (Windsor y Felder, 2014). El género *Maguimithrax* se posiciona taxonómicamente cercano al género *Ala* y se agrupa dentro de un mismo nodo, formando un clado con alto soporte según el análisis de máxima verosimilitud. El género *Omalacantha* se agrupa en un mismo clado con el género *Microphrys* y *Omalacantha* + *Microphrys* es un clado hermano al género *Teleophrys*. *Microphrys* y *Omalacantha* son muy similares desde el punto de vista morfológico (Colavite et al., 2020; Hollier, 2020; Carmona-Suárez y Poupin, 2016; Windsor y Felder, 2017). Por otra parte, el género *Mithraculus*, representado por cuatro especies en nuestro árbol filogenético (*M. cinctimanus*, *M. forceps*, *M. coryphe* y *M. denticulatus*) representa un clado monofilético bien soportado. Este género no está cercanamente relacionado a los géneros *Maguimithrax* y *Petramithrax* (Figura 3). Por otra parte, los géneros *Petramithrax*, *Hemus* y *Thoe* se agrupan en clados independientes, con valores altos de bootstrap.

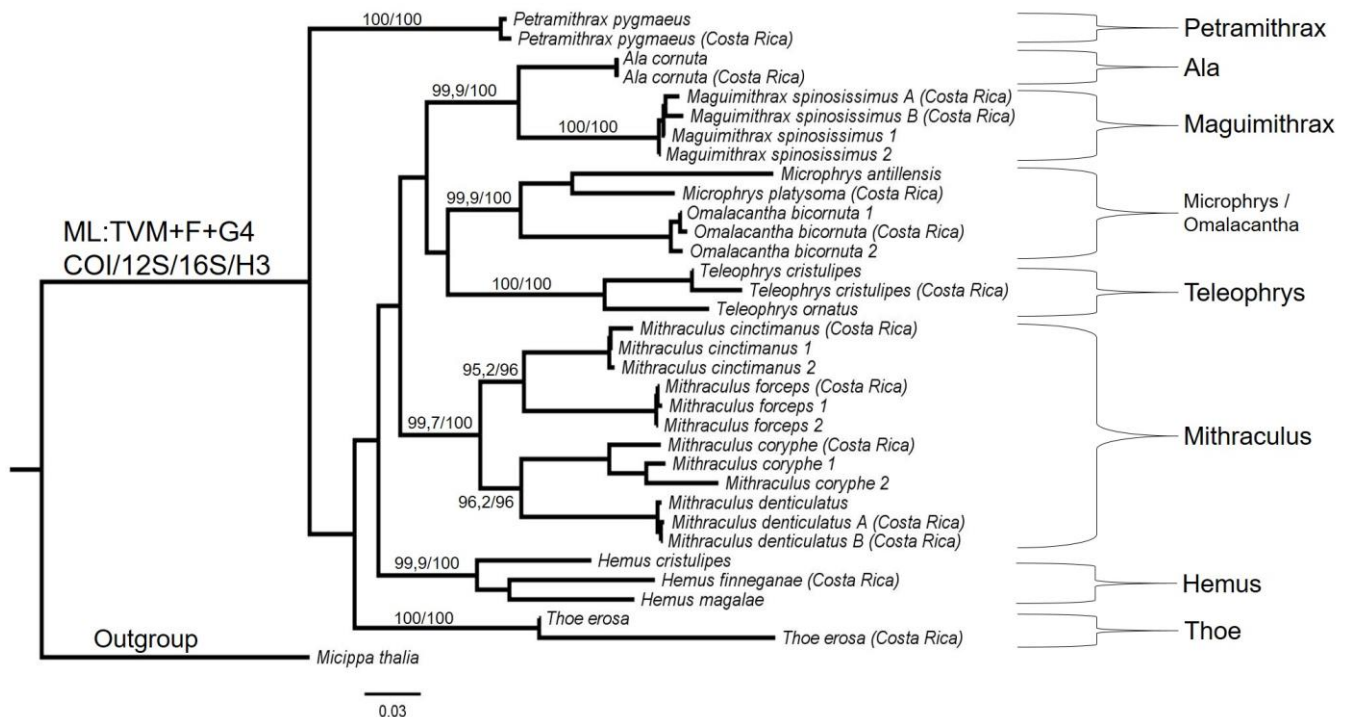


Figura 3. Árbol de posicionamiento taxonómico de cangrejos araña (Familia Mithracidae) de Costa Rica, basado en secuencias parciales de una matriz génica concatenada (COI, 12S, 16S y H3). Topología inferida mediante máxima verosimilitud (ML), modelo TVM+F+G4 con 5000

permutaciones. Las secuencias obtenidas en este estudio se identifican como: (Costa Rica). Los valores de soporte de cada rama se muestran como SHaLRT (Test de rama única) / UFBoot (bootstrap ultra rápido), en el cual la confianza en un clado que se interpreta como >80 y >90, respectivamente. Valores de soporte de las ramas menores al 80 % no se muestran en la topología. *Micippa thalia* (Herbst, 1803) corresponde al *outgroup*. La barra de escala corresponde a 1 sustitución nucleotídica por cada 30 sitios. Los números de accesoión de las secuencias obtenidas del GenBank se muestran en el Cuadro suplementario 2, generado con datos de esta propia investigación (2020).

Baeza et al. (2010) analizaron las relaciones filogenéticas entre especies de los géneros *Mithrax* y *Mithraculus* mediante el marcador molecular gen 16S (ADNmt), reportando que el género *Mithraculus* posee 4 especies representativas monofiléticas (*M. cincimanus*, *M. coryphe*, *M. sculptus* y *M. forceps*). Posteriormente, Windsor y Felder (2014) reportaron una filogenia con un mayor número de secuencias genéticas, así como el análisis de la estructura del espermatozoa, e incorporan los géneros *Hemus* y *Pitho* dentro de la familia Mithracidae, siendo *Hemus* un clado hermano de los géneros *Thoe* y *Petramithrax*, con lo cual se sugiere la validez de los géneros *Omalacantha*, *Nonala* y *Petramithrax*. Además, la especie *M. spinosissimus* (Lamarck, 1818) fue trasladada al género *Maguimithrax* (Klomp maker et al. 2015). El género *Mithrax* quedaría compuesto por tres especies: *Mithrax hispidus* (Herbst, 1790), *Mithrax pleuracanthus* (Stimpson, 1871), *Mithrax tortugae* (Rathbun, 1920). Además, incluyeron 10 especies a un nuevo género llamado *Amphithrax*; el cual contiene: *Amphithrax aculeatus* (Herbst, 1790), *Amphithrax armatus* (De Saussure, 1853), *Amphithrax bellii* (Gerstaecker, 1857), *Amphithrax besnardi* (Schmidt de Melo, 1990), *Amphithrax braziliensis* (Rathbun, 1892), *Amphithrax caboverdianus* (Türkay, 1986), *Amphithrax clarionensis* (Garth, 1940), *Amphithrax hemphilli* (Rathbun, 1892), *Amphithrax leucomelas* (Desbonne, 1867), *Amphithrax tuberculatus* (Stimpson, 1860).

Windsor y Felder (2014) concluyen que *Petramithrax* es genéticamente distinto de *Mithrax*, y lo agrupan en su topología filogenética con *Hemus* y *Thoe*, aun siendo morfológicamente distinto de ambos; pues lo consideran, entonces, como un taxón único dentro de Mithracidae y con su posición aún no resuelta dentro de la familia. Los resultados arrojados en nuestro estudio ubican a *Petramithrax* separado de los demás cangrejos araña analizados, lo cual se justifica por su morfología única. Sin embargo, a pesar de que estos géneros no parecen compartir caracteres morfológicos que evidencien parentesco, pueden existir similitudes ecológicas. Windsor y Felder (2017) mencionan que a nivel morfológico existe una relación entre *Hemus* y *Thoe*, dada por la presencia de una amplia antena basal que forma el piso orbital y el desarrollo de una cerradura dactilar en los apéndices ambulatorios presentes en cangrejos Mithracidae. En nuestro caso, contrario a lo establecido por Windsor y Felder (2017) y Assugeni et al. (2017) mediante herramientas moleculares, el género *Hemus* se encuentra localizado en un clado independiente separado filogenéticamente de *Petramithrax* y *Thoe*. Por otra parte, nuestros resultados muestran que algunos géneros se resolvieron con alto soporte filogenético, como es el caso de *Petramithrax*, *Ala*, *Maguimithrax*, *Microphrys*, *Omalacantha*, *Teleophrys* y *Thoe*.

Por otro lado, el género *Ala* se ubica en cercanía filogenética con *Maguimithrax*, como potenciales grupos hermanos. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Windsor y Felder (2017) y Assugeni et al. (2017) en los cuales se describe a *Ala* y *Nonala* en posiciones

cercanas entre sí, y a su vez agrupados con *Maguimithrax* y *Nemausa* como grupos hermanos. La posición de *M. spinosissimus* separado de *Mithraculus* es igualmente concordante con los resultados obtenidos por ambos autores, en los cuales se posiciona a estas especies separadas de *Mithraculus*, contrario a lo reportado por Baeza et al. (2010), quienes se basan en un único locus genético. El género *Microphrys*, por su parte, se posiciona cercanamente de *Omalacantha*, lo cual puede deberse a la homología que han presentado estos géneros (Hollier, 2020; Windsor y Felder, 2017), y sus similitudes morfológicas (Carmona-Suárez y Poupin, 2016; Colavite et al., 2020). Además, nuestros resultados revelan diferencias en las distancias genéticas entre especies del Caribe y del Pacífico; siendo mayor entre *O. antillensis* (Caribe, Costa Rica) y *M. platysoma* (Pacífico, Costa Rica). De la misma forma, Windsor y Felder (2017) encontraron que la especie del Pacífico *Microphrys branchialis* se encuentra lejana filogenéticamente de los taxones del Atlántico. Basados en caracteres morfológicos, los mismos autores revelan diferencias menores, pero consistentes entre el clado Atlántico; comprendido en su estudio por *O. antillensis*, *O. bicornuta* y especies distribuidas en el Pacífico Oriental, lo que los lleva a postular una restricción provisional de especies del Pacífico al género *Microphrys* s.s. y remoción de especies de distribución atlántica al género *Omalacantha* (Streets, 1871).

La posición taxonómica de *Teleophrys* dentro de Mithracidae ha quedado en muchas ocasiones sin resolver. Estudios moleculares con bajo soporte de los nodos ubican este género como un grupo hermano de *Hemus* y *Thoe*, fundamentado por caracteres morfológicos y similitudes ecológicas (Windsor y Felder, 2014). Por otra parte, aspectos únicos en la morfología de *Teleophrys* distinguen al género de otros cangrejos mitracidos (Windsor y Felder, 2017), lo que es consistente con nuestros datos moleculares que ubican a *Teleophrys* distante de *Hemus* y *Thoe*, pero relacionado genéticamente a *Omalacantha* (Assugeni et al., 2017). De manera concluyente, estudios de taxonomía molecular posicionan a *Thoe* como grupo hermano de *Petramithrax*, formando ambos un clado cercanamente relacionado con *Hemus* (Assugeni et al., 2017; Windsor y Felder, 2014), lo cual difiere con nuestros hallazgos. Las similitudes morfológicas y ecológicas entre *Thoe* y *Hemus* sugieren una mayor relación y cercanía entre ambos géneros (Števcic, 1994; Windsor y Felder, 2014). La información reportada en este estudio podría ser utilizada como línea de base para futuras identificaciones taxonómicas de crustáceos decápodos mediante herramientas moleculares (i.e., código de barras molecular). Además, es la antesala de potenciales estudios de filogenética, estructura genética de poblaciones, filogeografía, genética de la conservación y ampliación de rangos de distribución de especies de cangrejos araña (Baeza et al., 2019; Mantelatto et al., 2020).

Conclusiones

Este es el primer reporte de distribución y riqueza de cangrejos mitracidos en las costas Caribe y Pacífico de Costa Rica. Estos hallazgos representan una importante contribución en cuanto a la actualización de reportes de especímenes de cangrejos de la familia Mithracidae y su localidad de observación o captura en Costa Rica. Este estudio respalda la metodología de una herramienta molecular de inferencia taxonómica (DNA

barcoding) para cangrejos araña de la familia Mithracidae en Costa Rica, basado en aproximaciones filogenéticas multigénicas bien soportadas, empleando las regiones mitocondriales (12S, 16S y COI) y nucleares (H3). Además, nuestros hallazgos confirman las relaciones filogenéticas previamente reportadas tales como las cercanías entre los clados *Ala-Maguimithrax*, *Omalacantha-Microphrys*, *Omalacantha-Teleophrys* y el clado bien soportado de las especies representativas del género *Mithraculus*. En contraste, la proximidad genética entre *Thoe-Petramithrax-Hemus* no se obtuvo en nuestros resultados. La información molecular obtenida, por primera vez, de poblaciones de cangrejos Mithracidae en Costa Rica, visualiza perspectivas a futuro en cuanto a estudios de genética de poblaciones, filogeografía, flujo génico regional y divergencia entre especies Caribe y Pacífico (reloj molecular). Mediante este reporte de distribución espacio-temporal y riqueza de poblaciones de cangrejos araña, es posible identificar localidades susceptibles a la disminución de la diversidad de especies y desequilibrio ecológico, producto de procesos como la destrucción del hábitat y la sobreexplotación de los recursos; información que resulta relevante para los entes tomadores de decisiones a nivel país en cuanto al establecimiento de zonas protegidas potencialmente aptas en la dinámica poblacional de individuos de la familia Mithracidae.

Financiamiento

Universidad Nacional, Costa Rica. PPAA SIA #0295-13.

Cuadros suplementarios

Los cuadros suplementarios están disponibles en sitio del artículo: <https://dx.doi.org/10.15359/ru.36-1.18>

Agradecimiento

Agradecemos a Óscar Ramírez-Alan (QEPD) por su aporte técnico en la elaboración de gráficos de este estudio. A Karolina Ramos y Daniela González por la colaboración en los ensayos moleculares. A Sergio Cambronero, Allan Artavia y Antonio Cambronero por el apoyo en los muestreos exploratorios de cangrejos araña en Costa Rica. Al Museo de Zoología de la Universidad de Costa Rica (UCR), por facilitar el acceso a las colecciones de crustáceos Majidos. J. Antonio Baeza agradece el soporte económico de la Universidad Nacional de Costa Rica (UNA) que permitió pasantías al Laboratorio de Análisis Genómico (LAGEN) así como el desarrollo de este manuscrito.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener algún conflicto de interés.

Declaración de la contribución de los autores

Todos los autores afirmamos que se leyó y aprobó la versión final de este artículo. El porcentaje total de contribución para la conceptualización, preparación y corrección de este

artículo fue el siguiente: C.S.B. 20 %, L.E.S.A. 15%, J.A.M. 15%, R.V.C. 15%, A.B. 15 %, R.U.C. 20%.

Declaración de disponibilidad de los datos

Los datos que apoyan los resultados de este estudio están disponibles como "archivos suplementarios" en el sitio web de Uniciencia.

Referencias

- Alvarado, J. J., & Vargas-Castillo, R. (2012). Invertebrados asociados al coral constructor de arrecifes *Pocillopora damicornis* en Playa Blanca, Bahía Culebra, Costa Rica. *Rev Biol Trop*, 60, 77-92. <https://doi.org/10.15517/RBT.V60I2.19965>
- Alves, D. F., Barros-Alves, S.D., Cobo, V. J., Lima, D. J., & Fransozo, A. (2012). Checklist of the brachyuran crabs (Crustacea: Decapoda) in the rocky subtidal of Vitória Archipelago, southeast coast of Brazil. *Check List*, 8(5), 940-950. <https://doi.org/10.15560/8.5.940>
- Assugeni, C. O., Magalhães, T., Bolaños, J. A., Tudge, C. C., Mantelatto, F. L., & Zara, F. J. (2017). Ultrastructure of spermatozoa of spider crabs, family Mithracidae (Crustacea, Decapoda, Brachyura): Integrative analyses based on morphological and molecular data. *J. Morphol*, 278(12), 1628-1646. <https://doi.org/10.1002/jmor.20737>
- Baeza, J. A., Holstein, D., Umaña-Castro, R., & Mejía-Ortíz, L. M. (2019). Population genetics and biophysical modeling inform metapopulation connectivity of the Caribbean king crab *Maguimithrax spinosissimus*. *Mar Ecol Prog Ser*, 610, 83-97. <https://doi.org/10.3354/meps12842>
- Baeza, J. A., Bolaños, J. A., Fuentes, S., Hernandez, J. E., Lira, C., & López, R. (2010). Molecular phylogeny of enigmatic Caribbean spider crabs from the Mithrax-Mithraculus species complex (Brachyura: Majidae: Mithracinae): ecological diversity and a formal test of genera monophyly. *J Mar Biol Assoc UK*, 90(4), 851-858. <https://doi.org/10.1017/S0025315409991044>
- Bell, T. (1836). Some account of the Crustacea of the coasts of South America, with descriptions of new genera and species; founded principally on the collections obtained by Mr Cuming and Mr Miller. *The Transactions of the Zoological Society of London*, 2, 1-86. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1839.tb00007.x>
- Bucklin, A., Steinke, D., & Blanco-Bercial, L. (2011). DNA barcoding of marine metazoa. *Ann Rev Mar Sci*, 3, 471-508. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120308-080950>
- Bucklin, A., Lindeque, P., Rodríguez-Ezpeleta, N., Albaina, A., & Lehtiniemi, M. (2016). Metabarcoding of marine zooplankton: prospects, progress, and pitfalls. *J Plankton Res*, (38), 393-400. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbw023>
- Carmona-Suárez, C., & Poupin, J. (2016). Majoidea crabs from Guadeloupe Island, with a documented list of species for the Lesser Antilles (Crustacea, Decapoda, Brachyura, Majoidea). *Zoosystema*, 38(3), 353-387. <https://doi.org/10.5252/z2016n3a5>

- Castresana, J. (2000). Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Mol. Biol. Evol*, 17(4), 540-552. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026334>
- Colavite, J., Windsor, A. M., & Santana, W. (2020). A new genus for *Pericera septemspinosa* Stimpson, 1871 and *Pericera heptacantha* Bell, 1836 (Crustacea, Brachyura, Majoidea), based on morphology and molecular data. *Zoosyst Evol*, 96(1), 205-216. <https://doi.org/10.3897/zse.96.50360>
- Colgan, D., McLauchlan, A., Wilson, G. D., Livingston, S., Edgecombe, G. D., Macaranas, J., Cassis, G., & Gray, M. R. (1998). Histone H3 and U2 snRNA DNA sequences and arthropod molecular evolution. *Aust. J. Zool.*, 46(5), 419-437. <https://doi.org/10.1071/ZO98048>
- Cruz, C. N., & Campos, N.H. (2003). Los cangrejos Araña (Decapoda: Bracyura: Majoidea) del Caribe colombiano. *Biota Colomb*, 4(2), 261-269. <http://revistas.humboldt.org.co/index.php/biota/article/view/136>
- De Grave, S., Pentcheff, N. D., Ahyong, S. T., Chan, T. Y., Crandall, K. A., Dworschka, P. C., Felder, D. L., Feldmann, R. M., Fransen, C. H. J. M., Goulding, L. Y. D., Lemaitre, R., Low, M. E. Y., Martin, J. W., Ng, P. K. L., Schweitzer, C. E., Tan, S. H., Tshudy, D., & Wetzer, R. (2009). A classification of living and fossil genera of decapod crustaceans. *Raffles Bull. Zool*, 21, 1-109.
- De Saussure, H. (1853). Description de quelques crustacés nouveaux de la côte occidentale du Mexique. *Revue et Magasin de Zoologie pure et appliquée*, 2(5), 354-368.
- Desbonne, I., & Schramm, A. (1867). *Brachyures*. In 'Crustacés de la Guadeloupe d'après un Manuscrit du Docteur Isis Desbonne comparé avec les Échantillons de Crustacés de sa Collection et les Dernières Publications de M.M. Henri de Saussure et William Stimpson. Première partie. Nabu Press. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.10402>
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol Mar Biol Biotechnol*, 3(5), 294-299.
- García, Y. L. D., & Capote, A.J. (2015). List of marine crabs (Decapoda: Anomura and Brachyura) of shallow littoral of Santiago de Cuba, Cuba. *Check List*, 11(2), 1-22. <https://doi.org/10.15560/11.2.1601>
- Garth, J. S. (1940). Some new species of brachyuran crabs from Mexico and the Central and South American mainland. *Allan Hancock Pacific Expeditions*, 5, 53-127.
- Geiger, M., Moriniere, J., Hausmann, A., Haszprunar, G., Wägele, W., Hebert, P., & Rulik, B. (2016). Testing the Global Malaise Trap Program How well does the current barcode reference library identify flying insects in Germany? *Biodivers Data J*, 4, e10671. <https://doi.org/10.3897/bdj.4.e10671>
- Gerstaecker, A. (1857). Carcinologisches Beiträge. *Archiv für Naturgeschichte*, 22, 101-162.
- González-Gómez, R., Briones-Fourzán, P., Álvarez-Filip, L., & Lozano-Álvarez, E. (2018). Diversity and abundance of conspicuous macrocrustaceans on coral reefs differing in level of degradation. *PeerJ*, 6, e4922. <https://doi.org/10.7717/peerj.4922>
- Gutiérrez-Salcedo, J. M., Aguilar-Pérez, M. I., Bermúdez, A., Campos, N. H., & Navas-S, G. R. (2007). Invertebrate macrofaunal structure present in nests of *Malacanthus*

- plumieri* (Bloch, 1786) (Perciformes: Malacanthidae) in Nenguange Bay, Tayrona Natural Park, Colombian Caribbean sea. *Caldasia*, 29(2), 309-328.
- Herbst, J. F. W. (1782-1804). *Versuch einer Naturgeschichte der Krabben und Krebse nebst einer systematischen Beschreibung ihren verschiedenen Arten*. Berlin und Stralsund. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.64679>
- Hollier, J. (2020). The Decapoda (Crustacea) described by Henri de Saussure. *Rev Suisse Zool*, 125(2), 291-298. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1414227>
- Hultgren, K. M., Guerao, G., Marques, F. P. L., & Palero, F. P. (2009). *Assesing the contribution of molecular and larval morphological characters in a combined phylogenetic analysis of the superfamily Majoidea*. 437-455. In Martin, J. W.; Crandall, K. A.; & Felder, D. L. (Eds.), *Decapod Crustacean Phylogenetics*. CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Hultgren, K. M., & Stachowicz, J. J. (2008). Molecular phylogeny of the brachyuran crab superfamily Majoidea indicates close congruence with larval morphology-based trees. *Mol Phylogenet Evol*, 48(3), 986-996. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.05.004>
- Kalyaanamoorthy, S., Minh, B. Q., Wong, T. K., von Haeseler, A., & Jermin, L. S. (2017). ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nat. Methods*, 14, 587-589. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4285>
- Katoh, K., & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol. Biol. Evol*, 30(4), 772-780. <http://dx.doi.org/10.1093/molbev/mst010>
- Klompaker, A. A., Portell, R. W., Klier, A. T., Prueter, V., & Tucker, A. L. (2015). Spider crabs of the Western Atlantic with special reference to fossil and some modern Mithracidae. *Peer J*, 3, e1301. <https://doi.org/10.7717/peerj.1301>
- Lamarck, J. B. P. A. (1818). *Histoire naturelle des animaux sans vertèbres, présentant les caractères généraux et particuliers de ces animaux, leur distribution, leurs classes, leurs familles, leurs genres et la citation des principales espèces qui s'y rapportent; précédé d'une introduction offrant la détermination des caractères essentiels de l'animal, sa distinction du végétal et des autres corps naturels, enfin l'exposition des principes fondamentaux de la zoologie*. Verdière. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.63986>
- Mantelatto, F. L., Tamburus, A. F., Magalhães, T., Buranelli, R.C., Terossi, M., Negri, M., Castilho, A. L., Costa, R. C., & Zara, F. J. (2020). Checklist of decapod crustaceans from the coast of the São Paulo state (Brazil) supported by integrative molecular and morphological data: III. Infraorder Brachyura Latreille, 1802. *Zootaxa*, 4872(1), 1-108.
- Martin, J. W., and Davis, G. E. (2006). Historical trends in crustacean systematics. *Crustaceana.*, 79, 1347-1368. <https://doi.org/10.1163/156854006779277321>
- Milne-Edwards, A. (1875). *Études sur les Xiphosures et les Crustacés podophtalmaires. In 'Mission scientifique au Mexique et dans l'Amérique centrale. Recherches Zoologiques a l'histoire de la faune de l'Amérique Centrale et du Mexique*. Imprimerie Nationale. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.119116>

- Minh, B. Q., Nguyen, M. A. T., & von Haeseler, A. (2013). Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap. *Mol Biol Evol*, 30(5), 1188-1195. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst024>
- Mokady, O., Rozenblatt, S., Graur, D., & Loya, Y. (1994). Coral-host specificity of Red Sea Lithophaga bivalves: interspecific and intraspecific variation in 12S mitochondrial ribosomal RNA. *Mol Mar Biol Biotechnol*, 3(3), 158-164. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7522832/>
- Moran, D. A., & Dittel, A. I. (1993). Anomuran and Brachyuran crabs of Costa Rica: annotated list of species. *Rev Biol Trop*, 41(3), 599-617. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/23978>
- Moscoso, V. (2012). Catálogo de crustáceos decápodos y estomatópodos del Perú. *Bol Inst Mar Perú*, 27(1-2), 8-207. <http://biblioimarpe.imarpe.gob.pe/handle/123456789/2190>
- Ng, P. K., Guinot, D., & Davie, P. J. (2008). Systema Brachyurorum: Part I. An annotated checklist of extant brachyuran crabs of the world. *Raffles Bull Zool*, 17, 1-286.
- Ng, P. K., Ho, P. H., Lin, C. W., & Yang, C. H. (2018). The first record of an eastern Pacific invasive crab in Taiwanese waters: *Amphithrax armatus* (Saussure, 1853) (Brachyura: Majoidea: Mithracidae), with notes on the taxonomy of the genus. *J Crustac Biol*, 38(2), 198-205. <https://doi.org/10.1093/jcbiol/rux109>
- Nguyen, L. T., Schmidt, H. A., von Haeseler, A., & Minh, B.Q. (2015). IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies. *Mol Biol Evol*, 32(1), 268-274. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
- R Core Team. (2017). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Rambaut, A. (2010). *FigTree v1.4*. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Rathbun, M. J. (1892). Catalogue of the crabs of the family Periceridae in the U.S. National Museum. *Proceedings of the United States National Museum*, 15(901), 231-277. <https://doi.org/10.5479/si.00963801.16-927.63>
- Rathbun, M. J. (1920). New species of spider crabs from the Straits of Florida and Caribbean Sea. *Proc Biol Soc Wash*, 33, 23-24.
- Rhyne, A. L., Fujita, Y., & Calado, R. (2004). Larval development and 1st crab of *Mithraculus sculptus* (Decapoda: Brachyura: Majoidea: Mithracidae) described from laboratory-reared material. *J Mar Biol Assoc UK*, 86, 1133-1147. <https://doi.org/10.1017/S0025315406014111>
- Schmidt de Melo, G. A. (1990). Descrição de *Mithrax* (*Mithrax*) *besnardi*, sp.n., espécie abissalbentica de águas meridionais da América do Sul (Custacea, Brachyura, Majidae). *Atlântica, Rio Grande*, 12(1), 19-26.
- Števcic, Z. (1994). Contribution to the re-classification of the family Majidae. *Period Biol*, 96, 419-420.
- Stimpson, W. (1860). Notes on North American Crustacea, in the Museum of the Smithsonian Institution. *Ann N Y Acad Sci*, 7(1), 177-246.

- Stimpson, W. (1871). Preliminary report on the Crustacea dredged in the Gulf Stream in the Straits of Florida by L. F. de Pourtalés, Assist. United States Coast Survey. Part I. Brachyura. *Bull Mus Comp Zool*, 2(2), 109-160.
- Streets, T. H. (1871). Catalogue of Crustacea from the Isthmus of Panamá. Collected by J. A. McNeil. *Proc Acad Nat Sci Phila*, 23, 238-243.
- Toon, A., Finley, M., Staples, J., & Crandall, K. A. (2009). Decapod phylogenetics and molecular evolution. 17-35. In Martin, J. W.; Crandall, K.A.; & Felder, D. L. (Eds.), *Decapod crustacean phylogenetics. Crustacean Issues*. CRC Press.
- Trifinopoulos, J., Nguyen, L. T., von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2016). W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic Acids Res*, 44(1), 232-235. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw256>
- Türkay, M. (1986). *Mithrax caboverdianus* n.sp., eine neue Seespinnen-Art von den Kapverdischen Inseln (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Majidae). *Cour. Forsch Inst. Senckenberg*, 81,7-11.
- Vaidya, G., Lohman, D. J., & Meier, R. (2011). Sequence Matrix: concatenation software for the fast assembly of multi - gene datasets with character set and codon information. *Cladistics*, 27(2), 171-180. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2010.00329.x>
- Vargas, C. R. (2012). Nuevas adiciones a la fauna de crustáceos decápodos de Bahía Culebra, Guanacaste, Costa Rica. *Rev Biol Trop*, 60(2), 73-76. <https://doi.org/10.15517/RBT.V60I2.19963>
- Vargas-Castillo, R., & Vargas-Zamora, J. A. (2020). Crustaceans (Decapoda & Stomatopoda) from Golfo Dulce (Pacific, Costa Rica) in the collection of the Museum of Zoology, University of Costa Rica. *Cuad Inv UNED*, 12(1), 229-244. <https://doi.org/10.22458/urj.v12i1.2736>
- Wagner, H. P. (1990). The genera *Mithrax* Latreille, 1818 and *Mithraculus* White, 1847 (Crustacea: Brachyura: Majidae) in the western Atlantic Ocean. *Zool Verh*, 264(1), 1-65.
- Wehrtmann, I. S., & Cortés, J. (2009). *Marine Biodiversity of Costa Rica, Central America*. Monographiae Biologicae. Springer.
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3319-24277-4. <https://ggplot2.tidyverse.org>.
- Windsor, A. M., & Felder, D. L. (2014). Molecular phylogenetics and taxonomic reanalysis of the family Mithracidae MacLey (Decapoda: Brachyura: Majoidea). *Invertebr Syst*, 28(2), 145-173. <https://doi.org/10.1071/IS13011>
- Windsor, A. M., & Felder, D. L. (2009). Re-evaluation of species allied to *Mithrax hispidus* (Decapoda: Brachyura: Majoidea: Mithracidae) based on three mitochondrial genes. *Zootaxa*, 2302(1), 61-68. <https://doi.org/10.11646/ZOOTAXA.2302.1.5>
- Windsor, A. M., & Felder, D.L. (2017). Corrigendum to: Molecular phylogenetics and taxonomic reanalysis of the family Mithracidae MacLey (Decapoda: Brachyura: Majoidea). *Invertebr Syst*, 31(2), 232-232. https://doi.org/10.1071/IS13011_CO
- WORMS. (2020). World Register of Marine Species. <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=439056> 03/11/2020. <https://doi.org/10.14284/170>



[Uniciencia](#) is protected by [Attribution-NonCommercial-NoDerivs](#)