

ESCUELA DE PREGRADO - FACULTAD DE CIENCIAS - UNIVERSIDAD DE CHILE



ESTRUCTURA GENÉTICA DE *SIPHONARIA LATERALIS* EN LAS ISLAS SUBANTÁRTICAS KERGUELEN: UNA APROXIMACIÓN POR MEDIO DE ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS DE UN SÓLO NUCLEÓTIPO.

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Biólogo con mención en Medio Ambiente

MARCELO NICOLÁS LIZAMA MORALES

Dr. Elie Poulin
Director del Seminario de Título

Dr. Nicolás Segovia
Co-Director de Seminario de Título

Dr. Claudio González-Wevar
Co-Director de Seminario de Título

12- 04 -2022

Santiago – Chile



INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por el o (la) candidato (a):

MARCELO NICOLÁS LIZAMA MORALES

“ESTRUCTURA GENÉTICA DE *SIPHONARIA LATERALIS* EN LAS ISLAS SUBANTÁRTICAS KERGUELEN: UNA APROXIMACIÓN POR MEDIO DE ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS DE UN SÓLO NUCLEÓTIDO.”

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Biólogo Ambiental

Dr. Elie Albert Poulin

Director Seminario de título

Dr. Nicolás Segovia Cortés

Co-director Seminario de título

Dr. Claudio González-Wevar

Co-director Seminario de título

COMISIÓN REVISORA Y EVALUADORA

Dr. David Véliz

Presidente

Dr. Marco Méndez

Revisor

Biografía



Nacido el 27 de diciembre del año 1993 en Santiago, Chile, vivió sus primeros años de vida en la villa Frey, Ñuñoa. Fue alumno del colegio San Gaspar, y siguió asistiendo incluso luego de mudarse a la comuna vecina de Peñalolén. Para la educación media se coordinó su cambio al colegio San Gabriel, donde forjó pocas pero buenas amistades y desde el cual egresó de cuarto medio. Un replanteamiento de su interés por las ciencias biológicas lo llevó a ingresar al plan académico de bachillerato en la universidad de Chile para encontrar su vocación. No encontró su vocación, tampoco éxito académico. Posteriormente, en el preuniversitario Pedro de Valdivia, se reencontró con amigos y conocidos de Juan Gómez Millas, con quienes forjó una amistad a toda prueba. También descubrió, gracias a su profesor de biología, la carrera de biología con mención en medio ambiente, a la cual ingresó motivado por su interés en las ciencias biológicas y ecológicas. El camino se alargó unos años al tener que sortear obstáculos como desamores, una insurrección social, una pandemia, entre otros. Sin embargo, siempre tuvo el apoyo de su familia para enfrentar estas adversidades. A la fecha vive en la casa de su querida y difunta abuela Ana, en los mismos barrios que lo vieron crecer.

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a mi madre y a mi padre por su ejemplo, cariño y por que nunca me faltó nada durante mi crecimiento y formación. A mis hermanos Antonio y Pablo por su amistad y cariño. A mi querida abuela Ana, quien siempre me escuchó, confió y alentó a seguir con los estudios relacionados al medio ambiente y quien durante sus últimos años compartió su techo conmigo. Me faltará vida para agradecer su entrega y su inmenso e incondicional cariño. Agradecer también a mis tíos Luis Ramón y Gladys, a mis primos Andrés y Alejandra por recibirme, escucharme, apoyarme y alimentarme en este proceso de egreso y de contexto mundial complicado.

Quisiera también agradecer a aquellos amigos encontrados en los caminos de la vida, aquellos con los que sigo contando y también los que no. Agradecer a mi querido campus Juan Gómez Millas, donde sigo conociendo de todo. Agradecer también a Luis y Lucas, quienes me acompañaron en el difícil proceso de hacerme cargo de un hogar. Agradecer a Felipe, Martín y Francisca, por su amistad, apoyo moral y técnico en este proceso. También a mi amigo Daniel por sus precisas ayudas en computación.

Agradezco enormemente al laboratorio de ecología molecular, en especial a Elie Poulin por aceptarme como tesista y por guiarme junto con Nicolás y Claudio en esta investigación. Agradezco al *team-esponja*, con quienes nos enfrentamos al oscuro mundo de la bioinformática codo a codo, sin miedo y triunfamos.

Agradezco también al Proyecto Fondecyt Regular 1210787, Fondecyt Iniciación 1140087, Centro Fondap IDEAL (15150003), Proyecto INACH Gabinete RG_18-17, PIA CONICYT ACT 172065 e Instituto Milenio BASE ICN2021_002

ÍNDICE DE CONTENIDOS

BIOGRAFÍA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
LISTA DE ABREVIATURAS	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT.....	x
INTRODUCCIÓN	1
Hipótesis	5
MATERIALES Y MÉTODOS	6
Obtención de muestras y extracción de ADN.....	6
Secuenciación.....	6
Obtención de set de datos neutrales.....	9
Descripción de diversidad genética.....	10
Estructuración genética.....	11
Flujo génico.....	12
RESULTADOS	14
DISCUSIÓN.....	22
CONCLUSIÓN	26
BIBLIOGRAFÍA	27

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Localidades de muestreo, acrónimos y coordenadas correspondientes.	6
Tabla 2. Estadísticos genéticos.	17
Tabla 3. Valores de F_{st} de la señal neutral de SNPs para todos los pares de localidades muestreadas.	18
Tabla 4. Tasas de Migración.	20
Tabla 5. Número de migrantes efectivos	21
Tabla 6. Cantidad de intercambio de individuos por generación.	21

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Análisis de escalamiento multidimensional (MDS) de una matriz <i>Identity-by-State</i> (IBS) para 55 individuos de <i>S. lateralis</i> provenientes del archipiélago Kerguelen, Océano Austral.	15
Figura 2. Detección de <i>loci outlier</i>	16
Figura 3. Análisis de Estructura genética.	19
Figura 4. Red de migración direccional relativa.	20

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

CCA: Corriente Circumpolar Antártica

DAPC: Análisis de discriminación de componentes principales

FDR: False discovery rate

FPN: Fjord des Portes Noires

GBS: Genotyping by Sequencing

IBS: Identity-by-state

MCMC: Markov Chain Monte Carlo

MAF: Minor Allele Frequency

mnC: Minimum call rate

NGS: Next generation sequencing

PAF: Port-Aux-Français

PC: Port Couvreur

SNP: Single Nucleotide Polymorphism

RESUMEN

Los invertebrados del océano Austral presentan una tendencia a mostrar estrategias de desarrollo directo o encapsulado que conllevan una baja capacidad de dispersión y una alta estructuración de sus poblaciones. Sin embargo, algunas especies sin estadio dispersivo han mostrado una baja estructura genética entre áreas geográficas lejanas, sugiriendo la existencia de flujo genético regular entre ellas. Para dar explicación a estos patrones de dispersión a larga distancia, se ha propuesto el *rafting* o transporte pasivo en objetos flotantes. Estos procesos serían particularmente comunes en el océano Austral donde abundan las algas pardas gigantes, sin embargo, no se ha dilucidado aún la eficiencia de este mecanismo en mantener un flujo genético estable, ni determinado la escala geográfica a la cual podría realizarse dicha conectividad. En esta investigación se estudiaron poblaciones de *Siphonaria lateralis*, gasterópodo pulmonado carente de fase larval de vida libre pertenecientes al archipiélago Kerguelen, el cual está ubicado en -49°24' S, 69°18' E y pertenece a la zona subantártica del Océano Antártico. Estudios previos en esta especie utilizando marcadores tradicionales (secuencias de ADN) indican que, dentro de su amplia distribución en el océano Austral, esta especie posee menor estructuración genética que lo esperado. Considerando su desarrollo larval intracapsular se ha propuesto que la homogeneidad genética de *S. lateralis* sería promovida por dispersión mediada por *rafting*, asociado a la Corriente Circumpolar Antártica. Surge sin embargo la interrogante de si el transporte por rafting corresponde a eventos excepcionales o si permite mantener una conectividad genética efectiva entre sitios, aún a pequeña escala geográfica (e.g dentro de una isla). Para responder la pregunta anterior, los análisis de polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) ofrecen una mayor resolución espacial en comparación con los marcadores mitocondriales,

permitiendo evaluar la variabilidad genética entre poblaciones y la conectividad genética efectiva, abarcando sitios a lo largo del genoma completo. En este trabajo se analizaron SNPs dispersos por el genoma de *S. lateralis* obtenidos con genotipificación por secuenciación (Genotype by Sequencing), provenientes de tres localidades del archipiélago de Kerguelen. Aquellos *loci* putativamente bajo selección fueron excluidos utilizando conjuntamente aproximaciones bayesianas y de ordenamiento, obteniendo así una señal putativamente neutral a la selección, la cual fue utilizada para determinar diversidad genética, evaluar el grado de estructuración y flujo genético entre las poblaciones. Se analizaron 1.288 *loci* para 52 individuos. En cuanto a estructura, se observan tres grupos claramente diferenciados, correspondientes a las localidades estudiadas. Estos resultados sugieren que el flujo genético es insuficiente para mantener la homogeneidad genética entre los sitios de estudio. Los análisis de flujo genético no detectan eventos de dispersión reciente pero estiman un bajo flujo histórico que no sería suficiente para mantener el equilibrio deriva-migración entre las poblaciones. Consecuentemente, se infiere que los procesos de dispersión mediados por *rafting* no logran homogenizar genéticamente las poblaciones de *S. lateralis* a escala insular. Estos resultados muestran que la naturaleza esporádica, irregular e impredecible de la dispersión asociada a *rafting* se mantiene a la escala de decenas de kilómetros, permitiendo mantener la integridad genética de la especie, pero no establecer flujo genético efectivo, observándose diferenciación y estructuración genética entre poblaciones pertenecientes al archipiélago, como es de esperar en especies que no poseen estadios larvales dispersivos de vida libre.

ABSTRACT

The invertebrates of the Southern Ocean have a tendency to show direct or encapsulated development strategies that imply a low dispersal capacity and a high structuring of their populations. However, some species without a dispersive stage have shown a low genetic structure between distant geographical areas, suggesting the existence of regular genetic flow between them. To explain these long-distance dispersal patterns, rafting or passive transport on floating objects has been proposed. These processes would be particularly common in the Southern Ocean where giant brown algae abound, however, the efficiency of this mechanism in maintaining a stable gene flow has not yet been elucidated, nor has the geographic scale at which such connectivity could be determined. In this research we studied populations of *Siphonaria lateralis*, a free-living pulmonate gastropod lacking a larval phase, belonging to the Kerguelen archipelago, which is located at -49°24' S, 69°18' E and belongs to the subantarctic zone of the Antarctic Ocean. Previous studies on this species using traditional markers (DNA sequences) indicate that, within its wide distribution in the Southern Ocean, this species has less genetic structure than expected. Considering its intracapsular larval development, it has been proposed that the genetic homogeneity of *S. lateralis* would be promoted by dispersal mediated by rafting, associated with the Antarctic Circumpolar Current. However, the question arises as to whether transport by rafting corresponds to exceptional events or whether it allows maintaining effective genetic connectivity between sites, even on a small geographic scale (e.g. within an island). To answer the above question, single nucleotide polymorphism (SNPs) analyzes offer higher spatial resolution compared to mitochondrial markers, in order to assess genetic variability

between populations and effective genetic connectivity, encompassing sites throughout the complete genome. In this work, SNPs dispersed throughout the genome of *S. lateralis* obtained with genotyping by sequencing (Genotype by Sequencing) from 3 localities of the Kerguelen archipelago were analyzed. Those loci putatively under selection were excluded using Bayesian and ordering approaches together, thus obtaining a putatively selection-neutral signal, which was used to determine genetic diversity, assess the degree of structuring and gene flow between populations. 1.288 *loci* for 52 individuals were analyzed. In terms of structure, 3 clearly differentiated clusters are observed, corresponding to the localities studied. These results suggest that gene flow is insufficient to maintain genetic homogeneity between study sites. Gene flow analyzes do not detect recent dispersal events but estimate a low historical flow that would not be enough to maintain the drift-migration balance between populations. Consequently, it is inferred that the dispersal processes mediated by rafting fails to genetically homogenize the populations of *S. lateralis* at the island scale. These results show that the sporadic, irregular and unpredictable nature of dispersal associated with rafting is maintained at the scale of tens of kilometers, allowing the genetic integrity of the species to be maintained, but not effective gene flow to be established, observing differentiation and genetic structuring between populations belonging to the archipelago, as expected for species that do not have free-living dispersive larval stages.

INTRODUCCIÓN

En ambientes marinos, la dispersión juega un rol fundamental en la evolución de las especies marinas bentónicas, facilitando la cohesión genética entre subpoblaciones, permitiendo la persistencia de estas especies en los ecosistemas. Los eventos dispersivos evitan extinciones locales y posibilitan la colonización de nuevos ecosistemas en un mundo cambiante (Ronce, 2007; Sherman y col., 2008; Ayre y col., 2009; Cowen & Sponaugle, 2009; Haye, Varela & Thiel, 2012; Barbosa y col., 2013; Puritz y col., 2017). Concordantemente, se ha postulado que las especies con desarrollo larval pelágico tendrían un mayor potencial de conectividad entre poblaciones y menor estructura genética a grandes escalas espaciales en comparación con especies de desarrollo directo o aquellas que carecen de estadios larvales de vida libre (Waples, 1987; Hellberg, 1996; Todd, 1998; Marko, 2004, Haye y col., 2014). Sin embargo, meta-análisis y estudios comparativos han desafiado estos postulados en los últimos años, tanto a nivel global como en el Océano Austral (Nikula y col., 2010; Cumming y col., 2014; González-Wevar y col., 2018, 2019, 2021). En particular, algunas especies sin estadio dispersivo han mostrado una baja estructura genética entre áreas geográficas lejanas, sugiriendo la existencia de flujo genético regular entre ellas. Para dar explicación a estos patrones de dispersión a larga distancia, se ha propuesto el *rafting*, el cual consiste en el transporte pasivo asociado a objetos flotantes de estadios juveniles o adultos en especies bentónicas (Waters, 2008; Cumming y col., 2014; Moon y col., 2017; González-Wevar y col., 2018). Diversos estudios de las últimas décadas sugieren que el *rafting* en sustrato flotante de origen natural es un mecanismo clave para la dispersión a larga distancia de una gran variedad de invertebrados marinos bentónicos carentes de fase larval de vida libre, a través de lo cual lograrían mantener una amplia distribución

geográfica (Johannesson, 1988; Ó Foighil y col., 1999; Thiel y Gutow, 2005; Ali y Huber, 2010; Gillespie y col., 2012). Estos procesos de transporte pasivo de organismos sésiles o poco móviles serían particularmente comunes en el Océano Austral donde abundan las macroalgas flotantes (Waters, 2008). Estudios recientes han demostrado que estas algas podían recorrer distancias mayores a 20.000 kilómetros, conectando islas sub-Antárticas con el continente Antártico, lo que sugiere al rafting como un mecanismo particularmente común en esta región, el cual permitiría la dispersión de invertebrados marinos, determinando los patrones de diversidad y estructura genética de estas especies (Cumming y col., 2014; Moon y col., 2017; Gonzáles-Wevar y col., 2018, 2019, 2021; Halanych & Mahon, 2018).

Si bien existe bastante evidencia de que el *rafting* permite la dispersión sobre grandes distancias geográficas, este ha sido fuente de controversia debido a su incerteza, naturaleza esporádica y a la incapacidad de predecirlo, lo que ha impedido el desarrollo de estudios concluyentes (Cowie & Holland, 2006). No se ha dilucidado aún su eficiencia en mantener un flujo genético estable, permitiendo la conectividad entre zonas geográficamente lejanas entre ellas o, si corresponde más bien a eventos excepcionales, los cuales posibilitarían la colonización de nuevos ecosistemas, pero no una conectividad genética efectiva (Gillespie y col., 2012). De la misma manera, surge la interrogante de si este mecanismo de dispersión es lo suficientemente frecuente como para mantener un flujo génico efectivo entre poblaciones a una escala menor, como lo sería al interior de un archipiélago.

Para responder estas preguntas, se estudiaron poblaciones de *Siphonaria lateralis* (Gould, 1846), un gasterópodo pulmonado de la familia Siphonariidae, que junto a *S. fuegiensis* (Güller y col., 2016) son de las especies con la distribución más austral y

amplia de su género (Chambers y col., 1995). Tanto *S. lateralis* como *S. fuegiensis* se distribuyen a lo largo de la costa austral de Sudamérica desde isla Guarelo (50°S) en el Pacífico hasta Puerto Deseado, en la costa Atlántica de Argentina. Ambas especies extienden su distribución a islas subantárticas con poblaciones en islas Malvinas/Falkland, Georgias del Sur, Marión, Crozet, Kerguelen e islas Macquarie. Estos gasterópodos son habitantes comunes y dominantes de ecosistemas rocosos someros (Dayrat y col., 2014), en los que se reproduce depositando masas de huevos bentónicas de las que eclosionan juveniles (Ríos y col., 1987). Este modo de desarrollo ha sido asociado a un bajo potencial de dispersión y consecuentemente a una probable alta estructuración genética poblacional debido a la ausencia de fase larval de vida libre (Weersing & Toonen, 2009; Haye y col., 2012).

Estudios genéticos con marcadores tradicionales (secuencias de ADN mitocondrial y nuclear) indican que, dentro de su amplia distribución en el Océano Austral, *S. lateralis* muestra una baja estructuración genética en comparación con otras especies de similar ecología y distribución, posiblemente debido a dispersión por *rafting* al adherirse a algas laminariales (por ejemplo, *Durvillaea antarctica*, *Macrocystis pyrifera*) que se desprenden de la zona intermareal (Simpson, 1976; Cumming y col., 2014; González-Wevar y col., 2018, observaciones *in situ* de E. Poulin y T. Saucède). El estudio de González-Wevar y col. (2018) incluyó poblaciones de *S. lateralis* y *S. fuegiensis* provenientes de Sudamérica y varias islas sub-Antárticas, entre ellas, el archipiélago Kerguelen. Si bien la comparación de la diversidad genética con secuencias de ADN mitocondriales y nucleares no detectó diferenciación genética significativa entre poblaciones sub-Antárticas geográficamente lejanas (> 7.000 km), el bajo nivel de diversidad de estos marcadores no permite resolver si el transporte por *rafting*

corresponde a eventos excepcionales suficientes para permitir la integridad genética de la especie, o, en su defecto, mediado por una conectividad efectiva entre estas poblaciones, limitar los procesos de diferenciación genética.

En este estudio se evaluó si el transporte por *rafting* permite una dispersión efectiva entre poblaciones de *S. lateralis* a la escala de decenas de kilómetros, utilizando como sitio de estudio el archipiélago Kerguelen. Este archipiélago, ubicado en las coordenadas 49°15'00"S 69°10'00"E, consta de una superficie de 7.215 kilómetros cuadrados, con un clima de tipo tundra, frío y extremadamente ventoso, siendo interceptado por la Corriente Circumpolar Antártica (CCA) en su exposición Oeste (Tynan, 1997). En él se han descrito porciones sustanciales de costa con bosques de *D. antarctica* y *M. pyrifera* (Delille y col., 2009), las cuales han sido reportadas dispersándose por el Océano Austral entre islas, facilitando así la dispersión de los organismos intermareales asociados (Stevens y col., 2002; Fraser y col., 2018).

En esta investigación se analizaron los Polimorfismos de Sitio Único (Single Nucleotide Polymorphism o SNPs) dispersos por el genoma de *S. lateralis* obtenidos de ejemplares provenientes de tres localidades en el archipiélago Kerguelen. Estos marcadores moleculares proveen una visión detallada de la variabilidad genética interpoblacional y los niveles de conectividad genética abarcando el genoma de la especie (Bensch y Akesson, 2005), respondiendo a escalas de tiempo más recientes que los marcadores mitocondriales usados en investigaciones anteriores (González-Wevar y col., 2018).

Hipótesis

Considerando los antecedentes descritos y la presunta capacidad dispersiva por medio de *rafting* de esta especie, se plantean las siguientes preguntas de investigación:

H: *Siphonaria lateralis* mantiene una alta conectividad entre sus poblaciones dentro del archipiélago Kerguelen.

A raíz de esta hipótesis, se espera encontrar evidencia de migración e intercambio génico entre las localidades estudiadas, así como una baja o nula estructuración genética entre poblaciones.

Objetivo general: Evaluar la conectividad entre tres poblaciones de *S. lateralis* dentro del archipiélago Kerguelen.

Objetivos específicos:

- 1) Estimar la diversidad genética de *S. lateralis* en tres localidades del archipiélago Kerguelen
- 2) Evaluar la existencia de estructuración genética de *S. lateralis* en Kerguelen
- 3) Determinar si existe flujo genético entre localidades y su direccionalidad dentro del archipiélago.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de muestras y extracción de ADN

Muestras de *S. lateralis* fueron recolectadas en noviembre del año 2013 en el archipiélago Kerguelen, obteniéndose 20 individuos provenientes del intermareal durante marea baja en tres localidades (Tabla 1). Los individuos fueron determinados *a priori* como *S. lateralis* en base a sus características morfológicas (Dayrat *y col.*, 2014; Güller *y col.*, 2016), y posteriormente fijados en alcohol 95%. La extracción de ADN genómico fue realizada con el kit comercial Qiagen DNeasy Blood & Tissue™ (Qiagen, EE. UU.) utilizando las instrucciones otorgadas por el fabricante.

Tabla 1. Localidades de muestreo, acrónimos y coordenadas correspondientes.

Localidad	Acrónimo	Nº de individuos	Coordenadas
Fjord des Portes Noires	FPN	20	-49.49, 69.19
Port-Aux-Français	PAF	20	-49.35, 70.22
Port Couvreur	PC	20	-49.29, 69.70

Secuenciación de Genotipos y búsqueda de Polimorfismos de Sitio Único (SNPs).

Se secuenciaron un total 2 placas, con 190 individuos de 11 localidades mediante Genotyping-by-Sequencing (GBS), dentro de las cuales se encuentran los 60 individuos de las 3 localidades muestreadas para este estudio (Tabla 1). La secuenciación del material genético extraído fue llevada a cabo utilizando secuenciación de representación reducida, la cual se basa en el uso de enzimas de restricción que reducen la complejidad del genoma con la ventaja adicional de que los análisis de SNPs puedan ser llevados a cabo sin un genoma de referencia. Las muestras fueron enviadas a secuenciar en

el Centro de Recursos Bioinformáticos (BRC; Bioinformatic Resources Center) del Centro de Biotecnología de la Universidad de Wisconsin, EE. UU. Este método, ampliamente utilizado en especies no modelo, ha demostrado ser una herramienta de fiable para distinguir entre poblaciones locales al nivel de genoma en invertebrados marinos bentónicos (Cahill y Levinton, 2016). Esta técnica posibilita la secuenciación de un gran número de pequeños fragmentos del genoma provenientes de varios individuos (Manel y col., 2016), lo que permite genotipificar un gran número de SNPs localizados aleatoriamente a lo largo del genoma. Los genomas extraídos y purificados fueron procesados para crear las librerías que serían luego secuenciadas. Para ello, los genomas fueron primero digeridos, luego de una optimización *in vitro*, con la combinación de enzimas de restricción *Nsil* y *MspI*, cuya digestión genera fragmentos de ADN con extremos cohesivos aptos para ser leídos por Hiseq 2000 (Illumina, EEUU), generando fragmentos de 100 pares de bases, un tamaño óptimo para esta plataforma de secuenciación. Luego de la digestión enzimática se ligaron los adaptadores al extremo 5' de los fragmentos, los cuales son requeridos para la secuenciación y, además, contienen una secuencia única de ADN o *barcode* que permite la posterior identificación y asignación de los fragmentos a sus individuos de origen. Todos los datos obtenidos fueron descargados en el Laboratorio de Ecología Molecular de la Universidad de Chile y luego preparados para su análisis en el *pipeline* UNEAK (Universal Network-Enabled Analysis Kit) el cual a su vez es parte de TASSEL v.3, *pipeline* diseñado especialmente para trabajar con especies sin genoma de referencia (Bradbury y col., 2007; Lu y col., 2013). Este *pipeline* ha demostrado ser una herramienta útil, confiable y reproducible para realizar el *demultiplexing* y procesamiento de los datos obtenidos por GBS en especies no modelo (Lu y col., 2013). Luego fueron eliminados los individuos con pocos sitios informativos utilizando un filtro de frecuencia del alelo menor (MAF) de

0,05, conservando aquellos loci en donde el alelo de mayor frecuencia se encuentra presente en al menos el 5% del total de individuos, evitando la ocurrencia de *singletons* y excluyéndolos de los *loci* cuya variabilidad estuviese bien representada en los 60 individuos analizados. Esta probabilidad fue determinada empíricamente basado en la probabilidad de que al menos 6 de los 120 alelos obtenidos correspondieran al alelo de menor frecuencia en cada locus. Posteriormente, se aplicó un filtro de *minimum call rate* (mnC) de 80%, eliminando los individuos cuyos sitios no informativos no fuesen superiores al 20% del total de lecturas, manteniendo así un set más reducido, pero a la vez más robusto de SNPs. Luego fueron removidas del set de datos ambos extremos de las lecturas, correspondientes a las secuencias *barcodes* y zonas con alta probabilidad de error de lectura, dejando fragmentos de 64 pares de bases.

Posteriormente, las lecturas idénticas fueron alineadas utilizando una tolerancia al error de 0,03, minimizando así las probabilidades de descartar una lectura correcta como un error de secuenciación y también con el fin de remover potenciales marcadores parálogos antes de iniciar el *SNP calling*.

Se realizaron análisis exploratorios utilizando dendrogramas de *Identity-By-State* (IBS) implementado en SNPRelate v1.6.4 (Zheng y col., 2012) en R, método que permite calcular la proporción de IBS entre pares de individuos. A partir de esta información, se realizó un análisis de agrupamiento en dendrograma para determinar preliminarmente y de forma exploratoria el número de grupos genéticos presente en los datos mediante el uso de una matriz pareada de IBS entre cada par de individuos. Sin embargo, el objetivo de este análisis, considerando la presencia en Kerguelen de *S. fueguensis*, especie simpátrica, sintópica y morfológicamente similar pero divergente en términos genéticos a *S. lateralis*, es detectar y eliminar del set de datos aquellos individuos putativamente

correspondientes a esta especie para tener un set de datos compuesto exclusivamente por individuos de *S. lateralis*.

Obtención de set de datos neutrales.

Una vez obtenida una matriz de datos íntegramente compuesta por individuos de *S. lateralis*, se llevó a cabo un filtro basado en la estimación de equilibrio Hardy-Weinberg para cada población y locus en el software Arlequín v3.5 (Excoffier y col., 2010). Utilizando una corrección por *False Discovery Rate* (FDR) para evitar la ocurrencia de falsos positivos, se excluyeron aquellos *loci* que estuviesen fuera del equilibrio en al menos 2 de las 3 localidades analizadas.

Para determinar aquellos loci putativamente sujetos a selección diversificadora, se utilizaron dos aproximaciones distintas con el fin de evitar la ocurrencia de falsos positivos al detectar marcadores putativamente sujetos a selección, evitando así perder sitios informativos del set de datos neutral.

Primero se identificaron aquellos loci con señal de estar putativamente sujetos a selección diversificadora (*outliers*) mediante el enfoque bayesiano implementado en BAYESCAN 2.1 (Foll y Gaggiotti, 2008). En esta plataforma se modelaron los valores esperados de F_{st} bajo una distribución neutral, descomponiendo los coeficientes F_{st} (*locus*-población) en un componente población específico (beta), el cual es compartido por todos los *loci* y un componente *locus* específico (alpha) compartido por todas las poblaciones. Aquellos valores con $q < 0,05$ fueron considerados como putativamente neutrales y aquellos con $q > 0,05$ como loci *outlier* en tres categorías de acuerdo a su *bayes factor*: evidencia sustancial ($1 < bf < 3$, evidencia fuerte ($3 < bf < 10$) y muy fuerte ($bf > 10$). Adicionalmente, se utilizó una aproximación frecuentista para detectar *loci*

putativamente sujetos a selección por medio de los paquetes de RPCAdapt (Privé y col., 2020), en donde se identificaron mediante un *Q-Q plot* los p-valores obtenidos con un valor menor al 1% ($\alpha = 0,01$).

Aquellos *loci* detectados consistentemente como *outliers* a través de ambas aproximaciones, fueron excluidos del set de datos final.

Descripción de la diversidad genética.

Para evaluar diversidad genética se calculó la heterocigosidad esperada (H_e), heterocigosidad observada (H_o), y el coeficiente G_{is} (un análogo de F_{is} el cual describe desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg) utilizando el software Genodive v3.0 (Meirmans, 2020) para cada una de las 3 localidades. Adicionalmente, el número de alelos privados para cada población fue determinado a través del software HP-Rare v1.0, multiplicando la riqueza de alelos privados obtenida por el número de *loci* putativamente neutrales (Kalinowski, 2005), información útil para determinar la direccionalidad de la conectividad y fijación de alelos. La proporción de *loci* polimórficos y de riqueza alélica fueron calculados utilizando el software Genetix (Belkhir y col., 2002). Los tamaños efectivos (N_e) para cada población fueron estimados usando un modelo de desequilibrio de ligamiento aleatorio, método implementado en el software N_e Estimator v2.1 (Do y col., 2014). Este método se basa en la teoría de que el desequilibrio de ligamiento en *loci* independientes considerando apareamiento aleatorio en poblaciones aisladas es una función directa de la magnitud de la deriva génica y puede ser usado consecuentemente para estimar N_e (Hill, 1981).

Estructuración genética

Para detectar la estructura genética en las localidades para *S. lateralis* se realizaron inicialmente análisis para calcular los valores de F_{st} por pares para todas las poblaciones los cuales fueron ejecutados en el software Genodive v3.0 (Meirmans, 2020). Luego se recurrió a aproximaciones basadas en individuos a través de visualizar la agrupación de los individuos mediante análisis IBS. Un análisis de *clusters* sobre la matriz generada con los coeficientes por pares obtenidos por IBS entre todos los posibles pares de individuos fue llevado a cabo utilizando 10.000 permutaciones con el objetivo de determinar cuantos grupos existen en el set de datos. Esto fue llevado a cabo en el paquete SNPRelate v1.6.4 (Zheng y col., 2012) en R (R Core Team, 2019). Adicionalmente, se utilizó una aproximación de agrupamiento mediante un análisis discriminante de componentes principales (DAPC) en el paquete Adegenet (Jombart y col., 2010) en RStudio v1.4.1106 (RStudio Team, 2016). En DAPC, se ejecutó primero un análisis de componentes principales (APC) de los genotipos *multilocus* de los individuos y luego, utilizando los *scores* de este APC se llevó a cabo un análisis discriminante utilizando la localidad de origen de cada individuo como *prior*. Estos análisis se basan en la detección del número de grupos que minimizan la variación entre grupos (Jombart y col., 2010) utilizando los valores *k* promedio y un criterio de información bayesiano (BIC) para identificar el número óptimo de grupos en el set de datos, sin asumir una estructura subyacente en los subgrupos de las poblaciones estudiadas y sin asumir *panmixia*, utilizando la función *Find.clusters*, incluida en la librería adegenet. El número de grupos en el set de datos fue determinado usando 1×10^6 iteraciones. El número óptimo de componentes principales fue determinado utilizando 1.000 simulaciones.

Para determinar el número de grupos genéticos se utilizó adicionalmente una aproximación bayesiana mediante el software STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard y col., 2000) implementado en su versión de Python paralelizada, STRAUTO (Chhatre y Emerson, 2017). Los grupos (k) utilizados variaron desde uno a tres, correspondiente al número de localidades muestreadas. Se replicaron 10 corridas, cada una con una cadena de 500.000 MCMC con un *burn-in* de 10%. Se utilizó un modelo de mezcla o *admixture* y la opción de frecuencias alélicas correlacionadas entre poblaciones, al ser esta configuración la más adecuada en casos de una sutil estructuración poblacional (Falush y col., 2003). El valor de k más probable fue inferido basado en el método de delta K propuesto por Evanno y col. (2005).

Flujo génico.

Para estimar las tasas de migración contemporánea, se recurrió al software BayesAss 3.0 (Wilson y Rannala 2003; Rannala, 2007), el cual utiliza una aproximación bayesiana basada en el desequilibrio temporal de los genotipos, es decir, un proceso producido por inmigración y atenuado por el apareamiento aleatorio. Este programa permite la identificación de migrantes recientes y de su descendencia. BayesAss no asume equilibrio de deriva-migración, lo cual se asume como poco probable en poblaciones naturales. Para los análisis los parámetros utilizados fueron 1×10^7 cadenas MCMC con un *burn-in* de $2,5 \times 10^6$ y una frecuencia de muestreo de 1×10^3 para asegurar una independencia relativa de la cadena por parte de los datos. Las tasas de migración obtenidas fueron multiplicadas por los tamaños efectivos de las poblaciones, para estimar de esta forma el número de migrantes efectivos por generación entre los sitios considerados. Por otra parte, el flujo genético histórico entre estas tres poblaciones fue

calculado utilizando una estimación *multilocus* del número de migrantes efectivo usando el método descrito por Barton y Slatkin (1986) a través del programa Genepop v4.7.5 (Rousset, 2008). Este método se basa en la distribución de los alelos privados asumiendo que las poblaciones están cerca del equilibrio deriva-migración. Adicionalmente, se utilizó la función *divMigrate* contenida en el paquete de R *diveRsity* (Keenan y col., 2013) para calcular la migración relativa direccional utilizando el estadístico *Jost's D* (Jost, 2008). Este método se basa en definir un conjunto hipotético de migrantes para un par de poblaciones dado, estimando luego diferenciación genética entre cada una de las dos poblaciones y el conjunto hipotético. La diferenciación genética y su direccionalidad puede ser utilizada para estimar migración relativa entre el par de poblaciones, debido a que el uso de un conjunto hipotético de migrantes permite obtener información sobre la dirección del flujo génico usando medidas simétricas regulares de diferenciación genética. Esta metodología es explicada en detalle por Sundqvist y col. (2016).

RESULTADOS

En las dos placas secuenciadas, se obtuvo un total de 260.135.231 y 263.506.046 lecturas, con 249.396.409 y 253.244.524 lecturas de buena calidad respectivamente. El *pipeline* UNEAK detectó 69.412 sitios como SNPs pertenecientes a 60 individuos, a los cuales se les aplicó filtros en TASSEL v3 para obtener un set de datos exclusivamente con individuos pertenecientes a localidades de interés. Del set de datos fueron eliminados cinco individuos por tener menos del 80% de sus sitios informativos. Posteriormente por medio de los análisis IBS fueron eliminados tres individuos altamente diferenciados y potencialmente pertenecientes a *S. fuegiensis*. Adicionalmente se identificaron tres grupos claramente diferenciados correspondientes a las tres localidades muestreadas (Figura 1). Utilizando Bayescan con una corrección por FDR de los *q-values* de 0,05, 25 de los 1.313 *loci* demostraron valores de F_{st} mayores a lo esperado bajo una distribución neutral (*q-values* menores a 0,05; Figura 2a). El eje horizontal de la Figura 2a corresponde al logaritmo de la probabilidad posterior (valores de *q*) y el eje vertical representa el límite de la probabilidad posterior utilizando un FDR de 0,05. De forma complementaria, PCAdapt detectó 222 *loci* con señal de estar putativamente bajo selección (Figura 2b). Los 25 *loci* señalados significativamente por ambas metodologías (Figura 2c) como no neutrales fueron retirados del set de datos, obteniéndose un set putativamente neutral de 1.288 *loci* para 52 individuos de *S. lateralis*.

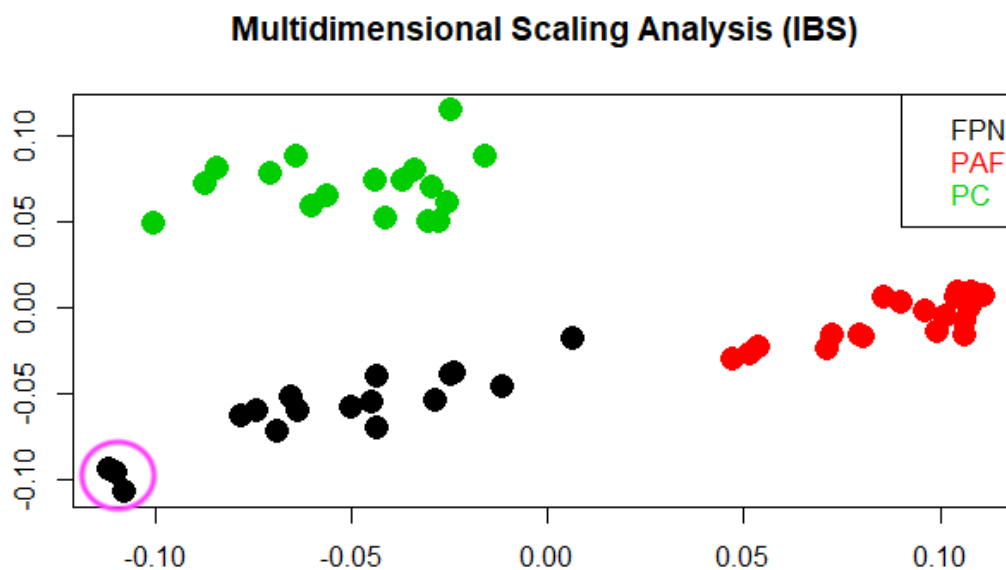


Figura 1. Análisis de escalamiento multidimensional (MDS) de una matriz *Identity-by-State* (IBS) para 55 individuos de *S. lateralis* provenientes del archipiélago Kerguelen, Océano Austral. Se observa la división de tres grupos pertenecientes a las localidades estudiadas. Un grupo de tres individuos se observa en la parte inferior izquierda (círculo en lila), probablemente correspondientes a *Siphonaria fuegiensis*, especie simpátrica.

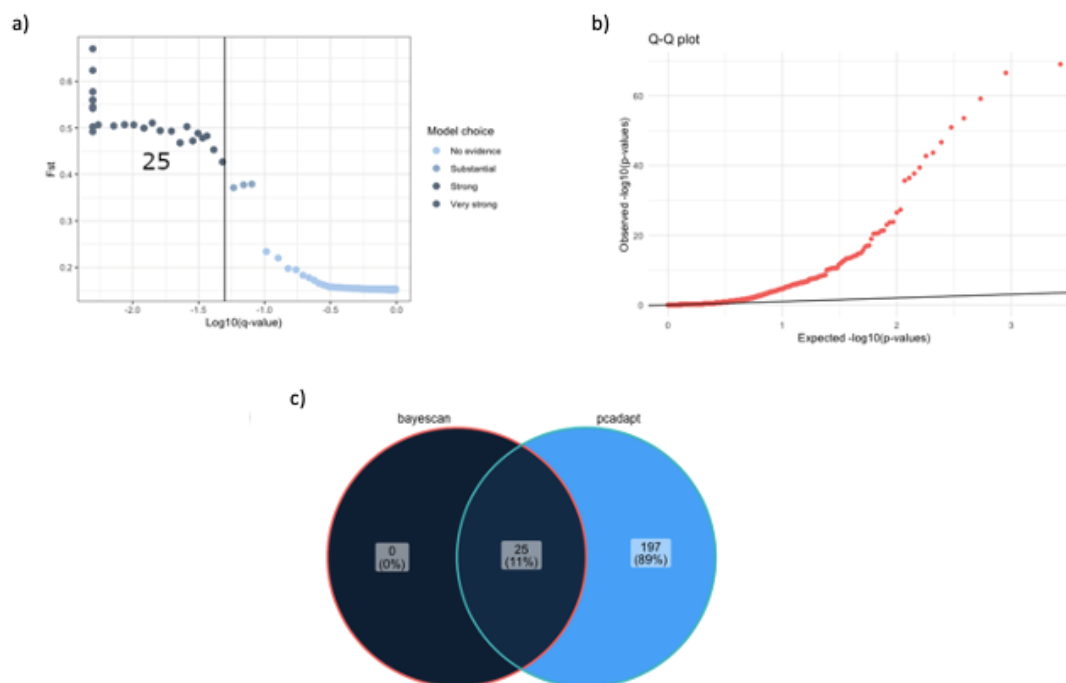


Figura 2. Detección de *loci outlier*. a) Resultados de análisis en BayeScan para la identificación de SNPs *outlier* dentro de los 2.902 *loci* analizados. Se detectaron 25 SNPs putativamente sujetos a selección balanceadora. b) *p-values* obtenidos en el software PCAdapt mediante un Q-Q plot. Se consideran *outliers* mediante esta metodología los *p-values* menores al 1% (alfa = 0,01, línea horizontal) c) Diagrama de Venn del número de *loci* candidatos a selección diversificadora detectados mediante BayeScan y PCAdapt, indicando los exclusivos de cada método y los comunes entre ambas metodologías. Estos últimos fueron eliminados del set de datos con el fin de estudiar la señal putativamente neutral.

La heterocigosidad observada y esperada para cada población estuvieron en los rangos de 0,269 a 0,449 y 0,284 a 0,351 respectivamente. La riqueza alélica (A_r) dentro de las poblaciones varió desde 1,75 a 1,91 (Tabla 2). La localidad PAF mostró los valores más altos de heterocigosidad observada, heterocigosidad esperada y riqueza alélica en comparación con las otras dos localidades. En cuanto al coeficiente de endogamia G_{is} , se observó un valor de 0,055 para FPN y PC, y un valor de -0,278 para PAF, sugiriendo un alejamiento del equilibrio de Hardy-Weinberg para esta última localidad debido a un exceso de heterocigosis. En cuanto a alelos privados, FPN obtuvo el valor más bajo correspondiente a 17 alelos, seguido por PC con 70 y, en el valor máximo, PAF con 163 alelos. Para los valores de tamaño efectivo para cada población, la población de PAF evidenció un valor de 90 individuos, menor a las otras dos poblaciones (Tabla 2).

Tabla 2. Estadísticos genéticos.

Población	N. ind.	Ho	He	Gis	Ne	Alelos privados	P(0.95)	P(0.99)	número promedio de alelos/locus
FPN	15	0.269 ± 0.234	0.271 ± 0.198	0.055	178.8	12,88	0.6995	0.7516	1.7516
PAF	20	0.449 ± 0.283	0.345 ± 0.169	-0.278	90	154,56	0.8703	0.9107	1.9107
PC	17	0.280 ± 0.228	0.285 ± 0.192	0.055	231.1	64,4	0.7950	0.7950	1.7950

Nombre de las poblaciones estudiadas con sus acrónimos y número de individuos respectivos, Heterocigosidad observada (Ho), Heterocigosidad esperada (He), Coeficientes de *inbreeding* (Gis), Tamaño Efectivo (Ne), número de alelos privados, proporción de sitios polimórficos y riqueza alélica para los organismos de *S. lateralis* provenientes de 3 localidades del Archipiélago subantártico Kerguelen.

Los análisis por pares de F_{st} resultaron todos significativos ($p < 0.05$), con valores entre 0,124 y 0,154 (Tabla 3). La presencia de tres grupos genéticos correspondientes a las localidades muestreadas observada en los análisis IBS (Figura 1) fue confirmada nuevamente utilizando los análisis de discriminación de componentes principales, los cuales consideran los sitios de muestreo como *prior* (Figura 3a). Los análisis de STRUCTURE determinaron un K óptimo igual a 3 (Figura 3b). Se identifican nuevamente tres grupos, correspondientes cada uno de ellos a las distintas localidades muestreadas, con una muy leve señal de intercambio genético entre ellas, sin evidencia de migrantes de primera o segunda generación.

Tabla 3. Valores de F_{st} de la señal neutral de SNPs para todos los pares de localidades muestreadas.

Statistic	PAF	PC
FPN	0.125	0.124
PAF	--	0.154

Medida de la diferenciación genética de la comparación por pares calculada usando 1.288 SNPs neutrales en *S. lateralis*. Todos los resultados significativos ($p < 0,001$). FPN: Fjord des Portes Noires, PAF: Port-Aux-Français, PC: Port Couvreur.

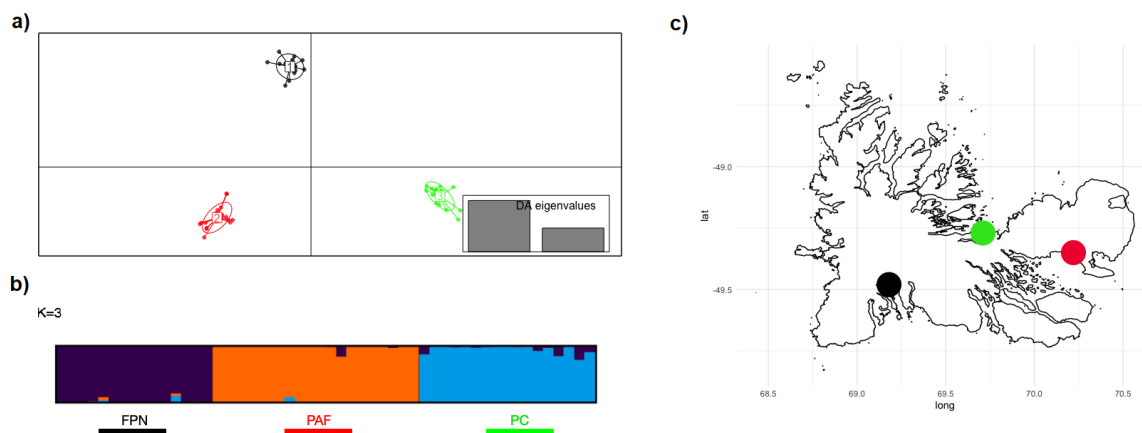


Figura 3. Análisis de Estructura genética. a) Grafico de dispersión correspondiente al Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC) mostrando los dos primeros componentes principales para $k=3$. Los colores corresponden al sitio donde fue muestreado cada individuo: En negro FPN, rojo PAF, verde PC. **b)** Resultados obtenidos en STRUCTURE para todas las muestras ($k=3$), **c)** Mapa de Kerguelen con las localidades muestreadas.

Las tasas de migración contemporánea entre las poblaciones descritas fueron muy bajas, entregando evidencia de una ausencia de migración reciente entre las localidades analizadas, no detectando señales de flujo genético significativas entre poblaciones (Tabla 4 y 5). En cuanto al flujo histórico calculado entre las 3 poblaciones dio señales de existencia de flujo génico histórico bajo entre las 3 localidades, siempre inferior a 0,1 migrante por generación (Figura 4, Tabla 6).

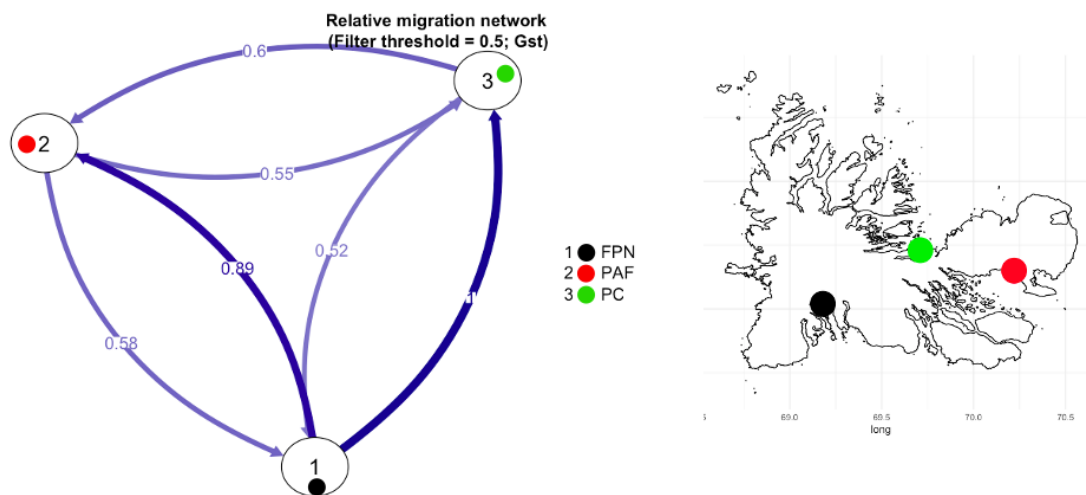


Figura 4. **Red de migración direccional relativa.** Se muestran los valores sobre 0,5. En negro FPN, rojo PAF y verde PC. Calculada usando divMigrate.

Tabla 4. Tasas de Migración.

Migración hacia	Migración desde		
	FPN	PAF	PC
FPN	0.9628(0.0242)	0.0186(0.0176)	0.0186(0.0177)
PAF	0.0144(0.0137)	0.9710(0.0191)	0.0146(0.0139)
PC	0.0168(0.0159)	0.0166(0.0157)	0.9667(0.0217)

Estimados (con intervalos de confianza de 95% para cada estimado) de la proporción de migrantes desde cada localidad del archipiélago Kerguelen, obtenido con BAYESASS (1288 *loci*; N = 52 individuos).

Tabla 5. Número de migrantes efectivos

Migración hacia	Migración desde			
		FPN	PAF	PC
FPN		-	3.326	3.326
PAF		1.296	-	1.314
PC		3.882	3.836	-

* Calculado multiplicando la tasa de migración por el tamaño efectivo de la población destino.

Tabla 6. Cantidad de intercambio de individuos por generación.

Entre	Migrantes por generación
PAF y PC	0.060
FPN y PAF	0.076
FPN y PC	0.077

- Calculado utilizando el software GenePop

DISCUSIÓN

Siphonaria lateralis es una especie bentónica intermareal, con baja vagilidad, de desarrollo protegido y asociada comúnmente a macroalgas como *Durvillaea antártica* y *Macrocystis pyrifera*, lo que le confiere potencialmente la capacidad de dispersarse largas distancias por medio de *rafting*. Con la información obtenida a través de la secuenciación masiva y su adecuado procesamiento bioinformático es posible evaluar qué tan efectivo es este mecanismo para conectar genéticamente poblaciones a distancias geográficas de decenas a cientos de kilómetros como las estudiadas en el archipiélago Kerguelen. El presente estudio es pionero en esta área al utilizar NGS para evaluar, por medio de SNPs, la existencia de conectividad y estructuración genética considerando escalas geográficas de decenas a cientos de kilómetros para una especie que es capaz de dispersar largas distancias a través de *rafting* (Griffiths & Waller, 2016; González-Wevar y col., 2018).

Los análisis de estructuración genética para *Siphonaria lateralis* en las islas Kerguelen muestran tres grupos genéticamente diferenciados. Adicionalmente, los análisis de flujo contemporáneo no son capaces de detectar eventos recientes de dispersión entre las localidades estudiadas. Nuestro datos concuerdan con lo reportado para *Abatus cordatus*, una especie de erizo marino con desarrollo directo en las islas Kerguelen, en donde también se evidenció la existencia de estructuración genética entre poblaciones, incluso cuando están separadas por decenas de metros (Ledoux y col., 2012), que es lo esperando para especies con bajo potencial de dispersión como *S. lateralis*, como lo es la ausencia de fase larval de vida libre. Contrastantemente, el efecto contrario es descrito en la literatura para especies con alta movilidad y fases larvales dispersivas, en donde se encuentra estructuración genética leve o ausente entre

poblaciones separadas por grandes distancias (Grosberg y Cunningham, 2001; Riginos y col., 2014). En este contexto, la dispersión mediada por *rafting* desafía este paradigma al ser descrito como un importante agente de dispersión de organismos bentónicos (Thiel y Gutow, 2005; Thiel y Haye, 2006), confiriéndoles hipotéticamente la capacidad de mantener cohesión genética por medio del intercambio de individuos. Considerando los resultados obtenidos respecto a estructura genética, la presencia de tres grupos claramente diferenciados permite inferir procesos de diferenciación alopátrica asociados a bajos niveles de flujo génico entre localidades estudiadas, reafirmado por los resultados obtenidos en los análisis de migración reciente, sugiriendo un intercambio genético insuficiente como para mantener homogeneidad genética entre poblaciones de *S. lateralis* en el archipiélago de Kerguelen (Crow y Aoiki, 1984). Concordantemente, la cuantificación del flujo histórico permite estimar intercambio de menos de un individuo por generación entre los sitios de estudio, lo que se asume como insuficiente para mantener equilibrio deriva-migración (Whitlock y Barton, 1997; Hössjer *et al*, 2016). Estos resultados sugieren procesos de diferenciación asociados a un bajo flujo genético, proponiendo al *rafting* como un mecanismo de dispersión asociado más a eventos excepcionales que a un intercambio regular de individuos de *S. lateralis*, considerando poblaciones geográficamente distanciadas por decenas a centenas de kilómetros. Estudios que comparan sitios separados por grandes distancias proponen que el factor geográfico sería el principal responsable del carácter impredecible e irregular de la dispersión por *rafting* (Helmut *et al*, 1994; Haye *et al*, 2012). Sin embargo, nuestro estudio muestra que estas características se replican para la dispersión por rafting a la escala regional, como se observa en *S. lateralis* en el archipiélago Kerguelen, lo que sugiere que la distancia geográfica no sería determinante de esta irregularidad.

En esta especie, el mecanismo de *rafting* cumpliría el rol de cohesionar genéticamente las poblaciones de las islas Kerguelen a grandes escalas temporales por medio del intercambio ocasional de individuos entre poblaciones. Lo anteriormente mencionado puede ser contrastado con los análisis de estructuración genética al analizar las muestras pertenecientes a otras islas sub-Antárticas, escenario bajo el cual el archipiélago Kerguelen conforma una sola unidad genética, integrando las tres localidades estudiadas (Millán-Medina, 2022). Esta información permite inferir que las diferencias genéticas dentro de Kerguelen son suficientes para detectar estructuración entre las poblaciones cuando son comparadas sólo entre ellas, perdiendo significancia cuando son comparadas las poblaciones de *S. lateralis* provenientes del resto del Océano Austral, debido a la evidencia de cohesión genética entre las poblaciones de Kerguelen al compararlas con el resto de islas sub-Antárticas, lo cual es visible con la resolución espacial que entregan los marcadores SNPs.

Nuestro estudio caracteriza la naturaleza irregular e impredecible de la dispersión asociada a *rafting* y su rol de cohesionar genéticamente poblaciones a través de eventos excepcionales, los cuales debido a su aparente baja frecuencia permitirían la diferenciación de especies bentónicas que dispersan asociadas a sustrato flotante y determinaría una incapacidad de mantener flujos genéticos estables a cortas distancias (escala regional). En cuanto a los resultados obtenidos respectivos a diversidad genética, se observa que la localidad Port-Aux-Français concentra la mayor diversidad genética, evidenciada por su heterocigosidad, tanto observada como esperada. Esta mayor diversidad genética también es reflejada por un mayor tamaño efectivo y un mayor número de alelos privados, sugiriendo un flujo asimétrico en una aparente conectividad histórica. Un mayor número de alelos privados, exclusivos para esta localidad sugiere

de una menor migración de individuos desde esta localidad al resto de las localidades estudiadas, lo cual toma sentido considerando la dirección de la Corriente Circumpolar Antártica, la cual colisiona con el archipiélago Kerguelen desde su extremo Oeste en dirección Este dentro de su extensión que rodea al continente antártico, recorriendo el Océano Austral en sentido horario (Nowlin & Klinck, 1986; Barker & Thomas, 2004). Al evaluar el flujo asimétrico derivado de las diferencias genéticas evaluando entre pares de poblaciones (Sundqvist y col., 2016), se logra apreciar señales de migración entre los sitios, no obstante, esta estimación de direccionalidad en migración relativa probablemente se encuentra influenciada por eventos históricos de efecto fundador posteriores al último máximo glacial, proceso que influenció la composición genética de las poblaciones estudiadas (Sundqvist y col., 2016, Moon y col., 2017, González-Wevar y col., 2018). Nuestro estudio no es necesariamente representativo de los organismos bentónicos del Océano Austral que dispersan por este medio, por lo que surgen interrogantes de si las características inherentes a la historia de vida de *S. lateralis* o su asociación a macroalgas es determinante al momento de considerar la efectividad de este medio de dispersión. De este modo se requieren más estudios para esclarecer las capacidades y predisposición de *S. lateralis* a dispersarse por medio de *rafting*, pero más importante aún, la necesidad de estudiar otros modelos a través de herramientas como NGS y realizar estudios comparativos de genómica de poblaciones para evaluar a alta resolución sus dinámicas de conectividad y flujos génicos. Lo descrito anteriormente es necesario antes de poder generalizar sobre la efectividad de la dispersión mediada por *rafting* a pequeñas escalas geográficas, contexto en el que el océano Austral destaca como modelo para futuros estudios al concentrar gran cantidad de especies de bajo potencial dispersivo autónomo, asociadas a macroalgas, las cuales dispersan en grandes números conectando las islas subantárticas.

CONCLUSIÓN

Una estructura fuerte y significativa sumado a una evidente baja conectividad sugiere que la dispersión mediada por *rafting* no sería suficiente para homogenizar genéticamente las poblaciones de *S. lateralis* a escala de las islas Kerguelen. Los análisis de estructuración genética revelan tres grupos, correspondientes a las localidades estudiadas y concordantes con los análisis de flujo contemporáneo, los cuales no muestran evidencia de intercambio genético entre las poblaciones del archipiélago estudiadas. Sin embargo, queda en evidencia la existencia de dispersión histórica asociada a *rafting*, probablemente producida por eventos de recolonización posteriores al último máximo glacial. Esta dispersión histórica permite mantener actualmente cohesión genética de la especie en el archipiélago, con direccionalidad Oeste-Este, determinado por el sentido de la CCA, la cual constituye el motor de dispersión de las balsas de algas pardas y de las especies que dispersan adheridas a ellas en el océano Antártico. A futuro, son necesarios nuevos estudios, tentativamente utilizando NGS, para realizar análisis genómicos de especies bentónicas en el Océano Austral a distintas escalas espaciales. Lo anterior, con el fin de comprender en mayor medida los mecanismos de dispersión a larga distancia asociados a *rafting* y su extensión. Adicionalmente, es necesario estudiar los rasgos de historia de vida de estas especies y sus capacidades para dispersar por medio de *rafting*, con el fin de confirmar o refutar lo sugerido por nuestros resultados, considerando la resolución espacial y temporal de diferentes marcadores moleculares. Nuevas investigaciones que incorporen biología molecular, biología evolutiva y ciencias ambientales pueden contribuir a entender en mayor medida al *rafting* y sus implicancias en los ecosistemas australes y su biota.

BIBLIOGRAFÍA

Ali, J.R. & Huber, M. (2010) Mammalian biodiversity on Madagascar controlled by ocean currents. *Nature*, 463, 653–656.

Andrews, K.R. *et al* Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *Nat. Rev. Genet.* 17, 81-92 (2016).

Ayre, D. J., Minchinton, T. E., & Perrin, C. (2009). Does life history predict past and current connectivity for rocky intertidal invertebrates across a marine biogeographic barrier?. *Molecular Ecology*, 18(9), 1887-1903.

Barbosa, S. S., Klanten, S. O., Puritz, J. B., Toonen, R. J., & Byrne, M. (2013). Very fine-scale population genetic structure of sympatric asterinid sea stars with benthic and pelagic larvae: influence of mating system and dispersal potential. *Biological Journal of the Linnean Society*, 108(4), 821-833.

Barker, P. F., & Thomas, E. (2004). Origin, signature and palaeoclimatic influence of the Antarctic Circumpolar Current. *Earth-Science Reviews*, 66(1-2), 143-162.

Barton, N. H., & Slatkin, M. (1986). A quasi-equilibrium theory of the distribution of rare alleles in a subdivided population. *Heredity*, 56(3), 409-415.

Bay, L. K., Crozier, R. H., & Caley, M. J. (2006). The relationship between population genetic structure and pelagic larval duration in coral reef fishes on the Great Barrier Reef. *Marine Biology*, 149(5), 1247-1256.

Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Raufaste N., Bonhomme F. (2002). Genetix 4.01, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. (http://univmontp2.fr/*genetix/genetix/genetix.htm).

Bensch, S. & Akesson, M. (2005) Ten years of AFLP in ecology and evolution: why so few animals? *Molecular Ecology*, 14, 2899–2914.

Bradbury, P. J., Zhang, Z., Kroon, D. E., Casstevens, T. M., Ramdoss, Y., & Buckler, E. S. (2007). TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 23(19), 2633-2635.

Cahill, A. E., & Levinton, J. S. (2016). Genetic differentiation and reduced genetic diversity at the northern range edge of two species with different dispersal modes. *Molecular Ecology*, 25(2), 515-526.

Chambers, R. J., & McQuaid, C. D. (1995). A review of larval development in the intertidal limpet genus *Siphonaria* (Gastropoda: Pulmonata). *Oceanographic Literature Review*, 6(42), 484.

Chhatre, V. E., & Emerson, K. J. (2017). StrAuto: automation and parallelization of STRUCTURE analysis. *BMC Bioinformatics*, 18(1), 1-5.

- Cowen, R. K., & Sponaugle, S. (2009). Larval dispersal and marine population connectivity. *Annual Review of Marine Science*, 1, 443-466.
- Cowie, R. H., & Holland, B. S. (2006). Dispersal is fundamental to biogeography and the evolution of biodiversity on oceanic islands. *Journal of Biogeography*, 33(2), 193-198.
- Crisp, M. D., Trewick, S. A., & Cook, L. G. (2011). Hypothesis testing in biogeography. *Trends in Ecology & Evolution*, 26(2), 66-72.
- Crow, J. F., & Aoki, K. (1984). Group selection for a polygenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(19), 6073-6077.
- Cumming, R. A., Nikula, R., Spencer, H. G., & Waters, J. M. (2014). Transoceanic genetic similarities of kelp-associated sea slug populations: long-distance dispersal via rafting?. *Journal of Biogeography*, 41(12), 2357-2370.
- Dayrat, B., Goulding, T. C., & White, T. R. (2014). Diversity of Indo-West Pacific *Siphonaria* (Mollusca: Gastropoda: Euthyneura). *Zootaxa*, 3779, 246–276.
- Delille, B., Borges, A. V., & Delille, D. (2009). Influence of giant kelp beds (*Macrocystis pyrifera*) on diel cycles of pCO₂ and DIC in the Sub-Antarctic coastal area. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 81(1), 114-122.
- Do, C., Waples, R. S., Peel, D., Macbeth, G. M., Tillett, B. J., & Ovenden, J. R. (2014). NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (N_e) from genetic data. *Molecular Ecology Resources*, 14(1), 209-214.
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8), 2611-2620.
- Excoffier, L. and H.E. L. Lischer (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10: 564-567.
- Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. K. (2003). Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164(4), 1567-1587.
- Foll, M., Gaggiotti, O. 2008. A genome-scan method to identify selected loci appropriate for both dominant and codominant markers: a Bayesian perspective. *Genetics* 180: 977–993.
- Fraser, C. I., Morrison, A. K., Hogg, A. M., Macaya, E. C., van Sebille, E., Ryan, P. G., ... & Waters, J. M. (2018). Antarctica's ecological isolation will be broken by storm-driven dispersal and warming. *Nature Climate Change*, 8(8), 704-708.

Gillespie, R. G., Baldwin, B. G., Waters, J. M., Fraser, C. I., Nikula, R., & Roderick, G. K. (2012). Long-distance dispersal: a framework for hypothesis testing. *Trends in Ecology & Evolution*, 27(1), 47-56.

González-Wevar, C. A., Segovia, N. I., Rosenfeld, S., Ojeda, J., Hüne, M., Naretto, J., ... & Spencer, H. G. (2018). Unexpected absence of island endemics: Long-distance dispersal in higher latitude sub-Antarctic *Siphonaria* (Gastropoda: Euthyneura) species. *Journal of Biogeography*, 45(4), 874-884.

González-Wevar, C. A., Hüne, M., Rosenfeld, S., Nakano, T., Saucède, T., Spencer, H., & Poulin, E. (2019). Systematic revision of *Nacella* (Patellogastropoda: Nacellidae) based on a complete phylogeny of the genus, with the description of a new species from the southern tip of South America. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 186(2), 303-336.

González-Wevar, C. A., Segovia, N. I., Rosenfeld, S., Noll, D., Maturana, C. S., Hüne, M., ... & Poulin, E. (2021). Contrasting biogeographical patterns in *Margarella* (Gastropoda: Calliostomatidae: Margarellinae) across the Antarctic Polar Front. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 156, 107039.

Gould, A. A. (1846). Shells collected by the United States Exploring Expedition under the command of Charles Wilkes. In *Proceedings of the Boston Society of Natural History* (Vol. 2, No. 3).

Griffiths, H. J., & Waller, C. L. (2016). The first comprehensive description of the biodiversity and biogeography of Antarctic and Sub-Antarctic intertidal communities. *Journal of Biogeography*, 43(6), 1143-1155.

Grosberg, R., & Cunningham, C. W. (2001). Genetic structure in the sea. *Marine Community Ecology*, 61-84.

Güller, M., Zelaya, D. G., & Ituarte, C. (2016). How many *Siphonaria* species (Gastropoda: Euthyneura) live in southern South America? *Journal of Molluscan Studies*, 82(1), 80-96.

Halanych, K. M., & Mahon, A. R. (2018). Challenging dogma concerning biogeographic patterns of Antarctica and the Southern Ocean. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 49, 355-378.

Haye, P. A., Varela, A. I., & Thiel, M. (2012). Genetic signatures of rafting dispersal in algal-dwelling brooders *Limnoria* spp. (Isopoda) along the SE Pacific (Chile). *Marine Ecology Progress Series*, 455, 111-122.

Haye, P. A., Segovia, N. I., Muñoz-Herrera, N. C., Gálvez, F. E., Martínez, A., Meynard, A., ... & Faugeron, S. (2014). Phylogeographic structure in benthic marine invertebrates of the southeast Pacific coast of Chile with differing dispersal potential. *PLoS One*, 9(2), e88613.

- Hellberg, M. E. (1996). Dependence of gene flow on geographic distance in two solitary corals with different larval dispersal capabilities. *Evolution*, 50(3), 1167-1175.
- Helmuth, B., Veit, R. R., & Holberton, R. (1994). Long-distance dispersal of a subantarctic brooding bivalve (*Gaimardia trapesina*) by kelp-rafting. *Marine Biology*, 120(3), 421-426.
- Hill, W. G. (1981). Estimation of effective population size from data on linkage disequilibrium. *Genetics Research*, 38(3), 209-216.
- Hössjer, O., Laikre, L., & Ryman, N. (2016). Effective sizes and time to migration–drift equilibrium in geographically subdivided populations. *Theoretical Population Biology*, 112, 139-156.
- Johannesson, K. (1988) The paradox of Rockall: why is a brooding gastropod (*Littorina saxatilis*) more widespread than one having a planktonic larval dispersal stage (*L. littorea*)? *Marine Biology*, 99, 507–513.
- Jombart, T., Devillard, S., & Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*, 11(1), 1-15.
- Jost, L. O. U. (2008). GST and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology*, 17(18), 4015-4026.
- Kalinowski, S. T. (2005). hp-rare 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. *Molecular Ecology Notes*, 5(1), 187-189.
- Keenan, K., McGinnity, P., Cross, T. F., Crozier, W. W., & Prodöhl, P. A. (2013). diveRsity: An R package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(8), 782-788.
- Ledoux, J. B., Tarnowska, K., Gérard, K., Lhuillier, E., Jacquemin, B., Weydmann, A., ... & Chenuil, A. (2012). Fine-scale spatial genetic structure in the brooding sea urchin *Abatus cordatus* suggests vulnerability of the Southern Ocean marine invertebrates facing global change. *Polar Biology*, 35(4), 611-623.
- Lu, F., Lipka, A.E., Glaubitz, J., Elshire, R., Cherney, J.H., Casler, M.D., Bucklet, E.S., Fostich, D.E. (2013). Switchgrass Genomic Diversity, Ploidy, and Evolution: Novel Insights from a Network-Based SNP Discovery Protocol. *PLoS Genetics* 9(1): e1003215.
- Manel, S., Perrier, C., Pratlong, M., Abi-Rached, L., Paganini, J., Pontarotti, P., & Aurelle, D. (2016). Genomic resources and their influence on the detection of the signal of positive selection in genome scans. *Molecular Ecology*, 25(1), 170-184.
- Marko, P. B. (2004). 'What's larvae got to do with it?' Disparate patterns of post-glacial population structure in two benthic marine gastropods with identical dispersal potential. *Molecular Ecology*, 13(3), 597-611.

Meirmans, P. G. (2020). genodive version 3.0: Easy-to-use software for the analysis of genetic data of diploids and polyploids. *Molecular Ecology Resources*, 20(4), 1126-1131.

Millán-Medina, C. (2022). Patrones de diversidad genética y estructura poblacional contemporánea en *Siphonaria lateralis* (Gould, 1846) en el océano Austral, Universidad de Chile.

Moon, K. L., Chown, S. L., & Fraser, C. I. (2017). Reconsidering connectivity in the sub-Antarctic. *Biological Reviews*, 92(4), 2164-2181.

Nikula, R., Fraser, C. I., Spencer, H. G., & Waters, J. M. (2010). Circumpolar dispersal by rafting in two subantarctic kelp-dwelling crustaceans. *Marine Ecology Progress Series*, 405, 221-230.

Nowlin Jr, W. D., & Klinck, J. M. (1986). The physics of the Antarctic circumpolar current. *Reviews of Geophysics*, 24(3), 469-491.

Foighil, D. O., Marshall, B. A., Hilbish, T. J., & Pino, M. A. (1999). Trans-Pacific range extension by rafting is inferred for the flat oyster *Ostrea chilensis*. *The Biological Bulletin*, 196(2), 122-126.

Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.

Privé, F., Luu, K., Vilhjálmsson, B. J., & Blum, M. G. (2020). Performing highly efficient genome scans for local adaptation with R package pcadapt version 4. *Molecular Biology and Evolution*, 37(7), 2153-2154.

Puritz, J. B., Keever, C. C., Addison, J. A., Barbosa, S. S., Byrne, M., Hart, M. W., ... & Toonen, R. J. (2017). Life-history predicts past and present population connectivity in two sympatric sea stars. *Ecology and Evolution*, 7(11), 3916-3930.

R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org>

RStudio Team (2016). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA <http://www.rstudio.com/>.

Rannala, B. (2007). BayesAss edition 3.0 user's manual. *University of California, Davis*.

Riginos, C., Buckley, Y. M., Blomberg, S. P., & Tremblay, E. A. (2014). Dispersal capacity predicts both population genetic structure and species richness in reef fishes. *The American Naturalist*, 184(1), 52-64.

Ríos Cardoza, C., Noziglia, C., & Guzmán, L. (1987). Desarrollo larvario de los gastrópodos *Siphonaria* (*Pachysiphonaria*) *lessoni* (Blainville, 1824) y *Kerguelenella lateralis* (Gould, 1846)(Pulmonata: siphonaridae) del estrecho de Magallanes, Chile. In *Anales del Instituto de la Patagonia*, 17, 77-88.

Ronce, O. (2007). How does it feel to be like a rolling stone? Ten questions about dispersal evolution. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 38, 231-253.

Rousset, F. (2008). genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8(1), 103-106.

Sherman, C. D. H., Hunt, A., & Ayre, D. J. (2008). Is life history a barrier to dispersal? Contrasting patterns of genetic differentiation along an oceanographically complex coast. *Biological Journal of the Linnean Society*, 95, 106–116. Wiley Online Library.

Simpson, R. D. (1976). Physical and biotic factors limiting the distribution and abundance of littoral molluscs on Macquarje Island (sub-Antarctic). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 21(1), 11-49.

Stevens, C. L., Hurd, C. L., & Smith, M. J. (2002). Field measurement of the dynamics of the bull kelp *Durvillaea antarctica* (Chamisso) Heriot. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 269(2), 147-171.

Sundqvist, L., Keenan, K., Zackrisson, M., Prodöhl, P., & Kleinhans, D. (2016). Directional genetic differentiation and relative migration. *Ecology and Evolution*, 6(11), 3461-3475.

Thiel, M., & Gutow, L. (2005). The ecology of rafting in the marine environment. II. The rafting organisms and community. *Oceanography and Marine Biology*, 43, 279-418.

Thiel M, Haye PA. (2006). The ecology of rafting in the marine environment. III. Biogeographical and evolutionary consequences. *Oceanography and Marine Biology Annual Reviews*. 44:323–429.

Todd, C. D., Lambert, W. J., & Thorpe, J. P. (1998). The genetic structure of intertidal populations of two species of nudibranch molluscs with planktotrophic and pelagic lecithotrophic larval stages: are pelagic larvae “for” dispersal?. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 228(1), 1-28.

Tynan, C. T. (1997). Cetacean distributions and oceanographic features near the Kerguelen Plateau. *Geophysical Research Letters*, 24(22), 2793-2796.

Waples, R. S. (1987). A multispecies approach to the analysis of gene flow in marine shore fishes. *Evolution*, 41(2), 385-400.

Waters, J. M. (2008). Driven by the West Wind Drift? A synthesis of southern temperate marine biogeography, with new directions for dispersalism. *Journal of Biogeography*, 35(3), 417-427.

Weersing, K., & Toonen, R. J. (2009). Population genetics, larval dispersal, and connectivity in marine systems. *Marine Ecology Progress Series*, 393, 1-12.

Whitlock, M. C., & Barton, N. H. (1997). The effective size of a subdivided population. *Genetics*, 146(1), 427-441.

Wilson, G. A., & Rannala, B. (2003). Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. *Genetics*, *163*(3), 1177-1191.

Zheng, X., Levine, D., Shen, J., Gogarten, S. M., Laurie, C., & Weir, B. S. (2012). A high-performance computing toolset for relatedness and principal component analysis of SNP data. *Bioinformatics*, *28*(24), 3326-3328.