

UCH-FC
MAG-B
R 741
C 1

ALTA CONECTIVIDAD ESPACIAL Y
ESTABILIDAD GENÉTICA TEMPORAL EN LA
JAIBA COMERCIAL *Metacarcinus edwardsii*
(BRACHYURA: CANCRIDAE)

Tesis
entregada a la
Universidad de Chile
en cumplimiento parcial de los requisitos
para optar al grado de

Magíster en Ciencias Biológicas

Facultad De Ciencias

Por

Noemí Vaneska Rojas Hernández

Abril, 2016



Director de Tesis: Dr. David Véliz

Co-Director Tesis: Dr. Luis Pardo

FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE

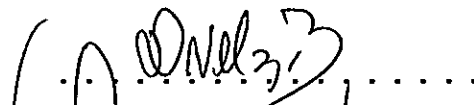
INFORME DE APROBACIÓN
TESIS DE MAGÍSTER

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magíster presentada por la candidata.

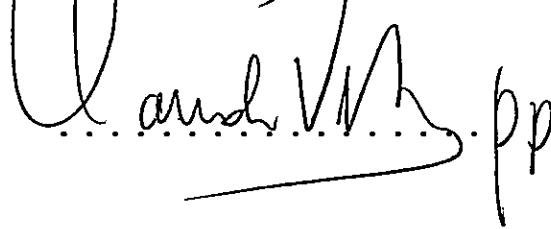
Noemí Vaneska Rojas Hernández

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas, en el examen de Defensa Privada de Tesis rendido el día 22 de Diciembre de 2015.

Director de Tesis
Dr. David Véliz

.....

Co-Director de Tesis
Dr. Luis M. Pardo

..... pp

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Elie Poulin

.....

Dr. Alejandra González

.....

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mi familia, amigos y compañeros por su cariño y compañía durante este proceso.

Agradezco de forma muy afectuosa a David Véliz, mi tutor durante estos años, por su apoyo, sus conocimientos y su gran motivación por la investigación y, a mi co-tutor Luis Miguel Pardo, por su disposición, sus conocimientos y todo el material proporcionado para el desarrollo de este trabajo.

Además, doy las gracias a todos los que de alguna manera prestaron su ayuda en el desarrollo de esta tesis, en especial a Ernesto Díaz, Pablo Muñoz, Ingrid Alvial y Loreto Carrasco, sin olvidar a Caren Vega Retter y Tannia Ramírez por la buena disposición cuando precisé de sus comentarios y conocimientos.

Y por último, señalar que este estudio fue apoyado por Fondecyt 1110445, ICM P05-002 y PFB-23.

ÍNDICE DE MATERIAS

Lista de tablas	v
Lista de figuras	vii
Resumen	ix
Abstract	xi
Introducción	1
Hipótesis	8
Objetivos	9
Materiales y métodos	10
Resultados	22
Discusión	38
Conclusiones	49
Bibliografía	50
Anexo	66



LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Número de muestras analizadas por localidad para cada temporada de captura.

Tabla 2. Resumen del análisis de los datos a escala espacial y temporal y los programas utilizados.

Tabla 3. Diferenciación genética por pares. Valores de F_{ST} sobre la diagonal y valores de G''_{ST} bajo ésta.

Tabla 4. Porcentajes de la varianza explicada entre el grupo al norte y el grupo al sur del paralelo 42°S, entre las poblaciones dentro de los grupos y, dentro de las poblaciones.

Tabla 5. Tasas de inmigración para cada una de las localidades. En negrita las tasas de auto-reclutamiento calculadas como $1 - \sum m$.

Tabla 6. Número de migrantes de primera generación y el porcentaje que representa respecto del tamaño muestral.

Tabla 7. Valores de F_{ST} se muestran por encima de la diagonal y los de G''_{ST} bajo la diagonal.

Tabla 8. Resumen de quiebres genéticos en invertebrados marinos con distintos potenciales de dispersión de la costa del Pacífico sudeste.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de los sitios de muestreo.

Figura 2. Inferencia del número de grupos genéticos a partir de las estimaciones de $L(K)$, promedio de los log likelihood de 5 corridas, en función de K (Las barras de error representan la desviación estándar).

Figura 3. Relación entre la distancia genética y distancia geográfica. La línea sólida representa la línea de tendencia calculada para todas las poblaciones.

Figura 4. Inferencia del número de grupos genéticos a partir de las estimaciones de $L(K)$, promedio de los log likelihood $\ln P(D)$ de 5 corridas, en función de K (Las barras de error representan la desviación estándar).

Figura 5. Histogramas de los coeficientes de parentesco para cada una de las cohortes larvales estudiadas.

Figura 6. Estimación del nivel de diferenciación genética y número de alelos promedio (N_A) entre las 6 poblaciones simuladas en función del tamaño poblacional y el porcentaje de migración entre ellas. a) y b) Simulación luego de transcurridas 10

generaciones, c) y d) simulación con 50 generaciones, e) y f) simulación con 100 generaciones.

Figura 7. a) Estimación del nivel de diferenciación genética y b) número de alelos promedio (N_A) entre las 6 poblaciones simuladas en el equilibrio en función del tamaño poblacional.

RESUMEN

La mayoría de los organismos marinos presenta poblaciones abiertas, con intercambio regular de individuos entre poblaciones tanto en el estadio pelágico como en el estadio bentónico. En el caso de los invertebrados marinos bentónicos, que poseen un ciclo de vida con adulto bentónico y larvas planctónicas, la conectividad entre grupos separados geográficamente se basa principalmente en la dispersión larvaria. Si bien la duración de la fase larval es un factor importante que promueve el flujo génico y por ende, la homogeneidad genética poblacional, otros múltiples factores pueden establecer una barrera para la dispersión, causando discontinuidad genética de las poblaciones. Considerando que un gran número de especies bentónicas de la costa chilena poseen gran distribución geográfica es posible que sus poblaciones se estructuren geográficamente al existir algunas zonas de transición biogeográfica. Tomando en cuenta esto, utilizamos la jaiba comercial *Metacarcinus edwardsii* para determinar la conectividad de poblaciones a lo largo de 700km, extensión que comprende la zona biogeográfica descrita en la latitud 42°S. Para estudiar estas poblaciones, se realizó un muestreo tanto espacial como temporal colectando individuos adultos y larvas megalopas. Se utilizó ocho microsátélites para dilucidar el grado de estructuración genética poblacional a nivel espacial y temporal y además de evaluar el grado de parentesco y el tamaño efectivo poblacional. Nuestros resultados reflejaron una nula variabilidad genética espacial, sugiriendo alta conectividad, con valores de migración histórica larval de alrededor de 10% en cada una de las localidades de muestreo. A

nivel temporal, en tanto, tampoco se detectó diferenciación genética entre eventos larvales, resultado que indicaría una baja varianza en el éxito reproductivo de los adultos año a año. Por otro lado, la ausencia de parentesco dentro de las cohortes sugiere que las larvas emparentadas se distribuyen azarosamente durante el asentamiento. Mientras, la similitud entre los tamaños poblaciones efectivos de cohortes y poblaciones adultas se asociaría a mortalidad azarosa en las primeras etapas del desarrollo. La gran conectividad espacial existente entre las poblaciones estudiadas, independiente de su presión de pesca, mantiene una homogeneidad genética continua alrededor de la zona de transición del paralelo 42°S. Este resultado es concordante con el alto potencial dispersivo de la especie dado por el prolongado desarrollo de su etapa larval.

ABSTRACT

Most of marine organisms show open populations with regular exchange of individuals among populations from pelagic and benthic stages. In the case of the benthic marine invertebrates, which have a benthic adult and a planktonic larva, the connectivity among groups separated geographically is mainly based on the larval dispersal. While the duration of larval phase is an important factor that promotes the gene flow and hence, the population genetic homogeneity, other factors could impose barriers to dispersion, causing genetic discontinuity. Considering that most benthic species from the Chilean showed a broad distribution, it is possible that their populations may be structured geographically considering the transition zones present in the coast. Taking this in account, we used the commercial crab *Metacarcinus edwardsii* to determine the population connectivity along 700km, extension comprising the biogeographic zone described in latitude 42°S. In order to study these populations, a sampling considering temporal and spatial collect of adults and megalopae was performed. Eight microsatellites were used to elucidate the degree of population genetic structuration in spatial and temporal level and also to evaluate the degree of parentage and the population effective size. The analysis showed null evidence of spatial genetic structuring, suggesting a high connectivity, with larval migration values averaging 10% in each sample site. As was observed in the spatial analysis, the temporal analysis showed also no evidence of genetic differentiation, indicating a low variance year to year in the reproductive success of adults. On the other hand, the low level of

relatedness ($r \approx 0$) detected in the analysis of settled megalopae suggests that kin larvae are separated early in the water column, settling randomly in the benthos. While, the similitude among cohorts and adults population sizes is associated with random mortality in the early development stages. The high spatial connectivity among studied populations, independent of its fishing pressure, keeps a continuous genetic homogeneity around the transition zone of the parallel 42°S. This result is concordant with the high dispersal potential for the specie given by the long larval development.

INTRODUCCIÓN

Gran parte de los invertebrados marinos bentónicos son sésiles o tienen escaso movimiento en su etapa adulta y la única fase dispersiva es la etapa larval pelágica (Thorson 1950). Las larvas son liberadas en la columna de agua y son transportadas por las corrientes donde se desarrollan y alimentan para luego regresar a la costa como larva competente, etapa en la cual el individuo desciende al bentos. Esta propagación de las larvas desde los sitios de desove hasta el sitio final de asentamiento es lo que se conoce como dispersión larval (Pineda et al. 2009), siendo los reclutas los sobrevivientes de este proceso. Típicamente la dispersión conduce a un porcentaje de auto-reclutamiento de larvas en las poblaciones de origen como también un intercambio de individuos entre poblaciones separadas geográficamente (conectividad poblacional) (Cowen et al. 2007). Esto es posible gracias al comportamiento de migración vertical que permite la retención larval en aguas cercanas a la costa, permaneciendo próximas a los sitios de liberación, mientras un porcentaje de ellas se dispersa a lo largo de la costa (Morgan y Fisher 2010, Peliz et al. 2007, Yannicelli et al. 2012, Bartilotti et al. 2014).

Considerando, por tanto, que la dispersión secundaria (adultos y juveniles) es muy reducida, la dispersión primaria (larval) es determinante en el grado de estructuración poblacional de las especies marinas bentónicas con ciclo de vida meroplanctónicos. Estudios comparativos entre especies que desarrollan una etapa larval pelágica frente a especies que presentan un desarrollo directo (i. e. que eclosionan directamente a la

fase juvenil) muestran que las especies con desarrollo directo tienen niveles de estructuración genética espacial mayores que las especies con desarrollo larval pelágico (briozoos: Goldson et al. 2001; gastrópodos: Lee y Boulding 2009; Haye et al 2014). En el mismo estudio, Lee y Boulding (2009) detectaron una variación temporal de la estructuración genética de las especies con larva pelágica, a diferencia de las especies de desarrollo directo que no mostraron variación temporal significativa.

Otros estudios en especies marinas con fase larval pelágica han revelado variaciones temporales en las frecuencias alélicas (Robainas et al. 2005; Barshis et al. 2011), hecho que ha sido relacionado con el fenómeno denominado parches caóticos (Johnson y Black 1982, 1984; Iacchi et al. 2013). Son varias las hipótesis que se manejan sobre qué factores pueden determinar una heterogeneidad genética temporal. Entre ellas está una fuerte deriva genética, causada por una alta mortalidad durante los primeros estadios de desarrollo, una de las características de las especies con desarrollo larval. Otras hipótesis contemplan la acción de la selección natural durante la etapa larval, así como también se han considerado los eventos catastróficos en el ambiente marino como mecanismos que podrían alterar el patrón de reclutamiento de larvas año a año (Lee y Boulding 2009).

Parece ser entonces, que la presencia o ausencia de la fase larval pelágica es un factor importante que puede determinar la magnitud tanto de la estructura espacial como temporal en las poblaciones de invertebrados bentónicos marinos. Sin embargo, la estructuración poblacional no puede ser predicha solamente por el modo de

desarrollo (Colson y Hughes 2004). En general, las especies con desarrollo directo muestran niveles más altos de diferenciación genética poblacional que las especies con desarrollo larval, pero hay casos que no siguen la regla, como es el caso de *Littorina sitkana* y *Nucella lapillus*, especies con desarrollo directo que no presentan estructuración genética debido a transporte por rafting (Kyle y Boulding 2000; Colson y Hughes 2004; Thiel y Haye 2006) y, al contrario, especies con desarrollo larval presentan estructuración, como ocurre con la estrella de mar *Patiriella regularis*, donde las zonas de surgencia actúan como una barrera al flujo génico (Waters y Roy 2004b). De acuerdo a lo anterior, y dado que la dispersión larval involucra interacciones entre la conducta larval y los mecanismos de transporte oceanográfico (Shanks y Shearman 2009), la estructuración de las poblaciones marinas no sólo está influenciada por el modo de desarrollo, sino también por condiciones oceanográficas (vientos, mareas y surgencias costeras) (Queiroga et al. 2007; Pardo et al. 2012), barreras físicas y rasgos de historia de vida (Cowen et al. 2009). Es por ello que taxa con desarrollo larval planctónico y estructuración genética espacial, son buenos modelos para estudiar los efectos restrictivos del ambiente al flujo génico.

Además, particularmente en especies marinas, se hace necesario conocer la topografía costera, puesto que a menudo se da una concordancia entre la presencia de barreras biogeográficas y quiebres filogeográficos (ver Cárdenas et al. 2009). Ejemplo de ello es un conocido quiebre biogeográfico que existe en Point Conception (34,5° N) en la costa

de California, donde numerosas especies presentan una fuerte estructuración genética. Esta zona ha sido relacionada a los cambios ocurridos durante los periodos glaciares e interglaciares y a la divergencia de las corrientes Alaska y California (Marko 2004; Kelly y Palumbi 2010).

En la costa del Pacífico sudeste también es posible distinguir dos grandes quiebres biogeográficos. El primero se describió entre los 30-32°S y corresponde a una zona de transición que se caracteriza por presentar un gradiente de temperatura de la superficie del mar, un patrón de circulación particular y un abrupto estrechamiento de la plataforma continental (Thiel et al. 2007). El segundo quiebre biogeográfico está localizado a alrededor de los 42°S (Camus 2001; Ibañez et al. 2009). En esta área ocurre la divergencia de las principales corrientes oceánicas, corriente de Cabo de Hornos con dirección sur y corriente Chileno-Peruana con dirección norte (Camus 2001). Algunos estudios en especies marinas de la costa chilena muestran un quiebre genético alrededor de la primera zona de transición (Laughlin et al. 2012; Haye et al. 2014) y otros en la segunda zona (Pérez-Alvarez et al. 2015). No obstante, hay especies que no ven afectada su conectividad poblacional a esas latitudes, como es el caso del gastrópodo marino *Concholepas concholepas* (Cárdenas et al. 2007; 2009), los crustáceos *Emerita análoga* y *Petrolisthes violaceus* y los equinodermos *Heliaster helianthus*, *Tetrapygus niger* (Haye et al. 2014). Haye y colaboradores (2014) asociaron



la falta de estructuración genética con un alto potencial de dispersión, dado principalmente por la duración del periodo larval pelágico de las especies.

Entre los numerosos taxa de invertebrados marinos se encuentra el de los crustáceos decápodos. Dentro del orden Decapoda el grupo más diverso corresponde a los cangrejos braquiuros (Ng et al. 2008), organismos que presentan una gran variabilidad en estilos de vida, habiendo cangrejos marinos, de agua dulce y terrestres (Anger 1995). Por un lado, los cangrejos de agua dulce se caracterizan por tener desarrollo directo y baja fecundidad (Cumberlidge et al. 2009) en cambio, los braquiuros marinos tienen un ciclo de vida complejo con un desarrollo larval que contempla varios estadios zoea y un estadio megalopa, que metamorfosea primero a un estado juvenil, el que crece por mudas sucesivas hasta la adultez (Anger 1995).

Organismo de estudio

La especie de estudio corresponde a la jaiba marmola *Metacarcinus edwardsii* (Bell, 1835), un crustáceo decápodo que habita las costas del Pacífico sudeste, distribuyéndose desde Guayaquil en Ecuador hasta el Canal Beagle (Vinuesa et al. 1999), abarcando así más de 50 grados de latitud. Este braquiuro es comestible y, dado su gran tamaño, es altamente explotado. En Chile, *M. edwardsii* tiene gran importancia para la pesca artesanal, siendo la jaiba de mayor captura a nivel nacional, representando el 77% del desembarque nacional (SERNAPESCA 2002-2011). Su

extracción se concentra principalmente en la X Región, siendo Ancud, Dalcahue y Quellón los principales puntos de desembarque (Pardo et al. 2015).

Esta especie tiene un desarrollo larval pelágico con una duración de 3 meses (a una temperatura de $14\pm 0.5^{\circ}\text{C}$), contemplando 5 estadios zoea y un estadio megalopa (Quintana 1983), asentándose en el ambiente bentónico entre los meses de Noviembre y Diciembre (Pardo et al. 2009b). En la etapa adulta habita un ambiente submareal, en la interfase entre los sustratos duros y suaves, donde se alimenta de carroña y bivalvos (Jara y Céspedes 1994). Si bien en esta especie se han realizado estudios relacionados con aspectos de la biología reproductiva (ciclo gonadal y tamaño de madurez: Pardo et al. 2009a), morfología de las larvas megalopas (Pardo et al. 2009b) y efectos de control pesquero en el potencial reproductivo de machos (Pardo et al. 2015), para un manejo pesquero efectivo e integrado se requiere información genética que nos ayudará a identificar los stocks presentes en la zona sur del país. Para ello, es necesario i) el estudio de la estructuración genética espacial de las poblaciones para establecer el número de stocks pesqueros y ii) la estructuración genética temporal la cual está compuesta por diferentes cohortes de individuos que se asientan año a año en una localidad y que pueden variar según las condiciones oceanográficas del año que reclutaron.

Actualmente la extracción de jaiba marmola está regulada por el D.S. N° 9 del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción del año 1990, estableciendo una talla mínima legal de extracción de 120 mm de ancho cefalotorácico (excepto para la X

región, con 110 mm) y existe veda indefinida a nivel nacional de hembras ovígeras (Retamal et al. 2009; Subsecretaría de Pesca 2011). En este contexto, la determinación de la estructura genética poblacional espacial y temporal de *M. edwardsii* permite una mayor comprensión de la dinámica espacial y de la conectividad poblacional, facultando el desarrollo de nuevas estrategias de manejo que aseguren su sustentabilidad.

HIPÓTESIS

1. El prolongado periodo de la fase larval planctónica promueve el flujo génico, generando un bajo nivel de estructuración genética espacial entre las distintas localidades que habita *M. edwardsii* a lo largo de un amplio rango espacial.
2. La alta mortalidad en la etapa larval junto a la variabilidad de las condiciones ambientales puede causar variación interanual en las frecuencias alélicas, determinando un grado de estructuración genética temporal entre cohortes larvales de una misma localidad.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el nivel de diferenciación genética espacial y temporal en grupos de individuos de la jaiba *Metacarcinus edwardsii* muestreados en diferentes zonas de la región sur del país.

Objetivos específicos

- Establecer el grado de estructuración poblacional espacial de los seis sitios muestreados de *M. edwardsii*.
- Determinar la tasa de flujo génico entre los seis sitios muestreados de *M. edwardsii*.
- Determinar si existe un quiebre genético para la especie *M. edwardsii* en la latitud 42°S.
- Evaluar el grado de estructuración poblacional temporal para cuatro cohortes consecutivas de *M. edwardsii* en la localidad de Los Molinos, Valdivia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de muestras

Para el estudio de la variabilidad espacial se consideró el análisis de 291 individuos adultos provenientes de 6 localidades del sur de Chile: Concepción (CO: 36°21'6.75"S; 72°50'52.68"O), Los Molinos (LM: 39°51'16.7" S; 73°23'40.3"O), Ancud (AN: 41°50'59.8" S; 73°51'32.5"O), Calbuco (CA: 41°45'47.1" S; 73°05'20.1"O), Dalcahue (DA: 42°22'46.3" S; 73°35'42.5"O) y Quellón (QU: 43°08'18.4" S; 73°36'43.4"O) (Figura 1). Las capturas se realizaron mediante buceo autónomo entre los años 2011 y 2014. El número de muestras obtenidas por localidad y por año se muestra en la Tabla 1.

En la localidad de Los Molinos, además, se capturó un total de 157 larvas megalopas durante cuatro años consecutivos (2009-2012) mediante el uso de colectores larvales pasivos descritos por Pardo et al. (2010). Un número cercano a 40 megalopas por año fueron separadas desde los colectores de asentamiento y fijadas en etanol al 95% (Tabla 1).

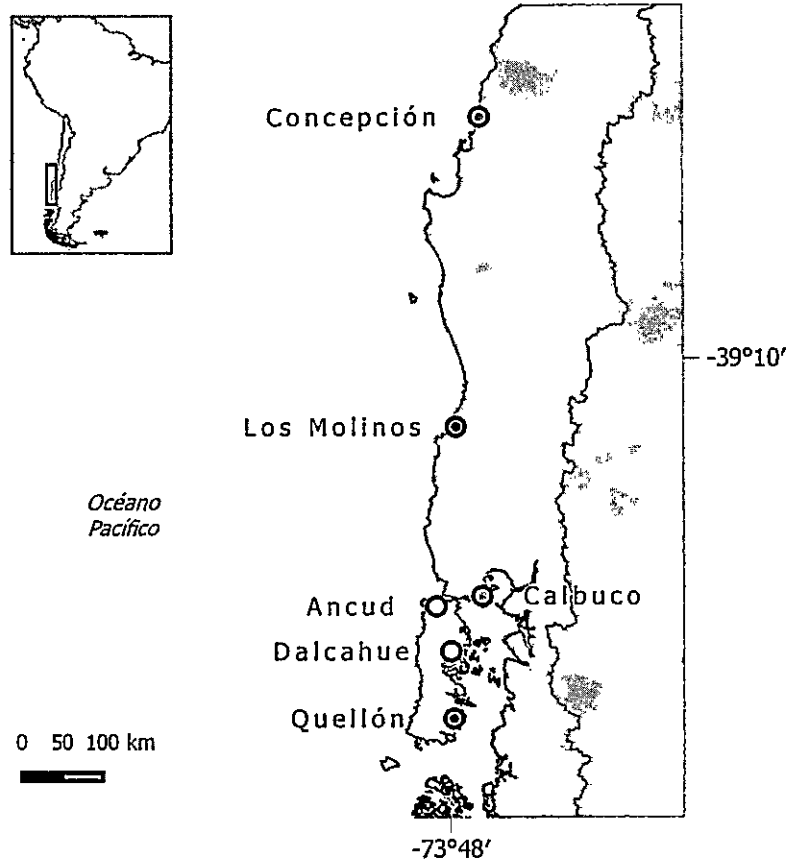


Figura 1 Mapa de los sitios de muestreo.

Tabla 1. Número de muestras analizadas por localidad para cada temporada de captura.

Localidad	Grupo	año	n
Los Molinos (LM)	Adulto	2011	24
		2013	24
Dalcahue (DA)	Adulto	2011	24
		2013	24
Ancud (AN)	Adulto	2012	37
		2013	24
Calbuco (CA)	Adulto	2012	16
		2013	16
Quellón (QU)	Adulto	2012	47
		2013	29
Concepción (CO)	Adulto	2014	26
Los Molinos (LM)	Megalopa	2009	35
Los Molinos (LM)	Megalopa	2010	51
Los Molinos (LM)	Megalopa	2011	37
Los Molinos (LM)	Megalopa	2012	34

Extracción de ADN y amplificación

El ADN genómico total de los individuos adultos fue extraído a partir de tejido muscular, preservado en etanol, usando el protocolo de extracción salina (Aljanabi y Martinez 1997). Para las megalopas, en tanto, el ADN genómico total fue extraído a partir de la megalopa completa utilizando kit de extracción QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) y purificado mediante la precipitación de ADN con acetato de sodio (3M; pH 5,2).

Se amplificaron 8 marcadores microsatélites polimórficos, tanto para individuos adultos como larvas megalopas, uno de ellos con motivo trinucleótido y el resto, con

motivo dinucleótido. Los marcadores microsatélites fueron amplificados utilizando los partidores y ciclo de PCR reportados en Rojas-Hernández et al. (2014). Los productos de PCR fueron genotipificados por el Servicio de Secuenciación del Departamento de Ecología de la Pontificia Universidad Católica de Chile y se utilizó el software GeneMarker (SoftGenetics) para construir la matriz de datos alélicas.

Análisis de los datos

Adultos

El número de alelos por locus, desequilibrio de ligamiento, las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) y heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o), fueron estimados usando el software GENETIX 4.0.5 (Belkhir et al. 1996). Con el programa FSTAT 2.9.3.2 (Goudet 1995) se estimó la riqueza alélica. Para probar que las frecuencias genotípicas observadas no difieren significativamente de las frecuencias esperadas, se utilizó pruebas de permutaciones (5000 permutaciones) asociadas a este análisis (ver Tabla 2).

Para los individuos adultos se estimó el nivel de estructuración temporal al comparar la variabilidad genética entre temporadas de captura dentro de una misma localidad y, también, el nivel de estructuración espacial al comparar la variabilidad entre localidades.

Para evaluar el nivel de diferenciación genética poblacional en base a datos genotípicos de marcadores altamente variables, Meirmans y Hedricks (2011) aconsejan que se debiera usar estadísticos alternativos en adición a F_{ST} . Uno de ellos es G''_{ST} , un estimador no influenciado por la heterocigosidad de las muestras y no sesgado cuando el número de poblaciones es bajo, siendo más adecuado para inferencias en historia demográfica y migración al compararlo con D de Jost (Meirmans y Hedricks 2011). Por ello se evaluó la estructuración poblacional a nivel espacial y temporal utilizando los programas GENETIX, GenAlEx, STRUCTURE y FLOCK. Con el software GENETIX se comparó las frecuencias alélicas entre los pares de sitios y el total de sitios, mediante la evaluación del índice F_{ST} y su significancia estimada con el test de permutaciones (5000 permutaciones) implementado en el mismo programa. Mientras con el programa GenAlEx 6.5 (Peakall y Smouse 2012), se evaluó la significancia del índice G''_{ST} con 9999 permutaciones.

Asimismo, se usó análisis bayesiano implementado en el programa STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al. 2000) con el fin de inferir la estructura poblacional y explorar la asignación individual a las poblaciones detectadas. Se hicieron 5 réplicas para cada estimación de K (desde $K=1$ a $K=11$) con un burn-in de 100 000 y 200 000 repeticiones de MCMC. El análisis se realizó con el modelo de mezcla de ancestría y el modelo de frecuencias alélicas correlacionadas. Los valores de $\ln P(D)$ fueron comparados en Structure Harvester (Earl y vonHoldt 2012). Con FLOCK 3.1 (Duchesne y Turgeon 2012) se dividió azarosamente la colección de genotipos en k grupos genéticos y, en cada

iteración, los genotipos fueron reasignados al grupo con la probabilidad más alta de pertenencia, siguiendo el método multilocus de máxima probabilidad de Paetkau et al. (1995). Para los análisis se usaron 50 corridas y 30 iteraciones con un LLOD umbral de 0 para valores de k de 2 a 6.

Considerando que las comparaciones temporales no fueron significativas, se agruparon los datos de todas las temporadas de cada localidad para los próximos análisis espaciales. De este modo, con el fin de evaluar la proporción de variación genética entre las localidades situadas al norte del paralelo 42°S (CO, LM, AN y CA) y las localidades al sur de éste (DA y QU), se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) con 1000 permutaciones en el programa Arlequin 3.5.1.3 (Excoffier y Lischer 2010). La significancia estadística se probó utilizando 1023 permutaciones.

Para determinar si existe una asociación entre la diferenciación genética y la distancia geográfica, se realizó un test de Mantel con 5000 permutaciones en GENETIX, considerando la distancia genética $F_{st}/(1-F_{st})$ y la distancia geográfica en kilómetros.

Se evaluó las tasas de migración histórica entre los sitios de captura mediante un análisis con enfoque coalescente, implementado en el software MIGRATE (Beerli y Felsenstein 1999). Este programa hace una estimación de las tasas de migración escalada por la tasa de mutación (M). Para el análisis se empleó maximum likelihood, modelo de mutación de movimiento browniano y el modelo de matriz de migración, conteniendo 5 cadenas cortas de 10000 pasos y 1 cadena larga de 100000 pasos,

después de un burn-in de 10000. Una tasa de mutación de 1×10^{-2} fue usado para estimar las tasas de migración (m).

Teniendo en cuenta que los individuos pueden ser migrantes de otras poblaciones muestreadas, se usó GeneClass v2.0 (Piry et al. 2004) para identificar los migrantes de primera generación. Se estimó la razón de probabilidades ($L=L_{\text{home}}/L_{\text{max}}$) entre la probabilidad de la población donde el individuo fue muestreado (L_{home}) y la probabilidad más alta entre todas las poblaciones muestreadas, incluyendo la población donde el individuo fue muestreado (L_{max}). Se usó el modelo basado en la frecuencia de Paetkau et al. (1995) y remuestreo Monte Carlo de 10000 individuos con un valor umbral de 0.05.

Adicionalmente, se determinó si han ocurrido cuellos de botella recientes en las poblaciones con el programa Bottleneck 1.2.02 (Piry et al. 1999). Este programa estima la probabilidad de reducciones recientes en el tamaño poblacional efectivo comparando la heterocigosidad esperada bajo HWE con la heterocigosidad esperada bajo el equilibrio mutación-deriva. La significancia del exceso de heterocigotos fue evaluada mediante el test de Wilcoxon. Los datos se analizaron usando el modelo de mutación de dos fases (TPM) con un 70% de SMM.

Para evitar realizar análisis poblacionales con organismos emparentados, se calculó el coeficiente r_{xy} de Queller y Goodnight (1989) utilizando el programa IDENTIX 1.1.5 (Belkhir et al. 2002). Usando datos genotípicos multilocus, IDENTIX estima el

parentesco entre pares de individuos dentro de cada localidad, comparándolo con la distribución esperada bajo la hipótesis nula de no parentesco, generada por 1000 permutaciones de alelos.

Megalopas

Para las larvas megalopas se estimó el número de alelos por locus, desequilibrio de ligamiento, las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) y heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o) y riqueza alélica de la misma forma que para los adultos.

Con el propósito de determinar si existen diferencias en la composición genética interanual en el asentamiento de larvas megalopas de la localidad de Los Molinos, se analizó la variabilidad genética para los años 2009, 2010, 2011 y 2012, calculando los índices de F_{ST} y G''_{ST} con los programas GENETIX (5000 permutaciones) y GenAEx 6.5 (9999 permutaciones), respectivamente.

Para estimar posibles cambios en las frecuencias alélicas entre las cohortes y los individuos adultos de Los Molinos, se utilizó GENETIX y GenAEx, con las mismas condiciones mencionadas anteriormente. Se utilizó además el programa STRUCTURE 2.3.4, haciendo 5 réplicas para cada estimación de K (desde $K=1$ a $K=6$) con un burn-in de 100 000 y 200 000 repeticiones de MCMC. El análisis se realizó con el modelo de mezcla de ancestría y el modelo de frecuencias alélicas correlacionadas. Tal como se

hizo para los adultos, los valores de $\text{LnP}(D)$ fueron comparados en Structure Harvester. Finalmente, se utilizó el programa FLOCK 3.1, donde se hicieron 50 corridas y 30 iteraciones con un LLOD umbral de 0 para valores de k de 2 a 4.

Teniendo en cuenta que la retención de larvas en la costa y la varianza reproductiva podrían generar altos niveles de asentamiento de individuos emparentados, se estimó la posibilidad de relaciones de parentesco entre los individuos reclutas de cada año utilizando el coeficiente r_{xy} de Queller y Goodnight (1989). Este cálculo se realizó con el programa IDENTIX 1.1.5 y se estimó su significancia estadística con 1000 permutaciones de alelos.

Análisis que combinan datos de adultos y megalopas

Tamaño efectivo

Al hacer estimaciones de tamaño efectivo en *M. edwardsii* así como en el resto de las especies iteróparas, se debe considerar que las cohortes proceden de individuos adultos reproductores de diferentes edades, es decir, de generaciones distintas, por lo que el tamaño poblacional asociado a las muestras de cohortes es interpretado como una estimación del número efectivo de reproductores por temporada (N_b) en vez de tamaño poblacional efectivo por generación (N_e) (Waples y Do 2010). Considerando las posibles diferencias entre estos índices, se estimó el tamaño efectivo para cada una de las poblaciones adultas y para cada una de las cohortes con dos métodos. Con el

programa web ONeSAMP 1.2 (Tallmon et al. 2008), el cual usa una aproximación bayesiana para estimar N_e de una muestra de genotipos microsatélites. Para los cálculos se asignó un tamaño poblacional efectivo mínimo de 2 y máximo de 1000. Además, se estimó N_e por medio del método de desequilibrio de ligamiento (Waples y Do 2008) implementado en el software NeEstimator v2.0 (Do et al. 2014). Se consideraron los alelos con frecuencias mayores a 0.05 y las estimaciones paramétricas de los intervalos de confianza.

Simulación que relaciona la tasa de migrantes con la conectividad de las poblaciones

Con el fin de explorar los factores que podrían alterar el patrón observado en *M. edwardsii* (falta de estructuración genética espacial y nula evidencia de cuello de botella reciente), se hizo una simulación considerando una disminución del tamaño poblacional que podría ser causada por la alta explotación de esta especie y, se simuló además una disminución en la tasa de migrantes entre las distintas localidades, que podría ser ocasionada por algún cambio en la circulación oceanográfica y procesos de surgencia. Para ello se utilizó el software EASYPOP 2.0.1 (Balloux 2001) siguiendo algunas características observadas en las poblaciones estudiadas. Se establecieron 8 marcadores con 24 estados alélicos posibles y una tasa de mutación de 0.01. Las simulaciones fueron corridas para 10, 50 y 100 generaciones. Además, una simulación con 10000 generaciones fue corrida para evaluar la conectividad al equilibrio

migración-deriva. Para cada una de estas condiciones, se simuló 6 sitios con tamaños poblacionales decrecientes de 100000, 50000, 10000, 5000, 1000 y 500 individuos. Se utilizó un modelo de migración correspondiente a un modelo de isla con porcentajes de migración por generación disminuyendo de 10, 1, 0.1, 0.01 y 0.001%. De cada conjunto de datos se tomó 50 individuos por población para el cálculo del índice F_{ST} y el número promedio de alelos. Este análisis permitirá establecer si es posible mantener la conectividad actual observada entre las poblaciones estudiadas y cuán desconectadas quedarán al momento de disminuir sus tamaños poblacionales conjuntamente con una disminución de la tasa de migración entre ellas.

Tabla 2. Resumen del análisis de los datos a escala espacial y temporal y los programas utilizados.

Objetivo análisis	Espacial (adultos)		Temporal (megalopas)	
	Índice	Software	Índice	Software
Número de alelos por locus, desequilibrio de ligamiento, desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE), heterocigosidad esperada y observada	N_A , r , F_{IS} , H_e , H_o	GENETIX 4.0.5	N_A , r , F_{IS} , H_e , H_o	GENETIX 4.0.5
Riqueza alélica	R_A	FSTAT 2.9.3.2	R_A	FSTAT 2.9.3.2
Diferenciación poblacional	F_{ST}	GENETIX 4.0.5	F_{ST}	GENETIX 4.0.5
	G''_{ST}	GenAIEX 6.5	G''_{ST}	GenAIEX 6.5
Número de grupos genéticos	$L(K)$	STRUCTURE 2.3.4, FLOCK 3.1	$L(K)$	STRUCTURE 2.3.4, FLOCK 3.1
Quiebre genético entre áreas biogeográficas	% variación	Arlequin 3.5.1.3		
Asociación entre distancia genética y geográfica	Z	GENETIX 4.0.5		
Tasa de migración histórica	M	MIGRATE		
Migrantes de primera generación	L_{home}/L_{max}	GeneClass 2		
Cuello de Botella	(Hobs-Hexp)/SD	Bottleneck 1.2.02		
Coefficiente de parentesco	r_{xy} de Queller y Goodnight	IDENTIX 1.1.5	r_{xy} de Queller y Goodnight	IDENTIX 1.1.5
Tamaño poblacional	N_e	ONE-SAMP 1.2, NeEstimator 2.0	N_b	ONE-SAMP 1.2, NeEstimator 2.0

RESULTADOS

Diversidad génica

Todos los loci resultaron ser polimórficos, con riquezas alélicas promedio por locus variando desde 6.29 (Cedw15) a 25.44 (Cedw4) en adultos (Anexo 1). En los análisis de las larvas megalopas, en tanto, se excluyó el locus Cedw4 dado el bajo éxito de amplificación. Los otros 7 loci, al igual que en los individuos adultos, mostraron un alto polimorfismo, con valores de riqueza alélica promedio por locus desde 4.92 (Cedw15) a 12.57 (Cedcrab3) (Anexo 2). La heterocigosidad observada en los 8 loci varía de 0.58 a 1. Se encontraron desviaciones a lo esperado por Hardy-Weinberg (HWE) en 6 de los 8 loci microsatélites, pero solo para algunas localidades y no en todos los años de muestreo (Anexo 1 y 2) por lo que interpretamos este resultado como una desviación estocástica debida al alto número de alelos observados. No se detectaron errores de lectura de los alelos ni desequilibrio de ligamiento. Si bien en los datos alélicos de los individuos adultos, 21 de las 168 posibles comparaciones locus-locus, presentaron desequilibrio al utilizar un $\alpha=0.05$, ninguna de esas 21 comparaciones fue coincidente en todas las poblaciones. Lo mismo para los datos de las larvas, donde de las 82 posibles comparaciones de pares de loci en las poblaciones, sólo 2 muestran desequilibrio de ligamiento ($\alpha=0.05$) y tampoco son coincidentes en las comparaciones locus-locus.

Adultos.

Estructuración poblacional espacial y temporal de poblaciones adultas separadas por temporada

Los índices F_{ST} y G''_{ST} globales indicaron que no existe evidencia de estructuración espacial entre las localidades muestreadas ($F_{ST}=0.0009$; $p=0.147$ y $G''_{ST}=0.0056$; $p=0.293$). En las comparaciones por pares entre sitios, F_{ST} y G''_{ST} mostraron 8 y 6 comparaciones significativas, respectivamente, con bajos valores de diferenciación. Después del ajuste de los valores de p con el método FDR (False Discovery Rate) (Benjamini y Hochberg 1995) ninguna comparación fue significativa (Tabla 3).

Tabla 3. Diferenciación genética por pares. Valores de F_{ST} sobre la diagonal y valores de G''_{ST} bajo ésta.

	LM1	LM2	DA1	DA2	AN1	AN2	CA1	CA2	QU1	QU2	CO
LM1	-	0.001	0.001	0.007	0.002	0.005	0.004	-0.004	0.004	0.002	0.008
LM2	0.026	-	-0.005	-0.007	-0.003	-0.004	-0.004	-0.005	0.000	-0.004	0.005
DA1	0.013	-0.044	-	0.005	0.002	0.003	-0.001	-0.003	0.006	0.005	0.009
DA2	0.089	-0.040	0.063	-	0.004	0.004	0.001	-0.005	0.003	0.002	0.008
AN1	0.028	-0.020	0.019	0.058	-	-0.003	-0.001	-0.005	-0.004	-0.003	0.004
AN2	0.058	-0.029	0.042	0.051	-0.035	-	0.000	-0.004	0.002	0.002	0.004
CA1	0.046	-0.033	-0.003	0.015	-0.010	-0.001	-	-0.008	0.000	-0.002	0.005
CA2	-0.038	-0.043	-0.023	-0.044	-0.043	-0.033	-0.082	-	-0.004	-0.006	0.001
QU1	0.043	0.015	0.066	0.038	-0.040	0.020	0.005	-0.039	-	0.000	0.003
QU2	0.021	-0.029	0.058	0.031	-0.036	0.020	-0.019	-0.064	0.002	-	0.005
CO	0.089	0.064	0.098	0.095	0.036	0.043	0.054	0.015	0.033	0.049	-

El software STRUCTURE sugiere que todos los individuos pertenecen a un mismo cluster genético. Siguiendo el método de *Evanno* (Evanno et al. 2005), implementado en Structure Harvester, para $K=1$ se obtuvo el valor promedio de verosimilitud $L(K)$ más alto con una baja desviación estándar (Figura 2), indicando que $K=1$ es el número de grupos genéticos más probable.

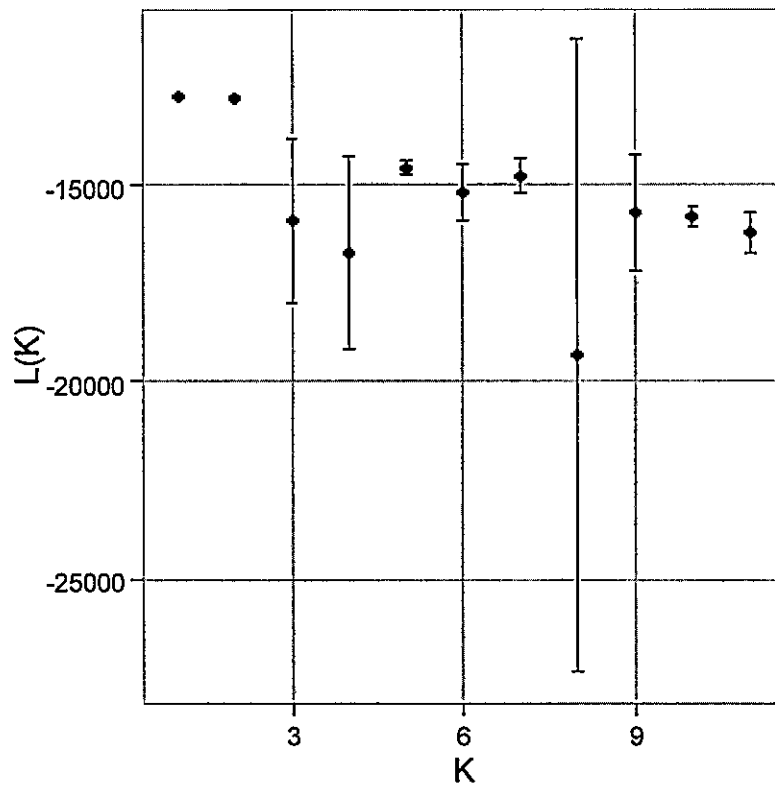


Figura 2 Inferencia del número de grupos genéticos a partir de las estimaciones de $L(K)$, promedio de los log likelihood de 5 corridas, en función de K (Las barras de error representan la desviación estándar).

Los resultados obtenidos a partir de FLOCK también agruparon a los individuos en una sola población panmíctica. Se hicieron corridas para distintos valores de LLOD e incluso

con el valor menos estricto (LLOD=0), la asignación de los individuos en 2 o más grupos de referencia (k), no resulta significativa estadísticamente (p-value mayores a $0.05/\text{número corridas}$), asimismo, el resultado *indeciso* (“*undecided*”) del análisis de los plateau, también apoya la idea de pertenencia a un único grupo genético.

Por tanto, en los tres análisis de estructuración, la comparación de la variabilidad genética entre los diferentes años de muestreo no fue significativa para ninguna localidad. Por este motivo, los siguientes análisis se realizaron agrupando todos los datos obtenidos para cada sitio en las diferentes temporadas.

Análisis por localidad

El análisis de varianza molecular AMOVA no reveló diferencias significativas entre las localidades de muestreo ni entre las dos áreas biogeográficas analizadas ($p > 0.05$). En ambos casos, la varianza genética es explicada casi únicamente por la variación dentro de las poblaciones (Tabla 4). Los estadísticos F no resultaron significativos ($F_{ST}=0.00129$ $p=0.35564$; $F_{SC}=0.00014$ $p=0.55426$; $F_{CT}=0.00115$ $p=0.13287$).

Tabla 4. Porcentajes de la varianza explicada entre el grupo al norte y el grupo al sur del paralelo 42°S, entre las poblaciones dentro de los grupos y, dentro de las poblaciones.

Estructura	Fuente de variación	Varianza de los componentes	Porcentaje de variación
No estructurado	Entre sitios	0.0023	0.07
	Dentro de los sitios	3.44549	99.93
Dos regiones biogeográficas	Entre regiones	0.00397	0.12
	Entre sitios dentro de las regiones	0.00047	0.01
	Dentro de los sitios	3.44549	99.87

Por otro lado, el test de Mantel no mostró una asociación significativa entre la distancia genética y la distancia geográfica de los sitios de estudio ($Z= 33.86$, $p=0.1496$) (Figura 3).

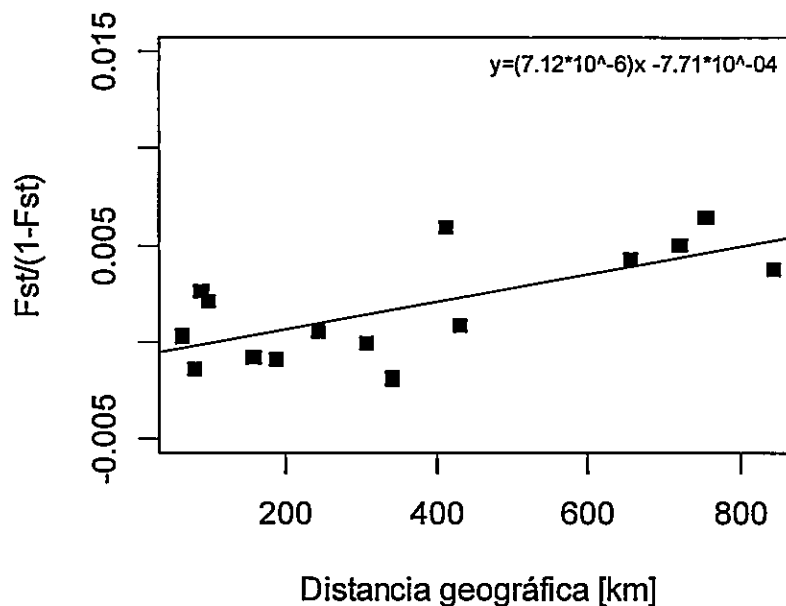


Figura 3. Relación entre la distancia genética y distancia geográfica. La línea sólida representa la línea de tendencia calculada para todas las poblaciones.

Las tasas de inmigración resultantes de las comparaciones por pares en MIGRATE variaron desde 0.011 a 0.032 entre localidades y presentaron un alto porcentaje de auto-reclutamiento, con un valor promedio de 89.6% (Tabla 5) (El auto-reclutamiento fue calculado como 1-suma de las tasas de inmigración). Mientras que GeneClass detectó 51 individuos migrantes de primera generación (aquellos con probabilidad de ser residente del sitio de muestreo menor a 0.05). Un total de entre 7 y 12 migrantes fueron observados en las distintas localidades, correspondiendo a porcentajes de 9.21 a 38.46% respecto a los tamaños de muestro (Tabla 6).

Tabla 5. Tasas de inmigración para cada una de las localidades. En negrita las tasas de auto-reclutamiento calculadas como $1 - \sum m$.

	CO	LM	AN	CA	DA	QU
CO	0.913	0.017	0.022	0.015	0.016	0.018
LM	0.018	0.896	0.011	0.029	0.032	0.013
AN	0.026	0.015	0.897	0.021	0.027	0.014
CA	0.019	0.027	0.020	0.893	0.012	0.029
DA	0.013	0.032	0.032	0.014	0.879	0.030
QU	0.018	0.017	0.016	0.025	0.026	0.899

Tabla 6. Número de migrantes de primera generación y el porcentaje que representa respecto del tamaño muestral.

	Población de origen						Total	%
	CO	LM	AN	CA	DA	QU		
CO	-	0	1	2	2	5	10	38.46
LM	1	-	1	1	3	1	7	14.58
AN	1	2	-	4	2	3	12	19.67
CA	2	2	0	-	2	2	8	25.00
DA	1	3	1	1	-	1	7	14.58
QU	1	2	1	2	1	-	7	9.21

Además, solo se encontró evidencia de una reducción reciente en el tamaño poblacional efectivo para DA 2011 ($p=0.006$) en contraste a las demás estimaciones que no presentaron valores significativos (CO 2014, $p=0.320$, LM 2011, $p=0.371$, LM 2013, $p=0.156$, DA 2013, $p=0.273$, AN 2012, $p=0.098$, AN 2013, $p=0.473$, QU 2012, $p=0.098$, QU 2013, $p=0.156$, CA 2012, $p=0.098$, CA 2013, $p=0.125$).

Parentesco genético

Los coeficientes de parentesco promedio (r_{xy}) entre los individuos colectados en etapa adulta dentro de cada localidad, resultaron cercanos a cero y sin significancia estadística ($p > 0.05$), no pudiendo rechazar la hipótesis nula de ausencia de parentesco entre las muestras (Anexo 1).

Megalopas.

Estructuración poblacional temporal: análisis de asentamiento interanual de megalopas

Al considerar los datos de las larvas megalopas (colectadas en Los Molinos) no se detectó diferencias estadísticas significativas entre los años de asentamiento

($F_{ST}=0.0017$, $p=0.1536$ y $G''_{ST}=0.016$, $p=0.180$). Inclusive, cuando los análisis se realizaron junto con los individuos adultos de dicha localidad, no se detectó estructuración temporal ($F_{ST} =0.0016$; $p=0.1218$ y $G''_{ST}=0.011$; $p=0.241$). En las comparaciones de F_{ST} y G''_{ST} por pares entre los distintos años, solo se detectó diferencia genética significativa entre las larvas correspondientes al año 2010 y LM1, así como también con las larvas correspondientes al año 2012. Sin embargo, ninguna comparación fue significativa luego del ajuste FDR (Tabla 7). Este resultado es concordante con el obtenido por el método de agrupamiento bayesiano (STRUCTURE) (Figura 4) y el de reasignación repetida (FLOCK), puesto que ambos sugieren $K = 1$ como el número más probable de grupos genéticos.

Tabla 7. Valores de F_{ST} se muestran por encima de la diagonal y los de G''_{ST} bajo la diagonal.

	LM1	LM2	2009	2010	2011	2012
LM1	-	0.001	-0.001	0.007	0.003	0.005
LM2	0.021	-	-0.001	-0.001	-0.002	-0.004
2009	-0.006	0.023	-	0.000	0.000	0.005
2010	0.076	0.019	0.019	-	0.001	0.005
2011	0.063	0.038	0.049	0.053	-	-0.001
2012	0.069	-0.004	0.085	0.080	0.043	-

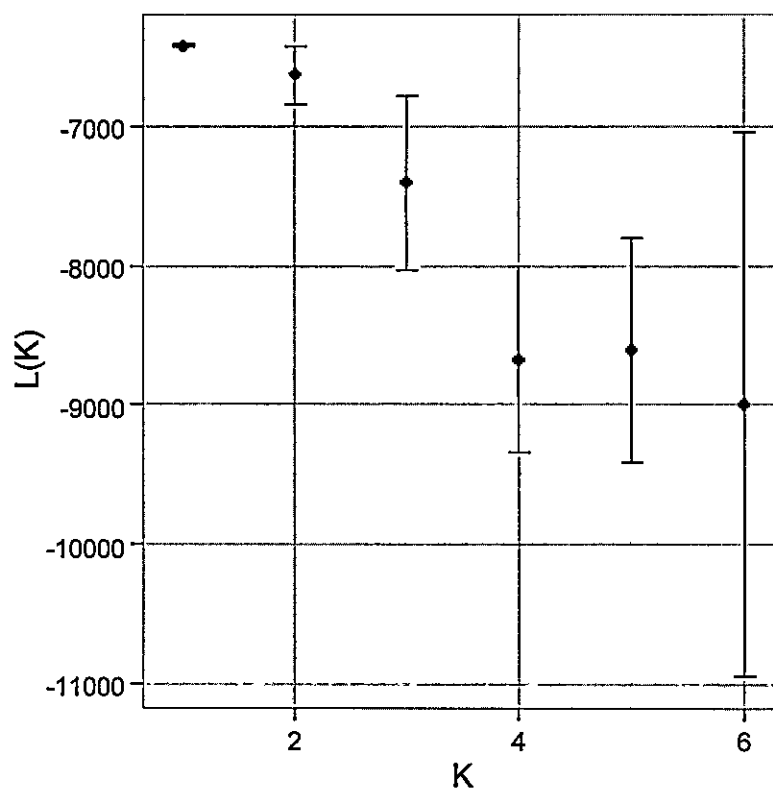


Figura 4 Inferencia del número de grupos genéticos a partir de las estimaciones de $L(K)$, promedio de los log likelihood $\ln P(D)$ de 5 corridas, en función de K (Las barras de error representan la desviación estándar).

Parentesco genético

No hubo coeficientes de parentesco significativos para ninguna de las cuatro cohortes analizadas (Anexo 2). Dentro de cada cohorte los valores de parentesco más frecuentes se distribuyen alrededor de $r_{xy}=0$ (Figura 5), sugiriendo que las larvas megalopas pertenecientes a una misma camada podrían separarse tempranamente,

distribuyéndose al azar en la columna de agua. Además, al analizar en conjunto todas las cohortes, tampoco se detectó parentesco significativo entre temporadas ($r_{xy}=-0.0101$; $p=0.937$).

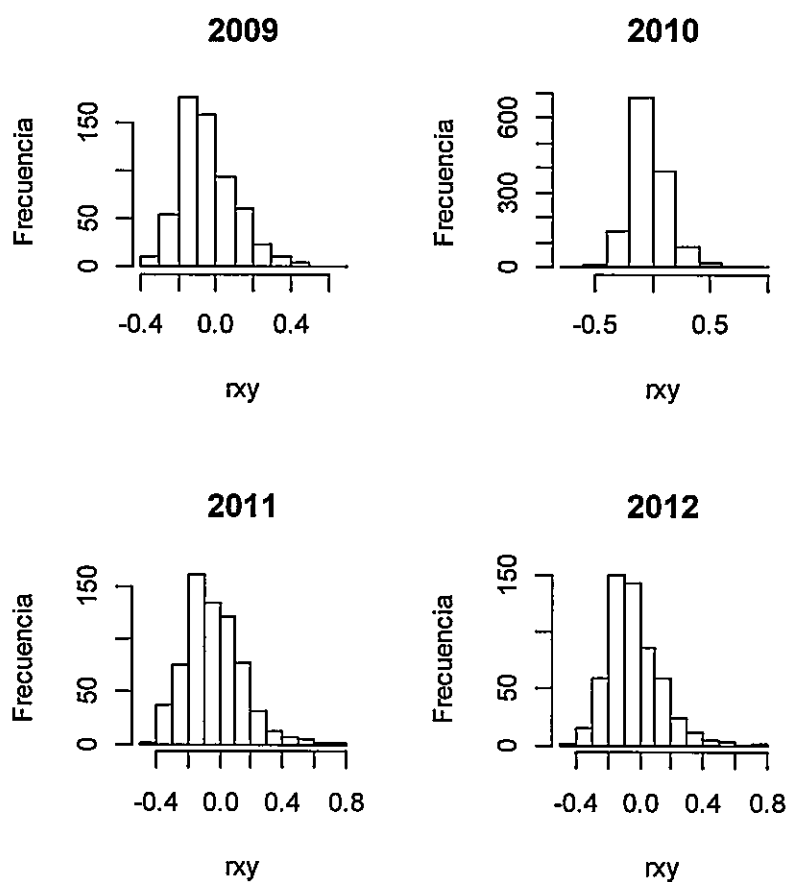


Figura 5. Histogramas de los coeficientes de parentesco para cada una de las cohortes larvales estudiadas.

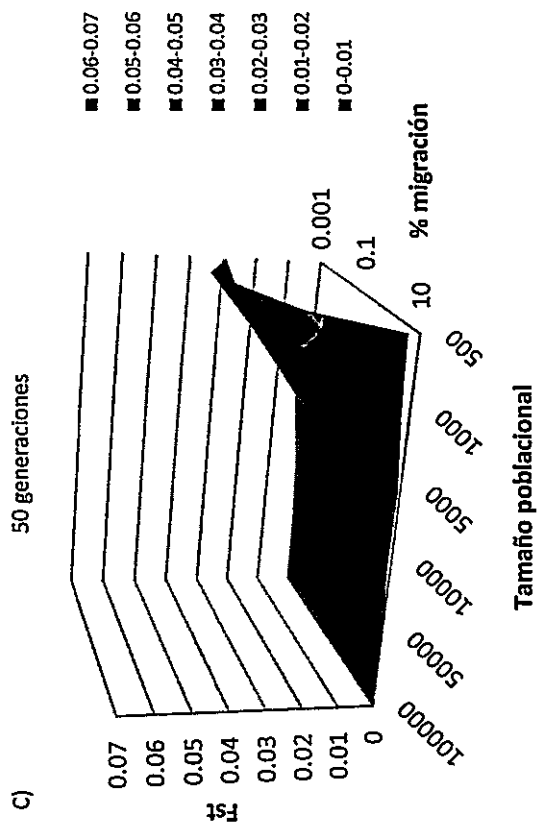
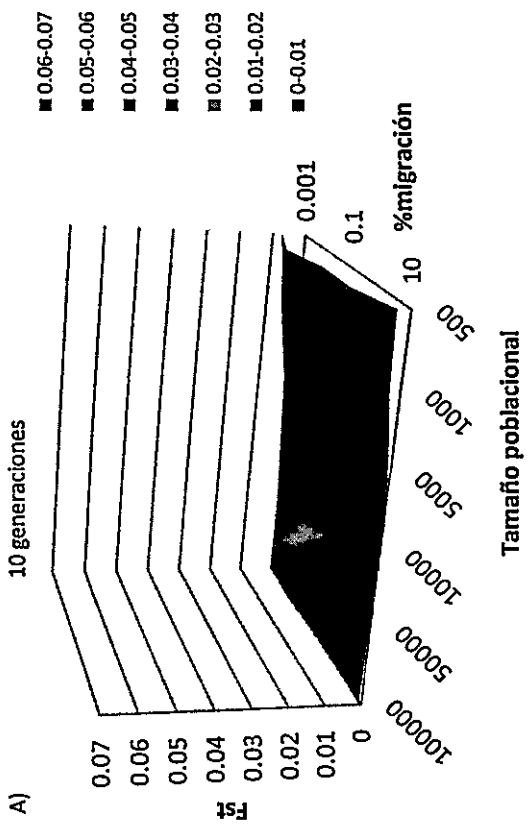
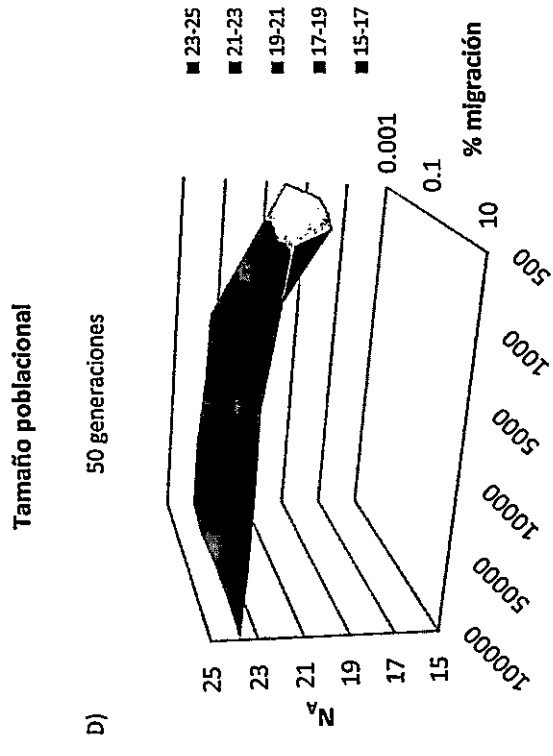
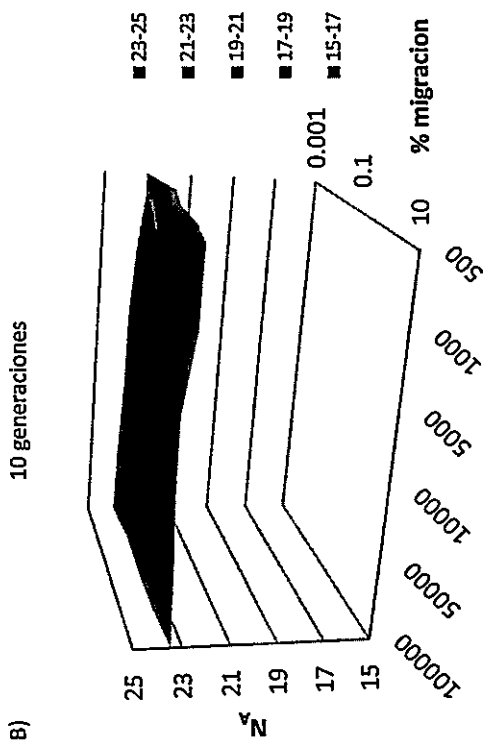
Tamaño poblacional efectivo

Con los dos métodos empleados (OneSamp y NeEstimator), el número efectivo de reproductores (N_b) calculado en base a cada una de las cohortes así como la estimación de tamaño poblacional efectivo (N_e) a partir del conjunto de las cuatro cohortes consecutivas, están dentro del rango de variación de los tamaños poblacionales de los adultos (N_e) e incluso algunas presentan valores más altos en comparación a los adultos pertenecientes a la misma localidad (Los Molinos) (Anexo 3).

Simulación de situaciones relacionadas con la conectividad de los sitios estudiados

La simulación permitió ver cómo evoluciona el sistema en distintos escenarios y escalas de tiempo (Figura 6). A las 10 generaciones, los sitios con tamaños poblacionales más grande no presentaron diferenciación genética mientras que poblaciones de 5000 individuos y 0.1% de migración fueron significativamente diferentes. Lo mismo se observó para los sitios de 1000 y 500 individuos y 10% de migración (Figura 6a). Esta diferencia se debe principalmente a cambios en las frecuencias alélicas ya que solo se perdió un alelo por locus en el transcurso de las 10 generaciones (Figura 6b). En tanto, pasadas 100 generaciones, los sitios con tamaños poblacionales de 100000 individuos no muestran valores de F_{ST} significativos y no revelan una disminución en el número de alelos, incluso cuando el porcentaje de migración es reducido de 10% a una tasa

1000 veces menor. Por otro lado, las poblaciones de tamaños más pequeños mostraron diferencias en las frecuencias alélicas y pérdida de diversidad alélica (Figura 6e,f). La disminución del número de alelos fue gradual en el tiempo. En el peor de los casos (500 individuos y 0.001% de migración), se observó una pérdida de 1 alelo por locus luego de 10 generaciones, 4 alelos por locus (16% del total de alelos) a las 50 generaciones y 7 alelos por locus (29%) a las 100 generaciones (Figura 6b,d,f).



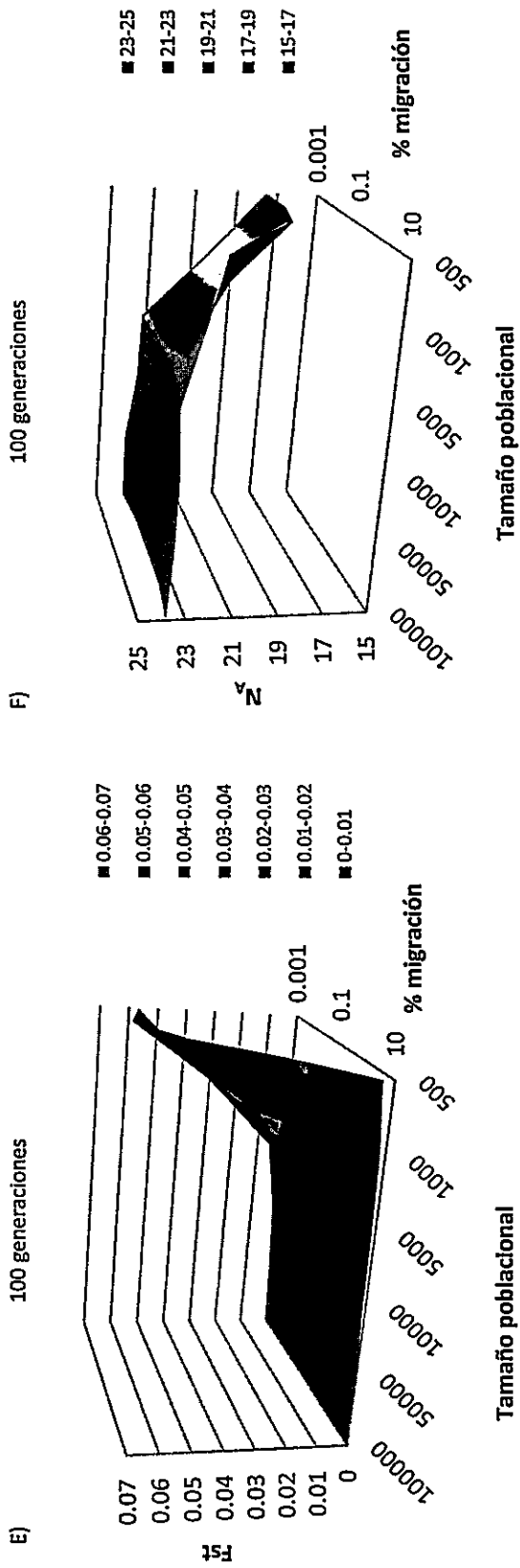


Figura 6. Estimación del nivel de diferenciación genética y número de alelos promedio (N_A) entre las 6 poblaciones simuladas en función del tamaño poblacional y el porcentaje de migración entre ellas. a) y b) Simulación luego de transcurridas 10 generaciones, c) y d) simulación con 50 generaciones, e) y f) simulación con 100 generaciones.

Estando los datos simulados en equilibrio, se observa que con un 10% de migración, poblaciones grandes mantienen la cohesión genética, mientras que poblaciones de 5000 individuos o menos, presentan diferenciación genética significativa (Figura 7). La mayor pérdida de diversidad alélica ocurre en las poblaciones de menor tamaño.

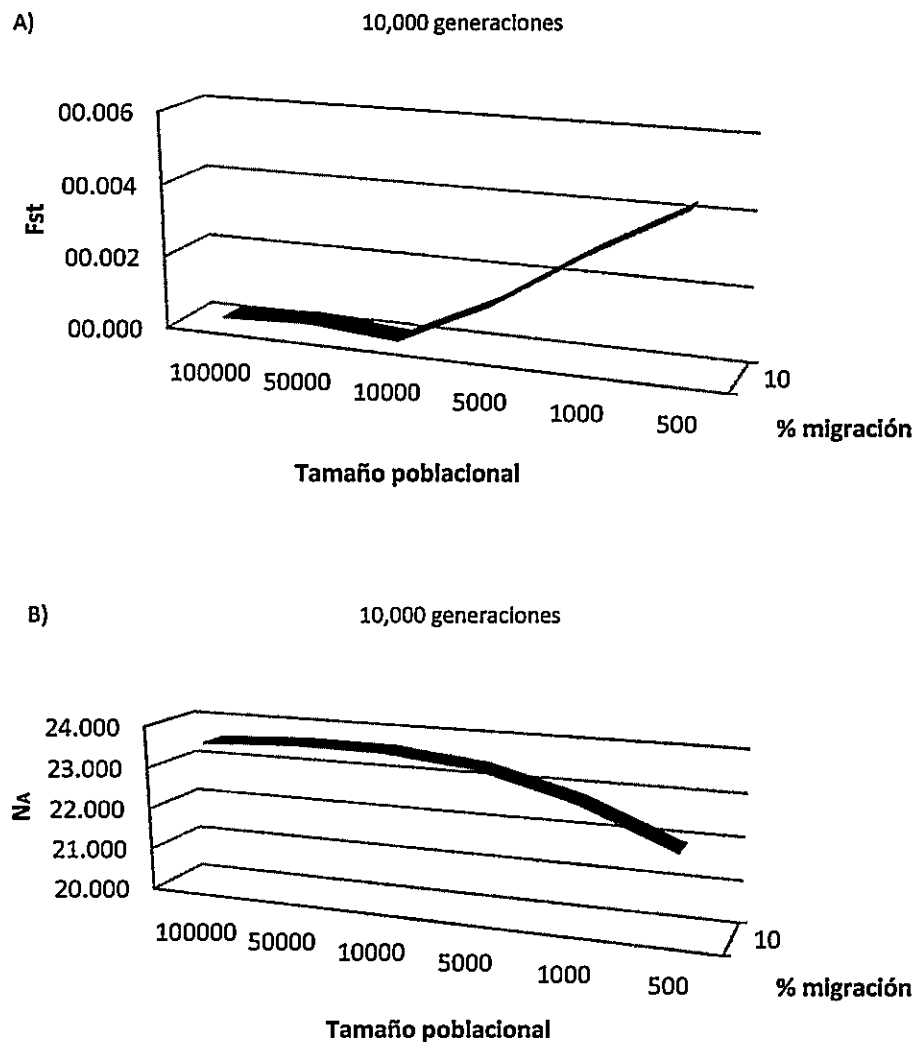


Figura 7. a) Estimación del nivel de diferenciación genética y b) número de alelos promedio (N_A) entre las 6 poblaciones simuladas al equilibrio en función del tamaño poblacional.

DISCUSIÓN

El análisis realizado en *Metacarcinus edwardsii* a lo largo de 700 km de costa de la zona sur de Chile mostró un claro patrón genético poblacional que se relaciona con el tiempo de duración larval de la especie. En términos generales, los análisis genéticos sugieren una nula estructuración espacial y temporal de esta especie, con un promedio histórico de 10% de la progenie que dispersa desde cada una de las zonas de muestreo.

Caracterización de la diversidad génica

Los ocho marcadores microsatélites resultaron altamente polimórficos. La gran variación de tamaños alélicos por locus se amplió de entre 6 y 27 alelos por locus observada en Rojas-Hernández y colaboradores (2014) (48 individuos) a un rango de entre 5 y 41 alelos por locus en este estudio (291 individuos), manteniéndose valores similares de frecuencias alélicas entre sitios (Anexo 1). Es importante indicar que no se detectó evidencias de desequilibrio de ligamiento ni grandes desviaciones al HWE por lo tanto, los marcadores no están físicamente ligados y las poblaciones muestran estar en equilibrio migración-deriva. Sin embargo, parte del déficit de heterocigotos podría deberse a una subestimación de la heterocigosidad debida al gran número de alelos por locus. Al comparar la diversidad genética entre especies, altos niveles de polimorfismo se han descrito para otros invertebrados marinos como el erizo rojo

Strongylocentrotus franciscanus (Mccartney et al. 2004) y los crustáceos *Chionoecetes opilio* (Puebla et al. 2003), *Scylla serrata* (Gopurenko et al. 2002) y *Metacarcinus magister* (Jensen y Bentzen 2004) los cuales mostraron igualmente algún nivel de déficit de heterocigotos.

Diferenciación poblacional a nivel espacial y temporal

En *M. edwardsii*, el índice tradicional F_{ST} y el índice insesgado G''_{ST} indicaron que a nivel global no hay estructuración genética espacial ni temporal entre las poblaciones muestreadas de jaibas adultas. Estos índices tampoco reflejaron diferenciación genética temporal entre las cuatro cohortes y las jaibas adultas de la localidad de Los Molinos. Aun cuando los estimadores F_{ST} y G''_{ST} mostraron los mismos resultados, al compararlos entre sí, se aprecia que F_{ST} subestima el grado de diferenciación. A pesar de ello, sigue siendo muy utilizado y, para facilitar la comparación con otras investigaciones, es útil informarlo. Es importante indicar que las variaciones entre estimadores se deben a que éstos se ven influenciados, en distinta medida, por las diferencias en el número de individuos muestreados por sitio y por el uso de marcadores altamente variables (Goudet et al. 1996; Balloux y Lugon-Moulin 2002; Whitlock 2011).

En las estimaciones de G''_{ST} por pares no se detectó estructuración en grupos genéticos entre localidades ni entre cohortes. Estos resultados fueron concordantes con el análisis bayesiano de STRUCTURE y el análisis de reasignación repetida de FLOCK. Si bien FLOCK no incluye $k=1$ dentro de su análisis, Duchesne y Turgeon (2012) indican que cuando el resultado de los plateau es *indeciso* se debe interpretar como una ausencia de estructuración poblacional o a falta de poder en el análisis debido al uso de pocos loci y/o bajo de nivel de polimorfismo. Considerando el alto número de alelos encontrados por microsatélites, los resultados sugieren que no existiría estructuración genética ni temporal ni espacial en *M. edwardsii*.

La homogeneidad genética espacial entre las localidades de muestreo de *M. edwardsii* se condice con su prolongada etapa de desarrollo larval en la columna de agua. En una variedad de especies marinas que también tienen un desarrollo larval pelágico se ha encontrado patrones sin estructuración genética en escalas espaciales extensas. Ejemplo de ello se observa en algunos invertebrados costeros sudafricanos (Teske et al. 2007) y en los crustáceos *Chionoecetes opilio* (Puebla et al. 2008) y *Cancer pagurus* (Ungfors et al. 2009). Dentro de los 760 km contemplados en nuestro muestreo, no se encontró evidencia de aislamiento por distancia ni tampoco de un quiebre genético en la zona de transición biogeográfica en el paralelo 42°S, sugiriendo que para esta especie las condiciones ambientales en esa región no constituyen una barrera efectiva a la dispersión como sí ocurre con otros taxa.

En cuanto a la estabilidad genética temporal de *M. edwardsii*, es contraria a la predicción realizada, que consideraba que dada la alta mortalidad que caracteriza a las especies marinas con desarrollo larval (Morgan 1995) junto con la variación de las condiciones oceanográficas, podría haber causado variaciones en las frecuencias alélicas entre cohortes. Dicha homogeneidad genética entre cohortes consecutivas de *M. edwardsii*, es un resultado inesperado considerando que la localidad de estudio presenta eventos de surgencia costera estacional (Cárdenas et al. 2009), e incluso hubo un maremoto y cambios en la topografía costera (Farias et al. 2010), asociados al terremoto ocurrido el año 2010 en la zona centro-sur de Chile, misma zona y año contemplados en el muestreo. No obstante, se ha documentado estabilidad genética temporal para otras especies marinas, como es el caso del braquiuro *Carcinus maenas* (Domingues et al. 2011) y el bivalvo *Panopea generosa* (Vadopalas et al. 2012).

La falta de estructuración entre eventos larvales se ha asociado a la hipótesis de que las larvas muestreadas provienen de especies en las cuales los adultos no presentan alta varianza en su éxito reproductivo año a año (Domingues et al. 2011). Uno de los motivos por los que no se observa variabilidad genética temporal puede relacionarse al tipo de reproducción de los braquiuros, cuyas hembras poseen un receptáculo seminal donde se puede almacenar espermios viables por más de 2.5 años (en *Metacarcinus magister*, Jensen y Bentzen 2012). En Pardo et al. (2013) se describe esta estructura

para *M. edwardsii* y, efectivamente, hay retención de espermatozoides después de la muda y el desove. Por tanto, los mismos adultos pueden aportar a camadas de años diferentes.

Conectividad poblacional

La estructuración geográfica de la diversidad genética está determinada por la conectividad poblacional, la que depende de los rasgos de historia de vida y las características ambientales. En el caso de especies marinas bentónicas, los rasgos principales son el modo de desarrollo larval, así como la duración y características de la vida larval. En general, se cumple que las especies con un alto potencial de dispersión en términos de la duración larval pelágica (PLD) presentan altos niveles de conectividad (Siegel et al. 2003). No obstante, se ha cuestionado esta correlación, sugiriendo que la duración larval pelágica no es un buen predictor de la conectividad de poblaciones marinas (Kelly y Palumbi 2010; Selkoe y Toonen 2011). En particular, en invertebrados marinos de la costa del Pacífico Sudeste, la correlación generalmente se cumple. Según Haye y colaboradores (2014) el tiempo que las larvas pasan en la columna de agua, como proxy del potencial de dispersión, es el factor que mejor explica la estructura genética presente en invertebrados marinos que se distribuyen alrededor de la zona de transición 30-33°S. Esta misma tendencia es observada en las especies estudiadas dentro del rango que contempla la segunda zona de transición biogeográfica de la

costa chilena (42°S) (Tabla 8). *M. edwardsii* sería también un claro ejemplo de esto, ya que posee un largo periodo de duración larval, por ende un alto potencial dispersivo y, como se mencionó anteriormente, no se evidencia diferencias genéticas en este quiebre biogeográfico.

Cabe notar que los estadios larvales de especies marinas permanecen en aguas cercanas a la costa, incluso bajo condiciones de surgencia costera, debido al comportamiento de migración vertical diaria, en el cual las larvas migran entre una capa de agua con flujo hacia el mar y una capa más profunda con flujo hacia tierra, permitiendo que no sean transportadas lejos de la zona costera (Marta-Almeida et al. 2006; Peliz et al. 2007; Morgan y Fisher 2010; Bartilotti et al. 2014). Del total de larvas, un porcentaje retorna al sitio de su liberación mientras el resto es advectado a lo largo de la costa. Los resultados de este estudio, revelan que hay migración entre todas las localidades muestreadas y que las tasas de auto-reclutamiento son relativamente altas (0.90 según MIGRATE y entre 0.60-0.90 según GeneClass). La media de retención larval fue mayor al 79% de retención documentado para el chorito *Perumytilus Purpuratus* en la costa norte de Chile (Briones et al. 2013). Mientras que según un modelo de dispersión larval en el gastrópodo *Concholepas concholepas* en la costa centro norte chilena, puede haber entre 18% a 89% de auto-reclutamiento en las subpoblaciones (Garavelli et al. 2014).

Por otra parte, los datos simulados en el equilibrio (10000 generaciones), muestran que grandes poblaciones, como es de esperar en esta especie, pueden mantener la cohesión genética sin perder diversidad alélica a lo largo del tiempo, conservando el porcentaje de migración de 10%.

Parentesco genético

Se ha demostrado empírica y teóricamente que una alta varianza reproductiva y movimiento de larvas no azaroso dentro de la columna de agua podrían explicar patrones caóticos de estructuración genética entre poblaciones de organismos marinos bentónicos (Broquet et al 2013). En el caso de *M. edwardsii*, se sugiere que ninguno de los dos factores estaría afectando fuertemente la estructuración poblacional. Por un lado, existiría una homogeneidad en la varianza reproductiva dado que las variabilidades genéticas no cambian fuertemente año a año. Por otro lado, no se detectó evidencia de parentesco significativo dentro de ninguna de las cuatro cohortes analizadas, resultado que sugiere que las larvas pertenecientes a una misma familia se estarían separando durante el periodo planctónico, mezclándose con otras en la columna de agua y distribuyéndose azarosamente durante su asentamiento en el bentos. Si bien se ha asumido por largo tiempo que durante la etapa pelágica de especies bentónicas hay mezcla dentro de la columna de agua, otros estudios han demostrado que algunas especies forman agregaciones familiares, en las cuales la

mezcla es reducida y los individuos emparentados permanecen juntos hasta su asentamiento (Selkoe et al. 2006; Véliz et al. 2006; St-Onge et al. 2015). Los factores que promueven o reducen esta mezcla larval están relacionados a las condiciones oceanográficas y a los mecanismos conductuales propios de las larvas y no al potencial de dispersión de éstas (Véliz et al. 2006; Iacchei et al. 2013). En la costa chilena, la mezcla larval de *M. edwardsii* estaría siendo propiciada, pudiendo descartar la hipótesis de éxito reproductivo “por sorteo” (sweepstakes reproductive success) (Hedgecock et al. 1994a), en la cual se postula que los animales marinos, en general, tienen una gran diferencia en el éxito reproductivo individual, por lo que sólo una pequeña proporción del pool génico disponible contribuye con éxito a la reposición de la población. La hipótesis de éxito reproductivo por sorteo predice, además, que los reclutas deberían tener una diversidad genética menor dentro de la cohorte en comparación a los adultos (Hedgecock et al. 2007b).

Tamaño efectivo

Las estimaciones de tamaño poblacional efectivo por generación (N_e) tradicionalmente son calculadas en base a muestras de mediana edad, mientras que muestras de cohortes simples proveen información acerca del número efectivo de reproductores en un ciclo reproductivo (N_b) (modelo basado en especies semélparas) (Waples y Teel 1990). Sin embargo, en un reciente estudio, Waples y colaboradores (2014) plantean

que para el caso de especies iteróparas, las muestras de cohortes simples además de proveer N_b , también pueden ser usadas para estimar N_e , teniendo que hacer para ello una corrección de sesgo que requiere conocer algunos rasgos de historia de vida. En el presente estudio, no obstante, el cálculo de N_e se hizo directamente en base a los datos genéticos de los individuos adultos, ya que no contamos con tablas de vida de *M. edwardsii*. Además, el análisis de varias cohortes en conjunto y también por separado, ayudan a entender la relación N_e versus N_b .

Una de las mayores dificultades en especies con iteroparidad ha sido establecer cuál es la relación entre N_b y N_e . A diferencia de las especies con semelparidad, en las cuales se ha descrito que N_e por generación es más mayor que N_b por un factor de aproximadamente igual al largo de la generación ($N_e \approx G \times N_b$) (Nunney 2002; Waples 2006), en los organismos de generaciones sobrelapadas no hay relación clara entre N_e y N_b , e incluso en ocasiones N_b excede a N_e por un 50% (Waples et al. 2013). En el caso particular de este estudio en *M. edwardsii*, las estimaciones de N_e desde las jaibas adultas y desde las cohortes en conjunto, fueron comparables a N_b desde las cohortes simples. Esta gran estabilidad en los valores de tamaño efectivo es una nueva evidencia de la estabilidad temporal y espacial de *M. edwardsii*. Además, nos entrega una valiosa información acerca de cómo los cálculos de Waples y colaboradores (2014) resultan ser concordante con nuestros resultados. Estudios en otras especies iteróparas muestran resultados similares (sapo corredor *Bufo calamita*, Beebee 2009; esturión de lago

Acipenser fulvescens, Duong et al. 2013; salamandras *Ambystoma opacum* y *A. talpoideum*, Nunziata et al. 2015). Esta similitud entre N_b y N_e sería el resultado de mortalidad azarosa en las primeras etapas del desarrollo (Waples 2002b).

Bases genéticas para el manejo pesquero y conservación del recurso

Se ha documentado que las actividades humanas han causado un gran impacto sobre los ecosistemas marinos (Jackson et al. 2001). Esto ha conducido a la necesidad de aplicar medidas de manejo y conservación en especies marinas, para lo cual se requiere de estudios de conectividad poblacional, fundamentales para una comprensión de la dinámica espacial y el efecto de la explotación sobre las poblaciones (Cowen et al. 2009). Así, este estudio en poblaciones de *M. edwardsii* con distintas presiones de pesca, da una idea de la conectividad en la zona sur del Pacífico sudeste y, considerando las simulaciones realizadas, nos advierte de la importancia de mantener el tipo de pesca artesanal y las medidas de protección para evitar cambios drásticos en las poblaciones que podrían conducir a una pérdida de la diversidad genética. Finalmente, para una visión global de la dinámica de esta especie es necesario que futuras investigaciones contemplen la exploración genética hacia los canales y fiordos del sur como también hacia el norte grande donde habita a mayor profundidad.

Tabla 8. Resumen de quiebres genéticos en invertebrados marinos con distintos potenciales de dispersión de la costa del Pacífico sudeste.

Phylum	Species	Días en columna de agua	Potencial de dispersión*	Quiebre genético	Latitud	Marcador molecular	Referencia
Arthropoda	<i>Emerita analoga</i>	>90	alta	no	30°S	COI	Haye et al. 2014
	<i>Orchestoidea tuberculata</i>	0	baja	si	30°S	COI	Haye et al. 2014
	<i>Petrolisthes violaceus</i>	25	alta	no	30°S	COI	Haye et al. 2014
	<i>Romaleon polyodon</i>	60	alta	no	30°S	AFLP	Gomez-Uchida et al. 2003
	<i>Jehlius cirratus</i>	31	alta	no	32°S	COI, EF1	Zakas et al. 2009
	<i>Notothamalus scabrosus</i>	37	alta	si	32°S	COI, EF1	Zakas et al. 2009
	<i>Metacarcinus edwardsii</i>	90	alta	no	42°S	microsatélite	Este estudio
Mollusca	<i>Scurria scurra</i>	7-10	baja	si	30°S	COI	Haye et al. 2014
	<i>Tegula atra</i>	6-7	baja	si	30°S	COI	Haye et al. 2014
	<i>Acanthina monodon</i>	0 (desarrollo directo)	baja	si	30°S	COI	Sánchez et al. 2011
	<i>Concholepas concholepas</i>	90	alta	no	42°S	COI	Sánchez et al. 2011
	<i>Dosidicus gigas</i>	3-10 (desarrollo directo)	baja	no	30° y 42°S	COI	Cárdenas et al. 2009
Echinodermata	<i>Crepipatella dilatata</i>	0 (desarrollo directo)	baja	si	30°S	COI	Brante et al. 2012
	<i>Mytilus chilensis</i>	45	alta	no	42°S	alozimas	Toro et al. 2006
	<i>Helianthus helianthus</i>	>60	alta	no	30°S	COI	Haye et al. 2014
	<i>Stichaster striatus</i>	38	alta	si	30°S	COI	Haye et al. 2014
	<i>Tetrapygus niger</i>	>90	alta	no	30°S	COI	Haye et al. 2014

* Clasificación de acuerdo a Haye et al. (2014). Especies con etapa pelágica que pasan 2 semanas o más en la columna de agua son considerados como altos dispersores.

CONCLUSIONES

Entre los paralelos 36° y 43° latitud sur, la especie *Metacarcinus edwardsii* se encuentra altamente conectada, presentando homogeneidad genética espacial entre las localidades de muestreo y también entre regiones biogeográficas, con independencia de la presión de pesca. Por consiguiente, el ambiente no actúa como barrera a la dispersión y la falta de estructuración es concordante con el alto potencial dispersivo de la especie.

Por otro lado, las cohortes de larvas megalopas de la localidad de Los Molinos no presentan estructuración genética temporal, contrario a lo planteado en la hipótesis. Si bien hay mortalidad en la etapa larval, ésta sería estocástica no favoreciendo unos alelos por sobre otros en algún año determinado, en otras palabras, la estabilidad genética temporal indica que en esta especie hay una baja varianza en el éxito reproductivo de los adultos año a año.

Además, las larvas megalopas pertenecientes a una misma familia se separarían tempranamente en su desarrollo dentro de la columna de agua.

Por último, la similitud entre los tamaños poblaciones de cohortes (N_b) y poblaciones adultas (N_e) sugiere mortalidad azarosa en las primeras etapas del desarrollo, sin "sorteo" de familias, por lo que la diversidad de cohortes y adultos serían comparables.

BIBLIOGRAFÍA

- Aljanabi, S.M. y Martinez I. (1997) Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research* 25: 4692–4693.
- Anger, K. (1995) The conquest of freshwater and land by marine crabs: adaptations in life-history patterns and larval bioenergetics. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 193: 119-145.
- Balloux, F. (2001) EASYPOP (version 1.7), A computer program for the simulation of population genetics. *Journal of Heredity* 92: 301-302.
- Balloux, F. y Lugon-Moulin, N. (2002) The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*, 11(2): 155-165.
- Barshis, D.J., Sotka, E.E., Kelly, R.P., Sivasundar, A., Menge, B.A., Barth, J.A., Palumbi, S.R. (2011) Coastal upwelling is linked to temporal genetic variability in the acorn barnacle *Balanus glandula*. *Marine Ecology Progress Series* 439: 139-150.
- Bartilotti, C., dos Santos, A., Castro, M., Peliz, A., Santos, A.M.P. (2014) Decapod larval retention within distributional bands in a coastal upwelling ecosystem. *Marine Ecology Progress Series* 507: 233-247.
- Beebee, T. J. C. (2009) A comparison of single-sample effective size estimators using empirical toad (*Bufo calamita*) population data: genetic compensation and population size-genetic diversity correlations. *Molecular Ecology* 18(23): 4790-4797.

- Beerli, P. y Felsenstein, J. (1999) Maximum-likelihood estimation of migration rates and effective population numbers in two populations using a coalescent approach. *Genetics*, 152(2):763–73.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., Bonhomme, F. (1996) GENETIX 4.05, Logiciel sous Windows pour la Genetique des Populations. Laboratoire Genome, populations, interactions, CNRS UMR 5000, Universite de Montpellier II, Montpellier, France.
- Belkhir, K., Castric, V., Bonhomme, F. (2002) IDENTIX, a software to test for relatedness in a population using permutation methods. *Molecular Ecology Notes* 2: 611–614.
- Benjamini, Y. y Hochberg, Y. (1995) Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society Series B* 57: 289–300.
- Brante, A., Fernández, M., y Viard, F. (2012) Phylogeography and biogeography concordance in the marine gastropod *Crepidatella dilatata* (Calyptraeidae) along the southeastern Pacific coast. *Journal of Heredity* 103(5): 630-637.
- Briones, C., Presa, P., Pérez, M., Pita, A., Guíñez, R. (2013) Genetic connectivity of the ecosystem engineer *Perumytilus purpuratus* north to the 32° S southeast Pacific ecological discontinuity. *Marine Biology* 160 (12): 3143-3156.
- Broquet, T., Viard, F., Yearsley, J.M. (2013) Genetic drift and collective dispersal can result in chaotic genetic patchiness. *Evolution* 67: 1660–1675.
- Camus, P.A. (2001) Biogeografía marina de Chile continental. *Revista Chilena de Historia Natural* 74: 587–617.

- Cárdenas, L., Daguín, C., Castilla, J. C., Viard, F. (2007) Isolation and characterization of eleven polymorphic microsatellite markers for the marine gastropod *Concholepas concholepas* (Brugiere, 1789). *Molecular Ecology Notes* 7: 464–466.
- Cárdenas, L., Castilla, J. C., Viard, F. (2009) A phylogeographical analysis across three biogeographical provinces of the south-eastern Pacific: the case of the marine gastropod *Concholepas concholepas*. *Journal of Biogeography* 36(5): 969-981.
- Colson, I. y Hughes, R. N. (2004) Rapid recovery of genetic diversity of dogwhelk (*Nucella lapillus* L.) populations after local extinction and recolonization contradicts predictions from life-history characteristics. *Molecular Ecology* 13(8): 2223-2233.
- Cowen, R.K., Gawarkiewicz, G., Pineda, J., Thorrold, S.R., Werner, F.E. (2007) Population connectivity in marine systems; an overview. *Oceanography* 20: 14-21.
- Cowen, R.K. y Sponaugle, S. (2009) Larval dispersal and marine population connectivity. *Annual Review of Marine Science* 1: 443–466.
- Cumberlidge, N., Ng, P.K.L., Yeo, D.C.J., Magalhães, C., Campos, M.R., Alvarez, F., Naruse, T., Daniels, S.R., Esser, L. J., Attipoe, F.Y.K., Clotilde-Ba, F.L., Darwall, W., McIvor, A., Baillie, J.E.M., Collen, B., Ram, M. (2009) Freshwater crabs and the biodiversity crisis: Importance, threats, status, and conservation challenges. *Biological Conservation* 142(8): 1665–1673.
- Do, C., Waples, R. S., Peel, D., Macbeth, G. M., Tillet, B. J. and 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: 209–214.

Domingues, C.P., Creer, S., Taylor, M. I., Queiroga, H., Carvalho, G. R. (2011) Temporal genetic homogeneity among shore crab (*Carcinus maenas*) larval events supplied to an estuarine system on the Portuguese northwest coast. *Heredity* 106(5): 832-840.

Duchesne, P. y Turgeon, J. (2012) FLOCK attractors provide reliable solutions to the “number of populations” problem. *Journal of Heredity* 103 (5): 734-743.

Duong, T.Y., Scribner, K.T., Forsythe, P.S., Crossman, J. A., Baker, E.A. (2013) Interannual variation in effective number of breeders and estimation of effective population size in long-lived iteroparous lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*). *Molecular Ecology* 22(5): 1282-1294.

Earl, D.A. y vonHoldt, B.M. (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* 4(2): 359-361. URL: <http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>

Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14: 2611–2620.

Excoffier, L. y Lischer, H.E. L. (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.

- Farias, M., Vargas, G., Tassara, A., Carretier, S., Baize, S., Melnick, D., Bataille, K. (2010) Land-level changes produced by the Mw 8.8 2010 Chilean earthquake. *Science* 329: 916.
- Garavelli, L., Kaplan, D. M., Colas, F., Stotz, W., Yannicelli, B., y Lett, C. (2014) Identifying appropriate spatial scales for marine conservation and management using a larval dispersal model: The case of *Concholepas concholepas* (loco) in Chile. *Progress in Oceanography* 124: 42-53.
- Goldson, A.J., Hughes, R.N., Gliddon, C.J. (2001) Population genetic consequences of larval dispersal mode and hydrography: a case study with bryozoans. *Marine Biology* 138: 1037-1042.
- Gomez-Uchida, D., Weetman, D., Hauser, L., Galleguillos, R., Retamal, M. (2003) Allozyme and AFLP analyses of genetic population structure in the hairy edible crab *Cancer setosus* from the Chilean coast. *Journal of Crustacean Biology* 23(2): 486-494.
- Gopurenko, D., Hughes, J.M., Ma, J. (2002) Identification of polymorphic microsatellite loci in the mud crab *Scylla serrata* (Brachyura: Portunidae). *Molecular Ecology Notes* 2(4): 481-483.
- Goudet, J. (1995) FSTAT (version 1.2) – a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity* 86: 485-486.
- Goudet, J., Raymond, M., de Meeüs, T., Rousset, F. (1996) Testing differentiation in diploid populations. *Genetics* 144(4): 1933-1940.
- Haye, P.A., Segovia, N. I., Muñoz-Herrera, N. C., Gálvez, F. E., Martínez, A., Meynard, A., Pardo-Gandarillas, M. C., Poulin, E., 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.

Hedgecock, D. (1994a) Does variance in reproductive success limit effective population sizes of marine organisms? In: *Genetics and Evolution of Aquatic Organisms*. Beaumont AR, editor. Springer: 122–134.

Hedgecock, D., Launey, S., Pudovkin, A.I., Naciri, Y., Lapegue, S., Bonhomme, F. (2007b) Small effective number of parents (N_b) inferred for a naturally spawned cohort of juvenile European flat oysters *Ostrea edulis*. *Marine Biology* 150(6): 1173-1182.

Iacchei, M., Ben-Horin, T., Selkoe, K.A., Bird, K.E., Garcia-Rodriguez, F.J., Toonen, R.J. (2013) Combined analyses of kinship and F_{st} suggest potential drivers of chaotic genetic patchiness in high gene-flow populations. *Molecular Ecology* 22: 3476-3494.

Ibañez, C.M., Camus, P., Rocha, F. (2009) Diversity and distribution of cephalopod species off the coast of Chile. *Marine Biology Research* 5: 374-384

Ibañez, C. M., Cubillos, L. A., Tafur, R., Argüelles, J., Yamashiro, C., Poulin, E. (2011) Genetic diversity and demographic history of *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae) in the Humboldt Current System. *Marine Ecology Progress Series* 431: 163-171.

Jackson, J.B.C., Kirby, M.X., Berger, W.H., Bjorndal, K.A., Botsford, L.W., Bourque, B.J., Bradbury, R.H., Cooke, R., Erlandson, J., Estes, J.A., Hughes, T.P., Kidwell, S., Lange, C.B., Lenihan, H.S., Pandolfi, J.M., Peterson, C.H., Steneck, R.S., Tegner M.J., Warner

- R.R. (2001) Historical overfishing and the recent collapse of coastal ecosystems. *Science* 293: 629–638.
- Jara, F. y Céspedes, R. (1994) An experimental evaluation of habitat enhancement on homogeneous marine bottoms in southern Chile. *Bulletin of Marine Science* 55 (2-33): 295-307.
- Jensen, P.C. y Bentzen, P. (2004) Isolation and inheritance of microsatellite loci in the Dungeness crab (Brachyura: Cancridae: *Cancer magister*). *Genome* 47(2): 325-331.
- Jensen, P. C. y Bentzen, P. (2012) A molecular dissection of the mating system of the Dungeness crab, *Metacarcinus magister* (Brachyura: Cancridae). *Journal of Crustacean Biology* 32(3): 443-456
- Johnson, M.S. y Black, R. (1982) Chaotic genetic patchiness in an intertidal limpet, *Siphonaria* sp. *Marine Biology* 70: 157–164.
- Johnson, M.S. y Black, R. (1984) Pattern beneath the chaos: the effect of recruitment on genetic patchiness in an intertidal limpet. *Evolution* 38: 1371–1383.
- Kelly, R.P. y Palumbi, S.R. (2010) Genetic structure among 50 species of the Northeastern Pacific rocky intertidal community. *PLoS ONE* 5: e8594.
- Kyle, C.J. y Boulding, E.G. (2000) Comparative population genetic structure of marine gastropods (*Littorina* spp.) with and without pelagic larval dispersal. *Marine Biology* 137(5-6): 835-845.

- Laughlin, K.M., Ewers, C., Wares, J.P. (2012) Mitochondrial lineages in *Notochthamalus scabrosus* as indicators of coastal recruitment and interactions. *Ecology and Evolution* 2: 1584-1591.
- Lee, H.J.E. y Boulding, E.G. (2009) Spatial and temporal population genetic structure of four northeastern Pacific littorinid gastropods: the effect of mode of larval development on variation at one mitochondrial and two nuclear DNA markers. *Molecular Ecology* 18: 2165-2184
- 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: 597-611
- Marta-Almeida, M., Dubert, J., Peliz, A., Queiroga, H. (2006) Influence of vertical migration pattern on retention of crab larvae in the shelf in a seasonal upwelling system. *Marine Ecology Progress Series* 307: 1-19.
- Mccartney, M.A., Brayer, K., Levitan, D.R. (2004) Polymorphic microsatellite loci from the red urchin, *Strongylocentrotus franciscanus*, with comments on heterozygote deficit. *Molecular Ecology Notes* 4(2): 226-228.
- Meirmans, P. y Hedricks, P.W. (2011) Assessing population structure: FST and related measures. *Molecular Ecology Resources* 11: 5-18
- Morgan, S.G. (1995) Life and death in the plankton: larval mortality and adaptation. In: McEdward L (ed) *Ecology of marine invertebrate larvae*. CRC Press, Boca Raton, FL, p 279-321

- Morgan, S.G. y Fisher, J.L. (2010) Larval behavior regulates nearshore retention and offshore migration in an upwelling shadow and along the open coast Marine Ecology Progress Series 404: 109–126.
- Ng, P.K.L., Guinot, D., Davie, P. (2008) Systema brachyurorum: part I. An annotated checklist of extant brachyuran crabs of the World. Raffles Bulletin of Zoology 17: 1–286.
- Nunney, L. (2002) The effective size of annual plant populations: the interaction of a seed bank with fluctuating population size in maintaining genetic variation. The American Naturalist 160: 195–204.
- Nunziata, S.O., Scott, D. E., Lance, S. L. (2015) Temporal genetic and demographic monitoring of pond-breeding amphibians in three contrasting population systems. Conservation Genetics: 1-10.
- Paetkau, D., Calvert, W., Sterling, I., Strobeck, C. (1995) Microsatellite analysis of population-structure in Canadian polar bears. Molecular Ecology 4: 347–354.
- Pardo, L.M., Fuentes, J.P., Olguin, A., Orensanz, J.M. (2009a) Reproductive maturity in the edible Chilean crab *Cancer edwardsii*, methodological and management considerations. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 89: 1627–1634.
- Pardo, L.M., Ampuero, D., Véliz, D. (2009b). Using morphological and molecular tools to identify megalopae larvae collected in the field: the case of sympatric *Cancer* crabs. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 89: 481-490.

- Pardo, L.M., Cardyn, C.S., Mora, P., Wahle, R.A. (2010) A new passive collector to assess settlement rates, substrate selection and predation pressure in decapod crustacean larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 393: 100-105.
- Pardo, L.M., Mora-Vásquez, P., Garcés-Vargas, J. (2012) Asentamiento diario de megalopas de jaibas del género *Cancer* en un estuario micromareal. *Latin American Journal of Aquatic Research* 40(1): 142-152, 2012
- Pardo, L. M., Riveros, M., Fuentes, J. P., López-Greco, L. (2013) Functional morphology of the seminal receptacle in the crab *Metacarcinus edwardsii*. *Invertebrate Biology* 132(4): 386-393.
- Pardo, L.M., Rosas, Y., Fuentes, J.P., Riveros, M.P., Chaparro, O.R. (2015) Fishery Induces Sperm Depletion and Reduction in Male Reproductive Potential for Crab Species under Male-Biased Harvest Strategy. *PLoS ONE* 10(3): e0115525.
- Peakall, R. y Smouse, P.E. (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28: 2537-2539.
- Peliz, A., Marchesiello, P., Dubert, J., Marta-Almeida, M., Roy, C., Queiroga, H. (2007) A study of crab larvae dispersal on the Western Iberian Shelf: Physical processes. *Journal of Marine Systems* 68(1): 215-236.
- Pérez -Alvarez, M.J., Olavarría, C., Moraga, R., Baker, C.S., Hamner, R.M., Poulin, E. (2015) Microsatellite Markers Reveal Strong Genetic Structure in the Endemic Chilean Dolphin. *PLoS ONE* 10(4): e0123956.

- Pineda, J., Reyns, N.B., Starczak, V.R. (2009) Complexity and simplification in understanding recruitment in benthic populations. *Population ecology* 51(1), 17-32.
- Piry, S., Luikart, G., Cornuet, JM. (1999) BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *J Hered* 90:502-503.
- Piry, S., Alapetite, A., Cornuet, J.-M., Paetkau, D., Baudouin, L., Estoup, A. (2004) GeneClass2: A Software for Genetic Assignment and First-Generation Migrant Detection. *Journal of Heredity* 95:536-539.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 115: 945- 959.
- Puebla, O., Parent, E., Sévigny, J.M. (2003) New microsatellite markers for the snow crab *Chionoecetes opilio* (Brachyura: Majidae). *Molecular Ecology Notes* 3(4): 644-646.
- Puebla, O., Sévigny, J. M., Sainte-Marie, B., Brêthes, J. C., Burmeister, A., Dawe, E. G., Moriyasu, M. (2008) Population genetic structure of the snow crab (*Chionoecetes opilio*) at the Northwest Atlantic scale. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 65(3): 425-436.
- Queller, D. C. y Goodnight, K. F. (1989) Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution* 43: 258-275.
- Queiroga, H., Cruz, T., dos Santos, A., Dubert, J., González-Gordillo, J.I., Paula, J., Peliz, A., Santos, A.M.P. (2007) Oceanographic and behavioural processes affecting

invertebrate larval dispersal and supply in the western Iberia upwelling ecosystem.
Progress in Oceanography 74: 174-191.

Quintana, R. (1983) Larval development of the edible crab, *Cancer edwardsi* Bell, 1835 under laboratory conditions (Decapoda, Brachyura). Reports of the USA Marine Biological Institute, Kochi University 5: 1–19.

Retamal, M., Aedo, G., Suárez, C., Montecinos, S., Gacitúa, S., Pedraza, M., Arana, P. (2009) Estado actual del conocimiento de las principales especies de jaibas a nivel nacional. Informe Final Proyecto FIP 2007-39. 221

Robainas Barcia, A., Espinosa López, G., Hernández, D., García-Machado, E. (2005) Temporal variation of the population structure and genetic diversity of *Farfantepenaeus notialis* assessed by allozyme loci. Molecular Ecology 14: 2933–2942.

Rojas-Hernández, N., Véliz, D., Pardo, L.M. (2014) Use of novel microsatellite markers for population and paternity analysis in the commercially important crab *Metacarcinus edwardsii* (Brachyura: Cancridae). Marine Biology Research 10: 839–844.

Sánchez, R., Sepúlveda, R. D., Brante, A., Cárdenas, L. (2011) Spatial pattern of genetic and morphological diversity in the direct developer *Acanthina monodon* (Gastropoda: Mollusca). Marine Ecology Progress Series 434: 121-131.

Shanks, A. L., y Shearman, R. K. (2009). Paradigm lost? Cross-shelf distributions of intertidal invertebrate larvae are unaffected by upwelling or downwelling. Marine Ecology Progress Series 385: 189-204.

- Siegel, D.A., Kinlan, B.P., Gaylord, B., Gaines, S.D. (2003) Langrangian descriptions of marine larval dispersion. *Marine Ecology Progress Series* 260: 83–96.
- Selkoe, K.A., Gaines, S.D., Caselle, J.E., Warner, R.R. (2006) Current shifts and kin aggregation explain genetic patchiness in fish recruits. *Ecology* 87(12): 3082-3094.
- Selkoe, K.A. y Toonen, R.J. (2011) Marine connectivity: a new look at pelagic larval duration and genetic metrics of dispersal. *Marine Ecology Progress Series* 436: 291–305.
- SERNAPESCA. (2002-2011) Anuario 2011 - Series 2001-2011. Anuarios Estadísticas de Pesca. Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura de Chile, Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, Gobierno de Chile.
- St-Onge, P., Tremblay, R., Sévigny, J. M. (2015) Tracking larvae with molecular markers reveals high relatedness and early seasonal recruitment success in a partially spawning marine bivalve. *Oecologia* 178: 733-746.
- Subsecretaría de Pesca, Gobierno de Chile. (2011) Talla mínima legal de captura para la especie jaiba marmola (*Cancer edwardsi*) en la X Región de Los Lagos. Informe técnico (R. PESQ.) N° 131/2011.
- Tallmon, D. A., Koyuk, A., Luikart, G., Beaumont, M.A. (2008) COMPUTER PROGRAMS: onesamp: a program to estimate effective population size using approximate Bayesian computation. *Molecular Ecology Resources* 8: 299-301. URL: <http://genomics.iun.alaska.edu/asp/Default.aspx>
- Teske, P. R., Papadopoulos, I., Zardi, G. I., McQuaid, C. D., Edkins, M. T., Griffiths, C. L., Barker, N. P. (2007) Implications of life history for genetic structure and migration rates of

southern African coastal invertebrates: planktonic, abbreviated and direct development. *Marine Biology* 152(3): 697-711.

Thiel, M., Haye, P.A. (2006) The ecology of rafting in the marine environment. III. Biogeographical and evolutionary consequences. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* 44: 323-428

Thiel, M., Macaya, E., Acuña, E., Arntz, W., Bastías, H., Brokordt, K., Camus, P.A., Castilla, J.C., Castro, L.R., Cortés, M., Dumont, C.P., Escribano, R., Fernandez, M., Lancellotti, D.A., Gajardo, J.A., Gaymer, C.F., Gómez, I., Gonzalez, A.E., Gonzalez, E.H., Haye, P.A., Illanes, J.E., Iriarte, J.L., Luna-Jorquera, G., Luxoro, C., Manríquez, P.H., Marín, V., Muñoz, P., Navarrete, S.A., Pérez, E., Poulin, E., Sellanes, J., Sepúlveda, A., Stotz, W., Tala, F., Thomas, A., Vargas, C.A., Vásquez, J.A., Vega, A. (2007) The Humboldt Current System of northern and central Chile: oceanographic processes, ecological interactions and socioeconomic feedback. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review* 45: 195-345.

Thorson, G. (1950) Reproductive and larval ecology of marine bottom invertebrates. *Biological Review* 25: 1-45.

Toro, J.E., Castro, G.C., Ojeda, J.A., Vergara, A.M. (2006) Allozymic variation and differentiation in the Chilean blue mussel, *Mytilus chilensis*, along its natural distribution. *Genetics and Molecular Biology* 29(1): 174-179.

- Ungfors, A., McKeown, N. J., Shaw, P. W., Andre', C. (2009) Lack of spatial genetic variation in the edible crab (*Cancer pagurus*) in the Kattegat-Skagerrak area. – ICES Journal of Marine Science 66: 462–469.
- Vadopalas, B., Leclair, L. L., Bentzen, P. (2012) Temporal genetic similarity among year-classes of the Pacific geoduck clam (*Panopea generosa* Gould 1850): a species exhibiting spatial genetic patchiness. Journal of Shellfish Research 31(3): 697-709.
- Veliz, D., Duchesne, P., Bourget, E., Bernatchez, L. (2006) Genetic evidence for kin aggregation in the intertidal acorn barnacle (*Semibalanus balanoides*). Molecular Ecology 15(13): 4193-4202.
- Vinuesa, J.H., Lovrich, G.A., Tapella, F. (1999) New localities for Crustacea Decapoda in the Magellan Region, southern South America. Scientia Marina 63: 321–323.
- Waples, R. S., y Teel, D. J. (1990) Conservation genetics of Pacific salmon I. Temporal changes in allele frequency. Conservation Biology 4(2): 144-156.
- Waples, R.S. (2002b) Evaluating the effect of stage-specific survivorship on the N_e/N ratio. Molecular Ecology 11(6): 1029-1037.
- Waples, R.S. (2006) Seed banks, salmon, and sleeping genes: effective population size in semelparous, age-structured species with fluctuating abundance. The American Naturalist 167: 118–135.
- Waples, R.S., Do, C. (2008) LDNE: a program for estimating effective population size from data on linkage disequilibrium. Molecular Ecology Resources, 8, 753–756.

- Waples, R.S. y Do, C. (2010) Linkage disequilibrium estimates of contemporary N_e using highly variable genetic markers: a largely untapped resource for applied conservation and evolution. *Evolutionary Applications* 3(3): 244-262.
- Waples, R.S., Luikart, G., Faulkner, J.R., Tallmon, D.A. (2013) Simple lifehistory traits explain key effective population size ratios across diverse taxa. *Proceedings of the Royal Society B* 280: 20131339.
- Waples, R.S., Antao, T., Luikart, G. (2014) Effects of overlapping generations on linkage disequilibrium estimates of effective population size. *Genetics* 197(2): 769-780.
- Waters, J.M., y Roy, M.S. (2004b) Phylogeography of a high-dispersal New Zealand sea-star: does upwelling block gene-flow? *Molecular Ecology* 13 (9): 2797-2806.
- Whitlock, M.C. (2011) G'_{ST} and D do not replace F_{ST} . *Molecular Ecology* 20(6), 1083-1091.
- Yannicelli, B., Castro, L., Parada, C., Schneider, W., Colas, F., Donoso, D. (2012) Distribution of *Pleuroncodes monodon* larvae over the continental shelf of south-central Chile: Field and modeling evidence for partial local retention and transport. *Progress in Oceanography* 92: 206-227.
- Zakas, C., Binford, J., Navarrete, S.A., y Wares, J.P. (2009) Restricted gene flow in Chilean barnacles reflects an oceanographic and biogeographic transition zone. *Marine Ecology Progress Series* 394: 165-177.

ANEXO

Anexo 1. Resumen de las variables genéticas estimadas a partir de los ocho microsatélites analizados para el total de datos obtenidos en todos los años de individuos adultos de *M. edwardsii*. *n*: número de individuos, *Na*: número de alelos, *Ra*: riqueza alélica, *H_E*: heterocigosidad esperada, *H_O*: heterocigosidad observada, *F_{IS}*: coeficiente de consanguinidad, *r_{xy}*: coeficiente de parentesco y su significancia estadística. * *p*<0.05 para desviaciones significativas de HWE.

	LM	DA	AN	CA	QU	CO
<i>Cedw15</i>						
N	43	48	59	29	73	26
Na	8	7	7	7	7	5
Ra	7.241	6.534	6.441	6.351	6.189	4.98
He	0.682	0.682	0.599	0.617	0.589	0.558
Ho	0.744	0.688	0.576	0.586	0.616	0.615
Fis	-0.079	0.003	0.047	0.067	-0.039	-0.084
<i>Cedcrab1</i>						
N	43	47	61	31	76	25
Na	17	20	20	17	19	14
Ra	14.731	16.058	14.747	14.923	14.35	13.27
He	0.917	0.925	0.916	0.915	0.915	0.893
Ho	0.861	0.872	0.853	0.903	0.842	0.840
Fis	0.073	0.068	0.077*	0.029	0.086*	0.079
<i>Cedcrab4</i>						
N	44	40	61	32	76	26
Na	23	17	24	20	26	16
Ra	15.703	14.08	17.183	16.687	17.043	15.077
He	0.911	0.910	0.925	0.919	0.930	0.919
Ho	0.886	0.800	0.934	0.938	0.921	1.000
Fis	0.038	0.133*	-0.002	-0.005	0.016	-0.069
<i>Cedw16</i>						
N	31	38	60	32	73	20

Na	31	34	36	25	35	24
Ra	24.603	25.133	23.336	20.329	21.84	24
He	0.956	0.961	0.958	0.936	0.952	0.950
Ho	0.871	0.947	0.950	0.938	0.959	0.850
Fis	0.105*	0.027	0.016	0.014	-0.001	0.131*
<i>Cedw4</i>						
N	43	40	51	23	57	24
Na	40	37	38	27	41	27
Ra	26.463	25.816	25.205	25.041	25.763	24.338
He	0.965	0.963	0.964	0.953	0.966	0.950
Ho	0.930	0.900	0.922	0.870	0.895	0.958
Fis	0.048	0.078*	0.053*	0.109*	0.082*	0.012
<i>Cedcrab3</i>						
N	43	46	56	28	54	26
Na	36	30	41	27	34	24
Ra	23.61	20.731	24.528	22.684	22.767	20.737
He	0.948	0.940	0.961	0.946	0.957	0.933
Ho	0.907	0.804	0.946	0.929	0.907	0.962
Fis	0.055	0.155*	0.024	0.037	0.061*	-0.011
<i>Cedw5</i>						
N	32	36	56	28	65	24
Na	26	28	33	27	34	27
Ra	21.11	21.634	21.566	23.026	22.87	24.134
He	0.943	0.947	0.952	0.948	0.960	0.940
Ho	0.844	0.806	0.893	0.893	0.939	0.875
Fis	0.121*	0.163*	0.071*	0.077	0.030	0.090
<i>Cedw12</i>						
N	45	48	55	31	73	26
Na	16	21	20	18	21	15
Ra	13.817	15.052	15.719	15.382	15.263	13.798
He	0.917	0.915	0.921	0.906	0.911	0.861
Ho	0.956	0.958	0.891	0.903	0.959	0.846
Fis	-0.031	-0.036	0.042	0.019	-0.046	0.037
r_{xy}	-0.023	-0.023	-0.018	-0.036	-0.014	-0.042
p	0.171	0.380	0.551	0.706	0.316	0.550

Anexo 2. Resumen de las variables genéticas estimadas a partir de los siete microsatélites analizados para las larvas megalopas de *M. edwardsii* durante 4 temporadas. *n*: número de individuos, *Na*: número de alelos, *Ra*: riqueza alélica, *He*: heterocigosidad esperada, *Ho*: heterocigosidad observada, *F_{IS}*: coeficiente de consanguinidad, *r_{xy}*: coeficiente de parentesco y su significancia estadística. * *p*<0.05 para desviaciones significativas de HWE.

	2009	2010	2011	2012
<i>Cedw15</i>				
N	34	51	37	34
Na	7	7	6	7
Ra	5.485	4.865	4.394	4.927
He	0.714	0.627	0.634	0.668
Ho	0.794	0.686	0.595	0.706
Fis	-0.098	-0.085	0.076	-0.042
<i>Cedcrab1</i>				
N	35	50	37	34
Na	19	18	20	18
Ra	10.067	10.013	10.741	9.782
He	0.916	0.920	0.929	0.902
Ho	0.886	0.860	0.892	0.765
Fis	0.048	0.075	0.054	0.167*
<i>Cedcrab4</i>				
N	34	48	36	33
Na	15	20	17	18
Ra	9.236	9.536	8.897	9.723
He	0.904	0.909	0.887	0.908
Ho	0.647	0.854	0.667	0.818
Fis	0.298*	0.070	0.262*	0.114*
<i>Cedw16</i>				
N	14	18	8	11
Na	18	19	12	15
Ra	12.386	11.636	12	11.805
He	0.931	0.928	0.898	0.901
Ho	0.857	0.722	0.875	0.909

Fis	0.116	0.248*	0.093	0.038
<i>Cedcrab3</i>				
N	25	36	20	17
Na	29	30	25	18
Ra	12.841	12.302	13.243	11.91
He	0.946	0.948	0.950	0.933
Ho	0.920	0.917	0.900	0.824
Fis	0.048	0.047	0.078	0.147*
<i>Cedw5</i>				
N	26	41	21	26
Na	22	27	20	21
Ra	11.995	12.05	11.998	11.415
He	0.942	0.948	0.938	0.933
Ho	0.846	0.927	0.857	0.885
Fis	0.121*	0.035	0.110*	0.072
<i>Cedw12</i>				
N	28	43	30	33
Na	18	17	17	18
Ra	9.52	9.578	10.478	9.605
He	0.892	0.911	0.926	0.907
Ho	0.929	0.930	0.900	1.000
Fis	-0.023	-0.009	0.045	-0.088
<i>r_{xy}</i>	-0.036	-0.028	-0.033	-0.035
p	0.732	0.873	0.593	0.686

Anexo 3. Número efectivo de reproductores y su intervalo de confianza para las distintas cohortes y, tamaño efectivo poblacional con su respectivo intervalo de confianza para las poblaciones adultas muestreadas cada año. *n*: número de individuos, *N_b*: número efectivo de reproductores por temporada y *N_e*: tamaño poblacional efectivo.

Megalopas	n	<i>N_b</i>	<u>OneSamp</u>	<i>N_b</i>	<u>NeEstimator</u>
			Límites de confianza		Límites de confianza
2009	25	61.28	42.39 - 92.39	∞	226.8 - ∞
2010	38	153.30	95.09 - 256.62	571.2	194.7 - ∞
2011	23	315.32	155.67 - 909.01	1345.0	122.1 - ∞
2012	29	10.85	9.05 - 13.04	118.2	65.5 - 488.3
Todos años	111	198.58	167.62 - 239.01	∞	∞

Adultos	n	<i>N_e</i>	Límites de confianza	<i>N_e</i>	Límites de confianza
DA 2011	24	475.17	264.83 - 1185.00	196.7	112.2 - 708.5
DA 2013	19	205.45	109.81 - 512.36	49.4	35.4 - 79.2
LM 2011	18	132.37	76.73 - 280.68	78.2	56.4 - 124.2
LM 2013	23	16.68	12.88 - 22.55	44.8	33.5 - 65.9
AN 2012	35	38.23	30.30 - 49.25	323	190.5 - 987.3
AN 2013	22	20.43	15.64 - 27.94	155.2	94.7 - 400.8
QU 2012	32	196.77	133.64 - 334.86	359.9	205.5 - 1312.8
QU 2013	25	1574.59	643.27 - 5932.69	177.9	110.7 - 427.4
CA 2012	16	232.31	122.54 - 672.29	25.1	20.4 - 32.1
CA 2013	14	190.96	92.85 - 531.93	49.2	33.7 - 87.2
CO 2014	24	148.35	89.59 - 289.64	40.1	34 - 48.4