



Diversidad genética de *Ucides occidentalis* (Ortmann 1897) (Crustacea: Decapoda: Brachiura) basada en el gen 16S ARNr en Tumbes, Perú

Genetic Diversity of *Ucides occidentalis* (Ortmann 1897) (Crustacea: Decapoda: Brachiura) based on 16S rRNA gene in Tumbes, Peru

Alberto Ordinola-Zapata^{1,*}; Eneida G. Vieyra-Peña¹; Beder E. Ramírez-Segura²; Katherine Y. Saavedra-Olivos²

¹ Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar, Universidad Nacional de Tumbes. Calle Los Ceibos S/N, Puerto Pizarro, Tumbes, Perú.

² Universidad Nacional de Tumbes. Av. Universitaria s/n, Tumbes. Perú.

Received April 12, 2018. Accepted May 11, 2018.

Resumen

El cangrejo del manglar *Ucides occidentalis* es una especie clave en el manglar pues recicla hasta el 84% de su hojarasca, así también es el cangrejo más explotado en la región Tumbes, tanto así que su población se ha reducido drásticamente, hasta 35,8% en 11 años, esta situación puede llevar a que se necesite hacer su repoblamiento, el que para ser adecuadamente realizado requiere del conocimiento de su genética poblacional. En esta investigación se buscó determinar la diversidad genética de *U. occidentalis* en el manglar de Tumbes, en base al estudio de un fragmento del gen 16S ARNr. De 38 muestras de ADN de *U. occidentalis* recolectados del manglar de Tumbes, se amplificó y secuenció fragmentos del gen 16S ARNr, los que al ser analizados indicaron polimorfismo (tasa de polimorfismo de 52,64%), una alta diversidad genética (indicada por el alto número de haplotipos: 16 y la diversidad de haplotipos: 0,721; así como por el promedio de diferencias en nucleótidos: 1,677 y la diversidad nucleótida: 0,00381), así como una baja estructura genética poblacional (evaluada mediante AMOVA con variabilidad genética entre poblaciones de 11%). De igual manera se evidenció que no existió relación entre la distancia genética y la distancia geográfica (coeficiente de correlación de Pearson del test de Mantel, $r = -0,003$).

Palabras clave: *Ucides occidentalis*; gen 16S ARNr; manglar; diversidad genética.

Abstract

The mangrove crab *Ucides occidentalis*, is a key specie in the mangrove for recycle up to 84% of its leaves, also it is the crab most exploited in the Tumbes region, so much so that its population has dramatically shrunk, to 35.8% in 11 years, this situation can lead to repopulation needs to be done, which to be done properly requires knowledge of their population genetics. In this study we sought to determine the polymorphism, genetic diversity and population genetic structure of *U. occidentalis* in the mangroves of Tumbes, based on the study of a 16S rRNA gene fragment. Of 38 *U. occidentalis* DNA samples collected from the mangrove Tumbes, we amplified and sequenced the 16S rRNA gene fragments, which when analyzed showed polymorphism (polymorphism rate of 52.64%), a high genetic diversity (indicated by the high number of haplotypes: 16 and haplotype diversity: 0.721; and the average of differences in nucleotide: 1.677 and nucleotide diversity: 0.00381), and a low population genetic structure (assessed by MANOVA with genetic variability among populations of 11%). Similarly, it became clear that there was no relationship between genetic distance and geographic distance (Pearson correlation coefficient Mantel test, $r = -0.003$).

Keywords: *Ucides occidentalis*; 16S rRNA gene; mangrove swamp; genetic diversity.

1. Introducción

El cangrejo del manglar *Ucides occidentalis* es una especie de alto valor comercial, geográficamente se extiende desde Isla Espíritu Santo en Baja California

(México) hasta el estero de San Pedro de Vice en Piura (Perú) (Alemán y Ordinola, 2017; Zambrano y Meiners, 2018), ecológicamente es una especie clave del manglar de Tumbes, al igual que su especie

* Corresponding author

E-mail: aordinolaz@untumbes.edu.pe (A. Ordinola-Zapata).

© 2018 All rights reserved

DOI: 10.17268/sci.agropecu.2018.02.11

hermana *Ucides cordatus* recicla hasta el 84% de las hojas de mangle, evitando la pérdida de nutrientes del manglar, permitiendo la oxigenación de sus suelos, jugando un papel relevante en el ciclo del carbono en el manglar, pudiendo sumir CO₂ en el sustrato mediante sus heces y a la vez incrementar la exportación de CO₂ del sustrato al aire mediante la remoción del sustrato (Pülmanns et al., 2014; Zambrano, 2017; da Silva et al., 2017), es también el cangrejo más explotado en Tumbes; su población se redujo drásticamente, de 120 millones en 1996 a 77,06 millones en 2007, un decrecimiento del 35,8% en 11 años (Ordinola et al., 2010; Ordinola-Zapata, 2012), esto también podría reducir su diversidad genética de acuerdo a la teoría neutral de la variación genética lo que perjudicaría la capacidad de la especie para resistir enfermedades y cambios ambientales (Hague y Routman, 2016).

La situación de *U. occidentalis*, es parecida a la que experimentó *U. cordatus*, en Brasil, que sufrió una caída poblacional de 97,6% debido a la sobreexplotación, la contaminación y a la explotación del cangrejo letárgico (Orélis-Ribeiro et al., 2017). Para contrarrestar dicha situación, se implementaron desde 2001, programas de repoblamiento. Es probable que en algún momento se necesite tomar una medida similar con *U. occidentalis* en Tumbes.

Todo programa de repoblamiento no solo debe incrementar el tamaño poblacional sino también mantener la diversidad genética. Los estudios sobre la diversidad genética de *U. occidentalis* son muy limitados y contradictorios, así Ratti y Muñoz (2010), indicaron que la diversidad genética de *U. occidentalis* en Guayaquil (Ecuador) fue baja, mientras que Ordinola-Zapata (2012), utilizando un fragmento del gen citocromo oxidasa I (COI), la reportó como alta en el manglar de Tumbes, Perú; de igual manera García y Risco (2015) trabajando en la misma área y con el mismo gen, reportaron diversidad alta; cabe señalar que en el caso del cangrejo de manglar *Ucides cordatus* en Brasil, que

tiene características biológicas y de explotación similares, también se ha determinado alta diversidad genética (Ewald, 2006; Britto et al., 2009; Cottens, 2009; Oliveira, 2009; Alves, 2013; de Oliveira-Neto et al., 2014; Banci et al., 2017) por lo que es probable que *U. occidentalis* realmente tenga alta diversidad genética.

A fin de poder confirmar si *U. occidentalis* muestra alta diversidad genética en el manglar de Tumbes (Perú), se decidió utilizar muestras de ADN de estos cangrejos para amplificar un fragmento del gen 16S ARNr, el cual es uno de los varios genes mitocondriales utilizados para estudios genéticos, esto debido a que los genes del ADN mitocondrial (ADNmt) tienen ciertas ventajas, en este aspecto, sobre los genes del ADN nuclear (ADNn), tales como la existencia de una alta cantidad de copias de ADNmt en cada célula frente a una única copia de ADNn, pues existen cientos o miles de mitocondrias en cada célula, cada una de las cuales posee múltiples copias de ADNmt; adicionalmente el ADNmt, es haploide, se hereda por línea materna y muta hasta 10 veces más rápido que el ADNn (Shih et al., 2011; Patwardhan et al., 2014; Hui et al., 2017).

Entre los genes que forman el ADNmt, el gen 16S ARNr ha sido utilizado en varios estudios para evaluar la diversidad genética en poblaciones de diferentes organismos, así esta investigación tuvo como objetivo evaluar la diversidad genética utilizando un fragmento del 16S ARNr de *U. occidentalis* en los manglares de Tumbes.

2. Materiales y métodos

2.1. Población y muestra

La población correspondió a los cangrejos *U. occidentalis* que habitaron el ecosistema de manglar de Tumbes en 2012. La muestra fue ADN extraído de 45 cangrejos colectados en nueve estaciones de muestreo del manglar de Tumbes entre junio y julio de 2012 (Figura 1) cuyas coordenadas geográficas se aprecian en la Tabla 1.

Tabla 1
Coordenadas de los puntos de muestreo de *U. occidentalis*

Estación	Canal de marea o isla	Coordenadas geográficas	
		Latitud	Longitud
1	El Algarrobo	03° 26' 44,6" S	80° 15' 49,4" O
2	Zarumilla	03° 26' 36,5" S	80° 16' 05,2" O
3	Isla Matapalo	03° 26' 19,8" S	80° 16' 43,3" O
4	Jelí	03° 29' 37,5" S	80° 22' 16,2" O
5	Isla El Tanque	03° 30' 07,4" S	80° 23' 56,1" O
6	El Monteo	03° 30' 53,0" S	80° 25' 16,4" O
7	La Chepa	03° 33' 50,1" S	80° 31' 31,2" O
8	Corrales	03° 33' 11,7" S	80° 31' 06,4" O
9	Corrales	03° 32' 32,8" S	80° 30' 49,6" O

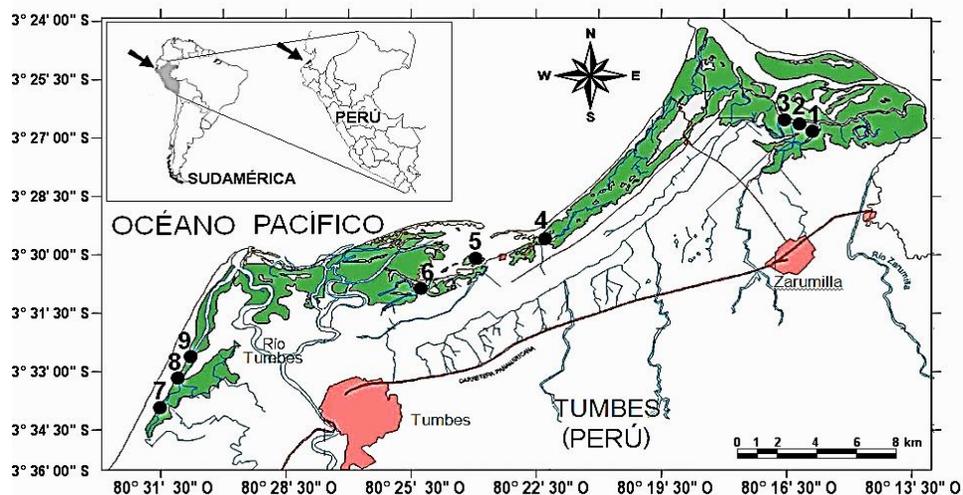


Figura 1. Estaciones de muestreo de *U. occidentalis* en el manglar de la región Tumbes (Perú). Zona Norte: (1) El Algarrobo, (2) Zarumilla, (3) Isla Matapalo. Zona Centro: (4) El Jeli, (5) Isla El Tanque, (6) El Monteo. Zona Sur: (7) La Chepa, (8) Corrales 1 y (9) Corrales 2.

2.2. Amplificación y secuenciación del fragmento del gen 16S ARNr por PCR
La amplificación se hizo con los *primers* de Palumbi *et al.* (1991) (*Primer* directo: 16Sar-L: 5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3' y *Primer* inverso: 16Sbr-H 5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3').

Los ensayos de PCR se llevaron a cabo en un volumen de 25 μ l en un equipo termociclador de punto final (marca Techne modelo FTC3102D, Reino Unido). Para cada reacción se utilizó el kit de PCR *Taq DNA Polymerase recombinant* (marca Thermo Fisher Scientific, USA) conformado por 2,5 μ l de buffer PCR RXn (10X), 2,5 μ l de $MgCl_2$ (25 mM) y 0,25 μ l de *Taq polimerasa* (5 U/ μ l); además se complementó con los siguientes reactivos: 0,5 μ l de *mix* de desoxiribonucleótidos trifosfato de 10 mM de cada dNTP, 1 μ l de albúmina de suero bovino (BSA) que fueron de la misma marca del kit, 0,5 μ l de cada *primer* de 10 pMol/ μ l (marca Integrated DNA Technologies, USA), 16,75 μ l de agua libre de nucleasas (marca Thermo Fisher Scientific, USA) y 0,5 μ l del ADN de *U. occidentalis*. El termociclador fue programado con 1 ciclo de predesnaturalización a 95 °C por 5 min, seguido de 40 ciclos de amplificación (desnaturalización a 94 °C por 30 s, hibridación a 50 °C por 45 s y polimerización a 72 °C por 1 min) y finalmente 1 ciclo de polimerización final a 72 °C por 7 min. La electroforesis se realizó a 68 V por 30 min en gels de agarosa al 2%

con 5 μ l de bromuro de etidio (0,006% v/v) (marca Merck, USA). Los gels fueron visualizados en transiluminador UV (marca UVP modelo White/UV, USA). Los amplicones fueron enviados para su secuenciación a Macrogen (Maryland, USA).

2.3. Análisis de las secuencias nucleótidas
De 45 muestras enviadas para secuenciación, 38 produjeron secuencias interpretables que fueron editadas con el software Mega versión 6 (software libre). Las secuencias de cada una de las muestras fueron buscadas en la base de datos GenBank, para confirmar si el producto de PCR correspondía al fragmento del gen 16S ARNr. Luego, las secuencias fueron exportadas al software GenAlex versión 6 (software libre) para obtener indicadores de diversidad genética como: número de alelos (N_a), diversidad de haplotipos (h), matriz de distancia genética de Nei. Se usó Mega versión 6 para construir un árbol filogenético sin raíz para las secuencias de *U. occidentalis* y las más similares en GenBank. Se usó el software dnaSP versión 5 (software libre) para calcular la diversidad nucleótida (π). La existencia de estructuración genética poblacional se analizó mediante el análisis molecular de varianza (AMOVA) y el test de Mantel implementados en el software GenAlex versión 6. Las 38 secuencias del fragmento 16S ARNr de *U. occidentalis* fueron depositadas en GenBank con

números de acceso entre KT705318 a KT705355.

3. Resultados y discusión

3.1. Características del fragmento del gen 16S ARNr mitocondrial

El fragmento del gen 16S ARNr de *U. occidentalis*, tuvo una longitud de 440 pb con 420 posiciones monomórficas y 20 polimórficas. No se detectó ningún *gap*, lo cual indicó una adecuada alineación. La composición porcentual de nucleótidos de las secuencias fue: adenina (35,4%), citosina (8,9%), guanina (18,6%) y timina (37,1%) mostrando un bajo nivel de citosina y guanina (27,5%) y un nivel más elevado de adenina y timina (72,5%), datos que son similares a los calculados para las secuencias del fragmento del gen 16S ARNr de *U. cordatus* depositados en

GenBank (códigos de acceso: AY077477.1, AY077479.1, AY077475.1 y AY077477.1, estas secuencias fueron depositadas por Sampaio, Santos y Schneider de una investigación no publicada) que fueron: longitud de 452 pb con 34,3% de adenina, 9,7% de citosina, 19,2% de guanina y 36,8% de timina). Estos datos también son similares a los obtenidos en el cangrejo violinista *Uca sindensis* con 548 pb y composición: 32,7% de adenina, 11,4% de citosina, 19,9% de guanina y 36,0% de timina (Shih et al., 2015); en los cangrejos *Scylla* spp. con 500 pb y 36,24% de adenina, 11,6% de citosina, 18,6% de guanina y 34,0% de timina (Sarower et al., 2017); así como en los cangrejos del género *Metopograpsus* con 538 pb y 35,0% de adenina, 11,0% de citosina, 19,2% de guanina y 34,7% de timina (Fratini et al., 2018)

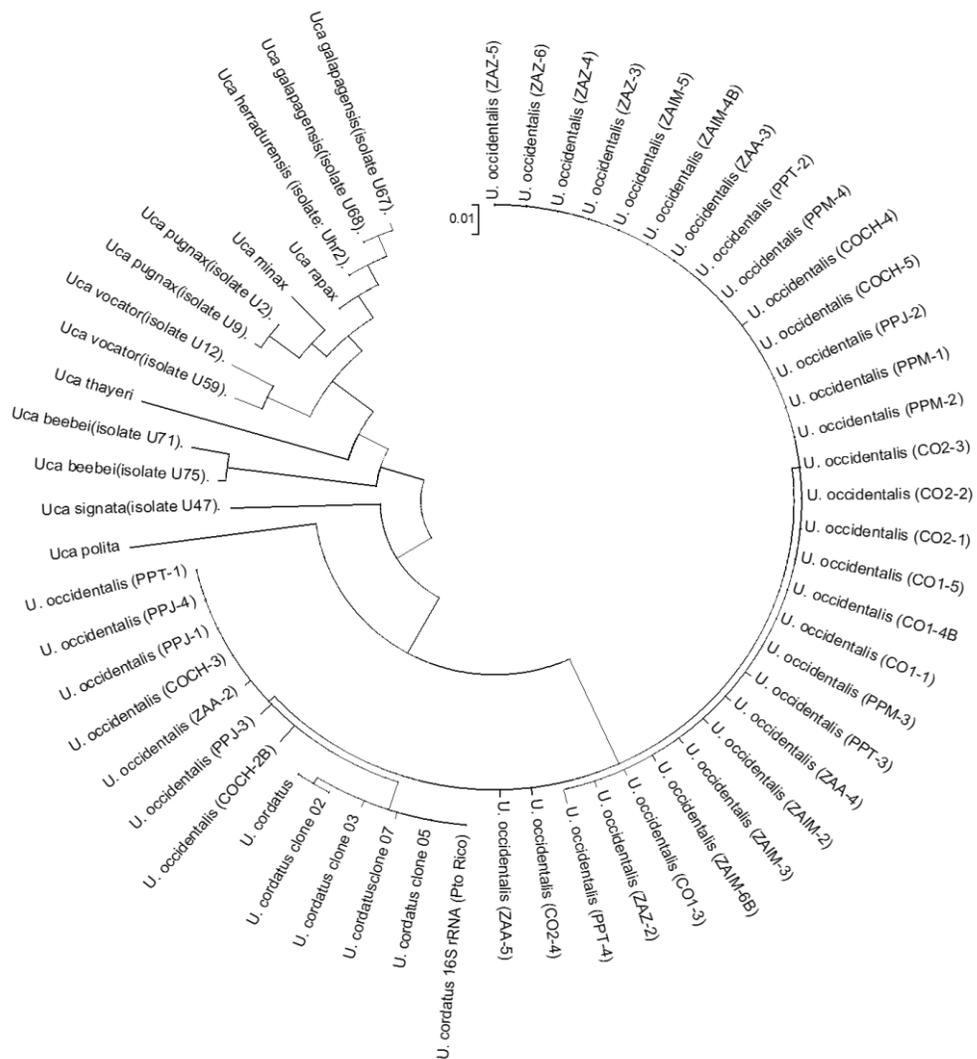


Figura 2. Árbol filogenético sin raíz de las secuencias del fragmento del gen 16S ARNr de *U. occidentalis* del presente estudio, así como de grupos externos: *U. cordatus* y especies de *Uca*.

Esto muestra que la composición nucleótida del fragmento del gen 16S ARNr es muy similar a las correspondientes a las de otros cangrejos al tener alto contenido de adenina y timina (Fratini et al., 2018), y en particular a las de Ocypodidae.

En cuanto a la longitud de la secuencia se observó que lo obtenido en esta investigación fue 12 pb menor que las secuencias depositadas en GenBank (AY077477.1, AY077479.1, AY077475.1 y AY077477.1) de *U. cordatus* a pesar que se utilizaron los mismos primers, esto se debería a la pérdida de nucleótidos en los extremos de la secuencia durante el procesamiento.

La identidad del fragmento amplificado fue confirmada con las secuencias más similares en GenBank que correspondieron a fragmentos del 16S ARNr de braquiuros, con mayor similitud a *U. cordatus* (98 - 99%), seguidas de 10 especies del género *Uca* (88%). Esto confirmó que el fragmento del gen correspondió a 16S ARNr del género *Ucides*. El árbol filogenético sin raíz (Figura 2) mostró que *U. occidentalis* y *U. cordatus* forman un clado separado del de *Uca*.

3.2. Polimorfismo del gen 16S ARNr mitocondrial

El fragmento del gen 16S ARNr mostró un número elevado de haplotipos (16), con 20 individuos en el haplotipo más frecuente (52,64%) que estuvo bastante lejos del límite mínimo de 95% exigido para establecer monomorfismo (González, 2008), por lo que fue polimórfico.

3.3. Diversidad genética medida a través del gen 16S ARNr mitocondrial

La diversidad genética fue bastante alta de acuerdo a los parámetros analizados: diversidad basada en haplotipos ($hd = 0,721$), diferencia en nucleótidos: 1,677 nucleótidos y diversidad nucleótida ($\pi=0,00381$) (Tabla 2). Se observó una cantidad elevada de haplotipos (16) con el haplotipo más común (Hap 8), en 20 de 38 individuos (52,63%), mientras los 15 haplotipos restantes se hallaron entre 2,63% y 10,63%. El haplotipo más frecuente (Hap 8) estuvo presente en las 3 zonas de estudio; Hap 12 sólo en Puerto Pizarro y Zarumilla y los restantes 13 haplotipos en una sola zona de estudio (Tabla 3). Como se señaló el haplotipo más común se halla con una frecuencia de 52,63%; esta tasa es un indicador de que el fragmento del gen es polimórfico, pues la frecuencia del haplotipo más frecuente no supera el límite establecido, para declarar monomorfismo,

que es de 95% (González, 2008). Esta situación de polimorfismo del gen 16S ARNr se ha encontrado en otras especies de cangrejos así por ejemplo en el caso de dos especies de cangrejos de aguas profundas: *Chaceon quinquedens* en Nueva Inglaterra, EE.UU. (69,2%) y México (70%), *C. affinis* (33,3%) (Weinberg et al., 2003) y se sustenta en el hecho que los genes mitocondriales tienen altas tasas de mutación (Arif y Khan, 2009) con lo que es probable un alto número de haplotipos.

Tabla 2

Parámetros de diversidad genética en *U. occidentalis*

Parámetro	Valor
Diversidad de haplotipos (Hd)	0,721
Número promedio de diferencias en nucleótidos	1,677
Diversidad nucleótida (π)	0,00381

La distancia genética varió de 0,001 a 0,003 (las distancias de 0 representan la distancia para la misma estación), estos valores son bastante bajos y muestran una distribución uniforme de la diversidad genética (Tabla 4).

El cangrejo *U. occidentalis* mostró una alta diversidad genética, evaluada mediante el análisis de un fragmento del gen 16S ARNr mitocondrial, teniendo como parámetros: diversidad de haplotipos ($Hd = 0,721$), número promedio de diferencias en nucleótidos = 1,677 y diversidad nucleótida ($\pi = 0,00381$); Ordinola-Zapata (2012) encontró también alta diversidad genética al evaluar un fragmento del gen mitocondrial COI en *U. occidentalis* en los manglares de Tumbes, con parámetros: diversidad de haplotipos ($Hd = 0,9721$), número promedio de diferencias en nucleótidos = 4,396 y diversidad nucleótida ($\pi = 0,00810$); estos valores son superiores a los encontrados con el gen 16S ARNr, pero se justifica pues el gen COI tiene una tasa de mutación más alta que la del gen 16S ARNr (Arif y Khan, 2009). En otros estudios se ha demostrado también alta diversidad genética entre cangrejos tales como *U. cordatus* evaluados utilizando el gen COI (Ewald, 2006), *U. cordatus* usando la región de control mitocondrial y marcadores micro satélites (Oliveira, 2009), *Cardisoma guanhumu* usando un fragmento de la región de control mitocondrial (Oliveira, 2009; Amaral, 2014; Amaral et al., 2015), *Lithodes santolla* usando nueve marcadores mitocondriales (Barrera, 2016) y el cangrejo violinista *Uca sindensis* (Shih et al., 2015).

Tabla 3
Frecuencia de haplotipos en *U. occidentalis*

Haplotipo	Frecuencia							
	Zona norte Zarumilla		Zona centro Puerto Pizarro		Zona sur Corrales		Total	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Hap1	1	7,14	0	0,00	0	0,00	1	2,63
Hap2	0	0,00	1	8,33	0	0,00	1	2,63
Hap3	1	7,14	0	0,00	0	0,00	1	2,63
Hap4	1	7,14	0	0,00	0	0,00	1	2,63
Hap5	0	0,00	1	8,33	0	0,00	1	2,63
Hap6	1	7,14	0	0,00	0	0,00	1	2,63
Hap7	0	0,00	0	0,00	1	8,33	1	2,63
Hap8	7	50,00	6	50,00	7	58,33	20	52,63
Hap9	0	0,00	0	0,00	1	8,33	1	2,63
Hap10	1	7,14	0	0,00	0	0,00	1	2,63
Hap11	1	7,14	0	0,00	0	0,00	1	2,63
Hap12	0	0,00	3	25,00	1	8,33	4	10,53
Hap13	0	0,00	0	0,00	1	8,33	1	2,63
Hap14	0	0,00	0	0,00	1	8,33	1	2,63
Hap15	0	0,00	1	8,33	0	0,00	1	2,63
Hap16	1	7,14	0	0,00	0	0,00	1	2,63
Total	14	100,00	12	100,00	12	100,00	38	100,00

Tabla 4
Matriz de distancia genética de Nei según zona y estación de muestreo

Zona Norte (Zarumilla)			Zona Centro (Puerto Pizarro)			Zona Sur (Corrales)			Estaciones de muestreo
El Algarrobo	Isla Matapalo	Zarumilla	El Jeli	El Monteo	Isla El tanque	Corrale: 1	Corrales 2	La Chepa	
0,000									El Algarrobo
0,002	0,000								Isla Matapalo
0,001	0,000	0,000							Zarumilla
0,001	0,003	0,003	0,000						El Jeli
0,001	0,000	0,000	0,003	0,000					El Monteo
0,001	0,001	0,001	0,002	0,001	0,000				Isla El Tanque
0,001	0,001	0,000	0,003	0,000	0,001	0,000			Corrales 1
0,001	0,001	0,000	0,002	0,000	0,001	0,000	0,000		Corrales 2
0,001	0,002	0,002	0,001	0,002	0,001	0,002	0,001	0,000	La Chepa

3.4. Estructura genética poblacional

El nivel de estructuración genética poblacional de *U. occidentalis* aparece en el AMOVA de la tabla 5; la variabilidad genética principalmente se debe a la variabilidad de los individuos dentro de las poblaciones (89%) y en menor grado a la variabilidad entre poblaciones (11%), en este caso para las estaciones de muestreo, no existiendo variabilidad cuando se compara las 3 regiones (zonas de muestreo). Esto indica que la mayor variabilidad se halla distribuida entre los individuos dentro de las poblaciones y la estructuración genética poblacional es muy baja.

El test de Mantel (Tabla 6) basado en 9999 permutaciones, que evaluó la correlación entre las distancias genéticas basadas en el número de nucleótidos y las distancias geográficas de cada uno de los 38 ejemplares de *U. occidentalis* evaluados, mostró que no existió correlación entre la distancia genética y la distancia geográfica (coeficiente de correlación de Pearson, $r = -0,003$). Este valor fue estadísticamente significativo ($P(r_{xy} - \text{aleatorio}) \geq r_{xy} - \text{data}) = 0,482$). Como se observa, la estructura genética poblacional de *U. occidentalis*, es

muy baja, pues en el AMOVA, del 100% de variabilidad genética, 89% se da entre los individuos dentro de las poblaciones y sólo 11% en las diferencias entre poblaciones, con lo que se concluye que las poblaciones en las zonas de muestreo estudiadas son bastante similares y poseen baja estructuración genética, estos resultados concuerdan con lo encontrado por Ordinola-Zapata (2012) usando un fragmento del gen COI en *U. occidentalis* en el manglar de Tumbes, quien obtuvo, al aplicar AMOVA, una variabilidad genética del 96% entre los individuos dentro de las poblaciones y del 4% en diferencias entre poblaciones, así también concuerda con lo reportado por García y Risco (2015), en la misma zona y con el mismo fragmento de gen, quienes encontraron, mediante AMOVA, que la variabilidad genética fue del 96,8% entre los individuos dentro de las poblaciones y del 3,2% entre poblaciones.

Estos valores se justifican por la mayor tasa de mutación del gen COI que del gen 16S ARNr mitocondrial (Arif y Khan, 2009). El bajo nivel de estructura genética poblacional también ha sido observado en otros cangrejos del manglar, tales como el cangrejo *U. cordatus* en el Brasil, usando

diferentes fragmentos del genoma mitocondrial tales como COI (Ewald, 2006), región de control mitocondrial y microsátelites (Oliveira, 2009); así también en el cangrejo *Cardisoma guanhumi* usando la región de control (Oliveira, 2009) y en el cangrejo violinista *Uca sindensis* (Shih et al., 2015).

La alta diversidad genética y baja estructura genética poblacional encontrada en varios de los cangrejos del manglar se justifica por el flujo génico entre poblaciones, el cual no es realizado por adultos, pues éstos no se desplazan grandes distancias una vez que se han asentado en sus propias cuevas, sino más bien en la migración de sus larvas, pues éstas son planctónicas por un largo tiempo y salen del manglar al mar abierto, pudiendo desplazarse largas distancias, propiciando un alto flujo génico que incrementa la diversidad genética y evita la estructuración (Ewald, 2006; Britto et al., 2009; Cottens, 2009; Oliveira, 2009; Gama-Maia y Torres, 2016). Este efecto se ha demostrado en *U. cordatus* donde se ha hallado alta diversidad genética y baja estructura genética poblacional entre poblaciones separadas hasta por 4500 km en la costa del Brasil (Ewald, 2006; Oliveira, 2009), incluso entre poblaciones que se encuentran a ambos lados de la desembocadura del río Amazonas, que se supone sería una barrera geográfica importante para dicha especie. Las larvas de *U. cordatus* pueden permanecer en mar abierto por 20 a 69 días (dependiendo de la temperatura y salinidad) hasta que se transforman en megalopas, mientras que están en mar abierto las larvas pueden ser transportadas por las corrientes (cuya velocidad es de 0,6 a 1,0 m/s) varios miles de kilómetros en un solo mes lo que permite un intercambio efectivo de genes portados por las larvas (Ewald, 2006; Britto

et al., 2009; Cottens, 2009; Oliveira, 2009). Este comportamiento larval de *U. cordatus* justifica que en el caso de su especie hermana *U. occidentalis* sea muy sencillo mantener poblaciones con alta diversidad genética y baja estructura genética poblacional en regiones relativamente cercanas como las estudiadas, las que distan máximo 30 km entre sí.

El análisis de Mantel realizado a *U. occidentalis* ha mostrado que la distancia genética no está relacionada con la distancia geográfica, este hecho es respaldado por trabajos como los de Ewald (2006), Oliveira (2009), Cottens (2009) y Britto et al. (2009) quienes han reportado que poblaciones de *U. cordatus* distantes más de 4500 km se muestran genéticamente similares, así como con el trabajo de Marochi et al. (2017) quienes mostraron que en el caso de poblaciones del cangrejo *Armases angustipes*, en el Brasil, la distancia genética no estuvo relacionada con la distancia geográfica, debido al flujo génico que se realiza en su estadio larvario, que es capaz de mantener homogeneidad genética entre poblaciones separadas más de 4000 km. En *U. occidentalis* también se tiene un largo estadio larvario planctónico que propiciaría el flujo génico y justificaría el hecho que la distancia geográfica no sea un factor que influya en la diferenciación genética tanto de *U. cordatus* como de *U. occidentalis*.

La alta diversidad genética y baja estructuración genética poblacional de *U. occidentalis* en el manglar de Tumbes, favorecería un posible repoblamiento futuro del mismo en el manglar tumbesino, ya que el stock de reproductores necesarios para un repoblamiento está inversamente relacionado con el tamaño efectivo de población, siendo menor en poblaciones con alta diversidad genética como lo han señalado Mijangos et al. (2015).

Tabla 5
AMOVA de *U. occidentalis* utilizando como marcador el gen 16S ARNr

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Variación estándar	Porcentaje de la variabilidad
Entre regiones (Zonas)	2	0,951	0,475	0,000	0
Entre poblaciones (estaciones de muestreo)	6	4,464	0,744	0,060	11
Dentro de las poblaciones	29	14,233	0,491	0,491	89
Total	37	19,647		0,551	100

Tabla 6
Test de Mantel entre distancia geográfica (x) y genética (y)

Suma de cuadrados de x	Suma de cuadrados de y	Suma de productos de xy	Coefficiente de Pearson para x e y (rxy)	P(rxy - aleatorio >= rxy - data)
81505,124	1575,701	-34,790	-0,003	0,482

4. Conclusión

Los resultados indican que la diversidad genética de *U. occidentalis* evaluada a través de un fragmento del gen 16S ARNr en los manglares de la región Tumbes el año 2012 fue alta de acuerdo a los principales indicadores de diversidad evaluados (número de haplotipos: 16; diversidad de haplotipos: 0,721; diversidad nucleótida: 0,00381), así también la estructura genética poblacional de *U. occidentalis* evaluada a través de un fragmento del gen 16S ARNr en los manglares de la región Tumbes el año 2012 fue baja (11% de variabilidad genética entre poblaciones según AMOVA), no existiendo correlación entre la distancia geográfica de las zonas de estudio y la distancia genética observada en *U. occidentalis* ($r = -0,003$ en test de Mantel). Se recomienda ampliar la investigación para abarcar no solo el manglar de Tumbes, sino también el manglar de San Pedro de Vice (Piura, Perú), en el cual según se ha reportado por primera vez en 2017, poblaciones de *U. occidentalis*; de igual manera se debería realizar nuevas investigaciones en la genética poblacional de este cangrejo, utilizando otros marcadores moleculares tales como microsatélites o la región de control mitocondrial a fin de confirmar estos hallazgos.

Referencias Bibliográficas

- Alemán, S.; Ordinola, E. 2017. Ampliación de la distribución sur de *Ucides occidentalis* (Decapoda: Ucididae) y *Cardisoma crassum* (Decapoda: Gecarcinidae). Revista Peruana de Biología 24(1): 107.
- Alves, L. 2013. Estrutura genética e demográfica do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*) na costa do Brasil. Tesis de maestría, Universidad Federal del Espíritu Santo, Vitória. Brasil. 40 pp.
- Amaral, M.; Albrecht, M.; McKinley, A.; de Carvalho, A.; Cavalcante de Sousa, S.; Diniz, F. 2015. Mitochondrial DNA variation reveals a sharp genetic break within the distribution of the blue land crab *Cardisoma guanhumi* in the Western Central Atlantic. Molecules 20(8): 15158-15174
- Amaral, M.R.X. 2014. Genética populacional do *Cardisoma guanhumi* por meio da região controle do DNA mitocondrial. Tesis de maestría, Universidad Federal del Piauí, Teresina. Brasil. 92 pp.
- Arif, I.A.; Khan, H.A. 2009. Molecular markers for biodiversity analysis of wildlife animals: a brief review. Animal Biodiversity and Conservation 32(1): 9-17.
- Banci, K.R. da S.; Mori, G.M.; Oliveira, M.A.; Paganelli, F.L.; Pereira, M.R.; Pinheiro, M.A.A. 2017. Can environmental pollution by metals change genetic diversity? *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) as a study case in Southeastern Brazilian mangroves. Marine Pollution Bulletin 116(1-2): 440-447
- Barrera, M.G. 2016. Análisis de la variación y la estructura genética de la centolla (*Lithodes santolla*, Molina, 1782) en la región de Magallanes y Antártica chilena, mediante marcadores moleculares. Tesis de maestría, Centro de Investigaciones Biológicas en el Noroeste, S. C., La Paz. México. 117 pp.
- Britto, F.B.; Diniz, F.M.; Paterson, I.; Bentzen, P. 2009. Polymorphic microsatellite DNA markers in the mangrove crab *Ucides cordatus* (Brachyura: Ocypodidae). Molecular Ecology Resources 9: 1249-1252
- Cottens, K.F. 2009. Efeitos da temperatura, intensidade luminosa e da densidade de cultivo na larvicultura de *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Decapoda, Brachyura) em laboratorio. Tesis de maestría, Universidad Federal del Paraná, Paraná. Brasil. 82 pp.
- de Oliveira-Neto, J.F.; Baggio, R.A.; Ostrensky, A.; Chammas, M.A.; Boeger, W.A. 2014. Assessing the genetic diversity and gene flow of populations of the crab *Ucides cordatus* (Decapoda: Ocypodidae) on the Brazilian Coast using microsatellite markers. Journal of Crustacean Biology 34(1): 70-75
- Ewald, M. 2006. Isolation and characterization of nuclear and mitochondrial genetic markers for population studies of *Ucides cordatus cordatus* (Decapoda: Brachyura). Tesis de doctorado, Universidad de Bremen. Bremen, Alemania. 101 pp.
- Fratini, S.; Cannicci, S.; Schubart, C. D. 2018. Molecular phylogeny of the crab genus *Metopograpsus* H. Milne Edwards, 1853 (Decapoda: Brachyura: Grapsidae) reveals high intraspecific genetic variation and distinct evolutionarily significant units. Invertebrate Systematics 32(1): 215.
- Gama-Maia, D.J.; Torres, R.A. 2016. Fine-scale genetic structuring, divergent selection, and conservation prospects for the overexploited crab (*Cardisoma guanhumi*) in tropical mangroves from North-eastern Brazil. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 96(08): 1677-1686.
- García, R.; Risco, M.C. 2015. Diversidad genética y estructura genética poblacional del cangrejo del manglar (*Ucides occidentalis*) utilizando la región de control mitocondrial y el gen del citocromo oxidasa I. Tumbes 2014. Tesis de ingeniero, Universidad Nacional de Tumbes, Tumbes. Perú. 80 pp.
- González, A. 2008. Análisis de la diversidad genética en poblaciones naturales de especies vegetales amenazadas: *Ilex perado* ssp. *lopezilloi* (Aquifoliaceae), *Silene nocteolens* (Caryophyllaceae) y *Sorbus aria* (Rosaceae). Resultados preliminares. Tesis de doctorado, Universidad de las Palmas de Gran Canaria, Palmas de Gran Canaria. España. 59 pp.
- Hague, M.T.J.; Routman, E. J. 2016. Does population size affect genetic diversity? A test with sympatric lizard species. Heredity 116(1): 92-98
- Hui, M.; Nuryanto, A.; Kochzius, M. 2017. Concordance of microsatellite and mitochondrial DNA markers in detecting genetic population structure in the boring giant clam *Tridacna crocea* across the Indo-Malay Archipelago. Marine Ecology 38(1): e12389.
- Marochi, M.Z.; Masunari, S.; Schubart, C.D. 2017. Genetic and morphological differentiation of the semiterrestrial crab *Armases angustipes* (Brachyura: Sesamididae) along the Brazilian Coast. The Biological Bulletin 232(1): 30-44.
- Mijangos, J.L.; Pacioni, C.; Spencer, P.B.S.; Craig, M.D. 2015. Contribution of genetics to ecological restoration. Molecular Ecology 24(1): 22-37.
- Oliveira, J.F. 2009. Filogeografía e demografía evolutiva de *Ucides cordatus* (Linnaeus 1763) (decapoda, brachyura) e *Cardisoma guanhumi* Latreille, 1825 (decapoda, brachyura) na costa do Brasil. Tesis de doctor, Universidad Federal del Paraná, Paraná. Brasil. 116 pp.
- Ordinola, E.; Montero, P.; Gonzáles, I. 2010. Prospección bio ecológica de cangrejo del manglar (*Ucides occidentalis*) en la Región Tumbes, 07 al 13 Julio 2009. Instituto del Mar del Perú. Tumbes, Perú. 20 pp.

- Ordinola-Zapata, A. 2012. Diversidad y estructura genética poblacional del cangrejo del manglar (*Ucides occidentalis*) en la región Tumbes. 2012. Tesis de maestría, Universidad Nacional de Tumbes, Tumbes. Perú. 81 pp.
- Orélis-Ribeiro, R.; Vicente, V.A.; Ostrensky, A.; Chammas, M.A.; Boeger, W.A. 2017. Is Marine Dispersion of the Lethargic Crab Disease Possible? Assessing the tolerance of *Exophiala cancerae* to a broad combination of salinities, temperatures, and exposure times. *Mycopathologia* 182(11-12): 997-1004
- Palumbi, S.; Martin, A.; Romano, S.; Mcmillan, W.O.; Stice, L.; Grabowski, G. 1991. The simple fool's guide to PCR. Kewalo Marine Laboratory of the University of Hawaii. Honolulu, USA. 45 pp.
- Patwardhan, A.; Ray, S.; Roy, A. 2014. Molecular Markers in Phylogenetic Studies-A Review. *Journal of Phylogenetics & Evolutionary Biology* 02(02): 1-9.
- Pülmanns, N.; Diele, K.; Mehlig, U.; Nordhaus, I. 2014. Burrows of the Semi-Terrestrial Crab *Ucides cordatus* Enhance CO₂ Release in a North Brazilian Mangrove Forest. *PLoS ONE* 9(10): e109532.
- Ratti, M.F.; Muñoz, M. 2010. Optimización del sistema AFLP para determinación de la variabilidad genética de *Ucides occidentalis* en tres zonas de manglar del Golfo de Guayaquil. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador. 6 pp.
- Sarower, M.G.; Shahriar, S.I.M.; Nakamura, H.; Rouf, M.A.; Okada, S. 2017. Taxonomic confirmation of mud crab species (*Genus scylla*) in Bangladesh by nuclear and mitochondrial DNA markers. *Mitochondrial DNA Part A* 28(6): 935-940.
- Shih, C.H.; Haung, H.L.; Chu, T.J.; Lee, Y.C.; Wang, C.M.; Tzeng, T.D. 2011. Genetic diversity and historical demography of kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*) species complex off China based on mitochondrial DNA analysis. *African Journal of Biotechnology* 10(7): 1065 - 1072.
- Shih, H.T.; Saher, N.U.; Kamrani, E.; Ng, P.K.; Lai, Y.C.; Liu, M.Y. 2015. Population genetics of the fiddler crab *Uca sindensis* (Alcock, 1900) (Crustacea: Brachyura: Ocypodidae) from the Arabian Sea. *Zoological Studies* 54(1): 1-10.
- Weinberg, J.R.; Dahlgren, T.G.; Trowbridge, N.; Halanych, K.M. 2003. Genetic Differences within and between species of Deep-Sea Crabs (Chaceon) From the North Atlantic Ocean. *Biol. Bull.* 204(3): 318-326
- Zambrano, R. 2017. First record of malformations in males of *Ucides occidentalis* (*Brachyura, Ocypodidae*) in the Gulf of Guayaquil, Ecuador. *Crustaceana* 90(5): 631-638.
- Zambrano, R.; Meiners, C. 2018. Notas sobre taxonomía, biología y pesquería de *Ucides occidentalis* (Brachyura: Ocypodidae) con énfasis en el Golfo de Guayaquil, Ecuador. *Revista Peruana de Biología* 25(1): 055-066.