

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS CARRERA BIOLOGÍA MARINA



 \star \star \star \star

"Identificación y caracteriz<mark>ación de un c</mark>angrejo araña (Decapoda, Majoidea) en la costa de la región del Biobío mediante análisis de rasgos morfológicos y DNA Barcoding"

Diego Alonso Mira San Martín

Prof. Guía(s): Dr. Antonio Brante Dr. Erasmo Macaya Horta

Seminario de Título presentado al DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFÍA DE LA UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN

> Para optar al Título de BIÓLOGO MARINO

Concepción - Chile 2023

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFÍA

Este Seminario de Título ha sido realizado en el Departamento de Oceanografía de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas y en la Facultad de Ciencias de la Universidad Católica de la Santísima Concepción.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos totales por el apoyo fundamental de toda mi existencia a mi familia, en especial a mi padre Eduardo, mi madre Bereto y Cristóbal mi hermano, su esfuerzo, confianza, cariño que siempre me han entregado y por sobre todo amor incondicional, que de no ser por ello no habría llegado a ninguna parte de este mundo.

A Dr. Antonio Brante como profesor guía por su disposición abierta a permitirme trabajar en el Laboratorio de Ecología Marina de la UCSC y sobre todo a Dr. (c) Francisco Silva por todo el conocimiento necesario para el desarrollo de este trabajo, quien apoyó durante gran parte del proceso experimental en estos últimos años.

Al profesor Dr. Erasmo Macaya Horta por su apoyo, confianza incondicional en mi desarrollo universitario y proceso colaborativo entre electivos, cursos, ayudantías y editor de trabajos, agradecido infinitamente por todo el conocimiento entregado. También a María de los Ángeles Gallardo quien ha coordinado y colaborado con la realización del presente trabajo.

A mis compañeros de carrera, Sebastián, Camila, Constanza, Ángela y Moiko quienes me han apoyado y colaborado con sus mejores deseos en este proceso. Por último, a mis amigos de La Raza que han estado SIEMPRE sin esperar nada a cambio, escuchando y apoyando indudablemente.

INDICE DE CONTENIDOS

| INDICE DE FIGURAS |
|---|
| ÍNDICE DE TABLAS7 |
| RESUMEN |
| ABSTRACT |
| INTRODUCCIÓN12 |
| METODOLOGÍA17 |
| Recolección de muestras17 |
| Análisis morfológico17 |
| Análisis genético |
| Extracción de ADN |
| Cuantificación de ADN |
| Pre-PCR y Reacción en cadena de polimerasa (PCR)19 |
| Secuenciación y Alineamiento |
| Análisis de secuencias de ejemplares de la Familia Epialtidae22 |
| Construcción del árbol filogenético22 |
| RESULTADOS |
| Análisis morfológico23 |
| Basados en los ejemplares capturados en Caleta Chome23 |
| Descripción cangrejos araña capturados en Caleta Chome23 |
| Descripciones ejemplares adultos de Taliepus dentatus |
| Análisis genético |
| Arboles filogenéticos |
| DISCUSIÓN |
| CONCLUSIONES |
| APÉNDICE DE FIGURAS y TABLAS |
| REFERENCIAS |

INDICE DE FIGURAS

| Fig. 1. Optimización del protocolo en un gel de agarosa (2%) indican los productos de PCR |
|---|
| del locus nuclear 16S y COI con los ejemplares de Caleta Chome (2019)20 |
| Fig. 2. Primer gel de agarosa (2%) indica productos de PCR del locus nuclear COI y 16S con |
| los ejemplares de Caleta Chome (2023)21 |
| Fig. 3. Segundo gel de agarosa (2%) indica productos de PCR del locus nuclear COI y 16S |
| con los ejemplares de Caleta Chome (2023) |
| Fig. 4. Vista dorsal de diferentes ejemplares de cangrejo araña capturados en Caleta Chome. |
| |
| Fig. 5. Esquema y terminología de las regiones dorsales y ventrales del caparazón y |
| extremidades de un cangrejo araña Epialtidae recolectado de Caleta Chome21 |
| Fig. 6. Ambas articulaciones basales de las antenas en vista ventral de los cangrejos araña |
| (CAIND13) y (CAIND9) |
| Fig. 7. Presencia de setas cortas a vista ventral en el segmento de los pereiópodos de los |
| cangrejos araña (CAIND13) y (CAIND9) |
| Fig. 8. Superficie dorsal del Mero de los cangrejos araña (CAIND11) y (CAIND13)37 |
| Fig. 9. Lóbulos de la superficie dorsal del Carpo de los cangrejos araña (CAIND9) y |
| (CAIND13) |
| Fig. 10. Centro de la zona ventral del propodio, mechones de setas cortos, elevados y finos |
| de los cangrejos araña (CAIND9) y (CAIND13) |
| Fig. 11. Dáctilo de los pereiópodos del cangrejo araña (CAIND8) LC: 27mm |
| Fig. 12. Ischio, conectado con el Mero y algunos lóbulos setiferos del cangrejo araña |
| (CAIND10) LC: 12mm |
| Fig. 13. Carpo conectado al Própodo y Dáctilo del cangrejo araña (CAIND10)40 |
| Fig. 14. Vista ventral del abdomen y los esternitos torácicos y segmentos abdominales del |
| cangrejo araña (CAIND5) LC: 6,8mm |

ÍNDICE DE TABLAS

| Tabla 1. Ejemplo de Protocolo PCR para genes COI y 16S, concentración de MgCl ₂ |
|--|
| modificada a partir del resultado de electroforesis con distintas concentraciones 1.3 y 2.0 |
| mM19 |
| Tabla 2. Distribución geográfica de los cangrejos araña en Chile considerados en el presente |
| estudio46 |
| Tabla 3. Caracteres diagnósticos de la familia Epialtidae |
| Tabla 4. Secuencias de distintas especies utilizadas en el presente estudio |
| Tabla. 5. Tamaño, sexo y etapa de desarrollo de los ejemplares analizados y obtenidos |
| en Caleta Chome y Caleta Lenga |
| Tabla 6. Comparación de caracteres diagnósticos de las especies de cangrejo araña |
| consideradas en el presente estudio51 |

RESUMEN

Los cangrejos verdaderos o "true crabs", pertenecientes a la Superfamilia Majoidea Samouelle, 1819, incluyen a los cangrejos araña que se encuentran ampliamente distribuidos en mares de todo el mundo. Estos cangrejos se caracterizan por su comportamiento decorativo, utilizando sus apéndices y boca para adornar su exoesqueleto ypereiópodos con elementos del entorno para camuflarse y para evitar depredadores. Algunos autores sugieren una revisión completa de la familia debido a confusiones taxonómicas, provocadas por variaciones morfológicos, especialmente en la presencia o ausencia de mechones de setas y tubérculos en el caparazón, influenciadas por el alga que habitan. Dentro de la Familia Epialtidae MacLeay, 1838, que forma parte de la Superfamilia Majoidea, se encuentran especies como Acanthonyx petiverii H. Milne Edwards, 1834 y Taliepus dentatus H. Milne Edwards, 1834, presentes en las costas del Pacifico, incluyendo Chile. A. petiverii ha sido registrado desde Baja California hasta Valparaíso, con variaciones morfológicas según el hábitat y las algas presentes. Estos cangrejos presentan una relación directa entre su comportamiento decorativo y el tipo de alga que habitan, alterando su coloración durante la muda para camuflarse. Por otro lado, *T. dentatus* se asocia con algas rojas en estados juveniles y prefiere algas pardas para la reproducción en su etapa adulta, mostrando diferencias morfológicas según su desarrollo.Se reporta la aparición de cangrejos arañas con patrones de mosaico, colores rojizos y cafés, camuflados entre algas Corallina sp. Además, se observan varias similitudes morfológicas con descripciones previas de la especie A. petiverii, como la disposición de setas en distintas regiones del caparazón y características específicas en sus dáctilos y propodio. La hipótesis principal de este estudio es que los cangrejos araña encontrados en Caleta Chome pertenecen a A. petiverii basándose en sus características morfológicassimilares a esta especie y su asociación al alga Corallina sp. Se identificaron los ejemplares de cangrejo araña a través de análisis genéticos y morfológicos. Se extrajo el ADN de los especímenes y se amplificaron los genes COI y 16S para su análisis. Las secuencias obtenidas se compararon con datos disponibles en GenBank para A. petiverii, T. dentatus y otros individuos de la familia Epialtidae mediante arboles filogenéticos utilizando el método de máxima verosimilitud. Los resultados genéticos cuestionan la identificación precisa de los especímenes como A. petiverii, refutando la hipótesis inicial y diferenciando morfológicamente a los cangrejos araña de Caleta Chome como reclutas de T. dentatus en lugar de A. petiverii. Los resultados además refuerzan la importancia de ampliar las bases de

datos moleculares para una mejor identificación de las especies relacionadas con el género *Taliepus* en Chile.

ABSTRACT

True crabs, belonging to the Superfamily Majoidea Samouelle, 1819, include spider crabs that are widely distributed in seas around the world. These crabs are characterized by their decorative behavior, using their appendages and mouth to decorate their exoskeleton and pereiopods with elements of the environment to camouflage themselves and to avoid predators. Some authors suggest a complete revision of the family due to taxonomic confusion, caused by morphological variations, especially in the presence or absence of tufts of mushrooms and tubercles on the shell, influenced by the algae they inhabit. Within the Family Epialtidae MacLeay, 1838, which is part of the Superfamily Majoidea, there are species such as Acanthonyx petiverii H. Milne Edwards, 1834 and Taliepus dentatus H. Milne Edwards, 1834, present on the Pacific coasts, including Chile. A. petiverii has been recorded from Baja California to Valparaíso, with morphological variations depending on the habitat and the algae present. These crabs have a direct relationship between their decorative behavior and the type of algae they inhabit, altering their coloration during molting to camouflage themselves. On the other hand, T. dentatus associates with red algae in juvenile stages and prefers brown algae for reproduction in its adult stage, showing morphological differences depending on its development. The appearance of spider crabs with mosaic patterns, reddish and brown colors, camouflaged among Corallina sp. algae is reported. In addition, several morphological similarities are observed with previous descriptions of the species A. petiverii, such as the arrangement of setae in different regions of the shell and specific characteristics in its dactyls and propodium. The main hypothesis of this study is that the spider crabs found in Caleta Chome belong to A. petiverii based on their morphological characteristics similar to this species and their association with thealgae Corallina sp. The study focuses on identifying spider crab specimens through genetic and morphological analysis. DNA was extracted from the specimens and the COI and 16S genes were amplified for analysis. The sequences obtained were compared with data available in GenBank for A. petiverii, T. dentatus and other individuals of the Epialtidae family through phylogenetic trees using the maximum likelihood method. The genetic results question the precise identification of the specimens as A. petiverii, refuting the initial hypothesis and morphologically differentiating the Caleta Chome spider crabs as recruits of T. dentatus rather than A. petiverii. The results also highlight the importance of expanding molecular databases for a better identification of species related to the genus Taliepus in Chile.

INTRODUCCIÓN

Los cangrejos verdaderos o "true crabs" del orden Brachyura (Crustacea:Decapoda) incluyen a la Superfamilia Majoidea Samouelle, 1819, que incluye comúnmente a los llamados cangrejos araña. Se pueden encontrar entre algas y plantas sumergidas en todos los mares del mundo y se encuentran ampliamente distribuidos. En el Pacífico y Atlántico hay registro de 250; especies de éstas, 124 están presentes en el Atlántico y 115 en el Pacífico (Boschi, 2000). Estos cangrejos son conocidos por presentar un comportamiento decorativo, por lo que también se les conoce como "cangrejos decoradores". Utilizando las quelas y sus aparatos bucales colocan trozos de organismos marinos, algas, granos de arena en sus setas ganchudas del exoesqueleto parar decorar a sí mismos la superficie del caparazón y sus patas, estos elementos les permite camuflarse en el ambiente con el fin de evitar depredadores. El mimetismo no siempre involucra la decoración, existen otras especies de Brachyura que durante el estado juvenil la coloración de su cefalotórax se camufla con el ambiente (Mastro, 1981; Wicksten, 1979, 1993).

Por otro lado, a diferencia de la mayoría de los cangrejos, los cangrejos araña presentan adaptaciones fisiológicas que les permiten detener el proceso de muda después de alcanzar la madurez sexual. Esto significa que llegan a la madurez sin haber completado su crecimiento por completo, conservando características juveniles como su tamaño. A medida que envejecen, la ornamentación en su exoesqueleto se vuelve menos afilada o casi lisa en comparación con juveniles del mismo tamaño (Wagner, 1990). Debido a este fenómeno, es posible encontrar individuos con diferentes grados de tubérculos o setas en su exoesqueleto dentro de la misma población.

Además, dependiendo del momento en que ocurran estos cambios hormonales en los individuos, el tamaño de sus cuerpos puede variar considerablemente entre los adultos y en cada una de las especies de esta superfamilia. Por lo tanto, puede resultar confuso intentar diferenciar o describir las especies (Castaño & Campos, 2003; Wagner, 1990). De acuerdo con Ng et al. (2008) los Majoidea incluyen siete familias, entre ellas la familia Epialtidae MacLeay, 1838 con 78 géneros, entre los cuales destacan algunas características diagnósticas para este grupo (Tabla 3) con *Acanthonyx* Latreille, 1828, género que está

ampliamente distribuido en el Atlántico, Pacífico e Índico, el Mediterráneo y Mar Rojo (Emparanza et al., 2007; Griffin, 1986; Rathbun, 1925).

Dentro de este género, se conocen 17 especies, la mayoría distribuidas en el Atlántico e Índico. Para el Océano Pacífico se conocen solo dos especies: Acanthonyx petiverii H. Milne Edwards, 1834 y Acanthonyx formosa Wu, Yu & Ng, 1999. Esta segunda especie solo se ha descrito en Taiwán (Griffin, 1986; Manning & Holthuis, 1981; Yu et al., 1999), mientras que A. petiverii se ha registrado ampliamente en las costas del Pacífico desde Baja California, México hasta Valparaíso, Chile, incluyendo Isla Revillagigedo y las Islas Galápagos. En las costas Atlánticas se ha registrado desde Miami, Florida, hasta Rio de Janeiro, Brasil, desde los 0 a 100m de profundidad (Garth, 1957; Hendrickx, 1992; Retamal, 1981; Wilson, 1987). A pesar de que se encuentra en ambos lados del continente americano, no se han identificado caracteres evidentes que permitan diferenciar las poblaciones del Pacifico y del Atlántico. Por lo tanto, por el momento, se consideran conespecíficas, siendo su localidad tipo las Antillas, en el mar Caribe. Griffin & Tranter (1986) sugirieron una revisión completa del género Acanthonyx debido a varios problemas taxonómicos relacionados con la utilización de caracteres morfológicos, como el número de segmentos en la zona abdominal y las fusiones suturales entre los segmentos de dicha zona. Además, se observan notables variaciones en la presencia o ausencia de mechones de setas y tubérculos en el caparazón, dependiendo principalmente del tipo de algas que habitan los cangrejos. En el caso de A. petiverii, su comportamiento de camuflaje parece estar influenciado por el tono de su exoesqueleto y las algas circundantes en su hábitat y no por su comportamiento decorativo. Estos cangrejos adquieren gradualmente los pigmentos del alga como la ficoeritrina de las algas rojas proveniente de su fuente de alimentación, reportándose asociados a Corallina officinalis var. chilensis (Decaisne) Kützing, 1858 y caracterizándose por la presencia de dos tubérculos en la región protogástrica, y un patrón de mosaico en el caparazón, pereiópodos y quelípedos. Por ejemplo, los cangrejos rojos tienen la capacidad de ajustar su coloración desde un rojo intenso hasta un tono casi rosado a través de la muda, que coincide con la combinación del fondo sin llevar trozos de algas en su exoesqueleto. Es probable que los mismos procesos y mecanismos fisiológicos estén involucrados en este cambio de color, permitiéndoles adaptarse al color del entorno en el que se encuentran (Emparanza et al., 2007; Wilson, 1987). Otro género común de cangrejo araña que habita en las costas chilenas

submareales poco profundas corresponde a Taliepus A. Milne – Edwards, 1878. Se ha descrito dos especies de este género, la más abundante corresponde a T. dentatus H. Milne Edwards, 1834 que se distribuye desde Callao, Perú hasta Puerto Bueno, Patagonia Chilena (51° S) y Taliepus marginatus Bell, 1836 cuya distribución es más septentrional, entre Bahía Independencia, Perú y Talcahuano (36°41' S) y poco se conoce de ella (Fagetti & Campodonico, 1971; Retamal & Moyano, 2010). Los juveniles de Taliepus dentatus prefieren asociarse en algas como Asterfilopsis disciplinalis (Bory) M.S. Calderon & S.M.Boo, 2016 en verano cuando hay reclutamiento de estos en la zona mareal, otorgando una protección yalimento en el alga. También, se han encontrado asociados al alga parda Dictyota kunthii (C. Agardh) Greville, 1830, la cual presenta componentes químicos secundarios, que podrían estar presentes en pequeños T. dentatus (Aracena, 1974; Palma et al., 2011). Raro es o ausente que los individuos pequeños se encuentren en Lessonia trabeculata Villouta & Santelices, 1986 y Macrocystis pyrifera (Linnaeus) C. Agardh, 1820, ya que generalmente se encuentran los adultos reproductivos en estos bosques de algas pardas submareales (Pardo et al., 2007) de ahí el nombre a esos individuos como "Chilean kelp crabs". Además, este comportamiento decorativo también ocurre con los individuos juveniles de *Pugettia producta* Randall, 1840 conocido como "Northern kelp crab" al igual que Taliepus nutallii Randall, 1840 o "Southern kelp crab", consumiendo diferentes algas a lo largo de la costa oeste de los Estados Unidos. Los organismos cambian de color a medida que crecen y se trasladan a diferentes hábitats, sufriendo un cambio ontogénico hospedando desde algas rojas a algas pardas (Hines, 1982; Hultgren & Stachowicz, 2008a, 2010; Leighton, 1966).

Considerando la estrecha relación entre las especies mencionadas, pertenecientes a la Familia Epialtidae, la cual se caracteriza por desafíos taxonómicos vinculados a la utilización de caracteres morfológicos, este estudio describe a especímenes capturados en Caleta Chome, Región del Biobío (36.77°S) combinado con filogenias basadas en datos moleculares de otras especies de esta misma familia. Tras la captura y una identificación preliminar, se sugiere que los cangrejos analizados podrían corresponder a la especie *A. petiverii* debido a su similitud morfológica.

Este planteamiento conlleva a preguntas cruciales sobre la autenticidad de esta asignación taxonómica. Para abordar estas interrogantes, se evaluaron los caracteres morfológicos

propios de la familia Epialtidae, así como la descripciones y distribuciones de las especies, incluyendo a *A. petiverii* y *T. dentatus* en sus fases juveniles y adultas, sirviendo como base comparativa para los análisis. Los cangrejos fueron encontrados asociados a algas del género *Corallina* Linnaeus, 1758, exhibiendo patrones de mosaico de color rojo y tonos cafés sin patrones, lisos, que imitan el color del alga, corroborando descripciones previas de la especie por diversos autores. Además, se observan similitudes en la disposición de las setas en el exoesqueleto del caparazón, tanto en regiones gástricas, cardiacas, hepáticas y branquiales, así como en la forma de sus dáctilos de los pereiópodos, que se asemejan a ganchos con hileras de setas en la zona ventral y otras setas elevadas en la zona ventral del propodio.

Dado que *A. petiverii* ha sido descrita en la zona norte del país, su presencia más al sur podría indicar una posible extensión de su distribución geográfica, ofreciendo valiosa información adicional sobre su ecología y sus adaptaciones específicas a estos hábitats. Para consolidar estas observaciones y reforzar la validez de la identificación, se empleó la técnica molecular de DNA Barcoding, utilizando los marcadores mitocondriales COI y 16S, mediante la comparación de datos genéticos con secuencias disponibles en GenBank y estudios previos que respaldan la relación filogenética entre estas especies (Hultgren & Stachowicz, 2008; Tamburus & Mantelatto, 2016).

Con estas observaciones y obstáculos, es pertinente cuestionar y dudar de la identificación preliminar que se atribuyó a los cangrejos se deba únicamente a su disposición de los caracteres morfológicos de la especie *A. petiverii*, permitiendo identificar de manera única y definitiva los especímenes analizados mediante datos moleculares, respaldando así la relación filogenética entre las especies de la Familia Epialtidae.

HIPÓTESIS

Los cangrejos araña de la Familia Epialtidae presentan procesos y mecanismos fisiológicas especiales y una alta variabilidad morfológica frente a la mayoría de los cangrejos resultando confuso diferenciar o describir las especies. Adaptando comportamientos de camuflaje seleccionado su hábitat en función del color del alga adyacente y otorgándoles alimento y protección contra depredadores. Se detectaron que los cangrejos araña capturados en Caleta Chome registraban caracteres morfológicos similares a la especie *Acanthonyx petiverii*, como la distribución de sus setas, patrones de colores asociados al alga en que se capturaron.

A partir de esto, se plantea la hipótesis de que los cangrejos araña encontrados en pozones del intermareal rocosos asociados a algas pertenecen a la especie *Acanthonyx petiverii*, descrito para las costas del norte de Chile solo hasta Valparaíso.

Objetivo general

Identificar ejemplares del cangrejo araña de la Familia Epialtidae capturados en Caleta Chome en la región del Biobío mediante análisis genéticos y morfológicos.

Objetivos específicos

- 1. Caracterizar la morfología de los cangrejos araña encontrados en algas rojas.
- Realizar análisis genéticos (ej. ADN barcoding) y comparación taxonómica para identificar con precisión los ejemplares comparándolos con otras especies de cangrejos araña de la Familia Epialtidae, incluyendo ejemplares adultos de *Taliepus dentatus*.

METODOLOGÍA

Recolección de muestras

Los especímenes del cangrejo decápodo Epialtidae fueron colectados a mano durante la marea baja en el intermareal rocoso en Caleta Chome (36.77°S, 73.21°W) Península de Hualpén, Chile, durante los meses de octubre del año 2019 y entre julio – septiembre de 2023. Los primeros 7 cangrejos recolectados el año 2019 fueron depositados en un congelador en el laboratorio AlgaLab, Universidad de Concepción, (UDEC) Concepción, mientras que el año 2023 fueron colectados 7 individuos en la misma localidad (Caleta Chome) los cuales fueron congelados para ser analizados, rotulados y fotografiados en el laboratorio de Ecología Molecular de la Universidad Católica de la Santísima Concepción (UCSC), en Concepción. Además, todos estos ejemplares se preservaron en alcohol al 70%. Se colectaron un total de 14 individuos encontrados variando de colores como café-rojizo con patrones de mosaicos viviendo entre algas rojas del género Corallina, hasta individuos oliváceos y encontrados en el alga Trematocarpus dichotomus. Otras algas abundantes que se encontraron en el intermareal medio-bajo fueron Dictyota kunthii, Ulva sp y Mazzaella laminarioides (Bory) Fredericq, 1993. Además, se consiguieron 4 ejemplares adultos de Taliepus dentatus; 2 machos y 2 hembras ovígeras los cuales fueron facilitados por Dr(c), Francisco Silva, estos, se extrajeron en el submareal por un buzo de la zona en Lenga y almacenados en una cubeta con agua de mar los cuales posteriormente fueron llevados hacia la UCSC para ser analizados.

Análisis morfológico

En el laboratorio de Ecología Molecular de la UCSC, los individuos se descongelaron y fueron clasificados por talla, sexo y etapa de desarrollo (Tabla 4) para después ser almacenados individualmente en alcohol al 70%. Por otro lado, los ejemplares adultos fueron clasificados del mismo modo, pero no se almacenaron en alcohol, sino que se congelaron directamente. Todos los ejemplares juveniles fueron analizados mediante lupa (NexiusZoom, EVO), depositados en una placa Petri, agregando alcohol al 70% como medio y fotografiados con una cámara Omax A3550U 5MP, acoplada a la lupa. Los análisismorfológicos de los ejemplares encontrados del año 2019, desde mayo hasta julio del año 2023 junto a los individuos recolectados en Julio de 2023 se consideraron caracteres (Tabla 5) utilizados por

autores anteriores para el género *Acanthonyx* y *Taliepus* (Aracena, 1974; Coelho & Torres, 1993; Emparanza et al., 2007; Garth, 1958; Jofre Madariaga et al., 2013; Rathbun, 1925; Tamburus & Mantelatto, 2016; Zuñiga-Romero, 2002) así como también para la familia Epialtidae y superfamilia Majoidea (Castaño & Campos, 2003; Vélez, 1977). Se midió la longitud del cefalotórax (LC) a todos los ejemplares capturados, que comprende desde la base del rostro hasta el final del cefalotórax, incluyendo el rostrum y el ancho del cefalotórax (AC), desde el borde lateral izquierdo hasta el borde lateral derecho.

Análisis genético

Extracción de ADN

El ADN para análisis genómico fue extraído del tejido muscular (>2mg aproximadamente) de los pereiópodos de los individuos colectados. Para la extracción de ADN se utilizó el kit E.Z.N.A. Tissue DNA Kit de marca Omega Bio – Tek con el que se obtuvo un ADN libre de impurezas. Este ADN fue almacenado a -20°C como sugiere el protocolo, posteriormente fue utilizado para los análisis de cuantificación, amplificación, PCR y secuenciación.

Cuantificación de ADN

Para cuantificar el ADN de las muestras se utilizó el Quantus fluorometer. Quantifluor dsDNA System, un instrumento de alta sensibilidad y de dos canales para la cuantificación del ADN nucleico.

Diluciones de ADN

Se diluyeron las 18 muestras (7 muestras 2019 – 11 muestras 2023) utilizando la formula C1 x V1 = C2 x V2, en donde C1 es la concentración de ADN (ng/ μ L) obtenida de las muestras previa cuantificación, C2 es la concentración de la alícuota (10 μ L) de ADN a diluir, V2 el volumen de 20 μ L de Agua de PCR que se agrega a la mezcla y V1 es el volumen que se espera obtener para agregar agua de PCR hasta alcanzar los 20 μ L. Las muestras de ADN que se cuantificaron y su concentración fue bajo 10ng/ μ L no se diluyeron y se agregaron directamente 20 μ L de alícuota de ADN para amplificar.

Pre-PCR y Reacción en cadena de polimerasa (PCR)

Se amplificaron los "loci" COI y 16S en tubos Eppendorf de 1.5mL realizando un mix de solución 300 μ L (10X) que contenía los compuestos mencionados en (Tabla 1). Luego en tubos de PCR (200 μ L) se agregaron 29 μ L de este mix en los distintos tubos (18 en total) junto a 1 μ L de ADN diluido para completar 30 μ L. Además, se incluyeron controles negativos para ambos marcadores moleculares utilizados que solo contenían 30 μ L del mix de solución (no contenían ADN). Los fragmentos de ADN (30 μ L) se amplificaron mediantela reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Para la amplificación se utilizó un termociclador BioRad T100 programado incluyendo un paso de desnaturalización a 95°C por 1 minuto seguido de 40 ciclos de 95°C por 15 segundos, 50.6°C por 30 segundos y a 72°C por 1 minuto, con una extensión final a 72°C por 7 minutos y termino a 4°C por 3 minutos. El producto fue visualizado en Gel de Agarosa al 2% y teñido con 10 μ L de Safeview plus 20000x y observado en un Ladder O'GeneRuler 50bp desde los 50 a 1000 bp (Fig. 1) para confirmar la amplificación de los fragmentos correctamente. La regla al sembrar las muestras fue de 8 μ L de Ladder + 2 μ L de green taq en el primer canal para luego sembrar en los siguientes el producto PCR (8 μ L) y los controles negativos (Fig. 2 y 3).

Tabla 1. Ejemplo de Protocolo PCR para genes COI y 16S, concentración de MgCl₂ modificada a partir del resultado de electroforesis con distintas concentraciones 1.3 y 2.0 mM para conocer la temperatura ideal del anillamiento según las bandas resultantes de la Fig. 1 modificado de Dr(c) Francisco Silva UCSC.

| Compuesto | Unidad | C. Final | 1X | 10X |
|-------------------|--------|----------|------|-------|
| Buffer | Х | 1.0 | 6.0 | 6.0 |
| BSA | mg/mL | 0.2 | 0.3 | 3.0 |
| dNTP's | mM | 0.2 | 0.6 | 6.0 |
| MgCl ₂ | mM | 1.3 | 1.6 | 15.6 |
| Primer 1 | μΜ | 0.5 | 1.5 | 15.0 |
| Primer 2 | μΜ | 0.5 | 1.5 | 15.0 |
| GoTaq | μ/ μL | 0.1 | 0.36 | 3.6 |
| DNA | ng/ μL | 0.3 | 1.0 | 10.0 |
| Agua PCR | | | 1.72 | 171.8 |
| Suma | | | 30.0 | 300.0 |



Fig. 1. Optimización del protocolo en un gel de agarosa (2%) teñido con Safeview plus, indican los productos de PCR, del locus nuclear 16S y COI con ejemplares de Caleta Chome (2019). El primer gel de agarosa (2%) con concentraciones de MgCl₂ a 1.3 mM muestra la amplificación de las muestras 16S con bandas intensas indicando aproximadamente 600pb, similar con COI, con bandas intensas indicando alrededor de los 700pb sin errores para ambos casos. No así con concentraciones de MgCl₂ a 2.0mM, las bandas indican alrededor de los 500pb para ambos locus 16S y COI, algunas tenues y otras intensas, siendo no específico para el estudio, por lo que se utilizará las concentraciones de MgCl₂ a 1.3mM. El Ladder tiene un tamaño de 50-1000pb, no incluía controles negativos, celda 8 corresponde a duplicado de la muestra 7, debido a su bajo valor de ADN.



Fig. 2. Primer gel de agarosa (2%) indica productos de PCR del locus nuclear COI y 16S con los ejemplares de Caleta Chome (2023), teñido con Safeview plus, muestras 10, 12 y 13 del gen COI no amplificaron por lo que se repitió al igual que la muestra 10 del gen 16S. Para el Gen COI; las muestras 14 a 18 se observan bandas nítidas e intensas; con el gen 16S las bandas son nítidas e intensas desde las muestras 12 a 18.



Fig. 3. Segundo gel de agarosa (2%) indica productos de PCR del locus nuclear COI y 16S con los ejemplares de Caleta Chome (2023), teñido con Safeview plus que indican los productos de PCR del locus nuclear COI y 16S con los ejemplares de Caleta Chome (2023), muestras 11, 12 y 13 del gen COI no amplificaron y se descartaron para el estudio. Las muestras 8 a 10 se observan bandas nítidas e intensas. Con el gen 16S las bandas son nítidas e intensas desde las muestras 8 a 13.

Secuenciación y Alineamiento

Los productos de la PCR descritos anteriormente fueron purificados y secuenciados ambas cadenas (Forward y Reverse) en la empresa Macrogen (Seúl, Corea del Sur). Para COI se utilizaron los primer; LCO1490 - F (GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG) y HCO2198 - R (TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA) (Folmer et al., 1994). Para 16S; 16Sar – F(CGCCTGTTTATCAAAAACAT) y 16Sbr – R (CCGGTYTGAACTCAGATCAYGT) (Palumbi, 1991).

Las secuencias de consenso fueron generadas utilizando un software de bioinformática Geneious (versión Basic 3.6.2), luego, estas secuencias consensas fueron alineadas usando la opción Clustal W en el programa BioEdit (versión 7.2) (Hall, 1999) para ser utilizadas enel presente estudio.

Análisis de secuencias de ejemplares de la Familia Epialtidae

Para determinar si las secuencias de los individuos estudiados coinciden o no con las secuencias de la especie *Acanthonyx petiverii* y *Taliepus dentatus*, se descargaron y utilizaron secuencias a disposición publica en la plataforma NCBI GenBank (<u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/</u>) para finalmente crear un árbol filogenético junto a un total de 11 secuencias de cangrejos de la familia Epialtidae extraídas de NCBIGenbank (Tabla 4) para un mayor soporte.

Construcción del árbol filogenético

La construcción del árbol filogenético para el gen COI se realizó utilizando el método "Máxima verosimilitud" que fue ejecutado en el programa MEGAX11 (Tamura et al., 2011), previamente escogiendo el mejor modelo de sustitución (T92+G+I), se utilizó el mismo método para 16S; con el mejor modelo de sustitución (T92+G+). La consistencia de la topología del árbol se evaluó mediante el método bootstrap (1000 replicaciones) y se mostraron valores de confianza Bootstrap en el árbol filogenético. Para enraizar el árbol de los genes COI y 16S se utilizaron los géneros *Taliepus*, *Pugettia* Dana, 1851, *Mimulus* Stimpson, 1860 dado su parentesco familiar entre estos géneros y la especie *Menaethius monoceros* Latreille, 1825 como outgroup, siendo grupo hermano de *Acanthonyx* (Hultgren & Stachowicz, 2008b).

RESULTADOS

Análisis morfológico

Basados en los ejemplares capturados en Caleta Chome

Un total de 14 individuos fueron analizados morfológicamente e identificados como reclutas. Los análisis morfológicos indicaron que los ejemplares estudiados de Caleta Chome eran muy semejantes, aun cuando mostraban ciertas diferencias en los principales caracteres definidos en el presente estudio (Tabla 6). De esta forma, de los principales caracteres descritos como el caparazón, rostrum, articulación de las antenas, diente o lóbulo preorbital, región hepática, branquial, proto – meso gástrica, e intestinal, sus quelipedos, los segmentos de los pereiópodos, su zona ventral abdominal y la presencia o ausencia de setas en su exoesqueleto fueron variables dependiendo del alga en que se colectaron.

Descripción cangrejos araña capturados en Caleta Chome

Los ejemplares presentaron caparazones de forma subpentagonal, que se redondean en laparte posterior (Fig. 5). Los caparazones muestran patrones de mosaico de color café oscuro y rojo, con una textura setosa, dando una apariencia similar a la estructura de las frondas articuladas, calcificadas y color rojo intenso del alga Corallina sp, mientras que otros individuos presentan superficies lisas de color oliváceo, colectados en Trematocarpus dichotomus exhibian colores similares al alga. Por otro lado, no se encontraron algas adheridas al exoesqueleto de los cangrejos (Fig. 4). El rostrum es corto y bifurcado en el extremo distal, con setas de diversostamaños y grosores, al igual que en su bifurcación. Los ojos son visibles desde la parte superior del caparazón, y en la superficie dorsal del seno del ojo, a veces se pueden observar pequeñas setas. Próximo a los ojos, se observa un diente pre orbital ligeramente elevado, sin presencia de setas cortas (Fig. 4 – B). En la región hepática y epibranquial del caparazón, los márgenes laterales son dentados y tuberculados, además, se curvan hacia adelante, formando un ángulo casi rectangular. El segundo margen delimita la zona anterior de la posterior, en su mayoría, presentan setas de diferentes longitudes y grosores. Pero, en la región meso – branquial, el margen lateral es reducido o romo y también presenta setasde longitud y grosor variables (Fig. 4 – C). La región proto y meso – gástrica se eleva ligeramente y muestra la presencia de 2 a 3 pequeños tubérculos setiformes dispuestos en forma triangular, con dos en la región proto – gástrica y el tercero visible solo en algunos ejemplares en la región meso - gástrica (Fig. 4 - D). En la región intestinal, se pueden observar dos tubérculos con setas laterales en el borde posterior del caparazón, además, en la región urogástrica, algunos ejemplares con patrones de mosaico muestran un patrón blanco circular, y en un único ejemplar se ha observado una única seta corta (Fig. 4 -C). Articulación basal de las antenas se observan en vista ventral las 2 antenas subcilíndricas y articuladas; la base articular es más ancha que el extremo articular distal y llegan al final del rostrum, no se observan setas cortas al extremo distal de las antenas (Fig. 6). Ischio tiene forma subrectangular, presenta en su zona ventral una seta corta en sus primer y segundo par de pereiópodos, su extremo distal está conectado con el Mero (Fig. 7). Este, presenta lóbulos setíferos; uno en el extremo distal central y dos laterales; en su lóbulo central 1 a 3 setas y en su zona distal varias setas. El tercer y cuarto par del lóbulo distal delMero son menos pronunciados que los del segundo y primer par (Fig. 8). Carpo con cresta longitudinal en la superficie dorsal, se observan lóbulos laterales setiformes en la zona dorsodistal de los pereiópodos (Fig. 9 - A). En este mismo segmento, para los quelípedos hay 4 tubérculos setíferos; 1 central, 1 proximal y 2 distales (Fig. 9–B). El segmento del propodio ambulatorio posee una forma alargada y subtriangular, los márgenes laterales son agrandados y se comprimen en el margen superior, en el centro de la zona ventral del segmento, se observan mechones finos más abundantes elevados distalmente. (Fig. 10). Dáctilo dentado en la punta distal de los pereiópodos, con forma de gancho y subquelado, en la superficie ventral presenta dos filas de setas cortas como serrucho (Fig. 11). Quelípedos asímetricos y cortos en comparación al primer par de pereiópodos, el segmento del Ischio mantiene forma subrectangular, observándose una seta corta en su zona ventral; se conecta con el Mero, el cual presenta lóbulos setíferos en su extremo distal central y dos laterales, a vista dorsal proximal del mero se encuentran dos tubérculos, en algunos casos con una seta o sin y otra única protuberancia en la cara inferior cerca del extremo proximal, esto, solo se observó en sus quelípedos (Fig. 12). El própodo se alarga en su margen lateral ventral conectando con el dáctilo, en su extremo distal se curva hacia dentro y se comprime en su margen dorsal. Dáctilo o pollex dentado con procesos submolares, y las puntas suavemente curvadas hacia dentro, color blanqueado en su extremo distal ysin mechones de setas (Fig. 13). El esternón torácico presenta una superficie lisa y segmentada, además, sus esternitos abdominales N° 2, 3 y 4 son trapezoidales, casi iguales en forma y tamaño, 5 alargado en comparación a los otros, esternito 6 presenta una forma casi trapezoidal con márgenes

cóncavos su extremo distal con bordes convexos y telson triangular (Fig. 14).

Descripciones ejemplares adultos de *Taliepus dentatus*

A partir de los 4 ejemplares totales correspondientes a T. dentatus de Caleta Lenga se determinó que su caparazón es subcircular o suborbicular y convexo en ambas direcciones, excepto por el rostrum. Sus bordes laterales están densamente punteados con cuatro dientes laterales. El primero apunta hacia arriba de manera distal, cerca de los ojos y es más pequeño que el segundo, que tiene forma de gancho o semicírculo. El tercero es apunta distal y agudo, mientras que el ultimo es desafilado o romo. Además, presenta dos tubérculos pequeños y circulares en la parte anterior de la región proto - gástrica. Rostrum corto, bifurcado o bífido, con un margen engrosado en el borde del seno orbital, el cual está semipunteado. Las antenas no sobrepasan el rostrum y son segmentadas (Fig. 15). Los quelipedos en los machos, son robustos en comparación con las hembras, llegando incluso al doble de tamaño, la mayoría de ellos son de color blanqueado en su extremo distal. Sin embargo, no alcanzan a ser más largos que el primer par de pereiópodos (Fig. 16). En lacara dorsal proximal del mero se encuentran dos tubérculos, además, hay un tubérculo en lacara inferior cerca del extremo proximal (Fig. 17). El carpo presenta una cresta corta formada en el ángulo antero-interno superior (Fig. 18). El quinto segmento del abdomen es más largo que el sexto, además, se distingue una diferencia entre los sexos: en los machos, el abdomen es estrecho, mientras que en las hembras es más ancho y elíptico (Fig. 19). Los pereiópodos son comprimidos, con dáctilos prensiles, fornidos y dentados. En vista ventral de los dáctilos se encuentran dos filas de espinas cortas parecidas a serruchos, y un diente o dactilopodito subquelado (Fig. 20).

Análisis genético

Alineamiento y datos de las secuencias

Se emplearon datos de secuencias de ADN para las cadenas de Forward y Reverse en COI y 16S obtenidos de dos fuentes distintas; las primeras muestras fueron adquiridas de Macrogen en Seúl el año 2022, mientras que los datos adicionales fueron suministrados por Macrogen en Santiago de Chile del presente año 2023. Es importante destacar que, lamentablemente, la mayoría de los datos provenientes de Macrogen en Santiago de Chile presentaban errores de lectura significativos, manifestando ruido en los cromatogramas obtenidos. Estos errores de lectura dificultaron su utilización en el análisis y, por consiguiente, la mayoría de estos datos no fueron incluidos en los resultados finales de la identificación de los cangrejos araña mediante DNA Barcoding (Tabla 4). Por el contrario, los datos obtenidos de Macrogen en

Seúl, proporcionaron resultados más fiables y fueron utilizados como la base principal para la identificación de los cangrejos araña. Constaron de9 individuos secuenciados con éxito en total para COI, los 6 primeros en excelente estado con bandas claras y nucleótidos resueltos, pero los datos del ejemplar CAIND7 comprendían de mucho ruido, sin picos resueltos ni tampoco indicaba algún nucleótido resuelto, por lo que se descartó. Con los datos obtenidos del año 2023 de los ejemplares CAIND9, 10 y 17 indicaron los nucleótidos en representación para cada cromatograma de los primer F y R y el resto de los datos no fueron incluidos debido a los errores de lectura, causando errores al generar el árbol filogenético. Para 16S solamente se integró con éxito las secuencias de CAIND13 para ser incluida en la construcción del árbol filogenético, siendo el más confiable entre las muestras analizadas. Las secuencias alineadas para ambos genes fueron limpiadas de las mutaciones, no se observaron lagunas en el alineamiento de COI, en cambio con 16S algunas secuencias extraídas de Genbank provocaban algunos "gaps", al alinearse. Los alineamientos de COI y 16S contenían una longitud total de 581 y 457 pares de bases respectivamente.

Arboles filogenéticos

Los árboles filogenéticos se construyeron con éxito utilizando el método máxima verosimilitud para un análisis barcoding de las secuencias COI y 16S a partir de los ejemplares colectados en Chome, Lenga y las secuencias de GenBank (Tabla 4). Respecto al árbol filogenético construido para COI (Fig. 21) presentan un claro parentesco genético entre el clado A los ejemplares capturados de Caleta Chome y Lenga, junto a las secuencias Ind 196 – 221 – 222 facilitadas con la secuencia de T. dentatus de GenBank: EU682872.1 con un nodo fuertemente apoyado de confianza del 98%. (valor Bootstrap). Comparado con el clado B de las secuencias del Atlántico de A. petiverii, obtienen un valor Bootstrapde 99% de confianza entre los ejemplares de USA y Panamá, aunque, divergen como un grupo monofilético entre un valor de 55% de confianza siendo débilmente apoyada para afirmar que pertenecen a esta especie los ejemplares capturados en Chome, pero que si comparten un ancestro en común. Aun así, el clado C de T. nutalli para este árbol filogenético no forma un grupo monofilético con la especie T. dentatus, a pesar de morfologías adultas y ecologías muy similares (Garth, 1958; Rathbun, 1925) diverge en un 61% de confianza de Bootstrap con el clado D de secuencias de organismos del género Pugettia, siendo este género los más emparentados entre sí, formando un grupo parafilético, ya que la especie M. foliatus se incluye en el clado D de las especies del pacifico este (P. producta, P. richii, P. dalli, P. gracilis),

con estos datos *Mimulus* debería ser reclasificado como miembro del género *Pugettia* (Hultgren & Stachowicz, 2008b). *M. monoceros* como el outgroup, es el pariente más lejano, relacionado con todas las demás secuencias de cangrejos.



Fig. 21. Relaciones filogenéticas entre especies de la familia Epialtidae mediante el método de máxima verosimilitud en análisis barcoding de secuencias gen COI. Filograma creado en MEGA 11X. Los números son valores de significancia para 1000 bootstraps; se muestran valores de confianza Bootstrap \leq 50% en el árbol filogenético. Cangrejo Epialtidae_16S_Caleta Chome corresponden a los ejemplares analizados en el presente estudio; Cangrejo Ind 196 – 221 – 222 son secuencias de un cangrejo araña de Chome, Tal tal, Las Salinas, facilitadas por Dra. Maria de los Ángeles Gallardo y las otras secuencias de distintas especies son de GenBank.

Con respecto al árbol filogenético construido para 16S (Fig. 22) éste presentó un claro parentesco genético entre el clado A de los ejemplares capturados de Caleta Chome junto a las secuencias Ind 196 – 197 – 221 – 222 facilitadas con la secuencia de *T. dentatus* de GenBank: EU682827.1, con un nodo fuertemente apoyado de confianza del 99%. (valor Bootstrap). Para este caso el clado B de *T. nutalli* forma un grupo monofilético con la especie *T. dentatus* débilmente apoyado de confianza del 60%. Diverge con un soporte deconfianza del 42% con el clado C de secuencias del género *Pugettia*, predominando comoel grupo parafilético más emparentado entre sí, lo cual se repite el caso en que *M. foliatus* se emparenta con estas especies de cangrejo araña del Pacifico noreste. Las secuencias de *A. petiverii* son más divergente entre los clados mencionados anteriormente por lo que se encuentra sin soporte y débilmente apoyada que los ejemplares capturados en Chome pertenezcan a esta especie. *M. monoceros* como el outgroup, se encuentra siendo el pariente más lejano relacionado con todas las demás secuencias de cangrejos.



Fig. 22. Relaciones filogenéticas entre especies de la familia Epialtidae mediante el método de máxima verosimilitud en análisis barcoding de secuencias gen 16S. Filograma creado en MEGA 11X. Los números son valores de significancia para 1000 bootstraps; se muestran valores de confianza Bootstrap $\leq 50\%$ en el árbol filogenético. Cangrejo Epialtidae_16S_Caleta Chome corresponden a ejemplares analizados en el presente estudio; Cangrejo Ind 196 – 197 – 221 – 222 son secuencias cangrejos araña de Chome, Pampilla,Tal tal, Las Salinas, facilitadas por Dra. María de los Ángeles Gallardo y las otras secuencias de distintas especies son de GenBank junto al outgroup.

DISCUSIÓN

Tras el análisis morfológico de los ejemplares colectados en Caleta Chome, Chile, se sugiere reconsiderar la clasificación en la especie A. petiverii, con base a las evidencias morfológicas (Tabla 6) y los análisis genéticos (Fig. 21 – 22). Primero, es fundamental destacar las diferencias morfológicas observadas en los especímenes recolectados en Caleta Chome en comparación a los caracteres típicos de A. petiverii. Las diferencias se incluyeron en la Tabla 5 como características morfológicas distintivas. Estas discrepancias morfológicas, que se asemejan más a los rasgos característicos del cangrejo araña T. dentatus, plantean interrogantes sobre la correcta identificación de los ejemplares. Además, la distribución conocida de A. petiverii se limita a las aguas del Pacífico desde Arica a Valparaíso, con un único registro de Rathbun (1925) y el estatus taxonómico en otras localidades de Chile como: Antofagasta, Caldera (Rathbun, 1925) e Iquique (Emparanza et al., 2007) además de que la especie se encuentra en ambos lados del continente americano y su localidad tipo en las Antillas, ubicadas en el mar Caribe del Océano Atlántico, con un distribución más amplia desde Estados Unidos a Brasil (Castaño & Campos, 2003; Coelho & Torres, 1993; Hendrickx, 1992; Tamburus & Mantelatto, 2016). Ante lo infrecuente de registros de distribución y datos moleculares previos para la especie A. petiverii en Chile, podría atribuirse a un mimetismo críptico elaborado, siendo igualmente plausible que la verdadera razón sea la presencia de reclutas de T. dentatus en la zona de estudio. Esto podría haber llevado a confusiones en la identificación de las especies anteriores, ya que hay poca información sobre los hábitats de los reclutas a juveniles y subadultos en crecimiento de T. dentatus, contrario con los adultos monocromáticos reproductores que se encuentran en los bosques de algas pardas submareales como L. trabeculata y M. pyrifera (Jofre Madariaga et al., 2013; Palma et al., 2011; Pardo et al., 2007).

La forma subpentagonal del caparazón, con cuatro dientes laterales y el último más pequeño, se mantuvo constante en todos los individuos colectados de Chome. Sin embargo, la presencia de setas variables en distintas regiones del caparazón y los patrones de mosaicode color café oscuro y rojo en su exoesqueleto indican una posible relación entre lamorfología de los cangrejos y el tipo de alga circundante. El trabajo de Aracena (1974; Fig. 4C) atribuye la categoría de individuos juveniles asexuados con numerosos pelos transparentes en zonas donde se encuentran las espinas o tubérculos de adultos *T. dentatus*, caracteres semejantes a

los observado en los ejemplares de Chome. Estos caracteres se consideran determinantes ya que se han observaron en algunos individuos y se utilizaron para comparar con los adultos de Lenga de esta misma especie. Puede que estas setas y tubérculos desaparezcan a medida que los individuos crecen, o no se encontraron en los ejemplares adultos analizados. Es importante destacar que el ejemplar asexuado de longituddel caparazón más grande del estudio de Aracena medía 25mm, y se encontraban preferentemente en A. disciplinalis. En el presente estudio el ejemplar CAIND8 más grandede longitud de caparazón medía 27mm y solo se observaron los dos pelos característicos en la región meso – gástrica, también en los dientes laterales de la región hepática, epi - meso branquial e intestinal del borde posterior del caparazón. Presentó un color oliváceo en la superficie de su exoesqueleto del caparazón imitando el color de la especie de alga T. dichotomus en la que se capturaron, contrario al caso que indica la autora en la superficie del caparazón en la región meta – gástrica, cardiaca, meta - branquial e intestinal. Considerando los resultados obtenidos en relación con la morfología de los ejemplares con patrones de mosaicos, estos se mimetizaban con el parche de alga Corallina sp y tenían variables setas distribuidas en los tubérculos de los segmentos de los pereiópodos y el caparazón, como el individuo (CAIND13) siendo el más grande de los con patrón de mosaico, compartían ubicación de estos caracteres con A. petiverii (Emparanza et al., 2007) generando la primera hipótesis de identificar a los ejemplares capturados de Chome como tal especie. En comparación a los ejemplares oliváceos, ayuda a responder a la hipótesis que sugiere una posible influencia de la estructura del alga que se hospedan, variando sus caracteres morfológicos.

Por otro lado, es relevante mencionar que Garth (1958) señala que al identificar el sexo en ejemplares de 9 y 10 mm de longitud del caparazón resulta dudosa, pero en especímenes de 11 mm se distinguen fácilmente como machos o hembras. En cuanto a los ejemplares de tamaño pequeño a mediano muestran dos tubérculos gástricos con setas que se desarrollan en los ejemplares de 33 – 34mm de longitud. Una hembra de 34 mm todavía se encuentra en estado de "terciopelo" mientras que una hembra de 64.5mm puede estar ovígera. Pero el individuo asexuado más grande de Aracena (1974) medía 25mm por lo que la afirmación de Garth podría resultar dudosa ya que no se encontró ninguna hembra en los 14 ejemplares

colectados de Caleta Chome (Tabla 5) por la forma del abdomen y talla de longitud del caparazón corresponderían únicamente como machos reclutas, sin embargo, diferenciarlos de los adultos maduros resultó difícil ya que no se consideraron los caracteres morfológicos; como el grado de desarrollo de los pleópodos debido a su inmadurez y complejidad de extracción para análisis posteriores. En consecuencias de lo mencionadopor el autor anteriormente, ambas hembras ovígeras del presente estudio se caracterizaron fácilmente como tales debido a su talla y la forma amplia de su abdomen, con el interior de esté portando huevos, indicando su estado ovígero. Esto indicaría que los cangrejos araña reclutas de *T. dentatus* podrían seleccionar su hábitat en función del color con las algas circundantes, pudiendo proporcionar beneficios tanto en términos de camuflaje, como de alimentación y protección contra depredadores, destacando la importancia de comprenderla interacción de estos organismos en su etapa temprana, juvenil y su entorno (Palma 2011).

El uso de marcadores moleculares como COI y 16S para la identificación de especies es una herramienta poderosa para el estudio de la taxonomía y puede proporcionar información sobre la diversidad genética y las relaciones filogenéticas entre los diferentes organismos (Folmer et al., 1994; Palumbi, 1991). En el caso específico de la identificación de los cangrejos araña encontrados en Chome, como A. petiverii, T. dentatus y otros individuos de la familia Epialtidae, la aproximación DNA Barcoding y la construcción de árboles filogenéticos utilizando el método de máxima verosimilitud, ofrece una oportunidad significativa para entender qué relación tienen entre estas especies y su diversidad genética. El gen COI se ha utilizado comúnmente en estudios de DNA Barcoding debido a su alta tasa de evolución en el ADN mitocondrial y su capacidad de distinguir entre especies (Hebert et al., 2003; Matzen da Silva, J., et al., 2011) para el presente estudio. Utilizar este gen permitió diferenciar entre las especies A. petiverii con T. dentatus, siendo este último la identidad de los cangrejos analizados del presente estudio. También, por ejemplo, el árbol filogenético del gen 16S puede ayudar a determinar si las ubicaciones dispares de las especies de T. dentatus con Taliepus nutalli reflejan diferentes linajes en ambientes ecológicamente similares, siendo geográficamente distintos, pero morfológicamente muy similares, al igual que T. marginatus. Los organismos del género Pugettia, comparten este cambio ontogénico hospedando de algas rojas a algas pardas, cambiando de color a medida que los organismos se desarrollan y se trasladan a diferentes hábitats, lo que podría ayudar a explicar la diversidad de colores en las etapas tempranas de los cangrejos araña capturados en el estudio. Finalmente, es

31

importante tener en cuenta, la falta de datos de secuenciación de ADN de los cangrejos araña recolectados y de otras especies del género *Taliepus* para los genes 16S. Esto podría dificultar la precisión en la construcción del árbol filogenético, ya que actualmente en Genbank solamente se encuentra una secuencia con este gen y ninguna para *T. marginatus*.

CONCLUSIONES

- Los hallazgos en cuanto a la morfología de los cangrejos araña, la diferenciación entre reclutas, juveniles y adultos, y la caracterización de hembras ovígeras, se basan en observaciones detalladas y comparaciones con la literatura existente sobre los caracteres diagnósticos en especies relacionadas, confirmando que los ejemplares encontrados en Caleta Chome corresponden a reclutas de la especie *Taliepus dentatus*.
- 2. Los aspectos morfológicos distintivos en los especímenes de Caleta Chome como los patrones de mosaico en el caparazón y la cantidad de setas en distintas regiones del caparazón y pereiópodos de los cangrejos, parecen estar influenciados por el entorno de las algas hospedantes, lo que podría explicar las variaciones morfológicas entre individuos. Aunque, se requieren más análisis de diferentes especímenes de cangrejos y algas en diferentes entornos para sustentar esta hipótesis.
- 3. No se observaron algas adheridas en la superficie del caparazón y los pereiópodos en los ejemplares recolectados de Caleta Chome, *Acanthonyx petiverii* se destaca por seleccionar piezas de algas manipulándolas con sus aparatos bucales y manipula uniéndolas a sus setas ganchudas de su exoesqueleto. En cambio, los ejemplares capturados mostraban un comportamiento de camuflaje respecto a su color con el alga en que fueron capturados.
- 4. Los árboles filogenéticos creados en el presente estudio permiten refutar la hipótesis que los ejemplares capturados en Caleta Chomecorrespondían al cangrejo araña Acanthonyx petiverii. Las secuencias de los genes COI y 16S, obtenidas en este estudio y su comparación con las de las de cangrejos de la familia Epialtidae, revelaron un clado correspondiente a la especie Taliepus dentatus
- 5. Finalmente es importante, destacar que se requiere construir una base de datos para otras especies del género *Taliepus* presentes en Chile, como *T. marginatus*, ya que sus características morfológicas son similares a *T. dentatus*. Esto ayudaría a comprender la variabilidad morfológica y los distintos comportamientos de alimentación y camuflaje de las especies de este género.

APÉNDICE DE FIGURAS y TABLAS



Fig. 4. Vista dorsal de diferentes ejemplares de cangrejo araña capturados en Caleta Chome. **(A)** Cangrejo araña (CAIND8) LC: 27mm, flechas rojas (1) indica un diente pre orbital; (2) diente lateral curvados distal y hacia arriba, el diente preorbital es menor que el segundo; (3) tubérculos setosos presentes en la región proto –gástrica del caparazón. **(B)** Cangrejo araña (CAIND8) LC: 27mm, flechas rojas (1) rostrum corto y bifurcado

con setas de diversos tamaños y grosores, al igual que en su bifurcación, en el extremo distal; (2) ojos visibles desde la parte superior del caparazón, y en la superficie dorsal del seno del ojo, se observan pequeñas setas; (3) se observa el diente pre orbital ligeramente elevado, sin presencia de setas cortas; (4) diente región hepática lateral con presencia de setas cortas. (C) Cangrejo araña (CAIND12) LC: 7mm, individuo más pequeño capturado, flecha rojas (1) diente región hepática lateral del caparazón; (2-3) los márgenes laterales tuberculados y curvados hacia delante, forman un ángulo casi rectangular; (2) El segundo margen delimita la zona anterior de la posterior, en su mayoría, presentan setas de diferentes longitudes y grosores; (3) margen lateral de la región meso – branquial, es reducido o romo y también presenta setas de variables longitudes y grosores; (4). tubérculos con setas laterales en el borde posterior del caparazón de la región intestinal. (D) Cangrejo araña (CAIND9) LC: 10mm, flechas verdes región proto – gástrica elevada ligeramente y muestra lapresencia de 2 pequeños tubérculos setiformes; (2) el tercer tubérculo visible solo en algunos ejemplares en la región meso – gástrica.



Fig. 5. Esquema y terminología de las regiones dorsales y ventrales del caparazón y extremidades de un cangrejo araña Epialtidae recolectado de Caleta Chome; se incluyen setas observadas en distintas regiones del caparazón.
(A) Vista dorsal. 1: Región frontal; 2: Región orbital; 3: Región protogástrica; 4: Región mesogástrica; 5: Región metagástrica; 6: Región urogástrica; 7: Región cardiaca; 8: Región intestinal; 9: Región hepática; 10: Región epibranquial; 11: Región mesobranquial; 12: Región metabranquial; C: Coxa; B: Basis; I: Ísquio; Ca: Carpo; P: Propodio o Palma; D: Dáctilo. (B) Vista ventral. T: Telson; 2-6 Somitos abdominales; 4-7 Esternitos torácicos. Ilustración realizada en Adobe Illustrator por Diego Mira. Adaptado de(Ferratges, 2017).



Fig. 6. Ambas articulaciones basales de las antenas en vista ventral de los cangrejos araña (A) – (CAIND13) LC: 16mm y (B) – (CAIND9) LC: 10mm. Flechas rojas (A-B) indican las articulaciones son subcilíndricas y móviles, con la base articular siendo más ancha que el extremo articular distal. Además, las antenas se extienden hasta el final del rostrum, sin presentar setas cortas en su extremo distal.



Fig. 7. Presencia de setas cortas a vista ventral en el segmento de los pereiópodos de los cangrejos araña (A) – (CAIND13) LC: 16mm y (B) – (CAIND9) LC: 10mm. Flechas rojas (A-B) indican el Ischio de forma subrectangular y su extremo distal se encuentra conectado al Mero. (1-2) única seta corta del Ischio en el primer par y segundo par de pereiópodos.



Fig. 8. Superficie dorsal del Mero de los cangrejos araña (CAIND11) LC: 10mm y (CAIND13) LC: 16mm. Flechas verdes (A) muestran algunas setas cortas presentes en la superficie dorsal del Mero del cangrejo araña (CAIND11); (1-2) corresponden a las setas cortas ubicadas en el lóbulo setífero central; (3-4) muestran las setas en el extremo distal del segmento. Flechas rojas (B) muestran algunas setas cortas en el mismo segmento del cangrejo araña (CAIND13); (1) lóbulo setífero central del tercer par de pereiópodos presenta setas al igual que los círculos indicados en (3); cuarto y quinto par algunas setas cortas en el mismo lóbulo; (2 y 4) se encuentran setas distales características de los ejemplares recolectados.



Fig. 9. Lóbulos de la superficie dorsal del Carpo de los cangrejos araña (CAIND9) LC: 10mm y (CAIND13) LC: 16mm. Flechas rojas (A-B) indican algunos lóbulos de la superficie dorsal del Carpo. (A) muestra lóbulos del segundo y tercer par de pereiópodos del Carpo presentes al cangrejo araña (CAIND9); (1 y 4) lóbulo distal con cresta longitudinal del segmento; (2-3) lóbulos laterales setiformes de la zona dorsodistal,

presenta algunas setas cortas; (5) lóbulo setifero central, presenta setas cortas, en algunos ejemplares no se observaron. (B) El segmento del carpo en los quelipedos del cangrejo araña (CAIND13) presenta 4 tubérculos setiferos; (1) indica lóbulo setifero distales en la cresta longitudinal sin presencia de setas cortas; (2-3) se observan los lóbulos setiferos laterales con presencia de setas cortas; (4) lóbulo setifero central, se observan algunas setas cortas; (5) lóbulo proximal cercano al central muestra una seta corta.



Fig. 10. Centro de la zona ventral del propodio, mechones de setas cortos, elevados y finos de los cangrejos araña (CAIND9) LC: 10mm y (CAIND13) LC: 16mm. Flechas rojas (A-B) indican en el centro de la zona ventral del propodio, mechones de setas finos y elevados distalmente. (A) segmentos del propodio ambulatorio del tercer y cuarto par del cangrejo araña (CAIND9); (1-2) muestran los mechones en vista dorsoventral de setas elevadas. (B) segundo, tercer y cuarto par de pereiópodos a vista ventral del cangrejo araña (CAIND13); (1-2-3) del segundo al cuarto par presenta mechones de setas cortas, esto ocurre con todos los ejemplares, no se observaron en este mismo segmento de las quelas los mechones de setas.



Fig. 11. Dáctilo de los pereiópodos del cangrejo araña (CAIND8) LC: 27mm. Flechas rojas (A-B) indican el segmento del dáctilo de los pereiópodos con forma de gancho y subquelado. (A) vista dorsoventral del segmento del propodio y el dáctilo; (1) diente del dáctilo, subquelado; (2) indica fila de setas cortas como serrucho. (B) Dáctilo en vista ventral; (1-2) ambas filas de setas cortas, alrededor de los bordes ventrales del dáctilo; (3) diente del dáctilo subquelado.



Fig. 12. Ischio, conectado con el Mero y algunos lóbulos setiferos del cangrejo araña (CAIND10) LC: 12mm. Flechas rojas (A-B) indican el Ischio, y algunos lóbulos setiferos (A) vista dorsal del segmento izquierdo del Ischio con el Mero; (1) única seta corta en la zona ventral del Ischio; (2) dos tubérculos en la zona proximal y dorsal del Mero, algunas veces presenta una seta corta o ausenta ésta, a vista ventral cerca del extremo proximal presenta otro único tubérculo; (3) lóbulos setiferos en su extremo distal, se observa un mechón de

setas cortas, dorsoventral (o a la izquierda del segmento) se ubica uno de los dos lóbulos setiferos laterales.

(B) vista dorsoventral del segmento izquierdo del Ischio junto al Mero; (1) única seta corta a vista ventral del Ischio; (2) dos tubérculos en la zona proximal y dorsal del Mero, se observan algunas setas cortas o ausentan de estas, a vista ventral cerca del extremo proximal se observa un tubérculo; (3) lóbulos setiferos del extremo distal, se observa un mechón de setas cortas a vista dorsoventral (o a la derecha del segmento) se ubica el segundo de ambos lóbulos setíferos.



Fig. 13. Carpo conectado al Própodo y Dáctilo del cangrejo araña (CAIND10) LC: 12mm. Flechas rojas (A-B) indican en vista dorsal algunas setas, tubérculos y dáctilo. (A) Quela hinchada y alargada, en el carpo se observan algunos lóbulos setiferos, própodo alargado en el margen lateral, en su extremo distal se forma una punta que conecta con el dáctilo; (1) lóbulo setifero proximal junto al central, en este segundo, se observan mechones de setas cortas; (2) cresta longitudinal del Carpo, se observa algunos mechones de setas cortas; (3) margen lateral proximal del propodio alargado; (4) en el extremo distal del propodo se curva hacia dentro y se comprime en su margen dorsal. (B) vista dorsoventral de los segmentos del Carpo junto al Própodo y Dáctilo;

(1) lóbulos setiferos proximal junto al central, observándose mechones de setas cortas; (2) cresta longitudinal distal del Carpo con presencia de setas cortas; (3) tuberculo cristalino en el margen dorsal del propodo, este seencuentra partido en la mitad; (4) extremo distal del propodo curvado hacia dentro, se observan los procesos submolares.



Fig. 14. Vista ventral del abdomen y los esternitos torácicos y segmentos abdominales del cangrejo araña (CAIND5) LC: 6,8mm.

(A) Esternón torácico presenta una superficie lisa, los segmentos del abdomen en los ejemplares es de forma triangular. Sus esternitos abdominales N° 2, 3 y 4 son trapezoidales, casi iguales en forma y tamaño, Nº 5 alargado en comparación a los otros, esternito Nº 6 presenta una forma casi trapezoidal con márgenes cóncavos su extremo distal con bordes convexos y (T) telson es triangular.



Fig. 15. Vista dorsal del caparazón suborbicular del cangrejo macho adulto *Taliepus dentatus* (CAIND16) LC: 98mm y antenas a vista ventral del rostrum del cangrejo macho adulto *Taliepus dentatus* (CAIND15) LC: 98mm. Flechas blancas (A) indican dientes laterales a vista dorsal del caparazón del cangrejo *Taliepus dentatus* (CAIND16); (1) Indica el primer diente pre orbital, apunta hacia arriba de manera distal, siendo más pequeño que el segundo; (2) diente con forma de gancho o semicírculo; (3) tercer diente apunta distal y forma un angulo agudo; (4) el ultimo diente es desafilado o romo; (5) margen engrosado en el borde del seno orbital siendo semipunteado. Flechas rojas (B) Rostrum corto y bífido; (1) antenas segmentadas, no sobrepasan el rostrum.



Fig. 16. Vista dorsal completa del cangrejo macho adulto *Taliepus dentatus* (CAIND16) LC: 98mm y cangrejo *Taliepus dentatus* hembra ovígera (CAIND17) LC: 71mm. (A) Quelipedos robustos y no alcanzan a ser más largos que el primer par de pereiópodos; (B) Caparazón convexo y quelipedos reducidos de cangrejo

hembra *Taliepus dentatus* (CAIND17), no superan en tamaño en comparación a los quelipedos de los machos, siendo menos robustos y anchos.



Fig. 17. Quelipedo en vista dorsal y segmento del Mero a vista ventral cangrejo macho adulto *Taliepus dentatus* (CAIND15) LC: 98mm. (A) porción del Mero robusto; (1) Indica el primer tubérculo de la cara dorsal proximal del mero; (2) se encuentra el segundo tubérculo. (B); (1) único tubérculo en la cara ventral cerca del extremo proximal del Mero.



Fig. 18. Segmento del Carpo a vista dorsal del cangrejo macho adulto *Taliepus dentatus* (CAIND15) y segmento del carpo a vista dorsoventral. LC: 98mm. (A) (1) Flecha roja indica una espina corta formada en el ángulo antero-interno superior. (B) (2) Flecha y círculo rojo indican la espina corta formada en el ángulo antero-interno.



Fig. 19. Vista ventral del abdomen del cangrejo macho adulto *Taliepus dentatus* (CAIND16) LC: 98mm y vista ventral del abdomen del cangrejo hembra ovígera adulto Taliepus dentatus (CAIND17) LC: 71mm. (A) (1) Flecha roja indica segmento abdominal N°5, siendo más largo que el resto de los otros. (B) (2) Líneas rojas muestran el ancho elíptico del abdomen, a comparación del macho que es estrecho.



Fig. 20. Dáctilo de los pereiópodos del cangrejo araña macho adulto Taliepus dentatus (CAIND16) LC: 98mm. Flechas rojas (A-B) indican la forma de gancho y subquelado del dáctilo de los pereiópodos. (A) vista ventral del segmento del propodio y el dáctilo; (1) y (2) diente del dáctilo indica fila de setas cortas como serrucho. (B) Dáctilo en vista ventral; (1) ambas filas de setas cortas, alrededor de los bordes ventrales del dáctilo.

| Superfamilia Majoidea | Localidades | | | |
|--|--|---|--|--|
| Familia – género – especie | PA SG CN DV JF IQ AN CC CV TA VA C | H GP EM CB A * | | |
| Acanthonyx petiveri | <i>x x x x</i> | | | |
| Taliepus dentatus | xx x x x x x x x x | x x x | | |
| * Las áreas comparadas para las dos esp | ecies fueron desde: | | | |
| Iquique (IQ): 18°-22°S; | Alejandro Selkirk (JF); | | | |
| Antofagasta (AN): 22°-26°S; | Islas Desventuradas, con l | las islas San Félix | | |
| Coquimbo (CC): 26°-30°S; | y San Ambrosio (DV); | | | |
| Valparaíso (CV): 30°- 34°S; | | | | |
| Talcahuano (TA): 34°-38°S; | No están consideradas las á | reas para las | | |
| Valdivia (VA): 38°-42°S; | especies: | | | |
| Chiloé (CH): 42°-46°S; | Canal Beagle (CB): 54°-58° | °S; | | |
| Golfo de Penas (GP): 46°-50°S; | Antártica (A); | | | |
| Estrecho de Magallanes (EM): 50°- 54 | S ; Cordillera sumergida de Na | Cordillera sumergida de Nazca (CN); | | |
| (hasta los 51°00 Lat.Sur - Taliepus dent | <i>itus</i>) Isla Salas y Gómez y cordi | Isla Salas y Gómez y cordillera sumergida | | |
| Archipiélago de Juan Fernández, con | las homónima (SG); | C | | |
| islas Robinson Crusoe, Santa Clara y | Isla de Pascua (PA). | | | |

Tabla 2. Distribución geográfica de los cangrejos araña en Chile considerados en el presente estudio

*Adaptado de Retamal, M. A., & Moyano, H. I. (2010). Zoogeografía de los crustáceos decápodos chilenos marinos y dulceacuícolas. *Latin american journal of aquatic research, 38*(3), 302-328. *²Adaptado de Fagetti, E., & Campodonico, I. (1971). Desarrollo larval en el laboratorio de Taliepus dentatus (Milne-Edwards) (Crustacea Brachyura: Majidae, Acanthonychinae). *Revista de Biologia Marina, 14*(3), 1-14.

Tabla 3. Caracteres diagnósticos de la familia Epialtidae

| - | Los | ojos | carecen | de | órbitas |
|---|--------|----------|-------------|--------|---------|
| | verda | ideras o | incompleta | as. | |
| - | Pedú | nculos d | oculares co | rtos o | a veces |
| | atrofi | ados, p | udiendo ret | raerse | |

- Espina postocular está presente en algunos casos.
- Dáctilo de los pereiópodos puede ser prensil o subquelado.
- Los tres últimos pares suelen ser desproporcionalmente más cortos en comparación con el primero.
- Quelípedos móviles generalmente no son más grandes que sus apéndices locomotores.

*Modificado de (Castaño & Campos, 2003)

| Taxón | Localidad de colección | Código | Familia | Genb | ank ID |
|-----------------------------------|---|---------------------------|------------|--------------|--------------|
| | | | | 168 | COI |
| Acanthonyx petiverii | USA: Gulf Specimen Marine Lab | Acanthonyx petiverii_1 | | - | EU682854 |
| Acanthonyx petiverii | Panamá: Bocas Del Toro | Acanthonyx petiverii_2 | | MK971504.1 | MN184066 |
| Menaethius monoceros ^a | Japón: Shimoda | Menaethius monoceros_1 | | EU682804 | EU682856 |
| Mimulus foliatus | USA: Bodega Bay, CA | Mimulus foliatus_1 | | EU682808 | EU682859 |
| Pugettia dalli | USA: Sur de CA, | Pugettia dalli_1 | | EU682810 | EU682860 |
| Pugettia gracilis | USA: Humboldt, CA | Pugettia gracilis_1 | | EU682812 | EU682862 |
| Pugettia producta | Canadá: British Columbia, Tonquin Park | Pugettia producta_1 | | EU682817 | KX039781 |
| Pugettia quadridens | Japón: Shizugawa | Pugettia quadridens_1 | ialtidae | EU682821 | EU682866 |
| Pugettia richii | USA: Bodega Bay, CA | Pugettia richii_1 | Epi | EU682826 | EU682871 |
| Taliepus dentatus | Chile | Taliepus dentatus_1 | | EU682827 | EU682872 |
| Taliepus nutallii | USA: Los Ángeles, CA | Taliepus nutalli_1 | | EU682828 | EU682873 |
| IND196 | Chile: Caleta Chome, Biobío | Cangrejo IND196 | . . | \checkmark | \checkmark |
| IND197 | Chile: Pampilla, Coquimbo | Cangrejo IND197 | | \checkmark | × |
| IND221 | Chile: Tal tal, Antofagasta | Cangrejo IND221 | | \checkmark | \checkmark |
| IND222 | Chile: Las Salinas, Viña del Mar | Cangrejo IND222 | | \checkmark | \checkmark |

Tabla 4. Secuencias de distintas especies utilizadas en el presente estudio.

| (CAIND1) | | Cangrejo Epialtidae 1 | | \checkmark | \checkmark |
|-----------------------|---------------|------------------------|----------|--------------|--------------|
| (CAIND2) | | Cangrejo Epialtidae 2 | | \checkmark | \checkmark |
| (CAIND3) | | Cangrejo Epialtidae 3 | | \checkmark | \checkmark |
| (CAIND4) | | Cangrejo Epialtidae 4 | | \checkmark | \checkmark |
| (CAIND5) | | Cangrejo Epialtidae 5 | | \checkmark | \checkmark |
| (CAIND6) |)(0 | Cangrejo Epialtidae 6 | ialtidae | \checkmark | \checkmark |
| (CAIND7) | me, Biol | Cangrejo Epialtidae 7 | Ep | × | × |
| (CAIND8) | aleta Cho | Cangrejo Epialtidae 8 | | × | × |
| (CAIND9) | Chile: C | Cangrejo Epialtidae 9 | | × | \checkmark |
| (CAIND10) | | Cangrejo Epialtidae 10 | | × | \checkmark |
| (CAIND11) | | Cangrejo Epialtidae 11 | | × | × |
| (CAIND12) | | Cangrejo Epialtidae 12 | | × | × |
| (CAIND13) | | Cangrejo Epialtidae 13 | | \checkmark | × |
| (CAIND14) | | Cangrejo Epialtidae 14 | | × | × |
| T. dentatus_Macho | | | | <u> </u> | <u> </u> |
| adulto 1 (CAIND15) | Leng | | | ~~ | ** |
| T. dentatus_Macho | leta | | 0 | × | ¥ |
| adulto 2 | Cal | | ltida« | ~ | ~ |
| (CAIDIO) | nile: obío | | [pia] | | |
| | Bi C | | H | | |

| T. dentatus_Hembra 3 (CAIND17) | × | \checkmark |
|-----------------------------------|---|--------------|
| T. dentatus Hembra 4 | × | × |
| (CAIND18) | | |
| | 1 | |

^a Indica al taxón outgroup. CA= California. 🛠 indican datos moleculares descartados - 🗸 indican datos

moleculares utilizados

| Individuos | Alga asociada | Etapa de desarrollo | Sexo | Talla del cap Ancho | arazón (mm) Longitud |
|---|-----------------------------|---------------------|---------------|------------------------|-------------------------|
| Cangrejo araña 1 (CAIND1) | | | | 5 | 7 |
| Cangrejo araña 2 (CAIND2) | | | | 6.6 | 8 |
| Cangrejo araña 3 (CAIND3) | Coralling sp | | | 4.4 | 6 |
| Cangrejo araña 4 (CAIND4) | (CAIND1 a 7) | | | 5 | 6.8 |
| Cangrejo araña 5 (CAIND5) | | | | 5 | 6.8 |
| Cangrejo araña 6 (CAIND6) | | ALLES | 0 | 5 | 7.35 |
| Cangrejo araña 7 (CAIND7) | | IUVEN | 4 INAD | 5 | 7.35 |
| Cangrejo araña 8 (CAIND8) | Trematocarpus dichotomus | IAS - 2 | TERN | 20 | 27 |
| Cangrejo araña 9 (CAIND9) | | ECLUT | IUNI | 7 | 10 |
| Cangrejo araña 10 (CAIND10) | Corallina sp | R | | 9 | 12 |
| Cangrejo araña 11 (CAIND11) | (CAIND9 a 13) | | | 6 | 10 |
| Cangrejo araña 12 (CAIND12) | | | | 5 | 7 |
| Cangrejo araña 13 (CAIND13) | | | | 11 | 16 |
| Cangrejo araña 14 (CAIND14) | Trematocarpus dichotomus | | | 10 | 16 |
| <i>T. dentatus</i> _Macho adulto 1 | | | SC | 85 | 98 |
| (CAIND15) T. dentatus_Macho adulto 2 (CAIND16) | Lessonia trabeculata – | los | MACHC | 84 | 98 |
| <i>T. dentatus</i> _Hembra ovígera 3 | Macrocystis pyrifera | DUL | AS | 65 | 71 |
| (CAIND17) T. dentatus Hembra ovígera 4 (CAIND18) | (CAIND 15 a 18) | < | HEMBR | 61 | 71 |

Tabla 5. Tamaño, sexo y estado de desarrollo de los ejemplares analizados y obtenidos en Caleta Chome y Caleta Lenga

Tabla 6. Comparación de caracteres diagnósticos de especies de cangrejo araña

consideradas en el presente estudio

| Caracteres | | Acanthonyx petiverii* | <i>Taliepus dentatus</i> (adultos) | Ejemplares de Caleta Chome |
|-------------------------------------|---|--|--|--|
| Caparazón | Forma, distribución de las setas y tubérculos | Forma subpentagonal, presenta 2 lóbulos laterales lisos o tubérculos sin patrón de dibujo; márgenes laterales casi paralelos o 3 lóbulos paralelos laterales lisos. | Forma de campana o suborbicular convexo en ambas direcciones, de color oliváceo o marrón con puntos pardos. Posee tres dientes agudos en ambos lados, con el primero cerca de los ojos es el más pequeño, el segundo con forma de medialuna o gancho, el tercero reducido y un cuarto es tuberculado y remo. Aunque no tiene setas en el caparazón, muestra dos pequeños tubérculos circulares en la región proto – gástrica. | Forma subpentagonal, posteriormente redondeado con patrones de color café oscuro y rojo, mientras que otros ejemplares son lisos de tono oliváceo lisos. Presentan dos dientes laterales curvados hacia delante y hacia arriba, el diente próximo a los ojos es menor que el segundo. Además, cuentan con mechones de setas en la superfície de los dos tubérculos reducidos que marcan la zona anterior de la posterior y presenta dos o más tubérculos setosos en la región gástrica anterior. |
| Rostrum | Forma, distribución y tipo de setas presentes | Forma de "U" y bífido. Superficie dorsal del rostrum con hilera de setas a cada lado, entre el lóbulo pre – orbital y la punta del rostrum. | Rostro corto que se divide en dos, con un margen engrosado en el borde dorsal del seno orbital, el cual esta semipunteado ojos visibles desde la parte superior del caparazón. | Rostrum corto, bifurcado o bifido, con setas de distintos tamaños y grosores, incluyendo la bifurcación. Ojos visibles desde la parte superior del caparazón, y en la superficie dorsal del seno de los ojos, hay lóbulos con mechones setas cortas. |
| Diente o lóbulo "preorbital" | Presenta o ausenta setas, tipo de setas | Diente elevado no puntiagudo, presenta variables setas en su margen lateral. | Diente pre orbital ligeramente elevado, con forma de gancho y sin presencia de setas. | Diente pre orbital ligeramente elevado, con forma de gancho y sin presencia de setas. |
| Región hepática | Forma; presenta o ausenta setas | Ángulos casi rectangulares, sus lóbulos laterales se curvan hacía delante y hacia arriba, con setas cortas. | Margen lateral dentado y curvado hacia delante sin presencia de setas. | Margen lateral dentado y curvado hacia delante con presencia de setas de diferentes longitudes y grosores |
| Región gástrica, e intestinal | Presenta o ausenta setas y tubérculos, distribución y tipo de setas | Región proto – meso gástrica con 3 tuberculos setosos, dos ubicados en la región proto gástrica y uno en la meso gástrica. | Región proto – meso gástrica muestra una leve elevación convexa en ambas direcciones y contiene 2 tubérculos. Ambos localizados en la región proto – gástrica. Región intestinal con dos tubérculos remos en el borde posterior. | Región proto – meso gástrica tiene una leve elevación con 2 a 3 tubérculos setíferos. Dos de estos tubérculos están en la región proto – gástrica, mientras que el tercero es visible solo en algunos ejemplares en la región meso – gástrica. Además, algunos ejemplares presentan un patrón blanco en la región urogástrica. En la región intestinal, hay dos tubérculos setosos en el borde posterior. |

| Región branquial | Presenta o ausenta de tubérculos, tipo de setas | Lóbulos laterales tuberculados no punteados con presencia de setas cortas. | Márgenes laterales tuberculados y curvados hacia delante, sin presencia de setas. | Márgenes laterales tuberculados y curvados hacia delante, con presencia de setas de diferentes longitudes y grosores. |
|-----------------------------------|---|--|--|---|
| Articulación de las antenas | Forma; posición de las antenas con relación al rostrum, distribución y tipo de setas. | Base más ancha que el segmento articular distal, ambos subcilíndricos sin proyecciones anterolaterales y las puntas con setas cortas. | No sobrepasan el rostrum y son segmentadas, ambas subcilíndricas. No se observaron setas. | en vista ventral, ambas subcilíndricas y articuladas; la base articular es más ancha que el extremo articular distal y llegan al final del rostrum, no se observaban setas cortas. |
| Quelípedos | Tamaño; Presenta o ausenta de setas | Dentados o lisos, menos robustos, cortos y más pequeños que el primer par de pereiópodo. | En machos, son robustos en comparación con las hembras, llegando incluso al doble de tamaño. Sin embargo, no alcanzan a ser más largos que el primer par de pereiópodos. No se observaron setas. | Cortos e hinchados en comparación al primer par de pereiópodos, se observan setas en los segmentos Ischio, Mero y Carpo. |
| Ischio | Presenta o ausenta de setas, tipo de setas | Forma subrectangular, en el extremo distal con l a 5 setas en zona ventral. | Forma subtriangular ventralmente y lisa, sin setas. | Forma subrectangular, presenta en su zona ventral una seta corta en sus primer y segundo par de pereipopodos. |
| Mero | Forma; presenta o ausenta setas, lóbulos, distribución y tipo de setas | Con 3 lobulos setiferos en el extremo distal, 1 central y 2 laterales; 1 a 2 setas en la superficie dorsoproximal; una fila de 1 a 3 setas en la superficie ventral. | Alargado y robusto, con 2 crestas dorsolaterales superiores, presenta dos tubérculos, uno en la cara dorsal proximal del segmento y el segundo tendiente a central. En vista ventral es convexo distalmente y presenta un únicotubérculo cerca del extremo proximal. | Alargado con lóbulos setiferos; uno en el extremo distal central y dos laterales; en su lóbulo central 1 a 3 setas y en su extremo distal varias setas. |
| Carpo | Forma; presenta o ausenta setas, distribución y lóbulos | Con lóbulo setifero en la cresta externa, algunas veces liso; 3 tuberculos setiferos, 1 proximal, 1 distal y 1 central; fila de setas cortas a lo largo del margen interior. | Presenta una cresta corta formada en el angulo antero-interno superior. De forma subrectangular. Sin setas. | Subrectangular y presenta una cresta longitudinal en la superficie dorsal y se pueden observar lóbulos laterales setiformes en la zona dorsodistal de los pereipopodos. En el mismo segmento, con relación a los quelípedos, se encuentran cuatro tubérculos setiferos; uno central, 1 en la parte proximal y 2 en extremo distal. |
| Propodio | Forma; presenta o ausenta de setas, distribución y tipo de setas | Forma alargada y liso. Pollex de las quelas liso con procesos submolares. Con mechones de setas en el extremo distal. | Forma alargada subrectangular y liso, sin setas. Pollex de las quelas con procesos submolares. Sin setas. | Forma alargada y subtriangular, márgenes laterales agrandados y comprimidos superiormente. Mechones abundantes de setas en la zona ventral elevados distalmente. Pollex de las quelas con procesos submolares. |

| Dáctilo | Forma; presencia o ausencia de espacio entre los "dáctilos". presenta o ausenta de setas | Con procesos submolares en lasquelas. Superficie ventral con dos filas de setas cortas en los pereiópodos. | Dentado con forma de gancho en su punta distal de los pereiópodos, la superficie ventral muestra dos filas deespinas cortas y con procesos submolares en las quelas. Blanqueado ensu extremo distal. | Dentado en su punta distal en sus pereiópodos y forma de gancho subquelado, la superficie ventral muestra dos filas de setas cortas. Con procesos submolares en las quelas. |
|------------------------|--|--|--|--|
| Esternón | Forma; presenta o ausenta de setas | Esternón torácico liso, todos los esternitos fusionados y suturas visibles | Esternón torácico de superficie lisa y segmentado, sin setas. | Esternón torácico de superficie lisa y segmentado, sin setas. |
| Esternito abdominal | Forma; presenta o ausenta de setas | Forma triangular en machos y ancho elíptico en hembras. Abdomen con superficie lisa,telson semi-circular, esternito N° 2 a 6 fusionados con suturas visibles e inamovibles, el 6 casi trapezoidal, 4 y 5 alargado y unidos. | Forma triangular en machos y ancho elíptico en hembras. N° 2, 3 y 4 trapezoidales, casi iguales en forma y tamaño, 5 alargado en comparación a los otros, 6 con márgenes cóncavos y convexo en su extremo distal, telson triangular. | Con forma triangular. N° 2, 3 y 4 trapezoidales, casi iguales en forma y tamaño, 5 alargado en comparación a los otros, 6 con márgenes cóncavos y convexo en su extremo distal, telson triangular. |
| Pereiópodos | Tamaño; presenta o ausenta de setas. | Subquelados, el 4 par es más pronunciado, disminuyendo en tamaño hasta el 1er par, con algunas setas o ausenta a veces. | pereiópodos son comprimidos, con dáctilos prensiles, fornidos y dentados. El primer par de pereiópodos, que es más largo que el resto. Sin setas visibles | Subquelados, decrecen de tamaño del primero al cuarto par, setas presentes o algunos ausentes mencionados previamente en cada uno de los segmentos. |

*Adaptado de Tamburus, A. F., & Mantelatto, F. L. (2016) y (Emparanza et al., 2007)

REFERENCIAS

- Aracena, O. (1974). La población de *Taliepus dentatus* en Caleta Leandro (Crust. Dec. Majidae). Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción, (48):423-443.
- Boschi, E. E. (2000). Biodiversity of marine decapod brachyurans of the Americas. *Journal of Crustacean Biology*, 20(5), 337-342.
- Castaño, N. C., & Campos, N. H. (2003). Los cangrejos araña (Decapoda: Brachyura: Majoidea) del caribe colombiano. *Biota colombiana*, *4*(2), 261-269.
- Coelho, P., & Torres, M. (1993). Taxonomia e distribuição das espécies do gênero Acanthonyx Latreille no Brasil (Crustacea, Decapoda, Majidae). *Trab. Oceanogr. Univ. Fed. Pe*, 22, 221-241.
- Emparanza, E. J., Guzmán, G. L., & Ng, P. K. (2007). A redescription of *Acanthonyx petiverii* H.
 Milne Edwards, 1834, and designation of a neotype for *Acanthonyx simplex* Dana, 1852 (Brachyura, Majidae). *Crustaceana*, 533-543.
- Fagetti, E., & Campodonico, I. (1971). Desarrollo larval en el laboratorio de *Taliepus dentatus* (Milne-Edwards) (Crustacea Brachyura: Majidae, Acanthonychinae). *Revista de Biologia Marina*, 14(3), 1-14.
- Ferratges, F. A. (2017). *Los crustáceos fósiles de las cuencas Surpirenaicas*. Asociación Cultural Bajo Jalón.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol*, 3(5), 294-9.

Garth, J. S. (1957). Reports of the Lund University Chile Expedition 1948-49. 29. The Crustacea

Brachyura of Chile. Lund Univ. Årsskr., N. F.2, 53(7), 3-127.

- Garth, J. S. (1958). Brachyura of the Pacific coast of America, Oxyrhyncha. *Allan Hancock Pacific Expeditions*, 21(1), 1-499.
- Griffin, D. (1986). The decapoda brachyura of the Siboga expedition, Part VIII, Majidae. *Siboga-Expeditie Monographie*, *39*, 335.
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic acids symposium series,
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., & DeWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313-321.

Hendrickx, M. (1992). Distribution and zoogeographic affinities of decapod crustaceans of the

Gulf of California, Mexico. Proceedings of the San Diego Society of Natural History, 20(1), 1-11.

- Hines, A. H. (1982). Coexistence in a kelp forest: size, population dynamics, and resource partitioning in a guild of spider crabs (Brachyura, Majidae). *Ecological Monographs*, 52(2), 179-198.
- Hultgren, K. M., & Stachowicz, J. J. (2008a). Alternative camouflage strategies mediate predation risk among closely related co-occurring kelp crabs. *Oecologia*, *155*, 519-528.
- Hultgren, K. M., & Stachowicz, J. J. (2008b). Molecular phylogeny of the brachyuran crab superfamily Majoidea indicates close congruence with trees based on larval morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48(3), 986-996.
- Hultgren, K. M., & Stachowicz, J. J. (2010). Size-related habitat shifts facilitated by positive preference induction in a marine kelp crab. *Behavioral Ecology*, *21*(2), 329-336.
- Jofre Madariaga, D., Ortiz, M., & Thiel, M. (2013). Demography and feeding behavior of the kelp crab *Taliepus marginatus* in subtidal habitats dominated by the kelps *Macrocystis pyrifera* or *Lessonia trabeculata*. *Invertebrate Biology*, *132*(2), 133-144.
- Leighton, D. L. (1966). Studies of food preference in algivorous invertebrates of southern California kelp beds. *Pacific Science 20(1)*, 104-113.
- Manning, R. B., & Holthuis, L. B. (1981). West African brachyuran crabs. Smithsonian Contributions to Zoology 306, 1–379.
- Mastro, E. (1981). Algal preferences for decoration by the Californian kelp crab, *Pugettia producta* (Randall) (Decapoda, Majidae). *Crustaceana*, 40(1), 64-70.
- Matzen da Silva, J., et al. (2011). "Systematic and evolutionary insights derived from mtDNA COI barcode diversity in the Decapoda (Crustacea: Malacostraca)." <u>PLoS one</u> **6**(5): e19449.
- Ng, P. K., Guinot, D., & Davie, P. J. (2008). Systema Brachyurorum: Part I. An annotated checklist of extant brachyuran crabs of the world. *The raffles bulletin of zoology*, *17*(1), 1-286.
- Palma, A. T., Soto-Gamboa, M., & Ojeda, F. P. (2011). Ontogenetic habitat shift of an herbivorous crab: a chemically mediated defense mechanism? *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 46(3), 329-338.
- Palumbi, S. (1991). Simple fool's guide to PCR. A Collection of PCR protocols. University of Hawaii, Honolulu.
- Pardo, L. M., Palma, A. T., Prieto, C., Sepulveda, P., Valdivia, I., & Ojeda, F. P. (2007).Processes regulating early post-settlement habitat use in a subtidal. *Journal of*

Experimental Marine Biology and Ecology, 344(1), 10-22.

Rathbun, M. J. (1925). The spider crabs of America (Vol. 129). US Government Printing Office.

- Retamal, M. A. (1981). *Catálogo ilustrado de los crustáceos decápodos de Chile* (Vol. 44). Universidad de Concepción.
- Retamal, M. A., & Moyano, H. I. (2010). Zoogeografía de los crustáceos decápodos chilenos marinos y dulceacuícolas. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 38(3), 302-328.
- Tamburus, A. F., & Mantelatto, F. L. (2016). Taxonomic and biogeographical status of three species of the spider crabs of the genus *Acanthonyx* Latreille, 1828 (Majoidea: Epialtidae) as determined by DNA barcoding and morphological analyses along the Western Atlantic. *Zoological Studies*, 55, 23-55.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., & Kumar, S. (2011). MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28(10), 2731-2739.
- Vélez, M. M. (1977). Distribución y ecología de los Majidae (Crustacea: Brachyura) en la región de Santa Marta, Colombia. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, *9*, 109-140.
- Wagner, H. P. (1990). The genera Mithrax Latreille, 1818 and Mithraculus White, 1847 (Crustacea: Brachyura: Majidae) in the western Atlantic Ocean. Zoologische verhandelingen, 264(1), 1-65.
- Wicksten, M. K. (1979). Decorating behavior in *Loxorhynchus crispatus* Stimpson and *Loxorhynchus grandis* Stimpson (Brachyura, Majidae). *Crustaceana. Supplement 5*, 37-46.
- Wicksten, M. K. (1993). A review and a model of decorating behavior in spider crabs (Decapoda, Brachyura, Majidae). *Crustaceana*, 64(3), 314-325.
- Wilson P, R. (1987). Substrate selection and decorating behavior in *Acanthonyx petiveri* related to exoskeleton color (Brachyura, Majidae). *Crustaceana*, 52(2) 135-140.
- Yu, H.-P., Ng, P., & Wu, S.-H. (1999). Acanthonyx formosa, a new species of spider crab (Decapoda, Brachyura, Majidae) from seaweed beds in Taiwan. Crustaceana, 72(2), 193-202.
- Zuñiga-Romero, O. (2002). Guía de biodiversidad No. 2: Crustáceos, Vol. 1 Macrofauna y algas marinas. Centro Regional de Estudios y Educación Ambiental, CREA, Chile. 38 p. In.