

UCH-FC
DOC-EBE
P 226
C. 1



FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE

Aproximaciones filogeográficas para evaluar patrones de conectividad e historia demográfica en dos especies de pulpos, habitantes de distintas provincias biogeográficas de Sudamérica: Importancia de las glaciaciones y de las condiciones oceanográficas contemporánea

Tesis entregada a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al grado de Doctor en Ciencias con mención en Ecología y Biología Evolutiva

Facultad de Ciencias

María Cecilia Pardo Gandarillas

Octubre 2012

Director de Tesis: Dr. Elie Poulin

Co-Director de Tesis: Dr. Marco Méndez

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACIÓN

TESIS DE DOCTORADO

Se informa a la escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Doctorado
presentada por el candidato

MARÍA CECILIA PARDO GANDARILLAS

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al
grado de Doctor en Ciencias con mención en Ecología y Biología Evolutiva, en el examen
de Defensa de Tesis rendido el día 10 de Mayo de 2012.

Directores de Tesis:

Dr. Elie Poulin

Dr. Marco Méndez

Comisión de Evaluación de la Tesis:

Dr. Rodrigo Medel

Dr. Cristián Hernández

Dr. Luis Felipe Hinojosa

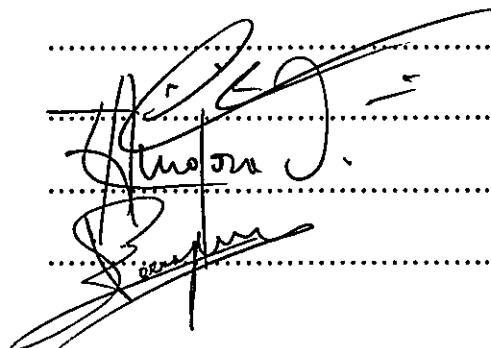
Dr. Sylvain Faugeron

.....
.....



A circular stamp with the text "FACULTAD DE CIENCIAS" at the top, "BIBLIOTECA CENTRAL" in the center, and "U. DE CHILE" at the bottom, flanked by two stars.

.....
.....
.....
.....



Handwritten signatures of the thesis directors and evaluation committee members, written over horizontal dotted lines.

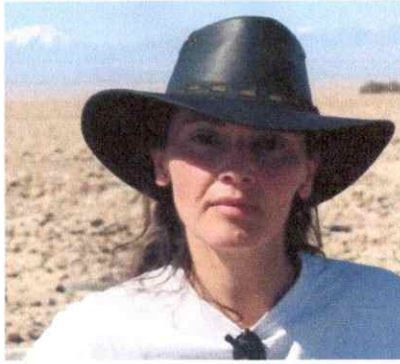
Dedicatoria,



“Soy amateur del mar. Desde hace años colecciono conocimientos que no me sirven de mucho porque navego sobre la tierra”.

Pablo Neruda (1904-1973)

Oceanografía dispersa, Confieso que he vivido.



Soy María Cecilia Pardo Gandarillas nací en la comuna de Rengo, Sexta Región. Estudié mi enseñanza básica en la Escuela D-186 de niñas, y la enseñanza media en el Colegio Asunción de Rengo. Desde el año 1988 hasta 1995 estudié la carrera de Licenciatura en Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica de Chile, sede Regional Talcahuano. En la trayectoria de mi carrera de Licenciatura, fui ayudante de varios cursos y de proyectos de investigación. Me titulé en el año 1999 como Licenciada en Ciencias Biológicas en la mencionada universidad. Luego, en el año 2000 hasta el 2005 trabajé en la Facultad de Ciencias de la Universidad Católica de la Santísima Concepción como técnico en varios proyectos de investigación, y a la vez como profesor part-time de varios cursos incluyendo las disciplinas de Biología Celular, Ecología, Zoología y Parasitología. En el año 2006 comencé mis estudios de Doctorado en la Universidad de Chile, en el programa de Ciencias con mención en Ecología y Biología Evolutiva (EBE). Desde el 2000 en adelante he participado en más de diez proyecto de investigación, y he participado en más de 30 congresos y más de una docena de publicaciones científicas.



Agradecimientos

Quiero expresar mis más profundos agradecimientos a todas las personas (colegas, amigos, familiares y otros) que de alguna manera, me ayudaron en el desarrollo de mi tesis de doctorado.

Primero doy gracias a Dios y a mis padres por apoyarme incondicionalmente en mi proyecto de vida. Particularmente, en esta etapa de mi vida incluyo a Christian, por haber sido mi compañero, amigo y pareja en este intenso camino de desarrollo personal y profesional que ambos elegimos. A mis familiares y amigos que no siempre han comprendido mi quehacer profesional, pero que estuvieron constantemente a mi lado.

Agradezco a mi tutor Elie Poulin por haberme dado la oportunidad de realizar mi tesis doctoral en su laboratorio, por haberme ayudado en el financiamiento de congresos para la divulgación y de mi trabajo de investigación, y por aportarme intelectualmente en la redacción de mi tesis. También doy gracias a mi co-tutor Marco Méndez por haberme ayudado con sus concejos personales, por facilitarme con su equipo computacional para los análisis de datos, y por su exhaustiva y crítica revisión del manuscrito de mi tesis. Agradezco también a Claudio González, Angie Díaz y David Veliz por haberme enseñado las técnicas y análisis de datos moleculares.

Agradezco también a colegas chilenos y extranjeros que me ayudaron en la recolección de muestras de distintas instituciones nacionales e internacionales como: colegas del Instituto de Fomento Pesquero (IFOP) de Puerto Montt y Chiloé (Carlos Muñoz); Dr. Iván Cañete de la Universidad de Magallanes; Dr. Nicolás Ortíz y Dra. María Edith Ré, y los colegas buzos del Centro Nacional Patagónico (CENPAT, Madryn Argentina); a la Dra. Carmen Yamashiro, Dr. Juan Argüelles y todos los colegas de todas las cedes del Instituto del Mar del Perú (IMARPE, Perú). También doy gracias al Dr. Ricardo Galleguillos, al Dr. Cristian Hernández y a Sandra Ferrada por facilitarme muestras del proyecto FIP N° 2008-39.

En tercer lugar agradezco a los miembros de la comisión evaluadora de la tesis al Dr. Rodrigo Medel (UCHILE), Dr. Cristian Hernández (UDEEC), Dr. Sylvain Faugeron (PUC) y Dr. Felipe Hinojosa (UCHILE), quienes han aportado con su visión crítica desde distintos puntos de vista, incluyendo la ecología, genética de poblaciones, estadística y evolución.

Finalmente quiero expresar mis agradecimientos a MECESUP, CONICYT, Universidad de Chile y el Instituto de Ecología y Biodiversidad (IEB) por el gran apoyo financiero de las becas de Doctorado, Apoyo de Tesis, Pasantías y Congresos, a todos ellos, MUCHAS GRACIAS....



ÍNDICE DE MATERIAS



Página

RESUMEN

xvii

ABSTRACT

xx

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

1

1.1 GENERALIDADES

2

1.1.1 Potencial de dispersión y estructuración genética

2

1.1.2 Conectividad en las poblaciones marinas

5

1.1.3 Patrón latitudinal de diversidad genética: influencia de eventos históricos

13

1.1.4 Sistema de estudio en Sudamérica

16

1.1.5 Unidad de estudio. Dos especies de pulpos de la familia Octopodidae

22

1.1.6 Exposición de objetivos e hipótesis de la unidad de estudio

30

1.1.7 Literatura

33

CAPITULO II. HISTORIA FILOGEOGRÁFICA DE *Enteroctopus megalocyathus* EN EL EXTREMO SUR DE SUDAMÉRICA: Conectividad, estructura y expansión

en escenarios históricos y contemporáneos

56

2.1 RESUMEN

57

2.2 INTRODUCCIÓN

59

2.3 MATERIALES Y MÉTODOS

65

2.3.1 Obtención de muestras

65

2.3.2 Extracción y amplificación del DNA

67

2.3.3 Análisis de datos	67
2.4 RESULTADOS	79
2.5 DISCUSIÓN	100
2.6 LITERATURA	121
CAPITULO III. FILOGEOGRAFÍA DEL PULPO <i>Octopus mimus</i> EN LA COSTA OESTE DE SUDAMERICA: Conectividad, estructura y expansión en escenarios históricos y contemporáneos	139
3.1 RESUMEN	140
3.2 INTRODUCCIÓN	141
3.3 MATERIALES Y MÉTODOS	155
3.3.1 Obtención de muestras	155
3.3.2 Extracción y amplificación del DNA	157
3.2.3 Análisis de datos	157
3.4 RESULTADOS	169
3.5 DISCUSIÓN	188
3.6 LITERATURA	199
CAPITULO IV. DISCUSIÓN GENERAL	219
4.1 DISCUSIÓN DE CAPITULOS II Y III	220
4.2 CONCLUSIONES	229
4.3 LITERATURA	239

4.4 ANEXOS

248

4.4.1 Descripción de los índices de diversidad genética

248

LISTA DE TABLAS

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL.

CAPITULO II. HISTORIA FILOGEOGRÁFICA DE *Enteroctopus megalocyathus* EN EL EXTREMO SUR DE SUDAMÉRICA.

- 2.1 Diversidad genética de *Enteroctopus megalocyathus*.
- 2.2 Estructura genética de las poblaciones de *Enteroctopus megalocyathus*.
- 2.3 Resultados de SAMOVA.
- 2.4 Resultados análisis bayesianos de migración.
- 2.5 Resultados de los test de neutralidad.
- 2.6 Diversidad genética de *Enteroctopus megalocyathus* (Hermosilla 2004).

CAPITULO III. FILOGEOGRAFÍA DEL PULPO *Octopus mimus* EN LA COSTA OESTE DE SUDAMERICA.

- 3.1 Diversidad genética de *Octopus mimus*.
- 3.2 Estructura genética de *Octopus mimus*.
- 3.3 Resultados de SAMOVA.
- 3.4 Resultados análisis bayesianos de migración.
- 3.5 Resultados de los test de neutralidad.

CAPITULO IV. DISCUSIÓN GENERAL.

- 4.1 Diversidad genética de *Octopus mimus*.
- 4.2 Diversidad genética de *Enteroctopus megalocyathus*.

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO 1.- INTRODUCCIÓN GENERAL

- 1.1 Resumen de los patrones de conectividad genética.
- 1.2 Modelo de metapoblaciones.
- 1.3 Extensión y altitud del último máximo glacial.
- 1.4 Curva de crecimiento de pulpos en distintos rangos de temperaturas.
- 1.5 Eclósión planctónica y bentónica en Octopodidae.
- 1.6 Distribución geográfica de *Octopus mimus* y *Enteroctopus megalocyathus*.

CAPITULO II. HISTORIA FILOGEOGRÁFICA DE *Enteroctopus megalocyathus* EN EL EXTREMO SUR DE SUDAMÉRICA.

- 2.1 Localidades donde fueron realizados los muestreo de *Enteroctopus megalocyathus*.
- 2.2 Network de *Enteroctopus megalocyathus*.
- 2.3 Frecuencia de los haplotipos en el rango geográfico de *Enteroctopus megalocyathus*
- 2.4 Aislamiento por distancia en las muestras de *Enteroctopus megalocyathus* del Atlántico.
- 2.5 Distribución de probabilidad a posteriori de los cluster en *E. megalocyathus*.
- 2.6 Mapa de probabilidad *a posteriori* de los miembros de cada población de *E. megalocyathus*.
- 2.7 Número de pulpos migrante de la población del Pacífico y Atlántico.

- 2.8 Distribución de desajuste entre pares de secuencias de *Enteroctopus megalocyathus*.
- 2.9 Variación del tamaño efectivo de las poblaciones de *Enteroctopus megalocyathus*.
- 2.10 Bayesian skyline plot de *Enteroctopus megalocyathus* en el Pacífico.
- 2.11 Bayesian skyline plot de *Enteroctopus megalocyathus* en el Atlántico.
- 2.12 Bayesian skyline plot de *Enteroctopus megalocyathus* en el Atlántico en los últimos 10000 años.
- 2.13 Árbol de coalescencia con los clados de máxima credibilidad.
- 2.14 Modelo esquemático de circulación de masas de agua en el estrecho de Magallanes.
- 2.15 Primer escenario de la historia demográfica de *Enteroctopus megalocyathus*.
- 2.16 Segundo escenario de la historia demográfica de *Enteroctopus megalocyathus*.
- 2.17 Escenario alternativo de la historia demográfica de *Enteroctopus megalocyathus*.

CAPITULO III. FILOGEOGRAFÍA DEL PULPO *Octopus mimus* EN LA COSTA OESTE DE SUDAMERICA.

- 3.1 Características principales del Sistema de corrientes de Humboldt.
- 3.2 Masas de aguas oceánicas con oxígeno disuelto. Mecanismos de formación de la Zona de Mínimo Oxígeno (ZMO).
- 3.3 Comparación de los índices paleoproductivos en relación con la posición latitudinal de los vientos del suroeste.

- 3.4 Escenarios para diferentes etapas de una metapoblación de *A. purpuratus*.
- 3.5 Rango de distribución de *Octopus mimus* en la costa sureste del Pacífico.
- 3.6 Ciclo de vida de *O. mimus*.
- 3.7 Localidades donde fueron realizados los muestreo de *O. mimus*.
- 3.8 Red de haplotipos de *O. mimus*.
- 3.9 Frecuencia de los haplotipos en el rango geográfico de *O. mimus*.
- 3.10 Aislamiento genético por distancia geográfica en la población de *O. mimus*.
- 3.11 Distribución de probabilidad *a posteriori* de los cluster o poblaciones *O. mimus*.
- 3.12 Mapa de probabilidad *a posteriori* en la asignación de los individuos a los clusters geográficos en *O. mimus*.
- 3.13 N° de pulpos inmigrantes efectivos por generación entre localidades de la población de *O. mimus*.
- 3.14 Distribución de desajuste entre pares de secuencias de la población de *O. mimus*.
- 3.15 Variación del tamaño efectivo de la población de *O. mimus*.
- 3.16 Bayesian Skyride de la población de *O. mimus*.
- 3.17 Arbol con el clado de máxima credibilidad *a posteriori*, mostrando los nodos de coalescencia y el tiempo del ancestro común más reciente (MRCA).
- 3.18 Clado de máxima credibilidad *a posteriori*, destacando el patrón de coalescencia entre pulpos de localidades distintas de *O. mimus*.
- 3.19 Síntesis de las principales corrientes y contracorrientes marinas que fluyen en la costa oeste de Sudamérica.
- 3.20 Escenario hipotético sobre la historia demográfica de *O. mimus*.

CAPITULO IV. DISCUSIÓN GENERAL

- 4.1 Número de pulpos migrantes de (a) *O. mimus* y de (b) *E. megalocyathus*.
- 4.2 Escenarios hipotético de la historia demográfica de *O. mimus* y *E. megalocyathus* en Sudamérica.

Cantidades y simbología de las unidades de medida utilizadas

Longitud	Kilometro	km, m, cm, mm, μm
Volumen	Litro	L, ml, μl
Tiempo	Minuto	min, seg, ms, μs
Masa	Gramo	kg, mg, μg , ng g
Concentración	Molaridad	M, mM, μM
Tamaño molecular	Pares de bases	pb
Temperatura	Grados Celsius	$^{\circ}\text{C}$

Abreviaciones estándar.

Π	Número promedio de diferencias pareadas.
π	Diversidad nucleotídica.
Φ_{st}	Índice de diferenciación entre pares de secuencias, entre poblaciones.
F_{ST}	Índice de diferenciación en frecuencia de haplotipos entre poblaciones.
F_{CT}	Índice de diferenciación entre grupos.
F_{CS}	Índice de diferenciación entre poblaciones dentro de los grupos.
DNA	Ácido desoxirribonucleico.
SCH	Sistema de Corrientes de Humboldt.
COIII	Citocromo Oxidasa subunidad III.
dNTPs	Desoxi-nucleótidos trifosfato.
ENSO	El Niño-Oscilación del Sur.
Hd	Diversidad haplotípica.

K	Número de haplotipos.
MCMC	Cadenas de Markov, método Monte Carlo.
MgCl ₂	Cloruro de Magnesio.
S	Número de sitios polimórficos.
Taq	DNA polimerasa.
Ma	Millones de años.
ka	kilo años.

RESUMEN

Estudios comparativos filogeográficos han revelado que las condiciones geomorfológicas asociadas a los procesos climáticos y oceanográficos, contemporáneos e históricos, pueden generar patrones distintos de conectividad e historia demográfica en las especies. La evidencia es consistente con una mayor diversidad genética en las especies terrestres y marinas hacia los trópicos, contrastando con las especies de latitudes frías. Este patrón latitudinal de diversidad genética también se ha asociado con un mayor nivel de conectividad entre las poblaciones en latitudes cálidas en relación con latitudes frías. A la vez, las especies de latitudes cálidas mostrarían un patrón en la historia demográfica más estable en el tamaño efectivo poblacional, mientras que las especies de latitudes frías mostrarían reducciones significativas con posteriores patrones de expansión poblacional, asociado a los ciclos glaciales-interglaciales del Pleistoceno. Sudamérica se caracteriza por una geomorfología muy variada en sus distintas provincias biogeográficas marinas, con particulares condiciones climáticas y oceanográficas. Fue la región, junto con el continente Antártico, afectado por los periodos glaciales en el hemisferio sur, con la formación de un manto de hielo que cubrió la Patagonia occidental desde la cordillera de los Andes hasta el mar, en el extremo sur de Sudamérica. En este estudio se utilizaron dos pulpos bentónicos, *Octopus mimus* y *Enteroctopus megalocyathus*, que tienen similares características ecológicas y de historias de vida, pero habitantes de distintas provincias de Sudamérica. El objetivo fue primero evaluar si ambas especies muestran un patrón diferencial de conectividad asociado a las características geomorfológicas e hidrológicas contemporáneas de cada

provincia; y segundo evaluar si muestran un patrón distinto en la historia demográfica asociado a los efectos diferenciales de los períodos glaciales sobre Sudamérica. Para evaluar estas preguntas, se colectaron ejemplares de dos especies de pulpo a lo largo de sus rangos de distribución por la Provincia Magallánica (en este caso *Enteroctopus megalocyathus*) y por la Provincia Templada del Pacífico Sureste (en este caso *Octopus mimus*). Se secuenciaron fragmentos del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa III (COIII) para estimar la diversidad genética y estructura poblacional de ambas especies. *Enteroctopus megalocyathus* mostró una estructuración en dos unidades poblacionales, la del Pacífico y del Atlántico, conectadas por un reducido flujo de pulpos migrantes entre ellas. Por otro lado, *Octopus mimus* mostró una baja estructuración genética. En contraste con *E. megalocyathus*, el patrón de diversidad genética de *O. mimus* a lo largo de su rango de distribución no permitió delimitar unidades poblacionales discretas. El patrón de flujo asimétrico de pulpos migrante en *O. mimus* sugirió un nivel alto de flujo genético y conectividad en todo el rango geográfico en dirección hacia el norte, mientras hacia el sur el flujo genético y conectividad mostró estar mediado por aislamiento por distancia geográfica. *E. megalocyathus* mostró un nivel alto de conectividad intrapoblacional, y un nivel muy bajo entre poblaciones del Pacífico y Atlántico. Ambas especies evidenciaron una baja diversidad genética, y una historia demográfica de expansiones demográficas post-glaciaciones en cada provincia biogeográfica durante la última glaciación del Pleistoceno tardío. En este contexto, se propone que ambas especies sufrieron drásticos cambios en las condiciones de su hábitat, en particular hacia el sur de su rango de distribución. En el caso de *E. megalocyathus* fue afectado por la

formación directa de un manto de hielo que afectó la costa de la Patagonia occidental, disminuyendo la temperatura superficial y el nivel de mar. Mientras, *O. mimus* fue afectado por reducción de la temperatura superficial, salinidad y nivel del mar por la costa oeste de Sudamérica. Estos cambios habrían causado reducciones demográficas y geográficas hacia latitudes al norte en busca de refugios para la sobrevivencia en el caso de *E. megalocyathus*, y hacia latitudes más cálidas en el caso de *O. mimus*. Posteriormente, durante las deglaciaciones en el Pleistoceno tardío y Holoceno, cuando las condiciones del hábitat volvieron a ser adecuadas para la sobrevivencia de ambas especies, comenzaron los procesos de recolonización hacia el sur, hasta alcanzar sus actuales rangos de distribución en Sudamérica.

ABSTRACT

Comparative phylogeographic studies have revealed that geomorphological conditions associated with climatic and oceanographic processes, contemporary and historical, can generate different patterns of connectivity and demographic history of species. The evidence is consistent with high genetic diversity at terrestrial and marine species toward the tropics, contrasting to cold-latitude species. This latitudinal pattern of genetic diversity has also been associated with an increased level of connectivity between populations of warmer latitudes in relation to cold latitudes. At the same time, species of warmer latitudes show a most stable demographic history in the effective population size. While cold latitudes species, they would show significant reductions of genetic diversity, with a population expansion pattern associated with glacial-interglacial cycles of the Pleistocene late. South America is characterized with a geomorphology different in its marine biogeographic provinces, with particular climatic and oceanographic conditions. This region and the Antarctic continent were affected during glacial periods in the southern hemisphere, with the ice sheet formation covering the western Patagonia from the tip of the Andes to the sea, at the southern tip of South America. In this study we used two benthic octopuses, *Octopus mimus* and *Enteroctopus megalocyathus*, both with a similar characteristics ecological and life history, but they inhabiting on different biogeographic provinces of South America. The objective was first assessing whether the two species show different patterns of connectivity associated with geomorphological and hydrological contemporary characteristics of each province. Second assess if they show a different demographic history associated to different

oceanographic and climatic effects of the glacial periods on South America. To test these predictions, we collected specimens of two octopus species throughout their geographic range at the Magallanic biogeographic Province (in this case *Enteroctopus megalocyathus*) and the South Pacific Temperate Province (in this case *Octopus mimus*). We sequenced a fragment of mitochondrial DNA gene Cytochrome Oxidase III to estimate the genetic diversity and population structure of the two species. *Enteroctopus megalocyathus* showed a genetic structure formed in two population units of Pacific and Atlantic, connected by a low flow of octopus migrants among them. Furthermore, *Octopus mimus* showed a low genetic structure. In contrast to *E. megalocyathus*, the genetic diversity pattern of *O. mimus* did not allowed defining discrete populations units. The asymmetric flow pattern of migrant octopus of *O. mimus* suggested a high level of gene flow and connectivity toward the north. While gene flow and connectivity southward did show to be mediated by isolation by distance. *Enteroctopus megalocyathus* showed a high level of connectivity within populations, and a very low level between the Pacific and Atlantic populations. Both species showed a low genetic diversity and a demographic history of a post-glacial expansion during the last glacial late Pleistocene. In this context, it is proposed that both species have experienced drastic changes in habitat conditions, particularly to the south of its range. In the case of *E. megalocyathus* was affected by the formation of an ice sheet that covered the western coast of Patagonia, causing reduction of the surface temperature and sea level. Meanwhile, *O. mimus* was affected by reducing the surface temperature, salinity and the sea level along the west coast of South America. These changes have caused reductions

to demographic and geographic toward the north latitudes in search of glacial refugia for the survival of *E. megalocyathus*, and towards warmer latitudes in case *O. minus*. Later, during the de-glaciations of late Pleistocene and Holocene, when the habitat conditions were again suitable for the survival of both species began recolonization processes southward reaching the current distribution ranges in South America. Later, during the de-glaciations of late Pleistocene and Holocene, when the habitat conditions were again suitable for the survival of both species began recolonization processes southward reaching the current distribution ranges in South America. Later, during the de-glaciations of late Pleistocene and Holocene, when the habitat conditions were again suitable for the survival of both species began recolonization processes southward reaching the current distribution ranges in South America.

CAPITULO I
INTRODUCCION GENERAL

1.1 GENERALIDADES

1.1.1 Potencial de dispersión y estructuración genética.

En general las especies están subdivididas o estructuradas espacialmente en poblaciones locales que pueden estar aisladas o conectadas entre ellas a través de la dispersión (Avice 2000, Freeland 2005). Establecer la relación entre el potencial de dispersión y la escala espacial de la estructura genética, ha permitido inferir acerca de las fuerzas micro-evolutivas que han interactuado a través de la historia de las poblaciones de una especie (Bohonak 1999). La estructura genética de una especie, definida como el patrón de distribución de los alelos a lo largo de su rango geográfico, es el resultado de una mezcla de componentes históricos y actuales, intrínsecos (biológicos/ecológicos) y extrínsecos (físico-ambientales) (Freeland 2005). Las poblaciones evolucionan por cambios en la frecuencia de alelos, formas alternativas de los genes que constituyen la diversidad heredable entre individuos conespecíficos. Los cambios en la frecuencia alélica son el resultado de las fuerzas evolutivas como la mutación, la deriva genética (caracterizada por fluctuaciones estocásticas de las frecuencias alélicas en poblaciones finitas), el flujo genético (resultante de la migración entre poblaciones locales), y la selección natural (Freeland 2005, Hedgecock et al 2007). En periodos de tiempo suficientemente largos y en ausencia de cambios ambientales, la composición genética de una población alcanza un equilibrio determinado por un balance entre fuerzas opuestas (ver Hedgecock et al 2007). En este sentido, la deriva genética y la selección causan una divergencia entre las poblaciones, mientras que el flujo genético las homogeniza (Freeland 2005, Hedgecock et al. 2007).

En ambientes marinos, el entorno fluido en que las poblaciones viven, ofrece una amplia variedad de medios para que los individuos puedan dispersar dentro y entre poblaciones (Cowen & Spognaule 2009). En muchas especies bentónicas sésiles o con baja movilidad, la principal fase de dispersión es típicamente asociado con etapas tempranas de su historia de vida (esporas, huevos, o larvas; Cárdenas et al 2009a, Kelly & Palumbi 2010). En el caso de especies más móviles, los juveniles y adultos también participan de manera importante en la dispersión (Gaines et al. 2007, Barber et al 2002, Kelly & Palumbi 2010). En los sistemas marinos, el éxito de la dispersión depende de un conjunto de procesos ecológicos, demográficos, ambientales, tectónicos y climáticos (ver revisión de Grosberg & Cunningham 2001). El efecto combinado de estos procesos, en diferentes escalas espaciales y temporales, determina la tasa y el patrón de dispersión de gametos, cigotos, larvas, juveniles y adultos entre poblaciones locales; y por consiguiente, la dinámica (la tasa de natalidad y mortalidad) y estructura genética de las poblaciones (Cowen et al. 2007, Hedgecock et al. 2007, Jones et al. 2007, Cowen & Spognaule 2009). Así, la dispersión se convierte en el factor que mitiga la escala y la tasa en la cual los procesos azarosos (e.g. deriva genética) y determinísticos (selección natural) afectan la estructura genética dentro y entre grupos de individuos (Grosberg & Cunningham 2001). Además, cuando la dispersión es combinada con factores que conducen a la supervivencia de los organismos dispersados, emerge el concepto de conectividad poblacional (Jones et al. 2007, Hedgecock et al 2007, Cowen & Spognaule 2009). Cuando la conectividad involucra el intercambio suficiente de individuos para influir en los índices demográficos de las poblaciones locales, de tal modo que es lo

necesario para el mantenimiento de la homogeneidad genética entre ellas (Cowen & Spognaule 2009).

1.1.2 Conectividad en las poblaciones marinas

El estudio de la conectividad genética en ambientes marinos, se ha focalizado en comprender dos principales factores que son los rasgos de historia de vida, principalmente de la etapa larval, y las barreras biogeográficas y oceanográficas que podrían modular la dispersión de los organismos entre poblaciones (Hedgecock et al. 2007, Cowen et al. 2007, Gawarkiewicz et al. 2007, Cowen & Spognaugle 2009). Muchas especies marinas tienen una alta fecundidad y una larga fase larval que permite un transporte de las larvas a grandes distancias a través de corrientes oceánicas (ver Grosberg & Cunningham 2001, Barber et al. 2002). Las especies con estas características de historia de vida, tienen generalmente grandes tamaños poblacionales y altas tasas de dispersión de larvas entre localidades distantes (Palumbi 1994, 2003, Jones et al. 2007). Pechenik (1999) indica que una fase larval de larga duración confiere a las especies mayor potencial de dispersión, y se manifiesta en una gran homogeneidad genética a lo largo del rango de distribución (e.g. Bohonak 1999, Palumbi 1995, Galleguillos et al. 2000, Barber et al 2002, Gómez-Uchida et al. 2003, Cárdenas et al. 2009a, 2009b, Dawson et al 2010). En ese sentido, se ha propuesto un modelo donde la distancia de dispersión se relaciona con la duración de la larva pelágica (DLP) (Shanks et al. 2003). Sin embargo, este supuesto también se ha considerado insuficiente y poco realista, ya que en la estimación de la distancia de dispersión en función de la DLP, no considera la influencia de la interacción de procesos biológico y físicos (Sponaugle et al. 2002). Una estimación más real de la distancia de dispersión larval, fue posible gracias a los avances en diferentes métodos indirectos y directos, a través de marcaje de

propágulos para el mapeo de trayectorias (e. g. Jones et al. 2005, Almany et al. 2007), con marcadores geoquímicos (en otolitos de peces o conchas de moluscos) y genéticos (nuevos marcadores más diversos) (ver revisiones por Planes 2002; Thorrold et al. 2002, 2007; Hedgecock et al. 2007; Hellberg 2009). Asimismo, el uso de modelos biofísicos (modelamiento simultáneo de dinámicas física y rasgos biológicos para investigar preguntas ecológicas) e hidrodinámicos, ha permitido evaluar cualitativamente la conectividad entre regiones y poblaciones específicas (Cowen et al. 2000, 2006, Werner et al. 2001, James et al. 2002, Werner et al. 2007, Gallego et al. 2007). Estos estudios basados en diversas aproximaciones, muestran que las especies que tienen una fase larval de larga duración no siempre presentan una alta conectividad poblacional y no corresponden necesariamente a poblaciones demográficamente abiertas, con gran dispersión y homogeneidad genética (Gawarkiewicz et al. 2007, Jones et al. 2007, 2009, Hedgecock et al. 2007, Cowen & Sponaugle 2009, Fig. 1.1). Incluso algunas han mostrado mayor estructuración genética en relación con especies con desarrollo directo, en moluscos y equinodermos (Marko et al. 2004, Muths et al. 2009). De esta manera, la relación entre potencial de dispersión y flujo genético no constituye una regla general, ya que un número creciente de estudios manifiestan niveles inesperadamente altos de estructuración genética y aislamiento poblacional a pequeña escala espacial en el mar (Burton & Fieldman 1981, Shulman & Bermingham 1995, Kyle & Boulding 2000, Pogson et al. 2001, Marko et al. 2004, Buonaccorsi et al., 2002, 2004, Marko et al. 2010, Kelly & Palumbi 2010). Por lo demás, aún permanece sin explicar una importante variabilidad en los niveles de estructuración genética en muchas especies marinas que

presentan gran potencial de dispersión (Marko et al. 2004, Kelly & Eernisse 2007, Miller & Ayre 2008, Kelly & Palumbi 2010). Para esto, se ha sugerido tener más consideración de las características biológica y ecológicas de las especies, como los patrones conductuales de las larvas (Burton & Feldman 1982, Raimondi & Keough 1990, Young 1995, Jones et al. 1999, 2005, Swearer et al. 1999, Thorrold et al. 2001), o en los requerimientos de hábitat de las especies (Johnson y Black 1991, 2005; Marko, 2004). En particular, un creciente número de estudios han evidenciado la influencia de ciertas conductas que, junto con propiedades hidrográficas, favorecen la retención de larvas a escala local, afectando los patrones de dispersión observados, y adicionando mayor complejidad en determinar los patrones de conectividad entre poblaciones marinas (Swearer et al. 1999, Spognaugle et al. 2002, Poulin et al. 2002, Jones et al. 2005, 2007, Murphy & Cowan 2007, Cowen & Spognaugle 2009). De la misma manera, se han incorporado características específicas de los hábitats (necesarias para continuar el ciclo de vida de las especies) en modelos de dispersión (Pineda et al. 2007), puesto que pueden tener mayor impacto en la diferenciación poblacional que los propios rasgos de historia de vida (Ayre et al. 2009, Hellberg 2009). Ejemplos son los hábitats específicos de peces gobios, ubicados en la desembocadura de ríos en islas oceánicas, de cirripedios en zonas rocosas expuestas al oleaje, y de peces de arrecifes asociados a ciertas anémonas (Radtke et al. 1988, Jones et al. 2005).

En especies con menor potencial de dispersión, se ha observado patrones de conectividad intermedia donde la diferenciación genética aumenta con la distancia geográfica que separan las poblaciones (Kelly & Palumbi 2010, Fig. 1.1). Estos patrones

de aislamiento por distancia, que se logran con un equilibrio entre el flujo genético y la deriva, se pueden generar en especies con distribución continua así como en parches. En este último caso, se conoce como modelo stepping-stones (Slatkin 1993), y ocurre en especies que tienen un rango de distribución mucho mayor a su dispersión efectiva, principalmente moluscos, crustáceos y poliquetos costeros (Gold et al. 2001, Palumbi 2003, Marko et al. 2010, Kelly & Palumbi 2010). En definitiva produce un patrón de conectividad donde las poblaciones más cercanas están más vinculadas por un intercambio genético (Gaines et al. 2007, White et al. 2010, Galindo et al. 2010).

Especies marinas con una corta o sin fase larval pelágica están generalmente constituidas por poblaciones totalmente cerradas (sin flujo genético entre poblaciones locales), o conectadas entre ellas por un número muy bajo de migrantes. Cuando el flujo genético se reduce entre poblaciones, la deriva genética y la selección pasan a tener un rol principal, provocando la diferenciación geográfica de la diversidad genética (Hellberg et al. 2002, Hedgecock et al. 2007). En este escenario, se puede generar una distribución de la diversidad genética en parches, en donde el grado de diferenciación genética no se relaciona con la distancia geográfica (Hellberg et al. 2002, 2009, Fig. 1.1). Ejemplos de este patrón de diferenciación se encuentran en poblaciones de anfípodos que carecen de desarrollo pelágico *Excirrolana braziliensi* (Lessios et al. 1994), en el copépodo *Tigriopus californicus* de pozas intermareales, donde ocurre una fuerte diferenciación genética entre poblaciones cercanas, a pesar de tener un estilo de nado libre (Burton & Feldman 1981, Burton & Lee 1994), o en algas como *Lessonia nigrescens* con un limitado flujo de genético entre poblaciones cercanas (Martínez et al.

2003, Faugeron et al. 2005). De manera sorprendente, algunas especies con este tipo de historia de vida, han mostrado un nivel de flujo genético suficientemente alto como para mantener la frecuencia de haplotipos homogeneizada entre poblaciones. Esta homogeneidad genética resultaría de un mecanismo de dispersión por rafting de masas de huevos, juveniles o adultos, como se ha propuesto en especies de moluscos, y crustáceos costeros (Kyle & Boulding 2000, Teske et al. 2007). Asimismo se ha encontrado, que los gastrópodos con desarrollo directo pueden mostrar menor estructuración genética a escala temporal que los con fase larval planctotrófica (Lee & Boulding 2007). En este sentido, aunque las estimaciones de la distancia de dispersión tienden a ser concordantes con la capacidad de dispersión de los organismos marinos (Kinlan & Gaines 2003, Kinlan et al. 2005, Teske et al. 2007), existen especies que logran mantener un flujo genético, independiente de la presencia o ausencia de un desarrollo larval (Teske et al. 2007). De esta manera, especies con ciclo de vida directo logran a través de otros mecanismos de dispersión reducir las fluctuaciones demográficas, favorecer los eventos recolonización y disminuir las tasas de extinción local.

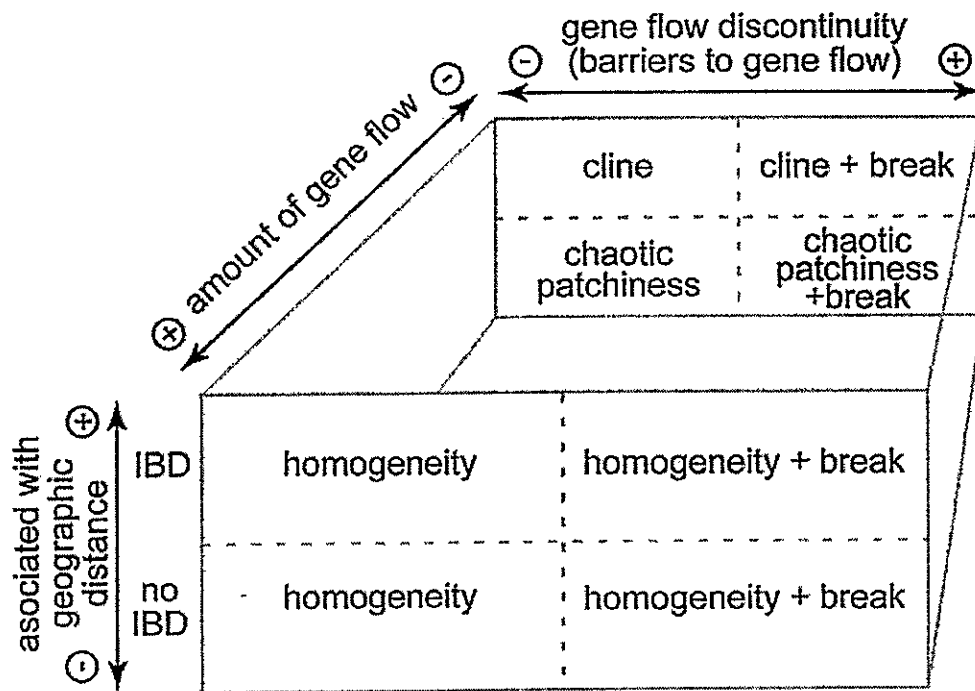


Figura 1.1.- Resumen de los patrones de conectividad genética que resultan desde la interacción entre intensidad del flujo génico (dispersión) y su asociación con la distancia geográfica y su continuidad espacial y temporal. Aislamiento por distancia= IBD, isolation by distance (modificado de Thiel et al. 2007).

Los modelos de conectividad anteriormente planteados tienen en común que se sustentan bajo el supuesto de equilibrio entre deriva y flujo genético, y que fueron propuestos para evaluar cambios en la conectividad de las especies marinas fundamentalmente a escala espacial. Los avances en investigaciones multidisciplinarias en dispersión larval, sugieren que la variabilidad natural de los procesos biológicos y físicos en los océanos, son responsables de la variación temporal y espacial de los patrones de conectividad. Basados en el modelo de Levins (1969), estas poblaciones marinas se comportarían como una metapoblación caracterizada por una dinámica de repetidas extinciones y colonizaciones entre poblaciones locales, vinculadas por la

migración entre ellas (Pannell & Charlesworth 2000, Freeland 2005). Tales poblaciones locales se caracterizan por tener un nivel de migración que es suficientemente alto para recolonizar poblaciones locales extintas, pero suficientemente bajo para que la deriva genética genere diferencias genéticas substanciales (Hanski & Gilpin 1997). La tasa de migración puede ser asimétrica y variar de manera espacial y temporal (Hanski & Gyllenberg 1993). Tales variaciones en la migración pueden generar diversas señales o estructuras genéticas, dependiendo del tamaño efectivo de las poblaciones locales (Slatkin 1977, 1985), y de la importancia relativa de la deriva genética o la selección en la diferenciación (Pannell & Charlesworth 2000). El efecto de la dinámica de metapoblaciones sobre la estructura genética de las especies, típicamente ha sido medido en términos de la diferenciación genética entre poblaciones locales, y del patrón de la diversidad genética dentro de las poblaciones locales (Pannell & Charlesworth 1999, 2000, Pannell 2003). En este sentido, algunas especies marinas muestran poblaciones de adultos con una baja estructuración genética, mientras que en repetidos muestreos en cohortes de reclutas de una misma localidad, revelan una clara diferenciación genética (Hellberg et al 2002, Muths et al. 2009). Este patrón de conectividad denominado “parches genético caóticos o fluctuantes”, sugiere que mucha variación genética puede ser observada entre reclutas en un mismo lugar, dentro de una poblaciones de adultos, entre poblaciones de reclutas y adultos, o entre poblaciones de adultos en cientos o miles de kilómetros, establecida mediante fluctuaciones temporales y espaciales de una metapoblación (Hedgecock et al. 1994, Hedgecock et al. 2007, Muths et al. 2009, Fig. 1.2). En tales circunstancias, puede ocurrir que los patrones de distribución y abundancia

de poblaciones de adultos, en parte pueden ser determinados por la oferta de reclutas a través de la dispersión larval (Ellien et al. 2000). Pero a su vez, la dispersión larval también depende de las características hidrodinámicas a meso-escala espacial, y de sus variaciones estacionales o anuales (e. g. mareas de corrientes residuales, corrientes impulsadas por los vientos, densidad de las corrientes, giros ciclónicos, Ellien et al. 2000, Gaines et al 2007). Estos cambios espacio-temporales en las condiciones hidrodinámicas pueden mantener a las larvas en las cercanías de poblaciones adultas (permitiendo un reclutamiento local), y en otro momento puede permitir el transporte de ellas fuera de la población de origen (Botsford, 2001, Ellien et al. 2000, Fig. 1.2). Así, asumiendo la hipótesis de equilibrios entre deriva y flujo genético, se puede conjeturar que la estructuración genética en especies con larva planctónica es mucho más dinámica, en el espacio y en el tiempo, de lo que se pensaba a partir de los modelos clásicos de conectividad (Hellberg et al. 2002). Este patrón de conectividad, asociado con dinámicas estocásticas de extinción y recolonización, tiene ejemplos en sistemas marinos (Ellien et al. 2000, Botsford 2001). Entre ellos, la estructura metapoblacional del pez *Acanthochromis polyacanthus* en arrecifes de coral (Bay et al. 2008), y de varias especies de invertebrados y peces que son habitantes de bosques de *Macrocystis pyrifera* (Edwards 2004, Reed et al. 2006).

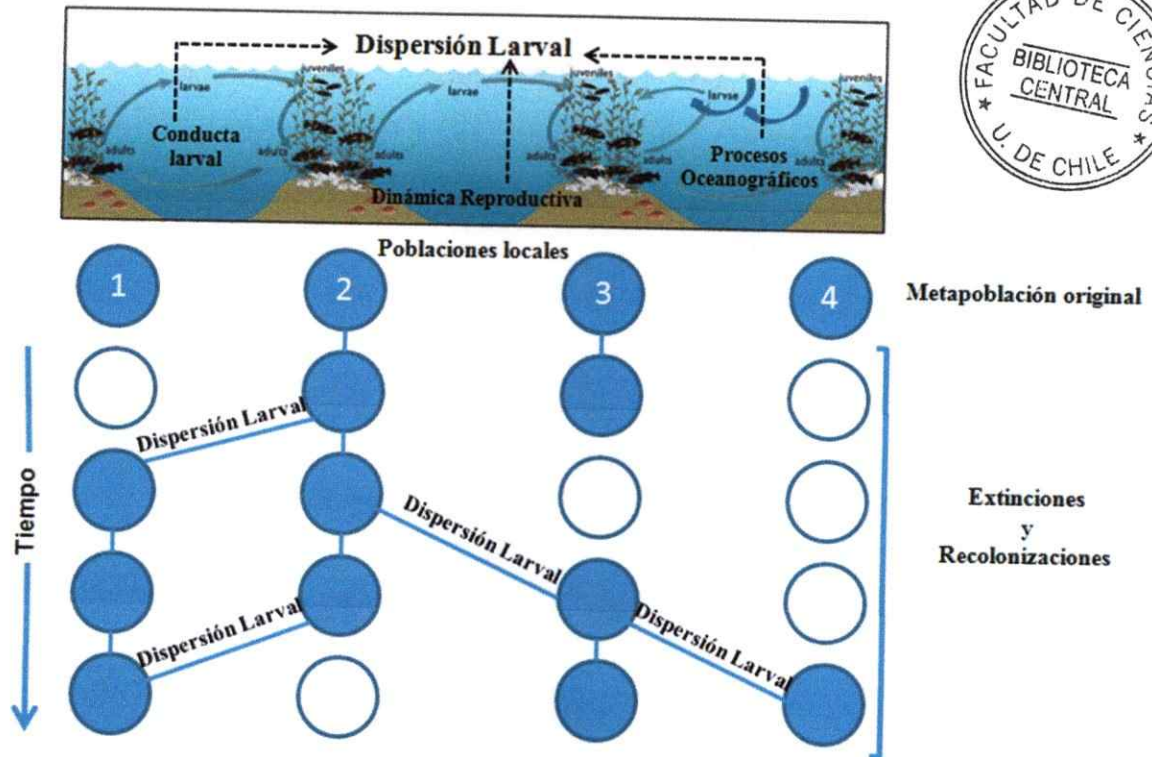


Figura 1.2.- Modelo de metapoblaciones formado por 4 poblaciones locales sometidas a procesos de extinción y recolonización. Círculos azules representan sitios ocupados y círculos blancos son sitios vacíos. Las líneas entre los círculos representan las fuentes de recolonización producido por estados larvales (Modificado de Freeland 2005 y Gaines et al. 2007)

1.1.3 Patrón latitudinal de diversidad genética: influencia de eventos históricos

Los patrones de diversidad genética dentro y entre poblaciones modernas, son el resultado de la influencia de factores ecológicos contemporáneos (con sus respectivos patrones de conectividad), y de factores históricos como los geológicos o de cambio climático global (Milá et al 2000, Rey & Turgeon 2007, Shikano et al. 2010). Evidenciar la importancia de aquellos factores, generó la multiplicación de estudios filogeográficos durante las décadas pasadas, permitiendo la descripción de la distribución geográfica de

los linajes intraespecíficos de muchas especies marinas (Marko et al. 2004, Marko et al. 2010, Kelly & Palumbi 2010). Posteriormente, mediante la comparación de patrones filogeográficos, se pudo develar entre especies, qué procesos históricos similares pueden generar patrones de variación genética intraespecíficos, abarcando escalas incluso de regiones biogeográficas (Martin & McKay 2004, Kelly & Eernisse 2007). En este contexto, el incremento de la diversidad genética intraespecífica hacia los trópicos se ha demostrado en varios organismos terrestres y marinos (Chek et al. 2003, Martin & MacKay 2004, Gwendolyn et al. 2010). Además, estos estudios han documentado que este patrón latitudinal de la diversidad genética va asociado con a una mayor estructuración genética entre poblaciones en latitudes cálidas en relación con latitudes más frías (Seutin et al. 1994, Brawn et al. 1996, Chek et al. 2003, Martin & McKay 2004, Hughes & Hughes 2007, Kelly & Eernisse 2007, Eo et al. 2008, Miller et al 2010, Gwendolyn et al. 2010). De las hipótesis que explicarían este patrón latitudinal, se menciona la del incremento de la temperatura hacia los trópicos asociado con una aceleración de los procesos fisiológicos, un acortamiento de los tiempos generacionales y un aumento en las tasas de mutación, lo que en consecuencia causaría un aumento en las tasas de evolución (Rohde 1992, Allen et al. 2006). Así, las altas temperaturas en latitudes bajas causaría que las poblaciones intra e inter-especies exhibieran mayor independencia evolutiva, consecuencia de una mayor probabilidad de ocurrencia de mutaciones, recombinaciones, selección o deriva genética, sustentando así la ocurrencia de una mayor estructuración genética entre poblaciones, un componente importante de la cladogenesis (Martin & McKay 2004). Por otra parte, el aumento de la diversidad

genética asociado con una mayor subdivisión poblacional hacia los trópicos, insinúa que las especies en sí, deben mostrar mayor estabilidad y un gran tamaño efectivo poblacional a largo plazo (Wakeley 2000). En este sentido, la tendencia latitudinal en las características genéticas y demográficas de varias especies, sugiere que las poblaciones hacia los trópicos han permanecido más estables durante los eventos históricos de cambio climático, o solo han experimentado pequeños cambios demográficos (Lessa et al. 2003). Contrariamente, la reducida diversidad y divergencia genética en especies de latitudes frías (Larmuseau et al. 2009, Cassone & Boulding 2006, Crandall et al. 2008), sugiere que las poblaciones fueron fuertemente afectadas por cambios climáticos como las glaciaciones del pleistoceno tardío (Hewitt 1996, Lomolino et al. 2010). Los ciclos glaciales cubrieron con hielo varias regiones en latitudes altas de los continentes, lo cual provocó la retracción o pérdida total del hábitat de variadas especies (Rising & Avise 1993, Hewitt 1996, Merilä et al. 1997, Milá et al. 2000). Esta reducción o pérdida de hábitat, fue la causa de las mayores extinciones locales y subsecuentes recolonizaciones post-glaciales (Marko et al. 2010), lo que en consecuencia implicó una fuerte reducción en la divergencia o estructuración genética entre poblaciones (Maruyama & Kimura 1980, Whitlock 1992). Esto, a la vez significó que las especies sufrieron una fuerte reducción en la diversidad genética y en el tamaño efectivo (N_e) de sus poblaciones, producto de los fuertes cuellos de botellas que subsiguientemente mostraron señales de expansión demográfica (Avise et al. 1988, Lessa et al. 2003, Hughes & Hughes 2007). Por ejemplo, las poblaciones del ave Paseriformes *Oporornis tolmiei*, exhiben mayor variabilidad en la diversidad genética en las zonas neotropicales que las del neártico

(Milá et al. 2000). El patrón de mayor estructuración genética intraespecífica en latitudes bajas, también se ha generalizado en muchos taxa de vertebrados, incluyendo marinos (Martin & McKay 2004). A nivel interespecífico, las especies de chitones que habitan en latitudes bajas se inclinarían a tener poblaciones más aisladas genéticamente, al contrario de las especies que se encuentran en latitudes altas (Kelly & Eernisse 2007). En definitiva, los patrones de diferenciación geográfica a nivel molecular pueden revelar valiosa información sobre los subyacentes procesos evolutivos y eventos demográficos del pasado. Especies con similares características ecológicas y de historia de vida, podrían mostrar distintos patrones de diversidad y estructura genética poblacional, producto del efecto diferencial de los factores contemporáneos e históricos a lo largo de sus rangos geográficos en el caso que se distribuyan de manera diferencial en un gradiente latitudinal.

1.1.4 Sistema de estudio en Sudamérica.

Sudamérica y particularmente su borde costero, ha enfrentado a lo largo de su historia varios eventos geológicos, oceanográficos y de cambio climático global, produciendo reiteradas fluctuaciones de su biota marina, dando origen a los actuales patrones biogeográficos (Van den Hoek 1984, Camus 2001, Tsuchi 2002, Thiel et al. 2007, Ibáñez et al. 2009, Cárdenas 2009a). Los litorales de Sudamérica han sido divididos en siete provincias biogeográficas marinas (Spalding et al. 2007), de las cuales, dos están consideradas en este estudio. Desde el sur de Chile (~45°S, donde la corriente Deriva del Oeste intersecta con Sudamérica) hasta el norte del Perú y Ecuador (~4°S), se denomina

la Provincia biogeográfica Templada del Pacífico Sureste (Spalding et al. 2007) y se caracteriza principalmente por una alta continuidad geográfica (sin mayores quiebres), y por la presencia del sistema de corrientes de Humboldt (SCH) (Camus 2001, Thiel et al. 2007, Montecino & Lange 2009). Las principales características oceanográficas del SCH son un flujo de aguas superficiales de origen sub-antártico hacia el norte, y un fuerte sistema de surgencias de aguas frías sub-superficiales (Thiel et al. 2007, Chavez et al. 2008, Montecino & Lange 2009). Estas aguas ricas en nutrientes, generan una alta productividad biológica convirtiendo a este ecosistema marino en uno de los más productivos (Thiel et al. 2007, Chavez et al. 2008, Echevin et al. 2008, Montecino & Lange 2009). Producto de las surgencias y de la pobre oxigenación de las capas sub-superficiales, se produce una Zona de Mínimo Oxígeno (ZMO) a poca profundidad (Thiel et al. 2007, Echevin et al. 2008). Esta ZMO es especialmente intensa en la parte norte del SCH, afectando la distribución batimétrica de varias especies marinas (Montecino et al. 2005, Thiel et al. 2007, Chavez et al. 2008, Montecino & Lange 2009). En el SCH, muchas especies, incluyendo los principales recursos marinos de la región (e.g. peces, invertebrados y algas), han mostrado cambios periódicos asociados con eventos a diferentes escalas temporales, como los ciclos del Niño - La Niña (ENSO) y la Oscilación-Decadal del Pacífico (Castilla & Camus 1992, Anderson & Rodhouse 2001, Cubillos & Arcos 2002, Chavez et al. 2003, Waluda et al. 2006, Thiel et al. 2007, Chavez et al. 2008). Estos cambios, asociados a las variaciones de la temperatura superficial del mar, a la frecuencia e intensidad de las surgencias y por ende de la productividad primaria, han influido grandemente en el patrón demográfico de las

especies que son parte de este ecosistema marino (Cubillos & Arcos 2002, Chavez et al. 2003, Thiel et al. 2007, Chavez et al. 2008).

El extremo sur de Sudamérica, constituye la unidad biogeográfica marina de la Provincia Magallánica (Boschi & Gavio 2005, Spalding et al. 2007, Balech & Ehrlich 2008). Esta provincia se caracteriza por una biota de carácter frío, de origen Terciario (Camus 2001). Su fauna sub-antártica es muy similar por ambas costas del extremo austral (Boschi & Gavio 2005, Balech & Ehrlich 2008). El lado del Pacífico de esta Provincia, que va desde el norte de Chiloé (~42°S) hasta el Cabo de Hornos (~56° S), se describe como un gran sistema insular (el archipiélago chileno) caracterizado por numerosos golfos, fiordos y canales, que lo hacen un paisaje complejo, producto de los procesos tectónicos y períodos de glaciación (Camus 2001). En este rango latitudinal fluye la corriente de Cabo de Hornos hacia el sur. Esta corriente bordea todo el extremo sur del archipiélago chileno y continúa por el Paso Drake hacia el este, hasta unirse a la Corriente de Falkland en el Atlántico (Camus 2001). La discontinuidad geomorfológica de esta zona (desde los 41° 30'S hacia el sur), produce un elevado aporte de agua dulce en las masas de aguas costeras, promoviendo las condiciones estuarinas con alta pluviosidad, gran amplitud mareal, baja temperatura y disminución de la salinidad (Camus 2001, Ibáñez et al. 2009). Estas condiciones hidrológicas generarían un sistema semi-aislado en los fiordos, que a la vez podría afectar la continuidad del rango de distribución de las especies en esa zona (Antezana 1999). La costa Atlántica de la Provincia Magallánica, que continúa desde Cabo de Hornos (~56° S) hasta alcanzar su límite norte a la altura de la Península de Valdés (~42° S), se describe como una zona

homogénea desde el punto de vista hidrográfico, con un importante flujo de aguas sub-antárticas (Balech & Ehrlich 2008). El flujo de aguas sub-antárticas a lo largo del talud hacia el norte, resultaría de una mezcla de aguas desde de la Corriente de Falkland, de aguas costeras menos salinas provenientes del Estrecho de Magallanes, y de agua dulce desde los canales fueguinos que proviene de los ríos Patagónicos (Balech & Ehrlich 2008). Se sugiere que la Corriente de Falkland favorecería la prolongación de la fauna Magallánica o sub-antártica sobre la plataforma hasta los 36° S de latitud (Balech & Ehrlich 2008). Sin embargo, también se ha propuesto que organismos con larva plantónica que tienen poblaciones en la Patagonia media, no podrían mantenerse si la corriente que fluye en la plataforma tuviese solo un movimiento constante hacia el norte, sin restitución hacia el sur (Balech & Ehrlich 2008).

En el Pleistoceno la tierra experimentó reiterados ciclos glaciales-interglaciales, generando masas de hielo de hasta 2 a 3 km de espesor que pudo alcanzar una extensión máxima de un tercio de la superficie de la tierra (Lomolino et al. 2010). Muchos estudios se han enfocado en los efectos del último ciclo glacial sobre la flora y fauna, principalmente en el Hemisferio Norte, donde se concentró el 80 % de la capa de hielo (Lomolino et al. 2010). En el Hemisferio Sur la mayoría de los continentes fueron poco afectados debido a su posición geográfica. Los efectos más relevantes en cuanto a la formación de un manto de hielo fueron en la totalidad del continente Antártico y, en Sudamérica, la Patagonia occidental. En otras partes, la formación de hielo se concentró en algunos sectores de altas elevaciones como el plató central de Tasmania, los Alpes de Nueva Zelanda y la Cordillera de los Andes en Sudamérica (Lomolino et al. 2010). A

excepción de la Antártica, la Patagonia fue entonces la única región del hemisferio sur que fue cubierta por una gran extensión de manto de hielo durante el último período glacial del Pleistoceno (Rabassa 2005, Rabassa & Clapperton 1990, Rabassa 2008, Kaplan et al. 2008, Massafiero et al. 2009). De hecho, la transición entre el último máximo glacial (UMG) y el interglacial contemporáneo, corresponde a una de las mayores manifestaciones de cambio climático que permanece bien preservado en los registros geológicos (Nagai et al. 2010). Este periodo se caracterizó por cambios significativos en la fisonomía geográfica y en las condiciones océano-atmosféricas (Hulton et al 2002, Kim et al. 2002, Hebbeln et al. 2002, McCulloch et al. 2000, 2005a,b, Kaiser & Lamy 2008). Durante el UMG, la parte occidental de la Patagonia, era cubierta por un manto de hielo, desde la Cordillera de los Andes hasta el mar, entre los 43° S y 56° S, (Fig. 1.3) (Clapperton 1993, McCulloch et al. 2000, 2005a,b, Hulton et al 2002). Una cronología local en la Patagonia reveló una prolongada migración de masas de aires fríos hacia el norte durante este periodo, vinculado al desplazamiento de la Zona frontal Antártica (Hulton et al. 2002, Kaplan et al. 2008). Estos fenómenos provocaron un enfriamiento atmosférico que se mantuvo prácticamente en fase con los cambios en la condiciones oceánicas en el sur, forjando la formación de hielo marino y disminuyendo la temperatura en 6°C de las aguas superficiales del mar (Kaplan et al. 2008). Estos cambios fueron acompañados por un descenso del nivel del mar superior a 120 m en relación a lo actual (Rohling et al. 1998, Hulton et al. 2002). Por la costa del Pacífico oriental, frente a Chile Central y Perú, se evidenciaron los niveles más altos de productividad de los últimos 33000 años (Hebbeln et al. 2002, Kaiser et al. 2005). Esta

mayor fuente de nutrientes fue supuestamente impulsado por el desplazamiento hacia el norte de la corriente circumpolar antártica (CCA), y de los vientos del oeste, causando una disminución de la temperatura superficial del mar (TSM) y la salinidad hacia latitudes más al norte (Kaiser et al. 2005, Hebbeln et al. 2002). Por la costa sureste de Sudamérica, que pertenece a la provincia zoogeográfica de Magallanes (Scarabino 1977, Briggs 1995), no hay registros paleoceanográfico y paleoclimáticos detallados sobre el efecto del último glacial. Sin embargo, ensambles de moluscos fósiles no muestran cambios substanciales de la fauna marina a lo largo de la costa de la Patagonia central desde el Pleistoceno tardío (Aguirre 2003, Aguirre et al. 2005), incluso refuerzan un patrón paleoceanográfico moderno dominado por la Corriente fría de Falkland, donde las condiciones oceanográficas actuales se mantuvieron desde el pleistoceno, y desde entonces perdurando la Provincia Malacológica de Magallanes (Aguirre 2003).

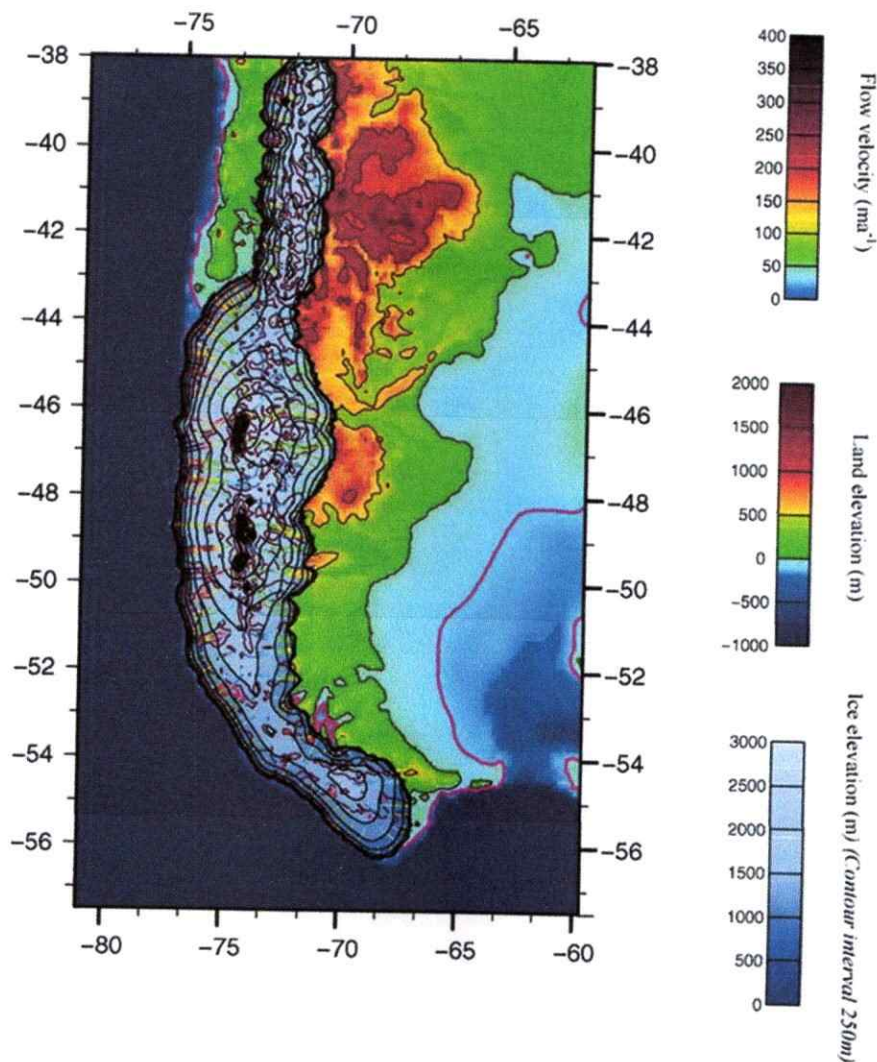


Figura 1.3.- Extensión y altitud sobre el nivel del mar del Último Máximo Glacial (UMG) en Patagonia (modificado de Hulton et al. 2002)

1.1.5 Unidad de estudio. Dos especies de pulpos de la familia Octopodidae.

Entre los cefalópodos, uno de los grupos más conocidos son los pulpos bentónicos de la familia Octopodidae. Esta familia contiene sobre 200 especies (Norman & Hochberg 2005a), que varían en tamaño desde especies pigmeas que en estado maduro pesan < 1

gr. (e.g. *Octopus wolfi*) hasta pulpos gigantes que exceden los 100 kg (e.g. *Enteroctopus dofleini*) (Norman 2000). Los miembros de esta familia se pueden encontrar en todos los océanos del planeta, desde arrecifes tropicales hasta latitudes polares, y hasta profundidades superiores a los 5000 m (Norman 2000). Tienen un ciclo de vida que puede variar desde 6 meses hasta 5 años, con algunas especies en que son excepcionalmente grandes y longevas (Boyle & Rodhouse 2005, Villanueva & Norman 2008). La mayoría de los pulpos son considerados semélparos monocíclicos. Sin embargo, persisten incertidumbres en torno a la diversidad de modos de reproducción en este grupo e incluso algunos han sido calificados como iteróparos (Villanueva & Norman 2008). Todos muestran una alta plasticidad en respuesta a las variaciones en las condiciones ambientales, en rasgos como el tiempo de desarrollo, la tasa de crecimiento, el tiempo de cuidado parental y el modo de desove, (Boyle & Rodhouse 2005). Los pulpos tienen una tasa de crecimiento muy alta, producto de una elevada tasa de alimentación y una conversión excepcionalmente eficiente de los alimentos en crecimiento somático (Fig. 1.4, Boyle & Rodhouse 2005). Estas capacidades sostendrían el rápido crecimiento en biomasa de las poblaciones de pulpos, permitiendo a algunas especies alcanzar un tamaño corporal comparable a los peces más grandes (Boyle & Rodhouse 2005).

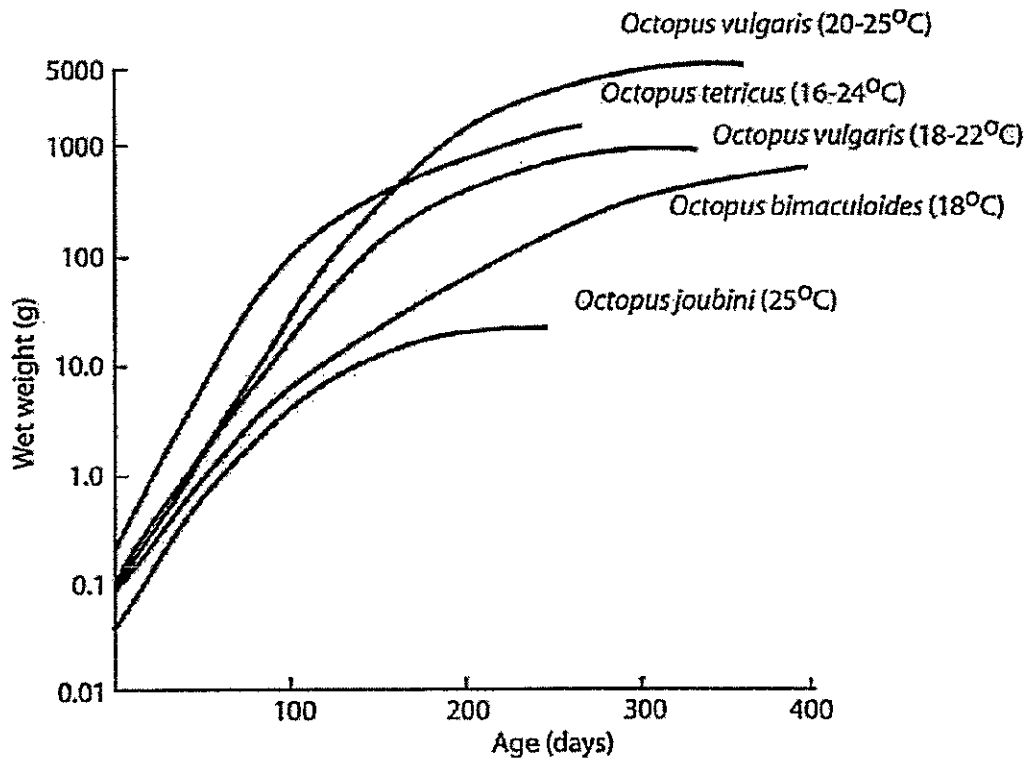


Figura 1.4.- Curva de crecimiento de pulpos en distintos rango de temperatura (tomado de Boyle & Rodhouse 2005).

Los pulpos muestran dos tipos de estrategia de historia de vida asociadas a la reproducción. La primera estrategia se caracteriza por la producción de relativamente pocos y grandes huevos que permiten la eclosión de crías bien desarrolladas. Las crías se asemejan a los adultos y adoptan rápidamente los hábitos bentónicos de sus padres (Villanueva & Norman 2008, Fig. 1.5 C, D). La segunda estrategia corresponde a la producción de muchos huevos pequeños, de los cuales eclosionan crías de pequeño tamaño que nadan libremente en la columna de agua y se alimentan de plancton

(Villanueva & Norman 2008 Fig. 1.5 A, B). En contraste con la primera estrategia reproductiva, las crías de la segunda ocupan un nicho ecológico distinto al de los adultos (Villanueva & Norman 2008). A pesar de un marcado contraste en la morfología y ecología entre el estado planctónico y el adulto, la ausencia de una metamorfosis condujo a proponer el término de “paralarva” (Young & Harman 1988). Las especies con huevos pequeños producen juveniles planctónico con más potencial de dispersión que los juveniles bentónicos que eclosionan desde grandes huevos (Villanueva 1995, Villanueva & Norman 2008). Las paralarvas planctónicas de los pulpos tienen en promedio una duración del período de incubación de la masa de huevos de alrededor de 2 días a 11 semanas, y un rango de duración de la fase planctónica entre 3 semanas y 6 meses, dependiendo de la especie y la temperatura (Villanueva & Norman 2008).

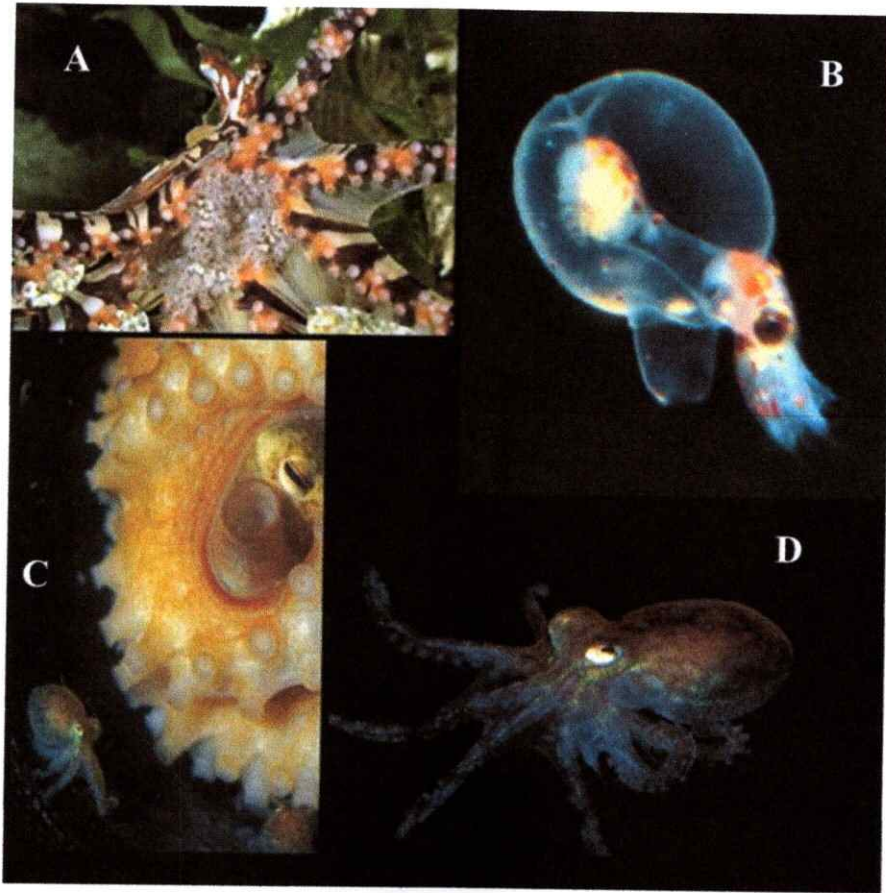


Figura 1.5.- Eclósión planctónica y bentónica en Octopodidae. Hembra adulta *Wunderpus photogenicus* de 26 mm ML en el laboratorio, transportando cadenas de huevos con embriones en desarrollo dentro de los brazos (A) y eclósión (Longitud total aprox. 3.5 mm) desde la misma masa de huevos (B). Nótese la cavidad del manto bien desarrollada. Hembra de *Octopus berrima* en el momento de la eclósión en el laboratorio con una cría juvenil bentónica (Longitud total aprox. 20 mm) en primer plano (C) y dentro de los 10 min de eclósión (D) (modificado de Villanueva & Norman 2008).

Dentro de los cefalópodos, los pulpos han sido menos estudiados en términos de su diversidad genética. La mayoría de los estudios con herramientas moleculares han sido para realizar reconstrucciones filogenéticas en algunos géneros de pulpos (De Los Angeles Barriga-Sosa et al. 1995, Söller et al. 2000, Warnke et al. 2004, Guzik et al. 2005, Allcock et al. 2007, Strugnell et al. 2008, 2009). Al nivel poblacional, en pocas

especies se han realizado estudios filogeográficos, considerando que es un grupo tan diverso en número y lugares en que habitan. Algunos de ellos muestran evidencias de estructuración espacial, aún en especies con distribución cosmopolita que tienen una larva planctónica (e. g. *Octopus vulgaris*, *O. cyanea* y *O. maorum* (Guerra et al. 2010, Villanueva & Norman 2008). Distintos modelos se han planteado para explicar el patrón de estructuración genética, incluso en la misma especie en diferentes regiones de estudio (con distintos marcadores). Entre ellos, un modelo de islas se ha propuesto para la estructuración genética de *Octopus vulgaris* en el mar mediterráneo (Maltagliati et al. 2002), mientras que un modelo de aislamiento por distancia se ha formulado para interpretar el patrón de la diversidad genética de esta misma especie en la Península Ibérica (Cabranes et al. 2008). Las causas de los patrones de estructuración genética en pulpos pueden ser diversos debido a que son animales sensibles a los cambios climáticos y oceanográficos (Villanueva & Norman 2008). De hecho, cañones submarinos y corrientes profundas son propuestos como barreras al flujo genético en varias especies del género *Pareledone* en Antártica (Allcock et al. 1997, 2011), como también corrientes marinas entre Australia y Nueva Zelanda que afectaría la dispersión de *Octopus maorum* (Doubleday et al. 2009). En general los pulpos de la familia Octopodidae, a pesar de ser un grupo ampliamente distribuidos a nivel global, y ser tan heterogéneo en cuanto a rasgos de historia de vida, aún no han sido utilizados como modelo de estudio para responder preguntas sobre patrones filogeográficos a gran escala, incluso latitudinales, donde los pulpos costeros marcan una tendencia en diversidad de especies (Rosa et al. 2008).

En este estudio, las especies modelos son dos pulpos de la familia Octopodidae, que tienen similares características ecológicas y de historia de vida. Entre ellas, son pulpos costeros habitantes del submareal, maduran sexualmente a un tamaño corporal semejante (alrededor de un kilogramo) y viven alrededor de dos años. Ambos pulpos tienen una fase de paralarva planctotrófica que puede potencialmente dispersarse a grandes distancias. Sin embargo son habitantes de distintas latitudes de las costas de Sudamérica. La especie *Octopus mimus* Gould, 1852, vive en zonas subtropicales y tropicales de la Provincia biogeográfica Templada del Pacífico Suroriental, entre los 3° y 30° de latitud sur (Defeo & Castilla 1998, Cardoso et al. 2004, Fig. 1.6 a). Mientras, la especie *Enteroctopus megalocyahtus* (Gould, 1852), se encuentra en las aguas frías de la provincia biogeográfica Magallánica, entre los 42° S del Pacífico hasta los 42° S del Atlántico (Rocha 1997, Ré 1998, Figura 1.6 b). Las características biológicas y ecológicas de ambas especies de pulpos, las convierten en unidades de estudio con condiciones adecuadas para evaluar el efecto diferencial de las condiciones geográficas, oceanográficas y climáticas históricas y contemporáneas, sobre el patrón de distribución de la diversidad genética en un gradiente latitudinal a través de Sudamérica.

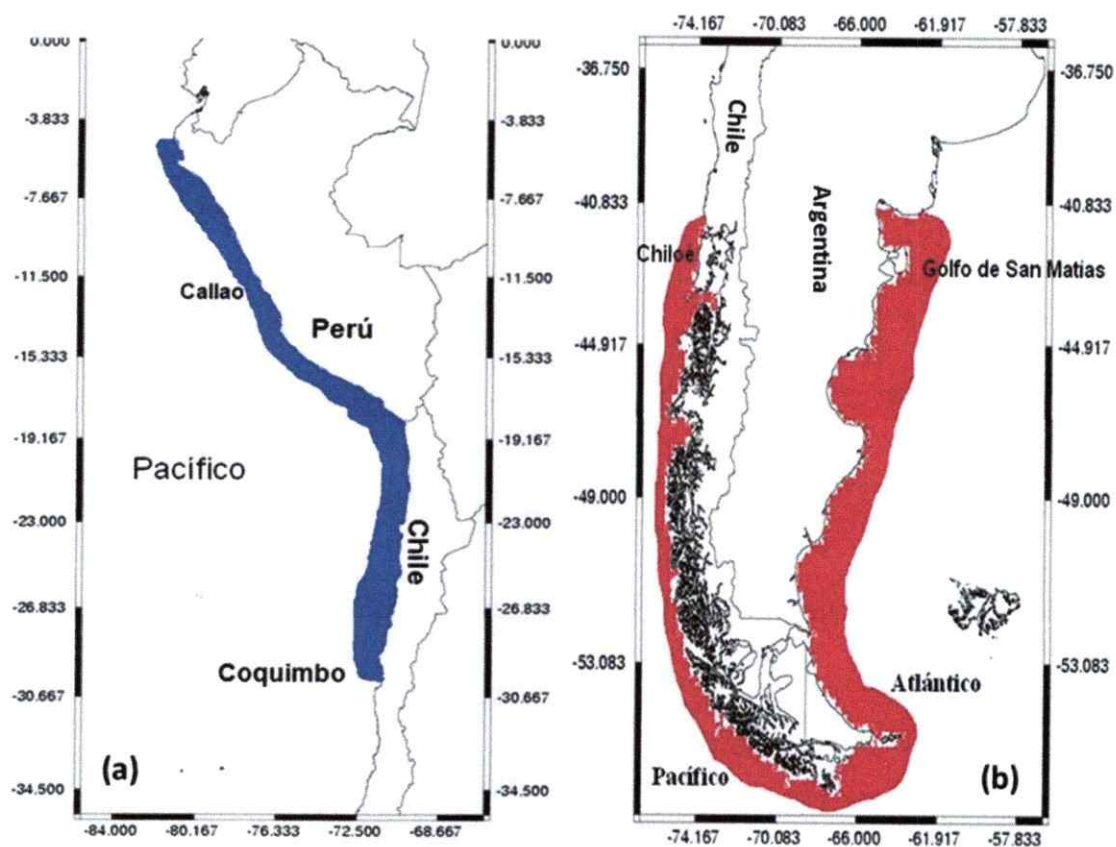


Figura 1.6.- Distribución geográfica del pulpo *Octopus mimus* (a) y *Enteroctopus megalocyathus* (b) en la costa occidental y extremo sur de Sudamérica.

1.1.6 Exposición de objetivos e hipótesis de la unidad de estudio

Objetivo general

Comparar los patrones de diversidad genética e historia demográfica de *E. megalocyatus* y *O. mimus* en relación con los eventos climáticos y oceanográficos contemporáneos e históricos que impactaron de manera distinta el rango de distribución de ambas especie.

Objetivos específicos:

- I.- Determinar la diversidad y estructuración genética de *Octopus mimus* y *Enteroctopus megalocyatus* a lo largo de sus rangos de distribución, a través del marcador molecular Citocromo Oxidasa III.
- II.- Inferir la historia demográfica de ambas especies, a partir de los patrones de diversidad genética del gen Citocromo Oxidasa III.
- III.- Determinar si ambas especies de pulpos, muestran un patrón de variación latitudinal en la diversidad y en la estructuración genética.

Hipótesis Generales

Escenario contemporáneo:

La Provincia biogeográfica Magallánica es caracterizada por una geomorfología particular y diferente por el Pacífico y el Atlántico, generando condiciones hidrográficas con un elevado aporte de agua dulce sobre las masas de aguas costeras, promoviendo condiciones estuarinas semi-aisladas en los fiordos del Pacífico, y un flujo de aguas costeras menos salinas consecuencia de la confluencia de los ríos sureños sobre el mar por el Atlántico. En contraste, la provincia Templada del Pacífico Sureste es caracterizada por una configuración geofísica continua asociada a un flujo estable de masas de aguas subantárticas del SCH, que eventualmente son interrumpidas por el flujo de masas de aguas cálidas de origen subtropical.

Hipótesis 1:

Especies con características ecológicas y atributos de historia de vida similares, pero habitantes de las distintas provincias biogeográficas, exhibirían patrones diferentes de conectividad, donde las especies de la Provincia Magallánica evidencien bajos niveles de conectividad, y las especies de la provincia Templada del Pacífico Sureste muestren altos niveles de conectividad.

Predicción:

El pulpo *E. megalocyathus* mostrará altos niveles de estructuración genética en el extremo sur de Sudamérica. En contraste, el pulpo *O. mimus* mostrará ausencia o bajos niveles de estructuración genética a lo largo de su rango geográfico en la costa suroeste de Sudamérica.

Escenario histórico:

La Provincia biogeográfica Magallánica fue afectada directamente por la formación de hielo en la patagonia occidental en el último ciclo glacial del Pleistoceno, mientras, la Provincia Templada del Pacífico sureste fue afectada solo por cambios océano-atmosféricos impulsados por este período glacial.

Hipótesis 2:

Especies habitantes de la Provincia Magallánica habrían experimentado una historia demográfica marcada por extinciones locales (área cubierta con hielo), con reducción del tamaño efectivo poblacional, y posterior expansión demográfica y recolonización vía efecto fundador post-glacial. En contraste, las especies habitantes de la provincia Templada del Pacífico se caracterizarían por una historia demográfica de mayor estabilidad, sin grandes cambios en sus tamaños efectivos poblacionales en el tiempo.

Predicciones:

a.- El pulpo *E. megalocyathus* mostrará una baja diversidad genética y en consecuencia un bajo tamaño efectivo poblacional en el extremo sur de Sudamérica. Además, esta diversidad mostraría señales de expansión demográfica posterior al último período glacial.

b.- En contraste, el pulpo *O. mimus* mostrará una alta diversidad genética y un tamaño efectivo poblacional estable en el tiempo, en la costa oeste de Sudamérica.

1.1.7 Literatura

- Aguirre ML (2003) Late Pleistocene and Holocene palaeoenvironments in Golfo San Jorge, Patagonia: molluscan evidence. *Marine Geology*, 194: 3–30.
- Aguirre ML, Y Negro Sirch, S Richiano, (2005) Late Quaternary Molluscan Assemblages from Bahía Bustamante coastal area (Patagonia, Argentina): Palaeoecology and Palaeoenvironments. *Journal of South American Earth Sciences* 20, 13–32.
- Allcock AL, AS Brierley, JP Thorpe & PG Rodhouse (1997) Restricted gene flow and evolutionary divergence between geographically separated populations of the Antarctic octopus *Pareledone turqueti*. *Marine Biology*, 129: 97-102.
- Allcock AL, JM Strugnell, P Prodöhl, U Piatkowski, & M Vecchione (2007) A new species of *Pareledone* (Cephalopoda: Octopodidae) from Antarctic Peninsula waters. *Polar Biology*, 30: 883–893.
- Allcock L, I Barratt, M Eléaume, K Linse, MD Norman, PJ Smith, D Steinke, DW Stevens & JM Strugnell (2011) Cryptic speciation and the circumpolarity debate: A case study on endemic Southern Ocean octopuses using the COI barcode of life. *Deep-Sea Research II* 58 (2011) 242–249.
- Allen AP, JF Gillooly, VM Savage & JH Brown (2006) National Kinetic effects of temperature on rates of genetic divergence and speciation. *PNAS*, 103 (24): 9130–9135.
- Almany GR, ML Berumen, SR Thorrold, S Planes & GP Jones (2007) Local replenishment of coral reef fish populations in a marine reserve. *Science* 316:742–

47.

- Anderson CIH & P Rodhouse (2001) Life cycles, oceanography and variability: Lommatrephid squid in variable oceanographic environments. *Fisheries Research* 54: 133-143.
- Antezana T (1999) Hydrographic features of Magellan and Fuegian inland passages and adjacent subantarctic waters. *Scientia Marina*, 63 (1): 23-34.
- Ayise JC (1998) *The Genetic Gods: Evolution and Belief in Human Affairs*. Harvard Univ. Press, Cambridge, MA. 279 pp.
- Ayise JC (2000) *Phylogeography*. Harvard University Press, Massachusetts, pp446.
- Ayre DJ, TE Minchinton, C Perrin (2009) Does life history predict past and current connectivity for rocky intertidal invertebrates across a marine biogeographic barrier? *Molecular Ecology*. 18:1887-903.
- Balech E & MD Ehrlich (2008) Esquema biogeográfico del Mar Argentino. *Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero*, 19: 45-75.
- Barber PH, SR Palumbi, MV Erdmann & MK Moosa (2002) Sharp genetic breaks among populations of *Haptosquilla pulchella* (Stomatopoda) indicate limits to larval transport: Patterns, causes, and consequences. *Molecular Ecology*, 11(4): 659-674.
- Bay LK, MJ Caley & RH Crozier (2008) Meta-population structure in a coral reef fish demonstrated by genetic data on patterns of migration, extinction and re-colonization. *BMC Evolutionary Biology* 8:248.
- Bohonak AJ (1999) Dispersal, gene flow and population structure. *The Quarterly*

Review of Biology, 74 (1): 21-45.

Boschi EE & MA Gavio (2005) On the distribution of decapod crustaceans from the Magellan Biogeographic Province and the Antarctic Region. *Scientia Marina*, 69 (2): 195-200.

Botsford LW, A Hastings & SD Gaines (2001) Dependence of sustainability on the configuration of marine reserves and larval dispersal distance. *Ecology Letters* 4:144-150.

Boyle PR & PG Rodhouse (2005) *Cephalopods: ecology and fisheries*. Blackwell Science Ltd, Oxford.

Brawn JD, TM Collins, M Medina & E Bermingham (1996) Associations between physical isolation and geographical variation within three species of Neotropical birds. *Molecular Ecology*, (5): 33-46.

Briggs JC (1995) *Global Biogeography. Developments in Palaeontology and Stratigraphy* 14. Amsterdam: Elsevier.

Buonaccorsi V.P., C.A. Kimbrell, E.A. Lynn & R.D. Vetter 2002. Population structure of copper rockfish (*Sebastes caurinus*) reflects postglacial colonization and contemporary patterns of larval dispersal. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59, 1374-1384.

Buonaccorsi VP, M Westerman, J Stannard, C Kimbrell, E Lynn & RD Vetter (2004) Molecular genetic structure suggests limited larval dispersal within grass rockfish *Sebastes rastrelliger*. *Marine Biology* 145:779-788.

Burton RS & BN Lee (1994) Nuclear and mitochondrial gene genealogies and allozyme

- polymorphism across a major phylogeographic break in the marine copepod *Tigriopus californicus*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 91:5197-5201.
- Burton RS & MW Feldman (1981) Population genetics of *Tigriopus californicus*. II. Differentiation among neighboring populations. Evolution, 35:1192-1205.
- Cabranes C, P Fernandez-Rueda & J Martínez (2008) Genetic structure of *Octopus vulgaris* around the Iberian Peninsula and Canary Islands as indicated by microsatellite DNA variation. – ICES Journal of Marine Science, 65: 12–16.
- Camus P (2001) Biogeografía marina de Chile continental. Revista Chilena de Historia Natural 74:587-617.
- Cárdenas L, AX Silva, A Magoulas, J Cabezas, E Poulin E, FP Ojeda (2009b) Genetic population structure in the Chilean jack mackerel, *Trachurus murphyi* (Nichols) across the South-eastern Pacific Ocean. Fisheries Research 100:109-115.
- Cárdenas L, JC Castilla, F Viard (2009a) A phylogeographical analysis across three biogeographical provinces of the south-eastern Pacific: the case of the marine gastropod *Concholepas concholepas*. Journal Biogeography, 36: 969-981.
- Cardoso F, P Villegas & C Estrella (2004) Observaciones sobre la biología de *Octopus mimus* (Cephalopoda: Octopoda) en la costa peruana. Revista Peruana de biología, 11(1): 45-50.
- Cassone BJ & EG Boulding (2006) Genetic structure and phylogeography of the lined shore crab, *Pachygrapsus crassipes*, along the northeastern and western Pacific Coasts. Marine Biology, 149: 213–226.

- Castilla JC & PA Camus (1992) The Humboldt-El Niño scenario: Coastal benthic resources and anthropogenic influences, with particular reference to the 1982/83 ENSO. *South African Journal of Marine Science* 12:111-19.
- Chavez F, A Bertrand, R Guevara-Carrasco, P Soler & j Csirke (2008) The northern Humboldt Current System: Brief history, present status and a view towards the future. *Progress in Oceanography*, 79: 95-105.
- Chavez FP, J Ryan, SE Lluch-Cota & M Ñiquen (2003) From anchovies to sardines and back: multidecadal change in the Pacific Ocean. *Science*, 299:217-221.
- Chek AA, JD Austin & SC Loughheed (2003) Why is there a tropical–temperate disparity in the genetic diversity and taxonomy of species?. *Evolutionary Ecology Research*, 2003 (5): 69–77.
- Chironomid and pollen evidence for climate fluctuations during the Last Glacial Termination in NW Patagonia. *Quaternary Science Reviews*, 28, 517–525.
- Clapperton C (1993). *Quaternary Geology and Geomorphology of South America* elsevier.
- Cowen RK & S Sponaugle (2009) Larval Dispersal and Marine Population Connectivity. *Annual Review Marine Science*, 1:443–66.
- Cowen RK, CB Paris, & A Srinivasan (2006) Scaling of connectivity in marine populations. *Science* 311:522–527.
- Cowen RK, Gawarkiewicz G, Pineda J, Thorrold SR, Werner FE (2007) Population connectivity in marine systems. An Overview. *Oceanography* 20(3): 14–21.
- Cowen RK, KMM Lwiza, S Sponaugle, CB Paris & Olson DB (2000) Connectivity of

marine populations: open or closed? *Science* 287:857–59

Crandall ED, MA Frey, RK Grosberg & PH Barber (2008) Contrasting demographic history and phylogeographical patterns in two Indo-Pacific gastropods. *Molecular Ecology* (2008) 17, 611–626.

Cubillos LA & DF Arcos (2002) Recruitment of common sardine (*Strangomera bentincki*) and anchovy (*Engraulis ringens*) off central-south Chile in the 1990s and the impact of the 1997–1998 El Niño. *Aquatic Living Resources* 15:87–94

Dawson MN, RK Grosberg, YE Stuart & E Sanford (2010) Population genetic analysis of a recent range expansion: mechanisms regulating the poleward range limit in the volcano barnacle *Tetraclita rubescens*. *Molecular Ecology*, 19: 1585–1605.

De Los Angeles Barriga Sosa I; K Beckenbach, B Hartwick & MJ Smith (1995) The molecular phylogeny of five eastern north Pacific *Octopus* species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 4: 163–174.

Defeo O, Castilla JC (1998) Harvesting and economic patterns in the artisanal *Octopus mimus* (Cephalopoda) fishery in a northern Chile cove. *Fisheries Research* 38:121–130.

Doubleday ZA, JM Semmens, AJ Smolenski & PW Shaw (2009) Microsatellite DNA markers and morphometrics reveal a complex population structure in a merobenthic octopus species (*Octopus maorum*) in south-east Australia and New Zealand. *Marine Biology*, 156:1183–1192.

Echevin V, O Amount, J Ledesma & G Flores (2008) The seasonal cycle of surface chlorophyll in the Peruvian upwelling system: A modeling study. *Progress in*

Oceanography, 79: 167-176.

Edwards M (2004) Estimating scale-dependency in disturbance impacts: El Niños and giant kelp forests in the northeast Pacific. *Oecologia* 138(3):436–447.

Ellien C, E Thiébaud, AS Barnay, JC Dauvin, F Gentil & JC Salomon (2000) The influence of variability in larval dispersal on the dynamics of a marine metapopulation in the eastern Channel. *Oceanologica Acta* 23:423–442.

Eo SH, JP Wares & JP Carroll (2008) Population divergence in plant species reflects latitudinal biodiversity gradients. *Biology Letter*, (4): 382–384.

Faugeron S, Martínez EA, Correa JA & Billot C (2005) Long-term copper mine waste disposal in northern Chile associated with gene flow disruption of the intertidal kelp *Lessonia nigrescens*. *Marine Ecology Progress Series*, 288: 129–140.

Freeland JR (2005) *Molecular Ecology*. John Wiley & Sons, Chichester.

Gaines SD, B Gaylord, LR Gerber LR, A Hasting & BP Kinlan (2007) Connecting places. The ecological consequences of dispersal in the sea. *Oceanography*, 20: 3, 90-99.

Galindo HM, AS Pfeiffer-Herbert, MA MCManus, Y chao, F Chai & SR Palumbi (2010) Seascape genetics along a steep cline: using genetic patterns to test predictions of marine larval dispersal. *Molecular Ecology*, 19: 3692–3707.

Gallego A, EW North, P Petitgas (2007). Introduction: status and future of modeling physical-biological interactions during the early life of fishes. *Marine Ecology Progress Serie*, 347:122–26.

Galleguillos R, L Troncoso, C Oyarzún, M Astorga, & M Peñaloza (2000) Genetic

- differentiation in Chilean hake *Merluccius gayi gayi* (Pisces: Merlucciidae). *Hydrobiologia*, 420: 49–54.
- Gawarkiewicz G, Monismith S & J Largier (2007) Observing larval transport processes affecting population connectivity: Progress and challenges. *Oceanography*, 20(3): 40–53.
- Gold JR, CP Burridge & TF Turner (2001) A modified stepping-stone model of population structure in red drum, *Sciaenops ocellatus* (Sciaenidae), from the northern Gulf of Mexico. *Genetica*, 111: 305–317.
- Gomez-Uchida D, D Weetman, L Hauser, R Galleguillos & M Retamal (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: 486–494.
- Grosberg RK & CW Cunningham (2001) Genetic structure in the sea: from populations to communities. In: M.D. Bertness, S. Gaines, & M.E. Hay (eds.). *Marine Community Ecology*. Sinauer Associates, Sunderland, MA. pp 61-84.
- Guerra A, A Roura, AF González, S Pascual, Y Cherel & M Pérez-Losada (2010) Morphological and genetic evidence that *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 inhabits Amsterdam and Saint Paul Islands (southern Indian Ocean). *Ices Journal of Marine Science* 67(7):1401-1407.
- Guzik MT, MD Norman & RH Crozier (2005) Molecular phylogeny of the benthic shallow-water octopuses (Cephalopoda: Octopodinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37: 235–248.

- Gwendolyn KD, DJ Marshall & C Riginos (2010) Latitudinal variability in spatial genetic structure in the invasive ascidian, *Styela plicata* Mar Biol (2010) 157:1955–1965.
- Hanski I & ME Gilpin (1997) Metapopulation Biology: Ecology, Genetics, and Evolution, Academic, San Diego.
- Hanski, I. & Gyllenberg, M. (1993) Two general metapopulation models and the core-satellite species hypothesis. American Naturalist, 142: 17– 41.
- Hebbeln D, M Marchant & G Wefer (2002) Paleoproductivity in the southern Peru–Chile current through the last 33,000 years. Marine Geology, 186: 487-504.
- Hedgecock D, PH Barber & S Edmands (2007) Genetic approaches to measuring connectivity. Oceanography, 20 (3): 70-79.
- Hedgecock, D. 1994. Does variance in reproductive success limit effective population size of marine organisms? Pp. 122–134 in Genetics and Evolution of Aquatic Organisms. A. Beaumont, ed., Chapman & Hall, London.
- Hellberg ME (2009). Gene flow and isolation among populations of marine animals. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 40: 291-310.
- Hellberg ME, RS Burton, JE Neigel & SR Palumbi (2002). Genetic assessment of connectivity among marine populations. Bulletin of Marine Science 70:273-290.
- Hewitt GM (1996) Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. Biological Journal of the Linnean Society, 58: 247–276.
- Hughes AL & MAK Hughes (2007) Coding sequence polymorphism in avian mitochondrial genomes reflects population histories Molecular Ecology, 16: 1369–

1376.

- Hulton NRJ, RS Purves, RD McCulloch, DE Sugden & MJ Bentley (2002) The Last Glacial maximum and deglaciation in southern South America. *Quaternary Science Reviews*, 21: 233–241.
- Ibáñez CM, PA Camus & F Rocha (2009) Diversity and distribution of cephalopod species of the coast off Chile. *Marine Biology Research* 5(4): 374–384.
- James MK, Armsworth PR, Mason LB, Bode L (2002) The structure of reef fish metapopulations: modelling larval dispersal and retention patterns. *Proc R Soc Lond B* 269:2079–2086.
- Johnson MS & Black R (1991) Genetic subdivision of the intertidal snail *Bembicium vittatum* (Gastropoda, Littorinidae) varies with habitat in the Houtman Abrolhos Islands, Western Australia. *Heredity*, 67: 205–213.
- Johnson MS & Black R (2005) Effects of a larval stage on isolation of populations of the trochid *Austrocochlea constricta* in tidal ponds. *Marine Biology*, 147, 189–195.
- Jones GP, Milicich MJ, Emslie MJ & Lunow C (1999) Self-recruitment in a coral reef fish population. *Nature* 402:802–804.
- Jones GP, S Planes & SR Thorrold (2005) Coral reef fish larvae settle close to home. *Current Biology*, 15:1314–18.
- Jones GP, Srinivasan & GR Almany (2007) Population connectivity and conservation of marine biodiversity. *Oceanography*, 20(3): 100–111.
- Kaiser J & F Lamy (2008) Last glacial SST changes in the SE Pacific - a bipolar seesaw perspective. *PAGES News*, 16 (1): 20–22.

- Kaiser J, F Lamy & D Hebbeln (2005) A 70-kyr sea surface temperature record off southern Chile (Ocean Drilling Program Site 1233). *Paleoceanography*, 20, 4, PA4009, doi: 10.1029/2005PA001146.
- Kaplan MR, CJ Fogwill, DE Sugden, NRJ Hulton, PW Kubik & SPHT Freeman (2008) Southern Patagonian glacial chronology for the Last Glacial period and implications for Southern Ocean climate. *Quaternary Science Reviews*, 27: 284–294.
- Kelly RP & Eernisse DJ (2007) Southern hospitality: a latitudinal gradient in gene flow in the marine environment. *Evolution* 61: 700–707.
- Kelly RP & RS Palumbi (2010) Genetic structure among 50 species of the northeastern Pacific rocky intertidal community. *PLoS ONE* 5(1): e8594. doi:10.1371/journal.pone.0008594.
- Kim JH, RR Schneider, D Hebbeln, PJ Müller & G Wefer (2002) Last deglacial sea-surface temperature evolution in the Southeast Pacific compared to climate changes on the South American continent. *Quaternary Science Reviews*, 21: 2085–2097
- Kinlan BP & SD Gaines (2003) Propagule dispersal in marine and terrestrial environments: A community perspective. *Ecology* 84:2007–2020.
- Kinlan BP, SD Gaines & SE Lester (2005) Propagule dispersal and the scales of marine community process. *Diversity and Distributions* 11:139–148.
- Kyle CJ & Boulding EG (2000) Comparative population genetic structure of marine gastropods (*Littorina spp.*) with and without pelagic larval dispersal. *Marine*

Biology, 137: 835–845.

Larmuseau MHD, JKJ Van Houdt, J Guelinckx, B Hellemans & FAM Volckaert (2009)

Distributional and demographic consequences of Pleistocene climate fluctuations for a marine demersal fish in the north-eastern Atlantic. *Journal of Biogeography*, 36: 1138–1151.

Lee HJ & EG Boulding (2007) Mitochondrial DNA variation in space and time in the northeastern Pacific gastropod *Littorina keenae*. *Molecular Ecology* 16: 3084–310.

Lessa EP, JA Cook & JL Patton (2003) Genetic footprints of demographic expansion in North America, but not Amazonia, during the Late Quaternary. *PiNAS*, 100 (18): 10331–10334.

Lessios HA, JR Weinberg & VR Starczak (1994) Temporal variation in population of the marine isopod *Exciorolana*: How stable are gene frequencies and morphology?. *Evolution*, 48(3): 549-563.

Levins R (1969) Some demographic and genetic consequences of environmental heterogeneity for biological control. *Bulletin of the Entomological Society* 15: 237-240.

Lomolino MV, BR Riddle, RJ Whittaker & JH Brown (2010). *Biogeography*, fourth edition. Sinauer Associates, Inc. 764 pp.

Maltagliati F, P Belcari, D Casu, M Casu, P Sartor, G Vargiu & A Castelli (2002) Allozyme genetic variability and gene flow in *Octopus vulgaris* (Cephalopoda, Octopodidae) from The Mediterranean sea. *Bulletin of Marine Science*, 71(1): 743-486.

- Marko PB (2004) 'What's larvae got to do with it?' Disparate patterns of postglacial population structure in two benthic marine gastropods with identical dispersal potential. *Molecular Ecology*, 13:597–611.
- Marko PB, JM Hoffman, SA Emme, TM MCGovern, CC Keever & LN Cox (2010) The 'Expansion–Contraction' model of Pleistocene biogeography: rocky shores suffer a sea change?. *Molecular Ecology*, 19: 146–169.
- Martin PR and JK MCKay (2004) Latitudinal variation in genetic divergence of populations and the potential for future speciation. *evolution*, 58:938–945.
- Martínez EA, L Cárdenas & R Pinto (2003) Recovery and genetic diversity of the intertidal kelp *Lessonia nigrescens* (Phaeophyceae) 20 years after El Niño 1982/83. *J. Phycol.* 39, 504–508.
- Maruyama T & M Kimura (1980) Genetic variability and effective population size when local extinction and recolonization of subpopulations are frequent. *Proceedings of the National Academy of Science (USA)* 77: 6710–6714.
- Massaferro JI, PI Moreno, GH Denton, M Vandergoes & A Dieffenbacher-Krall (2009) Chironomid and pollen evidence for climate fluctuations during the Last Glacial Termination in NW Patagonia. *Quaternary Science Reviews*, 28: 517–525.
- McCulloch RD, Bentley MJ, RS Purves, NRJ Hulton, DE Sugden & CM Clapperton (2000) Climatic inferences from glacial and palaeoecological evidence at the Last Glacial termination, southern South America. *Journal of Quaternary Science*, 15: 409–417.
- McCulloch RD, CJ Fogwill, DE Sugden, MJ Bentley & PW Rubik (2005a) Chronology

of the last glaciation in Central Strait of Magellan and Bahía Inútil, southernmost South America. *Geografiska Annaler*, 87: 289–312.

McCulloch RD, MJ Bentley, RM Tipping & CM Clapperton (2005b) Evidence for late-glacial ice dammed lakes in the Central Strait of Magellan and Bahía Inútil, southernmost South America. *Geografiska Annaler*, 87: 335–362.

Merilä J (1997). Quantitative trait and allozyme divergence in the greenfinch (*Carduelis chloris*, Aves: Fringillidae). *Biological Journal of the Linnean Society*. 61: 243–266.

Milá B, JD Girman, M Kimura & TB Smith (2000) Genetic evidence for the effect of a postglacial population expansion on the phylogeography of a North American songbird. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 267: 1033–1040.

Miller KJ & DJ Ayre (2008) Population structure is not a simple function of reproductive mode and larval type: insights from tropical corals. *Journal of Animal Ecology* 77: 713–724.

Miller MJ, E Bermingham, J Klicka, P Escalante & K Winker (2010) Neotropical birds show a humped distribution of within-population genetic diversity along a latitudinal transect. *Ecology Letters*, 13: 576–586.

Montecino V, CB Lange (2009) The Humboldt Current System: Ecosystem components and processes, fisheries, and sediment studies. *Progress in Oceanography* 83: 65–79.

Montecino V, Strub PT, Chavez FP, Thomas AC, Tarazona J & T Baumgartner (2005)

- Chapter 10 Bio-physical interactions off western South America (6,E). In: *The Sea*, A.R. Robinson & K.H. Brink (eds). Cambridge: Harvard University Press, 329–390.
- Murphy CA & JH Cowan Jr (2007) Production, marine larval retention or dispersal, and recruitment of amphidromous Hawaiian gobiids: issues and implications. *Bishop Museum Journal Cultural Environmental Studies* 3:63-74.
- Muths D, D Jollivet, F Gentil & D Davoult (2009) Large-scale genetic patchiness among NE Atlantic populations of the brittle star *Ophiothrix fragilis*. *Aquatic Biology*, 5: 117–132.
- Nagai RH, SH de Mello e Sousa, RA Lourenço, MC Bicego & M Michaelovitch de Mahiques (2010) Paleoproductivity changes during the Late Quaternary in the southeastern Brazilian upper continental margin of the southwestern Atlantic. *Brazilian Journal of Oceanography*, 58 (526): 31-41.
- Norman MD & FG Hochberg (2005th) The current state of octopus taxonomy. *Phuket Marine Biological Center Research Bulletin* 66:127–154.
- Norman, M (2000) *Cephalopods: A World Guide*. Hackenheim, ConchBooks, p. 156.
- Palumbi SR (1995) Using genetics as an indirect estimator of larval dispersal. In *Ecology of Marine Invertebrate Larvae*, edited by L McEdward, New York: CRC Press, pp 369-387.
- Palumbi SR (2003) Population genetics, demographic connectivity, and the design of marine reserves. *Ecological Applications* 13: 146-158.
- Palumbi SR, Baker CS (1994) Contrasting population structure from nuclear intron

- sequences and mtDNA of humpback whales. *Molecular Biology and Evolution*, 11(3): 426-435.
- Pannell JR & B Charlesworth (1999) Neutral genetic diversity in a metapopulation with recurrent local extinction and recolonization. *Evolution*, 53 (3): 664-676.
- Pannell JR (2003) Coalescence in a metapopulation with recurrent local extinction and recolonization. *Evolution*, 57 (5): 949-961.
- Pannell JR, B Charlesworth (2000) Effects of metapopulation processes on measures of genetic diversity *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B Biological Sciences*. 355 (1404): pp 1851-1864.
- Pechenik JA (1999) On the advantages and disadvantages of larval stages in benthic marine invertebrate life cycles. *Marine Ecology Progress Series*, 177: 269– 297
- Pineda J, AH Jonathan & S Sponaugle (2007) Larval transport and dispersal in the coastal ocean and consequences for population connectivity. *Oceanography*, 20(3): 22-39.
- Planes S (2002) Biogeography and larval dispersal inferred from population genetic analysis. In: Sale PF (ed) *Coral reef fishes: dynamics and diversity in a complex system*. Academic Press, New York, pp 201–220.
- Pogson G.H., Taggart C.T., Mesa K.A. & R.G. Boutlier 2001. Isolation by distance in the Atlantic cod, *Gadus morhua*, at large and small geographic scales. *Evolution* 55:131–146.
- Poulin E, AT Palma, G Leiva, D Narvaez, R Pacheco, SA Navarrete & JC Castilla (2002) Avoiding offshore transport of competent larvae during upwelling events:

- The case of the gastropod *Concholepas concholepas* in Central Chile. *Limnology and Oceanography* 47(4): 1248–1255.
- Rabassa J & CM Clapperton (1990). Quaternary Glaciations of the Southern Andes. *Quaternary Science Reviews*, 9: 153–174.
- Rabassa J (2008) Late Cenozoic of Patagonia and Tierra del Fuego. En: Rabassa J (ed) *The Late Cenozoic of Patagonia and Tierra del Fuego*. Elsevier. 151-204.
- Rabassa J, AM Coronato & M Salemme (2005) Chronology of the late Cenozoic Patagonian glaciations and their correlation with biostratigraphic units of the pampean region (Argentina). *Journal of South American Earth Sciences*, 20, 81–103.
- Radtke R L, RA Kinzie III & SD Folsom (1988) Age at recruitment of Hawaiian freshwater gobies. *Environmental Biology of Fishes*, 23: 205–213.
- Raimondi PT & M J Keough (1990) Behavioural variability in marine larvae. *Australian Journal of Ecology* 4:427–437.
- Ré ME (1998) Pulpos Octopódidos (Cephalopoda, Octopodidae). In Boschi E. (ed.) *El mar Argentino y sus Recursos Pesqueros vol. 2*. Mar del Plata: Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación, pp. 87–91.
- Reed DC, BP Kinlan, PT Raimondi, L Washburn, B Gaylord & PT Drake (2006) A metapopulation perspective on patch dynamics and connectivity of giant kelp. In Kritzer, J. P. & Sale, P. F. [Eds.] *Marine Metapopulations*. Academic Press, San Diego 352–86.

- Rey O & J Turgeon (2007) Influence of historical event and contemporary estuarine circulation on the genetic structure of the banded Killifish (*Fundulus diaphanous*) in the St Lawrence River (Quebec, Canadá). *Canadian Journal of Zoology*, 85: 891-901.
- Rising JD & JC Avise (1993) Application of genealogical-concordance principles to the taxonomy and evolutionary history of the sharp-tailed sparrow (*Ammodramus caudacutus*). *Auk*, 110:844-856.
- Rocha FJ (1997) Cephalopods in Chilean waters, a review. *Malacological Review*, 30:101-113.
- Rodhe K (1992) Latitudinal Gradients in Species Diversity: The Search for the Primary Cause. *Oikos*, 65 (3): 514-527.
- Rohling E, A Hayes, S De Rijk, D Kroon, W Zachariasse & D Eisma (1998) Abrupt cold spells in the northwest Mediterranean. *Paleoceanography*, 13: 316-322.
- Rosa R, HM Dierssen, L Gonzalez, & BA Seibel (2008) Ecological biogeography of cephalopod molluscs in the Atlantic Ocean: historical and contemporary causes of coastal diversity patterns *Global Ecology and Biogeography*, 17: 600-610.
- Scarabino V (1977) Moluscos del Golfo San Matías (Provincia de Río Negro, República Argentina). *Inventario y claves para su identificación. Com. Soc. Malac. Uruguay*, 4 (31-32): 177-197.
- Seutin G, BE Lang, DI Mindell, & R Morais (1994) Evolution of the WANCY region in amniote mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution* 11:329-340.
- Shanks AL, BA Grantham, MH Carr (2003) Propagule dispersal distance and the size

- and spacing of marine reserves. *Ecological Application* 13(1): S159–S169.
- Shikano T, R Jetty & J Merilä. 2010. Identification of local- and habitat dependent selection: scanning functionally important genes in ninespined sticklebacks (*Pungitius pungitius*). *Molecular Biology and Evolution*, 27: 2775–2789.
- Shulman MJ & E Bermingham (1995) Early life histories, ocean currents and, the population genetics of Caribbean fishes. *Evolution*, 49: 897-910.
- Slatkin M (1977) Gene flow and genetic drift in a species subject to frequency local extinction. *Theoretical Population Biology*, 1: 253-262.
- Slatkin M (1985). Gene flow in natural populations. *Annual Review Ecological Systematics*, 16: 393-430.
- Slatkin M (1993) Isolation by distance in equilibrium and nonequilibrium populations. *Evolution*, 47: 264–279.
- Söller R, K Warnke, U Saint-Paul & D Blohm (2000) Sequence divergence of mitochondrial DNA indicates cryptic biodiversity in *Octopus vulgaris* and supports the taxonomic distinctiveness of *Octopus mimus* (Cephalopoda: Octopodidae). *Marine Biology* 136: 29-35.
- Spalding Md, He Fox, Gr Allen, N Davidson, Z Ferdaña, M Finlayson, BS Halpern, MA Jorge, A Lombana, SA Lourie, KD Martin, E Mcmanus, J Molnar, CA Recchia & J Robertson (2007) Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas. *BioScience*, 57 (7):573-583.
- Sponaugle S, RK Cowen, A Shanks, SG Morgan, JM Leis, J Pineda, GW Boehlert, MJ Kingsford, K Lindeman, C Grimes & JL Munro (2002) Predicting self-recruitment

in marine populations: biophysical correlates and mechanisms. *Bulletin Marine Science* 70[Suppl]:341–375.

Strugnell J, JR Voight, CP Collins & A. L Allcock(2009) Molecular phylogenetic analysis of a known and a new hydrothermal vent octopod: their relationships with the genus *Benthoctopus* (Cephalopoda: Octopodidae). *Zootaxa*, 2096: 442–459.

Strugnell JM, MA Collins & AL Allcock (2008) Molecular evolutionary relationships of the octopodid genus *Thaumeledone* (Cephalopoda: Octopodidae) from the Southern ocean. *Antarctic Science*, 20: 245–251.

Swearer SE, JE Caselle, DW Lea & RR Warner (1999). Larval retention and recruitment in an island population of a coral-reef fish. *Nature*, 402: 799-802.

Teske PR, I Papadopoulos, GI Zardi GI, CD McQuaid CD, MT Edkins MT, CL Griffiths CL & NP Barker (2007) Implications of life history for genetic structure and migration rates of southern African coastal invertebrates: planktonic, abbreviated and direct developers. *Marine Biology* 152:697-711.

Thiel M, Macaya E, Acuña E, Arntz W, Bastias H, Brokordt K, Camus P, Castilla JC, Castro LR, Cortés M, Dumont CP, Escribano R, Fernández M, Lancelloti D, Gajardo JA, Gaymer CF, Gomez I, González AE, González HE, Haye PA, Illanes JE, Iriarte JL, Luna-Jorquera G, Luxoro C, Manríquez PH, Marín V, Muñoz P, Navarrete SA, Pérez E, Poulin E, Sellanes J, Sepúlveda A, Stotz W, Tala F, Thomas A, Vargas CA, Vásquez JA, Vega A (2007) The Humboldt Current System of northern and central Chile. *Oceanographic processes, ecological*

- interactions and socioeconomic feedback. *Ocean Mar Biol: An Ann Rev* 45:195-78.
- Thorrold SR, C Latkoczy, PK Swart & CM Jones (2001) Natal homing in a marine fish metapopulation. *Science* 291:297-299.
- Thorrold SR, DC Zacherl & LA Levin (2007) Population connectivity and larval dispersal—using geochemical signatures in calcified structures. *Oceanography* 20(3):80-89.
- Thorrold SR, GP Jones, ME Hellberg, RS Burton, SE Swearer, JE Neigel, SG Morgan & RR Warner (2002) Quantifying larval retention and connectivity in marine populations with artificial and natural markers. *Bulletin Marine Science* 70:291-308.
- Tsuchi R (2002) Neogene evolution of surface marine climate in the Pacific and notes on related events. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* 19: 260-270.
- Van Den Hoek C (1984) World-wide latitudinal and longitudinal seaweed distribution patterns and their possible causes, as illustrated by the distribution of *Rodhopytan* genera. *Helgolander Meeresuntersuchungen* 38: 227-257.
- Villanueva R & MD Norman (2008) Biology of the planktonic stages of benthic octopuses. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 46: 105-202.
- Villanueva R (1995). Experimental rearing and growth of planktonic *Octopus vulgaris* from hatching to settlement. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52: 2639-2650.
- Wakeley J (2000) The effects of subdivision on the genetic divergence of populations

and species. *Evolution*, 54:1092-1101.

- Waluda CM, C Yamashiro C, PG Rodhouse (2006) Influence of the ENSO cycle on the light-fishery for *Dosidicus gigas* in the Peru Current: An analysis of remotely sensed data. *Fisheries Research* 79:56–63
- Warnke K, R Söller, D Blohm, & U Saint-Paul (2004) A new look at geographic and phylogenetic relationships within the species group surrounding *Octopus vulgaris* (Mollusca, Cephalopoda): indications of very wide distribution from mitochondrial DNA sequences. *Journal of Zoological Systematics and Evolution Research*, 42: 306–312.
- Werner FE, Cowen RK & Paris CB (2007) Coupled biological and physical models—present capabilities and necessary developments for future studies of population connectivity. *Oceanography* 20:54–69.
- Werner FE, JA Quinlan, RG Lough & DR Lynch (2001) Spatially-explicit individual based modeling of marine populations: A review of the advances in the 1990's. *Sarsia* 86:41–21.
- White C, KA Selkoe, J Watson, DA Siegel, D C Zacherl & RJ. Toonen (2010) Ocean currents help explain population genetic structure *Proceeding of Royal Society B, Biological Sciences*: doi: 10.1098/rspb.2009.2214.
- Whitlock MC (1992) Temporal fluctuations in demographic parameters and the genetic variance among populations. *Evolution* 46:608–615.
- Young CM (1995) Behavior and locomotion during the dispersal phase of larval life. In, *Ecology of Marine Invertebrate Larvae*, edited by L. McEdward, CRC Press, Boca

Raton, Florida, pp: 249-278.

Young RE & RF Harman (1988) "Larva", "Paralarva" and "Subadult" in cephalopod terminology. *Malacologia*, 29: 201-207.

CAPITULO II

HISTORIA FILOGEOGRÁFICA DE *Enteroctopus megalocyathus* EN EL EXTREMO SUR DE SUDAMÉRICA: Conectividad, estructura y expansión en escenarios históricos y contemporáneos

2.1 RESUMEN

Eventos geológicos y cambio climáticos se reconocen como los principales precursores de cambios en el rango de distribución de las especies, a escala ecológica y evolutiva. Estos cambios en el rango de distribución de las especies van dejando señales genéticas a nivel de las poblaciones, que pueden ser detectadas usando aproximaciones filogeográficas. En este estudio se realizaron análisis filogeográficos de la especie de pulpo *Enteroctopus megalocyathus*, distribuida a lo largo de la costa de la provincia biogeográfica Magallánica en el extremo sur de Sudamérica. Se amplificó el gen Citocromo Oxidasa subunidad III para realizar análisis de diversidad genética, estructura poblacional e historia migratoria y demográfica de las poblaciones. El pulpo *E. megalocyathus* evidenció estar estructurado en dos unidades genéticas, constituidas por una población en el Atlántico y otra en el Pacífico. Ambas poblaciones mostraron una baja diversidad genética, que en su conjunto sumaron un total de 7 haplotipos, dos haplotipos frecuentes separados por cuatro pasos mutacionales, más cinco haplotipos únicos. La diferencia genética observada entre las poblaciones del Pacífico y Atlántico, sugiere una conectividad muy limitada, resultado de un flujo muy reducido de pulpos migrante efectivos. Los análisis demográficos, basados en teoría de coalescencia, evidenciaron que la población del Pacífico habría experimentado reducción de su tamaño efectivo, y consecutivamente una expansión demográfica posterior al Último Máximo Glacial (UMG). Mientras, la población del Atlántico habría permanecido sin cambios demográficos durante la última glaciación. Además, la población del Pacífico, a diferencia de la población del Atlántico, señala un ancestro común más reciente

posterior a la último máximo glacial, sugiriendo un escenario en que hubo extinciones locales y posterior recolonización desde el norte hacia el sur por el Pacífico. Mientras, la población del Atlántico, a diferencia de la población del Pacífico, señala tener un ancestro común más reciente por más ciento cincuenta mil años, y que ha permanecido estable demográficamente, por casi todo el período de la última glaciación, a excepción de los últimos diez mil años, en donde muestra signos de crecimiento demografico.

2.2 INTRODUCCIÓN

Dentro de una especie, la distribución geográfica de los linajes genéticos ha sido afectada, tanto a escala ecológica y/o evolutiva, por eventos oceanográficos, geológicos y de cambio climático tanto a nivel regional como global (Gorsberg & Cunningham 2001). La dirección y la magnitud de los cambios demográficos que enfrentan las poblaciones (expansiones, constricciones, extinciones, recolonizaciones y/o colonizaciones geográficas) han sido documentadas a través de distintos marcadores moleculares (Hewitt 1999, 2000, Grosbreg & Cunningham 2001, Larmuseau et al. 2009, Marko et al. 2010). En estudios realizados en especies marinas del hemisferio norte, los resultados genéticos han sugerido un patrón de expansión demográfica post-glacial desde múltiples refugios (Gisels et al. 2004, Hickerson & Cunningham 2005, Cassone & Boulding 2006, Chevolot et al 2006, Maggs et al. 2008, Keever et al. 2009, Larmuseau et al. 2009, Marko et al. 2010). Tal patrón genético se ha propuesto principalmente para especies afectadas en el período de enfriamiento global del Pleistoceno (1.8 M.a. – 10.000 años atrás). Este período abarcó varios ciclos glaciales que cubrieron con un manto de hielo considerables extensiones de los continentes del hemisferios norte (Larmuseau et al. 2009). Estas áreas cubiertas por un manto de hielo, se convirtieron en hábitats inadecuados para muchas especies marinas costeras (peces, moluscos, crustáceos), causando la extinción de poblaciones, o la migración hacia una o más áreas de refugio hacia el sur para su sobrevivencia (Kojima et al. 2001, Gysels et al. 2004a, Olsen et al. 2004, Sá-Pinto et al. 2005, 2008, Hoarau et al. 2007, Lee & Boulding 2007, Larmuseau et al. 2009). Posteriormente, el aumento de las temperaturas que caracteriza

los períodos interglaciales favoreció la expansión demográfica de las poblaciones refugiadas, iniciando una recolonización de las áreas que estuvieron cubiertas por hielo (Larmuseau et al. 2009). Estos estudios han mostrado la importancia de los distintos tipos de historia de vida de las especies sobre los patrones de recolonización. Así, especies con baja capacidad de dispersión habrían recolonizado las áreas progresivamente descubiertas a través de un proceso más lento, en comparación a las especies con larva pelágica de larga duración. Estas diferencias entre los procesos de recolonización se reflejarían en distintos patrones de diferenciación genética (Chevolot et al 2006).

En el hemisferio sur, algunas especies marinas de la región del Pacífico sureste muestran un patrón de diversidad genética que sugiere la existencia de una expansión demográfica vinculado con eventos a escala de milenios (Cárdenas et al. 2009a y b, Haye et al. 2010, Ibáñez et al. 2011, 2012). Invertebrados y peces Nototénidos de la zona Antártica muestran el mismo patrón de expansión asociado con un fuerte cuello de botella, consecuencia probable del efecto directo de los períodos glaciales del Pleistoceno Tardío (Patarnello et al. 2003, Zane et al. 2006, Janko et al. 2007, González-Wewar et al. 2011). Se postula que las especies bentónicas y pelágicas de Antártica habrían tenido una historia poblacional y evolutiva diferente, consecuencia de la reducción o pérdida de hábitat de especies bentónicas, por causa de la formación del manto de hielo glacial sobre la totalidad de la plataforma continental antártica (Janko et al. 2007). No obstante, la extensión del hielo glacial durante el período final del pleistoceno alcanzó más allá de la Antártica, en los confines terrestres y marinos de

América del sur, particularmente el área geográfica que corresponde hoy a la Patagonia occidental (Hulton et al. 2002). En tales circunstancias, las especies costeras del extremo sur de Sudamérica también podrían haber sufrido la pérdida parcial o completa de su hábitat por causa de las glaciaciones. Por consiguiente, esta región puede ser considerada como una unidad de estudio apropiada para evaluar el efecto de las glaciaciones sobre las especies marinas del extremo sur de Sudamérica.

La formación de capas de hielo en la Antártica en el período mioceno medio (~14 millones de años.), fue el comienzo de evidentes cambios en los patrones de circulación oceánicos, afectando principalmente las condiciones océano-atmosféricas, entre ellas la productividad primaria y temperatura superficial del mar, de tal manera que tuvieron un considerable impacto en la fauna marina costera (Bo et al. 2009, Rai & Maurya 2009). Desde el Plioceno, y en particular durante el Pleistoceno, se han producido repetidos avances glaciales que han afectado a Sudamérica. De los ciclos glaciales que afectaron a Sudamérica, los más conocidos incluyen (i) la gran glaciación de la Patagonia (Great Patagonian Glaciation GPG, ~1.100.000 años), (ii) las glaciación más fría del Pleistoceno (~0.7 millones años), (iii) la última glaciación (Last Glaciation LG ~140 000 años atrás), y (iv) el último máximo glacial (UMG) (Last Glacial Maximum LGM, ~25 000 a 23 000 años atrás) (Rabassa y Clapperton 1990, Rabassa 2008). No obstante, algunos autores proponen que el último máximo glacial y posterior interglacial, serían los promotores de la distribución contemporánea de los organismos marinos (Cunningham & Collins 1998, Avise 2000, Chevolut et al. 2006). Modelamientos sobre las glaciaciones, sugieren que grandes capas de hielo cubrieron

extensas áreas desde ~36°S hasta los 56°S de América del Sur durante el UMG (McCulloch et al. 2000, Hulton et al. 2002, Rabassa 2008). Los modelamientos del último máximo glacial muestran la extensión de una capa de hielo a lo largo de la cresta de los Andes, que cubrió aproximadamente 1800 kilómetros de tierra por todo el suroeste de la Patagonia, que llegó hasta el mar entre los 35° S y 56° S (Hulton et al. 2002, McCulloch et al. 2000, 2005 a y b, Kaplan et al. 2008). Los vestigios glaciares en el estrecho de Magallanes (de aprox. 24.600 ± 900 años), sugieren que en aquella época hubo un fuerte enfriamiento atmosférico mantenido en fase con los cambios en las condiciones oceánicas, que provocaron cambios en las características del mar, estableciendo la formación de hielo marino (Kaplan et al. 2008), y produciendo el desplazamiento de masas de aires frías en dirección al ecuador, tanto en el océano Pacífico como en el Atlántico (Hulton et al. 2002, McCulloch et al. 2000, 2005a y b, Kaplan et al. 2008). El avance de esta zona frontal antártica hacia el ecuador, fue la principal causa del enfriamiento y formación de capas de hielo en el sur de Sudamérica, cambiando trascendentalmente la configuración de los hábitat terrestres y marinos de aquella época (Kaplan et al. 2008)

2.2.1 Modelo de estudio

Los pulpos bentónicos de la familia Octopodidae con presencia de una paralarva, revelan que la duración de esta fase pareciera ser especie-específico, temperatura dependiente y, bajo condiciones de laboratorio, este rango puede extenderse desde tres semanas en el pulpo pigmeo *Octopus joubini*, hasta seis meses en el pulpo gigante *Enteroctopus*

dofleini (Wulker 1910), (Villanueva & Norman 2008). La temperatura ambiental sería un factor decisivo en la regulación del desarrollo embrionario y la duración de la paralarva planctónica en los pulpos (Villanueva 1995, Warnke 2004, Villanueva & Norman 2008). En ese contexto, la existencia de una paralarva representaría el tiempo (todo el período planctónico), y por lo tanto la distancia que alcanzaría a dispersar las paralarvas (Villanueva & Norman 2008). Los pulpos de latitudes cálidas mostrarían un desarrollo embrionario y un período de paralarva planctónica más corto, y con un temprano asentamiento (e.g. en *O. vulgaris*, Villanueva 1995, Katsanevakis & Verriopoulos 2006). Al contrario, las especies que viven en aguas frías tendrían un período de incubación de los huevos y duración del período planctónico más largo, con un tardío período de asentamiento, como ocurre con el pulpo *Enteroctopus dofleini* (Gabe 1975, Snyder 1986a).

Entre los pulpos bentónicos de la familia Octopodidae que habitan las frías aguas sub-antárticas en el extremo sur de Sudamérica, se encuentra la especie *Enteroctopus megalocyathus* (Gould, 1852). Su rango de distribución cubre alrededor de 4300 km en línea recta a lo largo de la costa este y oeste del Cono sur de Sudamérica. Este rango, que incluye toda la provincia biogeográfica Magallánica, va desde Isla Chiloé en el Pacífico (~42° S) (Rocha 1997, Ibáñez et al. 2009), pasa por Borkwood Bank (56° S, 54° W) y sigue hasta el Golfo de San Matías por el océano Atlántico (42° S) (Ré 1998). El rango batimétrico de *E. megalocyathus* abarca zonas intermareales hasta 170 metros de profundidad (Órtiz 2009). Este pulpo tiene importancia económica por mantener una pesca artesanal superior a las 500 toneladas anuales, solo para la costa del Pacífico

(SERNAPESCA 2010). Es una especie bentónica que puede alcanzar un poco más de 1 metro de longitud total, y ~5 kg de peso total (Ibáñez & Chong 2008). La fecundidad medida en esta especie varía entre 1429-6427 huevos maduros, y con un tamaño promedio de 10.7 mm de longitud (Ortiz et al. 2006, 2011). De sus huevos eclosionarían crías planctónicas de aproximadamente 18 mm de longitud (Ortiz et al 2006), que bajo el supuesto de ser una especie de aguas frías, tendría un período planctónico más largo. En este sentido, *E. megalocyathus* tiene un rango de distribución que incluye todo el área del extremo sur de Sudamérica, afectada por el último ciclo glacial (Hulton et al. 2002), y posee características de historia de vida que supuestamente favorecerían su dispersión (Villanueva & Norman 2008). Estas cualidades colocan a esta especie como un modelo adecuado para evaluar los patrones de cambio de la diversidad genética del ADN mitocondrial, mediante aproximaciones de coalescencia, a lo largo de su rango de distribución, asociados a los efectos del último ciclo Glacial-interglacial. Finalmente, en este estudio, evaluaremos como *E. megalocyathus* fue afectado en su distribución y su abundancia por los cambios en las condiciones océano-atmosféricas que ocurrieron durante el Pleistoceno a lo largo del extremo sur de Sudamérica,

2.3 MATERIALES Y MÉTODOS

2.3.1 Obtención de muestras

Los pulpos de la especie *E. megalocyathus* fueron obtenidos desde muestreos realizados en seis localidades, tratando de abarcar todo el rango de distribución de esta especie. Entre Junio y Julio del año 2008, se obtuvieron 30 pulpos, capturados mediante buceo semi-autónomo por buzos mariscadores, desde las localidades de Ancud y de Puerto Williams en Chile. Entre Septiembre-Octubre del mismo año, se obtuvieron mediante buceo autónomo con ganchos, aproximadamente 30 pulpos desde las localidades de San Román, Cerro Avanzado (Madryn), Camarones y Puerto Deseado en Argentina (Fig. 2.1). Luego, a los pulpos se les realizaron disecciones del tejido muscular del manto de 2 cm², que fueron guardados en frascos con alcohol 95 %, para su posterior extracción de DNA.

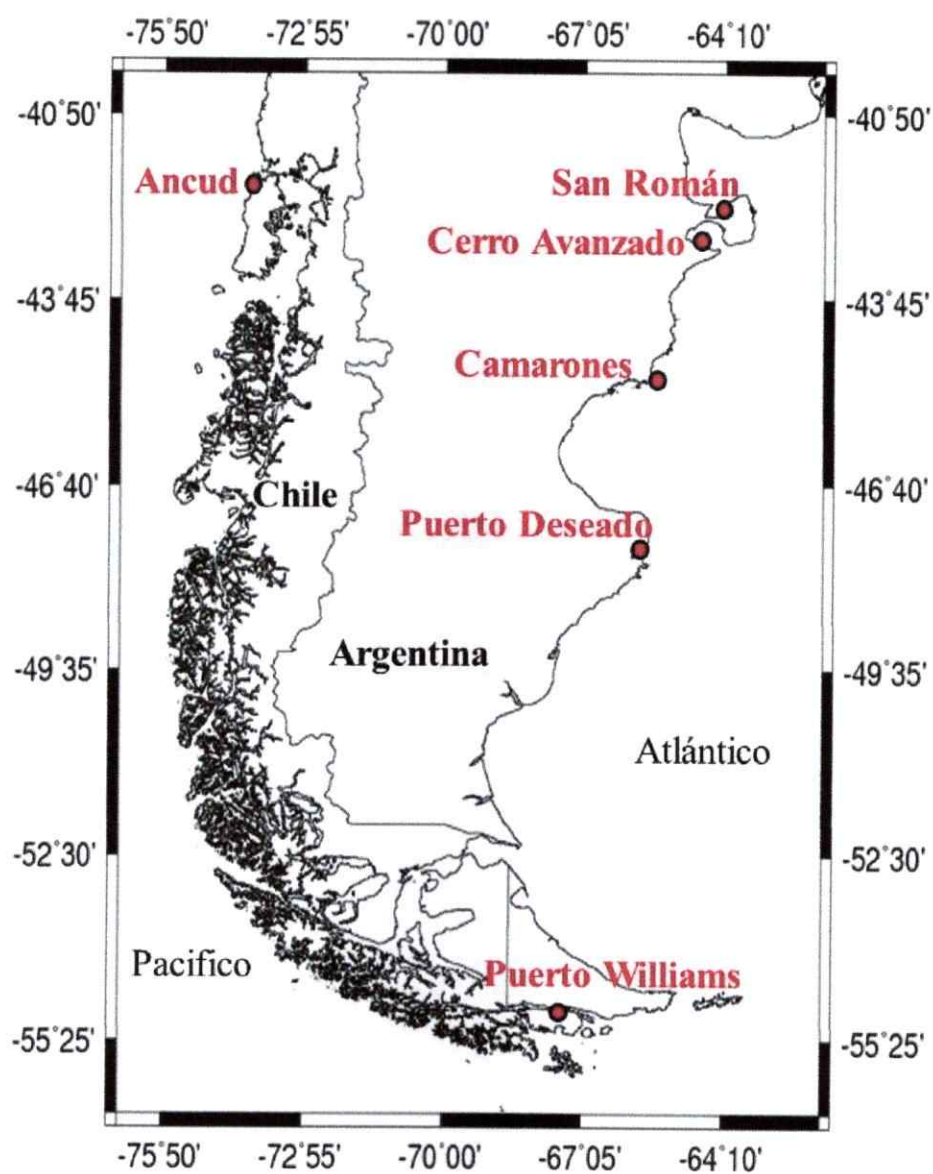


Figura 2.1 Localidades donde se realizaron los muestreo de pulpos *Enteroctopus megalocyathus* desde el Pacífico y Atlántico.

2.3.2 Extracción y amplificación del DNA

Para la extracción del DNA del tejido muscular, se utilizó un protocolo de extracción salina (Alhjanabi and Martinez 1997). Se utilizaron primer universales (Co3a²: F- 5'TTATTTATTGCATCAGAAGT3' y Co3b²: R- 5'TCAACAAAGTGTCAGTATCA3'), para amplificar 597 pares de bases (pb), del gen mitocondrial citocromo oxidasa subunidad III (COIII, Allcock et al. 2008). Para el PCR se utilizó: 25 ul de reacción, conteniendo 0.25 µl of *Taq* DNA polimerasa (1.0 unidades), 2.5 µl buffer 10X (50mM KCl, 10mM Tris-HCl, pH 8.0), 2 µl dNTPs (10µM), 1.0µl 50mM MgCl₂, y 0.5 µl (10pg/µl) de cada primer (Co3a² y Co3b²). La condiciones óptimas para la amplificación fueron: A) Denaturación inicial a 94° C durante 120 seg, B) amplificación que incluye 40 ciclos de denaturación a 94°C por 40 seg, anillamiento a 48°C por 40 seg y extensión a 72°C por 90 seg. Finalmente, se realizo una extensión final a 72°C durante 10 minutos. Los amplicones fueron purificados y secuenciados en la empresa Macrogen Inc en Korea. Las secuencias fueron editadas y alineadas al ojo, usando ProSeq version 2.9 (Filatov 2002).

2.3.3 Análisis de datos

Diversidad genética

Se calcularon los índices de diversidad genética estándares como: número de haplotipos (K), número de sitios polimórficos (S), diversidad de haplotipos (Hd), número promedio de diferencias entre secuencias (D), diversidad nucleotídica (π), en cada localidad usando el programa DnaSP versión 5.0 (Librado & Rozas 2009). Las estimaciones de los

tamaños efectivos asumiendo un modelo de equilibrio mutación-deriva fueron realizadas con el programa Lamarc 2.1.6 (Kuhner 2006).

Reconstrucciones filogenéticas desde datos intraespecíficos fueron representados a través de una red de haplotipos (datos poblacionales sin recombinación), construida usando el algoritmo median-joining (MJ) para datos binarios, combinado con características del algoritmo de Kruskal's para encontrar arboles con mínima expansión (favoreciendo conexiones cortas), y el algoritmo heurístico de Farris's máxima-parsimonia (MP), el cual adiciona secuencialmente nuevos vértices llamados "vectores de la mediana". Se hizo uso por defecto de los parámetros $\epsilon = 0$ (nodos ancestrales), una razón de transición/transversión de 1:1, y el método "conexión de costo" para el calculo de distancia, implementado en el software Network versión 4.501 (Bandelt et al. 1999).

Estructura genética poblacional y flujo génico

Para describir la estructura genética entre localidades, se calculó el índice Φ_{st} (calculado con el n° de diferencia entre pares de secuencias) y un F_{ST} (calculado con la frecuencia de los haplotipos), análogo para datos de DNA mitocondrial (Holsinger & Weir 2009), realizado entre pares de secuencias desde distintas localidades, implementado en Arlequin 3.1 (Excoffier et al. 2005). La significancia estadística del Φ_{st} y F_{st} se basaron en 50000 permutaciones. La comparación de los coeficiente de diferenciación genética entre haplotipos ordenados (N_{st}) y no ordenados (G_{st}), fueron utilizados para evaluar la existencia de estructuración filogeográfica descrito por Pons & Petit (1995, 1996). La frecuencia de los haplotipos fue usada para estimar la diversidad genética promedio

intra-poblacional (h_s), la diversidad genética total (h_T), y la proporción de la diversidad total debido a diferencia entre poblaciones (G_{st}), junto con el número de diferencias entre los haplotipos (N_{st} , distancia entre haplotipos). El método de análisis fue siguiendo a Burban et al. (1999), mediante el uso del programa PERMUT (Pons & Petit, 1995, 1996). En este análisis se realiza un test con 10000 permutaciones aleatorias de N_{st} . Luego, la distribución de los valores de N_{st} permutados son comparados con el valor de N_{st} observado. Si se obtiene un 5% de los valores permutados mayores al valor de N_{st} observado, entonces el test no es significativo, y no hay diferencia significativa entre G_{st} y N_{st} observado. De este modo, al no encontrar diferencia significativa entre N_{st} observado y G_{st} , entonces es considerado como un indicador de ausencia estructuración filogeográfica. Consecutivamente, para detectar si la estructuración genética muestra un patrón geográfico, se realizó un Análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA, Spatial Analysis of Molecular Variance, Dupanloup et al. 2002), usando el programa SAMOVA, versión 1.01. El algoritmo de SAMOVA define grupo de poblaciones que son geográficamente homogéneas y máximamente diferenciadas de otros grupos, de tal manera que agrupa las diferentes muestras, maximizando la varianza genética “entre-grupos de poblaciones” y reduciendo la varianza “entre poblaciones dentro de grupos”. Este programa realiza un análisis jerárquico, donde una proporción de la varianza genética total es producto de las diferencias entre grupos de poblaciones (Φ_{ct}), otra proporción es por diferencias dentro de las poblaciones (Φ_{sc}) y finalmente otra proporción de la varianza por diferencias entre poblaciones dentro de los grupos (Φ_{st}) (ver Excoffier et al. 1992). El nivel de significancia de los índices de fijación fue

estimado mediante permutaciones no-paramétricas de las poblaciones entre grupos, con 10000 iteraciones. Alternativamente, usando inferencia bayesiana se estimó la probabilidad de detectar estructuración genética poblacional con su respectiva organización espacial, usando datos genéticos y un modelo espacial geo-referenciado en el programa Geneland 4.0.2 (Guillot et al. 2008, Guillot 2008, Guillot & Santos 2009, Guillot et al. 2009). Este método se distingue de otros análisis, por la capacidad de distinción del número de poblaciones (o clusters) con sus respectivos límites geográficos, asociado con una incerteza en la asignación de los individuos a estos clúster geográficos (Guillot et al. 2005a). En la ejecución del análisis, la estimación del número de poblaciones (K), se realizó con cadenas de Markov-Monte Carlos (MCMC) con 10000000 de iteraciones. El primer análisis se realizó bajo un modelo de frecuencias no-correlacionadas (vector de frecuencias haplotípicas mutuamente independientes entre poblaciones) y luego otro con frecuencias correlacionadas, ambos asociados a un modelo espacial geo-referenciado. En las iteraciones se fueron muestreando cada 1000 parámetros, fijando los valores de K a que sea determinado por la moda de la distribución a posterior de la cadena de MCMC, descartando el 10 por ciento de las primeras iteraciones que no llegaron a una convergencia. Luego, mediante un Bayes Factor descrito por Raftery (1996: 165), se eligió el modelo con mayor probabilidad *a posteriori* y el que asignó mejor los datos genéticos de cada individuo en los clusters geográficos. Bayes Factor es definido por los likelihoods marginales de los modelos ($\text{pr}(D|M)$), y es expresado en: $B_{10} = \text{pr}(D|M_1)/\text{pr}(D|M_0)$; donde B_{10} : logaritmo base 10 de BF es la razón del likelihood marginal del modelo (M_1) con respecto al modelo (M_0),

dado los datos (D). La escala de interpretación de BF se consideró el de $2\log B_{10}$ (similar escala al del estadístico likelihood ratio test), donde los valores < 0 se consideraron fuerte apoyo al modelo con menos parámetros, valores entre 0 a 2,2 no merece mención como evidencia para el modelo más complejo, valores entre 2,2 a 6 evidencia positiva, entre 6 a 10 evidencia fuerte y valores > 10 evidencia muy fuerte para el modelo más complejo (Raftery 1996: 165). Para evaluar la existencia de una relación entre distancia genética y geográfica, es decir, evaluar el modelo de aislamiento por distancia entre localidades, se realizó un análisis de correlación (test de mantel, Mantel 1967). Esto fue realizado usando el modelo unidimensional, utilizado para grandes distancias (hábitat extendidos), a través una relación lineal entre $\Phi/1-\Phi$ con la distancia geográfica (km) (Rousset 1997), implementado en Arlequin 3.11, donde el nivel de significancia del coeficiente de correlación fue calculado mediante 10000 permutaciones paramétricas dentro de las matrices de distancia.

Para determinar los patrones de migración entre poblaciones, se realizaron análisis de las relaciones genéticas entre grupos en base a la teoría de coalescencia. Se estimaron las tasas de inmigración (en cada dirección) entre poblaciones usando el programa Migrate-n 3.2.17 (Beerli 2011). Mediante inferencia bayesiana, utilizando como priors una distribución uniforme, y el único modelo por defecto Felsenstein 84 de sustitución nucleotídica (F84). F84 es esencialmente el mismo modelo que HKY85 (estimado en este estudio con jmodel Test, Posada 2008), diferenciándose solo en el calculo de la razón transición/transversión (Yang 2006). De este modo, se estimó la distribución de probabilidad a posteriori de los parámetros $\Theta = x \times N_e \times u$, (donde x es la

ploidía y herencia de los datos, (N_e) es el tamaño efectivo de la población, (u) es la tasa de mutación por sitio por generación), y $M = m/u$. (donde (m) es la tasa de inmigrantes dividido por u); donde M es una medida de cuanto más importante es la inmigración sobre la mutación para traer nuevas variantes a la población. Del múltiplo de ambos parámetros ($\Theta \times M$) se obtuvo el número de inmigrantes por generación ($x \times N_e \times m$). Esta aproximación hace uso de una cadena larga de Markov-Monte Carlo (MCMC), usando el algoritmo slice sampling, el cual utiliza la distribución *a posteriori* para generar un nuevo estado (este nuevo estado es compatible con los datos, por lo tanto la razón de aceptación es siempre 1,0). Las iteraciones realizadas fueron en cuatro réplicas, cada una sobre la base de 50000 pasos registrados en 150 incrementos (ciclos). Las cuatro réplicas (cadenas) corridas con temperaturas estáticas distintas (1,0 1,5 4,0 y 5,0), permitió el intercambio entre las cadenas (dependientes de la aceptación o rechazo), experimentando magnitudes de exploración diferentes de las genealogías en el espacio (con mayores exploraciones con las cadenas más calientes). Este método, conocido como MCMCMC (Markov coupled Markov chain Monte Carlo, Geyer & Thompson (1995), permite cuatro o más cadenas con diferentes temperaturas, donde las cadenas más caliente se mueven con mayor libertad, explorando más genealogías, y realizando exploración más eficiente de los datos, y estableciendo mejores intervalos de densidad, en contraste a la corrida de una única larga cadena. De este modo, se constituyó un paisaje definido por la probabilidad de 30000000 de genealogías visitadas, donde el primer 10 % de las genealogías fueron descartadas por no alcanzar la zona de convergencia en los valores de likelihood, en las corridas de MCMC. Con este análisis se generaron distribuciones de

probabilidad de los parámetros y de las genealogías con distintos intervalos de credibilidad, representando la incerteza de los parámetros Θ y M estimados. La robustez de las estimaciones fueron evaluadas considerando: a) Diferentes corridas de MCMC (distribuciones con una sola moda) fueron realizadas para chequear la convergencia de las cadenas, b) Los valores de autocorrelación y del tamaño efectivo de las muestras (effective sample size, ESS). Donde altos valores de autocorrelación en los algoritmos involucran frecuentes rechazos de cambios en las cadenas y menor eficiencia de búsqueda en el espacio. Menor eficiencia de búsqueda implican un insuficiente tamaño efectivo de las muestras de los parámetros ($ESS < 500$), es decir de muestras independientes, y por ende, de un análisis aún sesgado por las condiciones iniciales (priors).

Análisis de la Historia Demográfica

La inferencia demográfica de las poblaciones previamente identificadas (grupos de localidades que no mostraron diferencias genéticas significativas entre ellas) de *Enteroctopus megalocythus*, se realizó en un primer lugar a través de los índices de neutralidad D de Tajima (el cual compara dos estimadores del parámetro poblacional θ , basado en el número de sitios segregantes y en el número promedio de diferencias entre haplotipos. Bajo un modelo mutacional de sitios-infinito y sin recombinación, ambos estimadores deben estimar la misma cantidad, de lo contrario las diferencias pueden originarse bajo selección, expansión demográfica o heterogeneidad de la tasa de mutación entre sitios, Tajima 1989) y el F_s de Fu (bajo un modelo de sitios infinito, basado en la probabilidad de observar k o más haplotipos en una muestra de un tamaño

determinado, y que es condicionado al número promedio de diferencias entre pares de haplotipos, se obtiene una distribución del estadístico F_s por la simulación de una muestra, y de acuerdo a un valor de θ estimado desde el número promedio de diferencias entre pares de haplotipos, Fu 1997), y sus respectivos valores de probabilidad (P-value) en el programa Arlequín. Estos índices detectan desviaciones del equilibrio mutación-deriva de Wright-Fisher, a través del exceso o déficit de haplotipos de baja frecuencia, originado por un crecimiento poblacional, un cuello de botella, o eventos de selección que hayan ocurrido en el pasado. Luego, para evaluar cambios demográficos se construyó una distribución de desajuste entre pares de secuencias (Mismatch distribution), que luego se comparó con una distribución unimodal esperada bajo el modelo de crecimiento poblacional instantáneo de Rogers y Harpending (1992). Además, se estimó un índice de desigualdad (raggedness index, Harpending 1994, ecuación 1) desde la distribución observada, para evaluar si se ajusta a una distribución unimodal esperada bajo el modelo de crecimiento instantáneo. Luego, y solo cuando la población mostró un patrón de distribución de desajuste unimodal, se estimaron los parámetros de expansión demográfica (Θ_0, Θ_1, τ) en el programa DnaSP versión 5.10.01 (Librado & Rozas 2009). El parámetro $\Theta_0 = 2N_{e0}u$ (donde N_{e0} es el tamaño efectivo poblacional en la actualidad, y u es la tasa de mutación por secuencia, por año) es estimado antes del crecimiento de la población, $\Theta_1 = 2N_{e1}u$ es medido después del crecimiento, y el parámetro $\tau = 2ut$ está relacionado con el tiempo t transcurrido desde la expansión (en unidades de tiempo mutacionales). Se estimaron los valores de tamaño efectivo N_e antes y después del crecimiento, así como el tiempo t transcurrido desde este

evento, asumiendo una tasa de mutación de 2 % por millón de años en molusco (Strugnell y Lindgren 2007, referencia incluidas).

Por otro lado, se realizaron inferencias demográficas en cada población utilizando el programa LAMARC versión 2.1.6. (Kuhner 2006). A diferencia del análisis anterior, el cual estimaba los parámetros del modelo de crecimiento poblacional instantáneo, este programa asume un modelo de crecimiento o decrecimiento poblacional de tipo exponencial (Kuhner et al. 1998). En este análisis se construyeron genealogías de coalescencia, utilizando el criterio de optimización de Máxima Verosimilitud, y a partir de ellos se realizaron estimaciones del parámetro $\Theta = 2Neu$, y de g que corresponde a la tasa de crecimiento o decrecimiento exponencial de la población formulado como: $\Theta_t = \Theta_0 e^{-gt}$, donde Θ_t es el valor del parámetro a un tiempo t en el pasado y Θ_0 es el valor en la actualidad de Θ . Un valor positivo de g indica un crecimiento poblacional mientras que un valor negativo señala un decrecimiento. El tiempo se mide en unidades mutacionales y g se mide en unidades inversas de tiempo ($1/u$). Con las genealogías inferidas, se construyó una superficie de verosimilitud, donde se estimaron los parámetros Θ y g de interés. Los valores iniciales de los parámetros Θ y g usados fueron 0,01 y 1,00 respectivamente. La estrategia de búsqueda de los parámetros fue utilizando Cadenas de Markov-Monte Carlo (MCMC) y el algoritmo Metropolis-Hasting, con múltiples cadenas para hacer más eficiente la conducción de búsqueda de los valores (menos sesgada hacia los valores iniciales). La ejecución comenzó con 50 cadenas iniciales, cada una de 1000 iteraciones, para obtener valores conductores de la búsqueda, y terminó con 2 cadenas finales, mucho más largas para

precisar en la estimación final. La longitud de las cadenas largas fue 100.000 (para controlar la capacidad de refinamiento de las estimaciones). Para reducir la influencia de las genealogías iniciales, se descartó el primer 10% (10000) de las genealogías. En este análisis se asumió una tasa de mutación constante entre secuencias y se utilizó en el algoritmo, el modelo Felsenstein 84 (F84) de sustitución nucleotídica, que se diferencia del modelo HKY85 (estimado en este estudio con jmodel Test, Posada 2008), en solo el cálculo de la razón transición/transversión (Yang 2006). Se calcularon los valores de tamaño efectivo N_e en función del tiempo t desde el presente asumiendo la misma tasa de mutación de 2 % por millón de años. Por convención, se estima el inicio del crecimiento al tiempo en que el tamaño efectivo se reduce al 1% del tamaño efectivo actual (Lamarck 2.1.8, manual: <http://evolution.genetics.washington.edu/lamarck/documentation/menu.html>).

La historia demográfica de las poblaciones también fue inferida mediante un análisis de Bayesian skyline plot (BSP, Drummond et al. 2005) y el método Bayesian skyride (BSR, Minin et al. 2008) en el programa BEAST version 1.7.2 (Drummond & Rambaut, 2007). Estos análisis, a diferencia de los anteriores, no asumen un modelo paramétrico de crecimiento (o decrecimiento) poblacional. Estas aproximaciones bayesianas utilizan Cadenas de Markov-Monte Carlo (MCMC), que eficientemente van muestreando variantes del generalized skyline plot y en el campo aleatorio Markov Gaussiano en el Skyride para generar una distribución *a posteriori* del parámetro tamaño efectivo poblacional (N_e) a través del tiempo, y estimar el tiempo del ancestro común más reciente (tMRCA) en las genealogías de coalescencia. El método Skyride, a

diferencia de los múltiples intervalos de coalescencia agrupados con similares tamaños efectivos en el Skyline plot, los cambios en el tamaño efectivo entre “pequeños” y consecutivos intervalos intercoalescencia son penalizados, ya sea con ser dependiente de las longitudes de los intervalos de coalescencia (time aware) o ser independiente del tiempo (Ho & Shapiro 2001). Estas distribuciones generan intervalos de credibilidad a posteriori (95% HPD, Highest Posterior Density), representando la incerteza en el N_e y del tMRCA, (Drummond et al., 2005). Antes de realizar el análisis de Bayesian Skyline Plot y los Bayesian Skyride, se estimó el mejor modelo de sustitución nucleotídica bajo un criterio de decisión bayesiana (BIC), en el programa jModelTest (Posada 2008). Los supuestos que se asumieron para la generación de árboles de coalescencia fueron modelos de evolución molecular con reloj estricto, y luego con reloj relajado. La generación de árboles con reloj relajado se realizó con distribución exponencial y log-normal, con 10 grupos de coalescencia (m , parámetro de suavizamiento) en el BSP, y un método de suavizamiento a prior “time aware” en BSR, ambas usando una tasa de mutación de 2% por millón de años (ver Strugnell & Lindgren 2007 y referencias incluidas). Estos análisis fueron realizados con cadenas de MCMC de 30000000 de iteraciones que fueron muestreando parámetros y árboles cada 1000 generaciones, descartando los primeros 3000000 de iteraciones en el Bayesian Skyline plot. Mientras, se corrieron 25000000 de iteraciones de MCMC, y se fueron muestreando parámetros y árboles cada 1000 generaciones, descartando los primeros 250000 iteraciones en el Bayesian Skyride. En la elección del número de iteraciones de MCMC, se consideró el número de secuencias analizadas y la complejidad del modelo usado, para así adquirir

un tamaño efectivo de la muestra apropiado (> 200). Posteriormente, mediante una Bayes Factor (BF) descrito por Newton & Raftery (1994), y con las modificaciones propuestas por Suchard et al. (2001), en el programa Tracer 1.5 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>, Drummond & Rambaut, 2009), se eligió primero la inferencia demográfica realizada con el mejor método bayesiano descrito anteriormente, y segundo con el modelo de evolución (reloj molecular estricto vs relajado) con mayor probabilidad *a posteriori* y el que representó mejor la historia demográfica de las poblaciones. Bayes Factor fue definido por los likelihoods marginales de los modelos ($\text{pr}(D/M)$) y expresado en: $B_{10} = \text{pr}(D|M_1)/\text{pr}(D|M_0)$; donde B_{10} : logaritmo base 10 de BF, es la razón del likelihood marginal del modelo (M_1) con respecto al modelo (M_0) dado los datos (D). Para interpretar los valores de B_{10} se usó una clasificación donde los valores superiores a 0,5 se consideró una fuerte evidencia, valores superiores a 1 se consideró decisivo y valores inferiores a 0,5 no merecieron mención (Kass & Raftery 1995). Finalmente, los resultados fueron visualizados y graficados en el programa Tracer versión 1.5 (Rambaut and Drummond, 2009).

2.4 RESULTADOS

Diversidad genética

Siete haplotipos se encontraron en los fragmentos de 551 pb del gen COIII, correspondiente a 132 pulpos *E. megalocyathus*. Cada una de las localidades en que se realizaron los muestreos mostró una baja diversidad haplotípica, nucleotídica, pocos sitios polimórficos y bajo número de diferencias entre secuencias (Tabla 2.1). En esto sobresale que las dos localidades del Pacífico, mostraron valores más bajos de diversidad genética, comparado con las localidades de la zona del Atlántico (Tabla 2.1).

Tabla 2.1- Diversidad genética de *Enterocyathus megalocyathus* en el extremo sur de Sudamérica. N: n° de individuos, K: n° haplotipos, S: sitios polimórficos, Hd: diversidad haplotípica, π : diversidad nucleotídica, Π : n° diferencia entre secuencias.

LOCALIDADES		N	K	S	Hd		π		Π	
	N				x	d.e.	x	d.e.	x	d.e.
PACIFICO	N									
Ancud	↓	25	3	2	0,157	0,096	0,0003	0,0007	0,160	0,240
Pto. Williams	S	27	2	1	0,074	0,067	0,0001	0,0005	0,074	0,164
ATLANTICO										
Puerto Deseado	S	23	3	5	0,549	0,060	0,0038	0,0011	2,079	0,869
Camarones	↓	24	3	5	0,518	0,073	0,0037	0,0011	2,040	0,859
Cerro Avanzado	↓	18	2	4	0,366	0,112	0,0027	0,0011	1,464	0,738
San Román	N	15	2	4	0,343	0,128	0,0025	0,0011	1,371	0,722
TOTAL		132	7	9	0,531	0,021	0,0037	0,0010	2,035	0,830

Las relaciones genealógicas mediante Median-Joining Network, mostraron un patrón caracterizado por dos haplotipos dominantes separados por 4 pasos mutacionales, cada uno rodeado de haplotipos únicos (Fig. 2.2). El primer haplotipo dominante H1 es el enlace central de 4 haplotipos únicos, separados por un paso mutacional, mientras que el segundo más frecuente H5 se conecta a un haplotipo único. El haplotipo H1 se encontró en 73 (55,3 %) de los 132 pulpos analizados de todas las localidades muestreadas en este estudio. El haplotipo H5 se encontró en el 40,9 % (54) de los pulpos, pero exclusivamente en las localidades del Atlántico (Fig. 2.2). El haplotipo H1 fue muy dominante en el Pacífico, y mostró una reducción gradual en su frecuencia a lo largo de la costa del Atlántico, en dirección hacia el norte (Fig. 2.3). En contraste, el haplotipo H5 mostró un incremento gradual en frecuencia en dirección hacia el norte por el Atlántico, y su total ausencia en las muestras del Pacífico (Fig. 2.3).

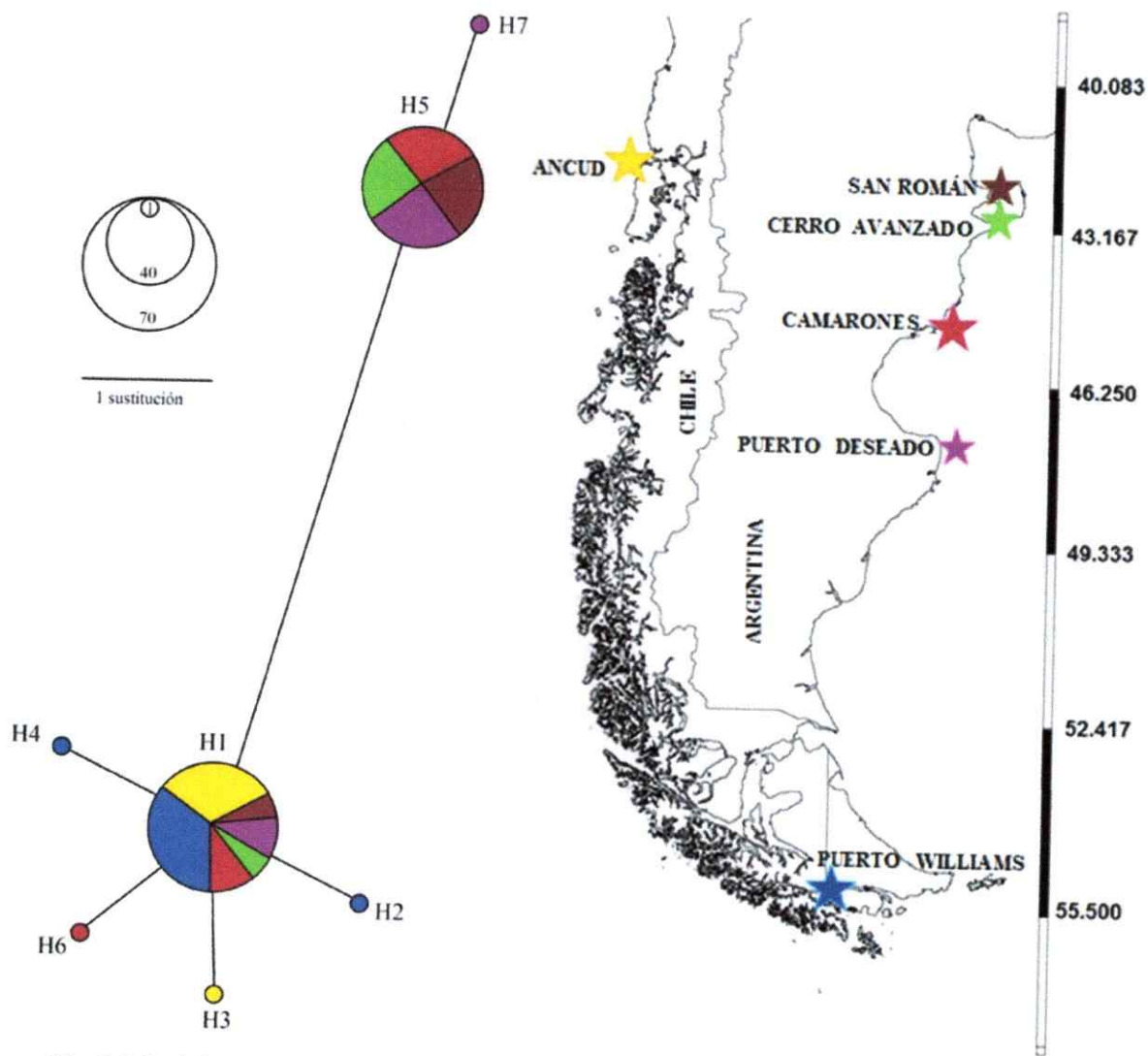


Fig. 2.2 Red de haplotipos del pulpo *Enteroctopus megalocyathus* desde su rango geográfico.

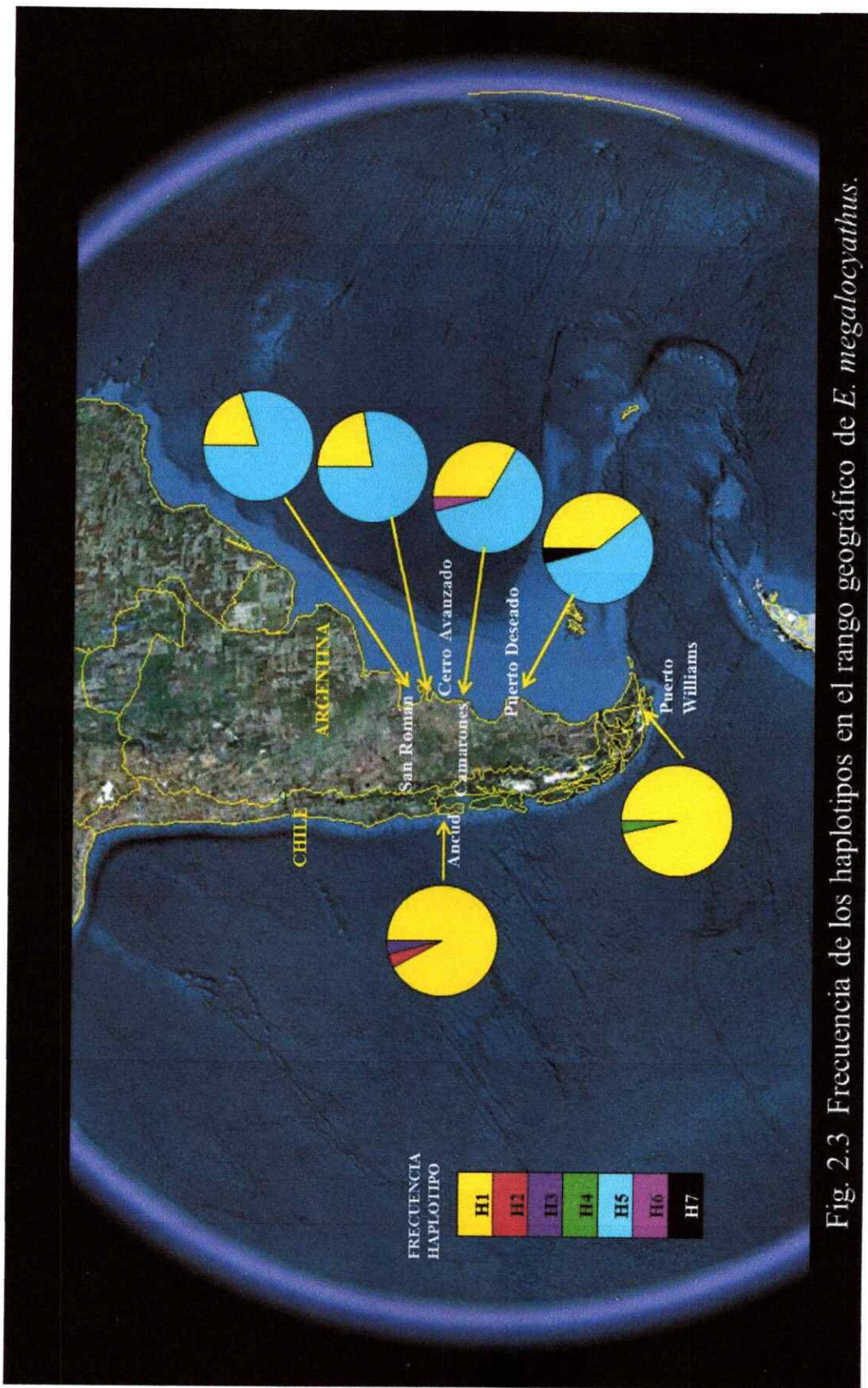


Fig. 2.3 Frecuencia de los haplotipos en el rango geográfico de *E. megalocyathus*.

Estructuración genética

Los valores de Φ_{st} y F_{st} entre pares con sus respectivos valores de probabilidad, muestran dos unidades genéticas significativamente distintas entre las localidades del Pacífico y del Atlántico. En contraste, las comparaciones entre los sitios del Océano Pacífico o del Océano Atlántico mostraron valores de Φ_{st} y F_{st} muy bajos y no significativos (Tabla 2.2).

Tabla 2.2 Estructuración genética de las poblaciones de *E. megalocyathus*. Resultados de Φ_{st} y F_{st} con sus respectivos valores de probabilidad P.

Distance method: Pairwise difference Φ_{st} and P value						
Localidades	Ancud	Pto. Williams	Pto. Deseado	Camarones	C. Avanzado	San Román
Ancud		0,4709	0,00001	0,00001	0,00001	0,00001
Pto. Williams	0,0011		0,00001	0,00001	0,00001	0,00001
Pto. Deseado	0,5722	0,5927		0,939	0,3208	0,2935
Camarones	0,5851	0,6049	0,0419		0,3319	0,3094
Cerro Avanzado	0,7732	0,7932	0,0144	0,0043		0,9999
San Román	0,8067	0,8275	0,0264	0,0151	0,0635	

F-Statistics from haplotype frequencies F_{st} and P value						
Localidades	Ancud	Pto. Williams	Pto. Deseado	Camarones	C. Avanzado	San Román
Ancud		0.60159	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
Pto. Williams	0.01041		0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
Pto. Deseado	0.45504	0.51742		0.7621	0.2523	0.2302
Camarones	0.51646	0.57612	0.03378		0.4087	0.3923
Cerro Avanzado	0.68760	0.75008	0.03013	0.00740		0.9999
San Román	0.71631	0.78196	0.04279	0.00132	0.06352	

El nivel diversidad intra-poblacional h_s (0,335) fue inferior a la diversidad total h_T (0,575), indicando que la diversidad se encontró mayormente distribuida entre poblaciones G_{st} (0,418). Un análisis de estructuración filogeográfica en la variación de los haplotipos a través del rango de distribución de esta especie, mostró que el coeficiente N_{st} (0,469) fue mayor al valor de G_{st} (0,418). Esta diferencia, evaluada con un test de permutaciones del coeficiente N_{st} , mostró que en el percentil 95 de la distribución, el valor de N_{st} permutado (0,461) fue menor al valor de N_{st} observado (0,469), significando que el valor de N_{st} observado se encontró dentro de la zona de rechazo (95 %) de la distribución. Por consiguiente, el N_{st} observado fue significativamente distinto y mayor al valor de G_{st} , y sugieren finalmente la existencia de un patrón de estructuración filogeográfico. A la vez, un análisis de correlación entre las distancias genéticas y geográficas de los pulpos del Atlántico, señala un incremento en los valores de $\Phi_{st}/(1-\Phi_{st})$ y de $F_{st}/(1-F_{st})$ con el aumento de la distancia geográfica (coeficiente correlación de Mantel ($\Phi_{st}/(1-\Phi_{st})$): $r = 0,810873$, $p = 0,037$; $F_{st}/(1-F_{st})$: $r = 0,952404$, $p = 0,039$, Fig. 2.4). Los resultados de SAMOVA mostraron que se encontró un alto porcentaje de variación genética entre dos, tres y cuatro grupos (Tabla 2.3). No obstante, las agrupaciones con mayor variación genética, grupo del Pacífico y del Atlántico, no fueron significativas. Probablemente las permutaciones, es decir las posibles ordenaciones estuvieron limitadas al número de localidades en cada grupo (2 localidades en el Pacífico y 4 en el Atlántico, afectando la significancia estadística en la permutación del índice de fijación Φ_{CT} . Por otra parte, las iteraciones realizadas (MCMC) con inferencia bayesiana (con el modelo de frecuencias no-correlacionadas,

elegido mediante Bayes Factor= 0,079), evidenciaron una máxima estimación *a posteriori* con una moda de $K = 2$ cluster geográficos (Fig. 2.5). De este modo, la mayor probabilidad *a posteriori* en la asignación de los datos genéticos de los individuos, muestra que la mayor discontinuidad genética se evidenció entre dos clusters geográficos que corresponden a las poblaciones del Pacífico y otra del Atlántico (Fig. 2.6).

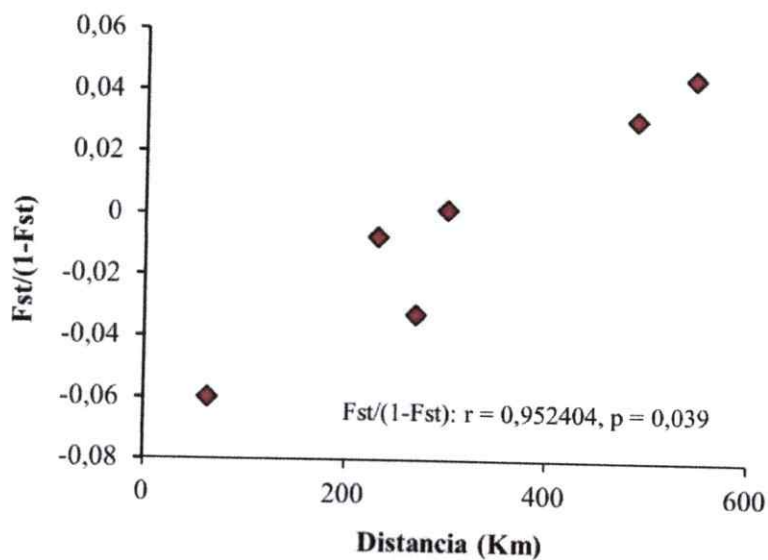
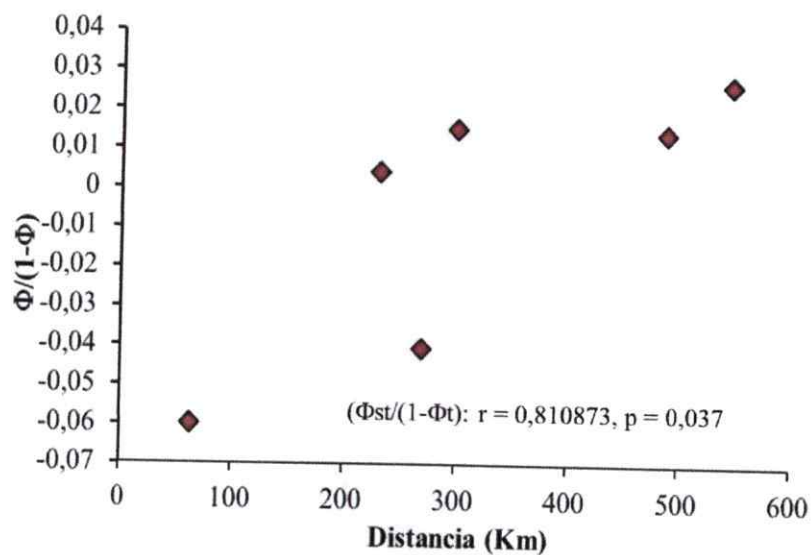


Figura 2.4 Aislamiento genético por distancia geográfica de *E. megalocyathus* desde el Atlántico. La diferenciación genética estimadas por $\Phi_{st}/(1-\Phi_{st})$ y $F_{st}/(1-F_{st})$ es graficado versus la distancia geográfica (Km) por cada par de localidades.

Tabla 2.3 Tabla resultados de Samova con K grupos de poblaciones distintos. % σ^2 : porcentaje de varianza por diferencias entre grupos de poblaciones, Φ_{ct} : índice de fijación de la diferencia entre grupos de poblaciones y P: valor de probabilidad.

K	% σ^2	Φ_{ct}	Tests (50175 permutaciones) P(rand. value \geq obs. value)
2	63,3	0,633	0,06655+-0,00113
3	59.86	0,599	0,01602+-0,00055
4	57,67	0,577	0,02208+-0,00067

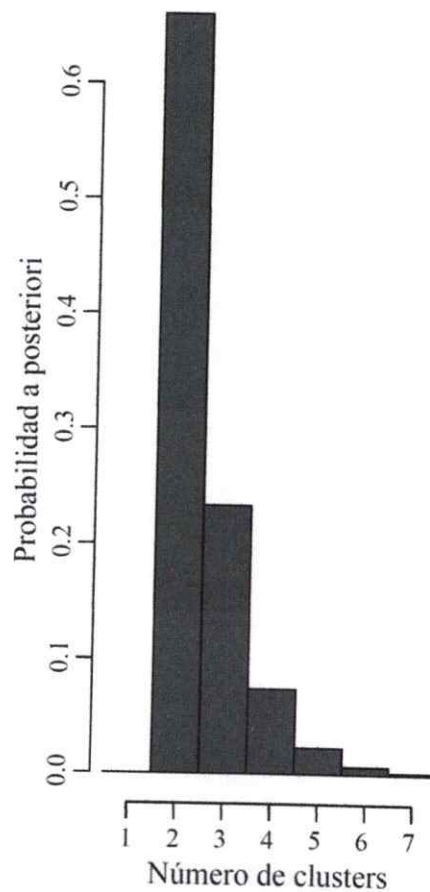


Figura 2.5 Distribución de probabilidad *a posteriori* de los cluster (K) o poblaciones de *E. megalocyathus*, a lo largo de la cadena de Markov Monte Carlo (MCMC).

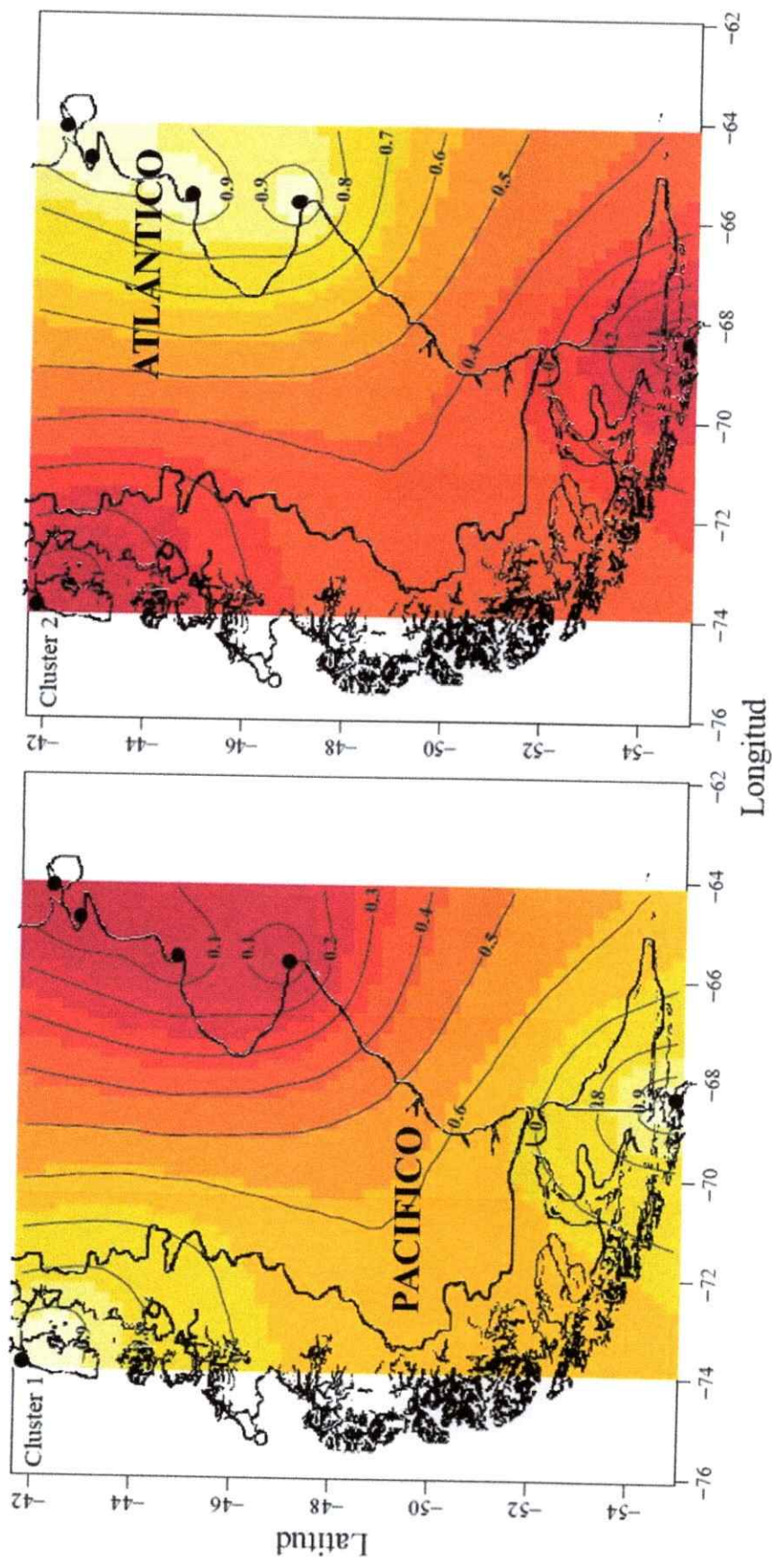


Figura 2.6 Mapa de la probabilidad *a posteriori* de los miembros de cada población, y ubicación espacial de las discontinuidades genéticas entre las poblaciones de *E. megalocyathus* del Pacífico y del Atlántico. Las líneas de contorno indican la posición espacial de las discontinuidades genéticas entre poblaciones. Los colores más claros indican mayores probabilidades de ser integrante de la población.

Los resultados del análisis bayesiano en la estimación del número de pulpos migrantes por generación en el tiempo, mostró un patrón de flujo bajo y asimétrico. La población del Pacífico mostró un flujo de aproximadamente un pulpo por generación hacia la del Atlántico (Tabla 2.4, Fig. 2.7). Mientras, la inmigración de pulpos desde el Atlántico fue ausente, dado que el flujo mostró menos que un individuo por generación hacia la población del Pacífico.

Tabla 2.4 Tabla de distribución a Posterior de los parámetros Θ : ($x \cdot N_e \cdot u$) y M : (m/u). Del múltiplo de ambos parámetros ($M \cdot \Theta$) se obtuvo el número de inmigrantes por generación ($x \cdot N_e \cdot m$).

Parameter	2,5%	25%	Mode	75%	97,5%	Median	Mean	
Q1 Pacífico	0,00	0,00	0,0013	0,0025	0,004	0,00225	0,00163	
Q2 Atlántico	0,00	0,00	0,0013	0,0025	0,004	0,00225	0,00171	$M \cdot Q = xNem$
M2->1	0,00	0,00	2,5	190	745	192,5	257,4	0,4
M1->2	180	445	627,5	780	1000	607,5	591,9	1,4

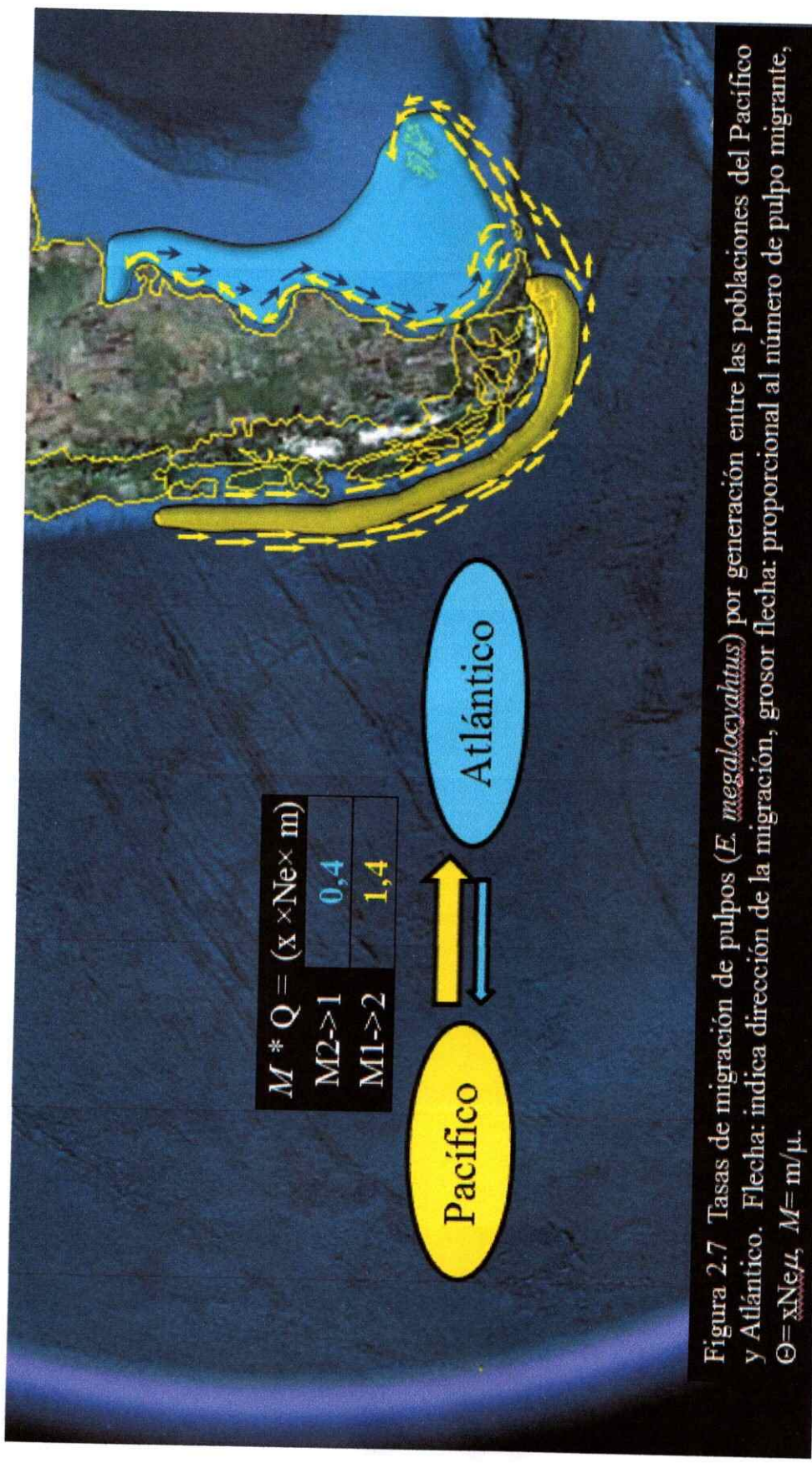


Figura 2.7 Tasas de migración de pulpos (*E. megalocyanthus*) por generación, entre las poblaciones del Pacífico y Atlántico. Flecha: indica dirección de la migración, grosor flecha: proporcional al número de pulpo migrante, $\Theta = xNe\mu$, $M = m/\mu$.

Inferencia demográfica.

Las pruebas de Tajima (D) y Fu (Fs), para identificar si la diversidad genética se aleja del modelo neutral de equilibrio mutación-deriva, dieron como resultado valores negativos y significativos para la población de pulpos de la costa sureste del Pacífico (Tabla 2.5). En contraste, la población de pulpos del Atlántico mostró valores positivos pero no significativos.

Tabla 2.5 Resultados del test de Neutralidad de las poblaciones del pulpos *E. megalocyathus* de la costa del Pacífico y Atlántico

Población	Test	p
Pacífico		
Tajima (D)	-1,69192	0,00558
Fu (Fs)	-4,37626	0,00016
Atlantico		
Tajima (D)	1,11487	0,87482
Fu (Fs)	3,47452	0,92228

La demografía histórica de este pulpo, la distribución de desajuste entre pares de secuencias (Mismatch distribution) mostró una distribución unimodal tipo L en la población del Pacífico, consecuencia del gran número de pulpos que compartían el único haplotipo frecuente H1, con muy pocas diferencias (Fig. 2.8 a). La distribución de desajuste observada no se diferenció significativamente al modelo esperado de distribución unimodal ($\tau = 0,614$, $P = 0,625$). Bajo en este mismo supuesto, el valor del parámetro $\tau = 0,115$ sugirió que el evento de expansión instantánea en la Población del Pacífico habría ocurrido hace aproximadamente 5000 años, donde el valor de $\Theta_0 < 0,005$ reveló en cierto modo, el reducido tamaño de la población al inicio de la expansión (considerando que Θ_1 tiende a ∞ en el modelo). De manera contrastante, los pulpos del Atlántico mostraron una distribución bimodal, que resultó significativamente distinta a un modelo unimodal de expansión demográfico ($\tau=0,583$, $p= 0,025$). Esta distribución bimodal reflejó que la mayoría de los pulpos tenían uno de los dos haplotipos frecuentes, H1 o H5, los cuales se diferenciaron de 5 pasos mutacionales (Fig. 2.8 b).

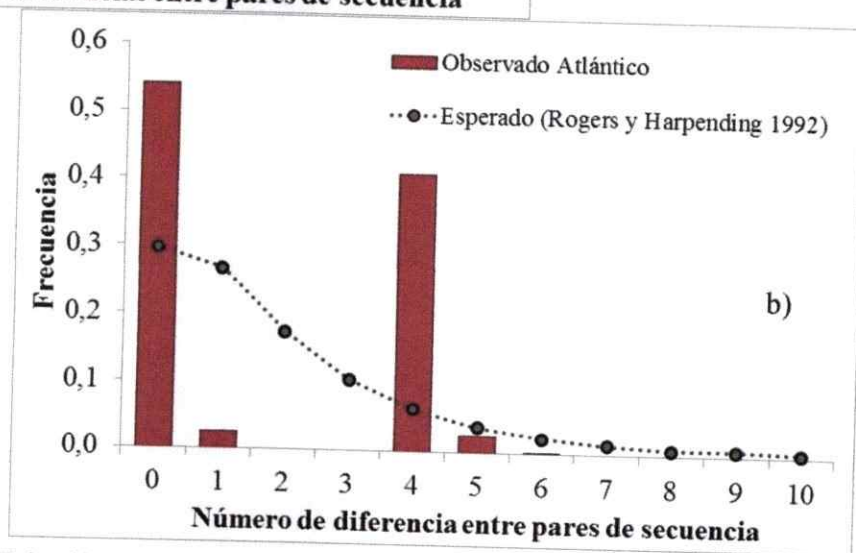
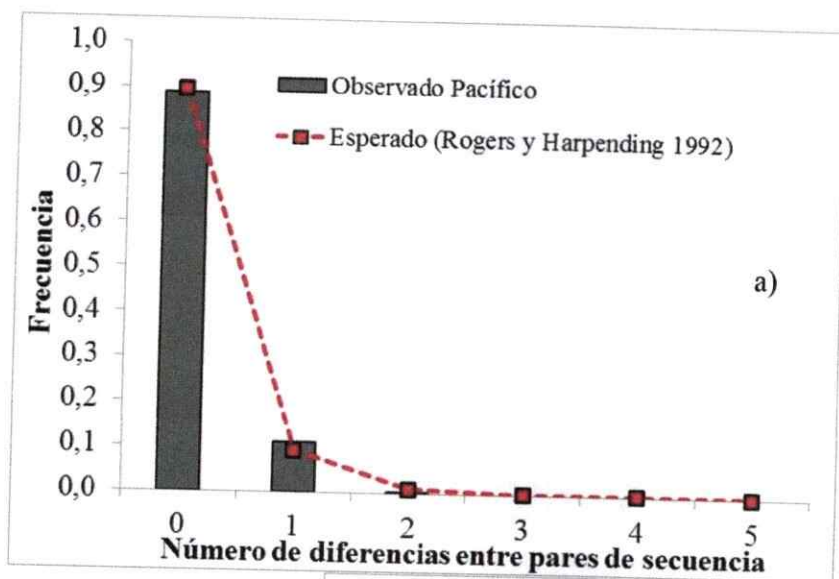


Figura 2.8 a y b. Distribución de no-ajuste entre pares de secuencias de *E. megalocyathus* desde la costa del Pacífico y del Atlántico

De manera complementaria y asumiendo el modelo de crecimiento exponencial, los valores de la tasa de crecimiento g y tamaño efectivo N_e obtenido mediante análisis con Máxima Verosimilitud, señalan de nuevo, que la población de pulpos del Pacífico pasó por un evento de expansión demográfica reciente (Fig. 2.9 a). Dado los datos, el modelo mostró que el crecimiento de esta población habría comenzado hace aproximadamente 0.16 tiempos mutacionales (Fig. 2.9 b), lo que tendría correspondencia con un tiempo de hace aproximadamente 15000 años, sobre la base de un tasa de mutación de 0,02 mutaciones/gen/millón de años. A partir de esta fecha, la población del Pacífico habría aumentado desde ~4000 a 400000 en su tamaño efectivo (con valores del parámetro $\Theta_0= 0,017680$, $\Theta_t= 0,0001964$ y $g=15000$ respectivamente). De manera contrastante, y aunque el resultado fue negativo de la tasa crecimiento ($g= -218,3075$), la población de pulpos del Atlántico no evidencia cambios significativos en el tamaño efectivo en el tiempo (con valores de $\Theta_0= 0,001758$, Figura 2.9 c y d).

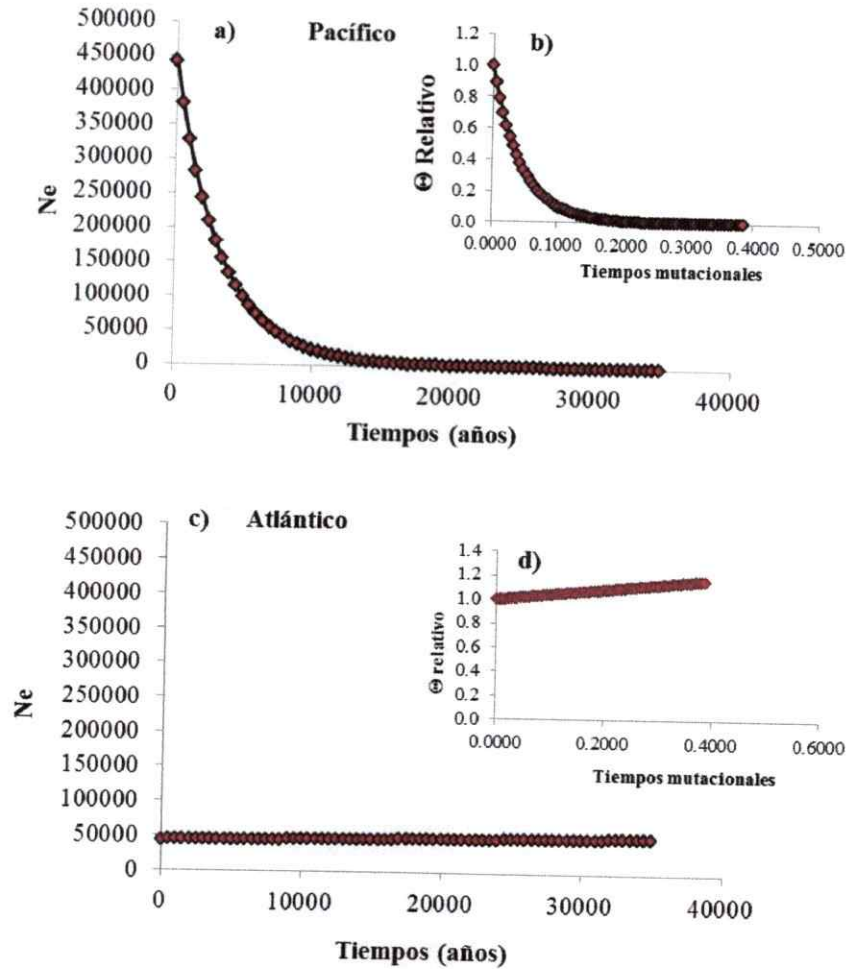
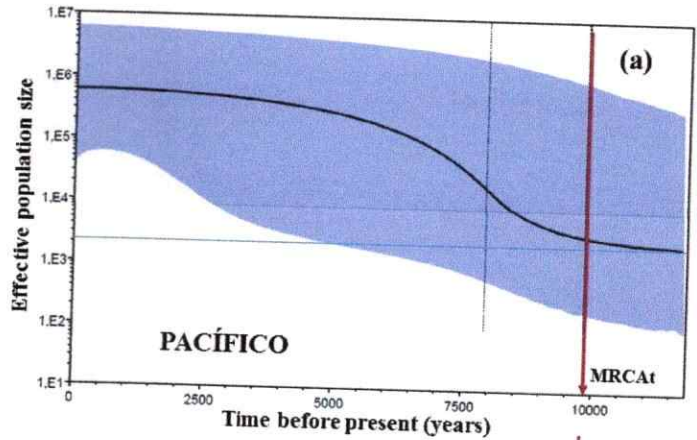


Figura 2.9 Variación del tamaño efectivo ($N_e = \Theta/2u$) de las poblaciones de pulpos *E. megalocyathus*. a y c) Población de Pacífico y Atlántico en el tiempo en años, basado en el modelo de crecimiento exponencial. Variación del Θ relativo de las poblaciones del b) Pacífico y d) Atlántico en función del tiempo mutacional.

Los análisis de Bayesian skyline plots para hacer inferencias demográficas en las genealogías de los pulpos de las poblaciones del Pacífico (elegido con $BF= 0,166$) y del Atlántico ($BF= 5,227$), fueron realizados bajo el modelo de evolución con reloj molecular relajado Log Normal ($BF = 3,186$), y el mejor modelo de sustitución nucleotídica HKY ($-\ln L = 774.7959$, $BIC = 3228.5132$). Estos análisis, efectuados bajo los supuestos de coalescencia y sin un modelo demográfico paramétrico pre-especificado, nuevamente señalan una expansión demográfica en la población de pulpos del Pacífico. Esta expansión, habría comenzado hace aproximadamente 10000 años atrás, con un incremento de alrededor de un orden de magnitud en tamaño efectivo. A la vez, el tiempo estimado de aproximadamente 9800 años del ancestro común más reciente, sugiere que la población habría comenzado también un proceso de diversificación muy reciente del linaje intraespecífico, calzando ambos procesos en un período posterior al UMG (Fig. 2.10 a y b). Por otro lado, el tiempo estimado de ~156000 años del Ancestro común más reciente de los pulpos del Atlántico, indica que es una población muy antigua, en comparación con la del Pacífico, y en ausencia de cambios demográficos significativos en el tiempo (Fig. 2.11 a y b), incluso en los últimos 3000 años, donde el leve incremento en la mediana del tamaño efectivo, asociado con una más alta densidad posterior confirma la ausencia de una expansión incipiente (Fig. 2.12).

BAYESIAN SKYLINE PLOT

Expansión demográfica alrededor de los 10000 años atrás



MAXIMUM CLADE CREDIBILITY TREE

Coalescent tree:

MRCAt mean = 9838,83 years
(HPD 95 % 7883,15 – 11778,89 years)

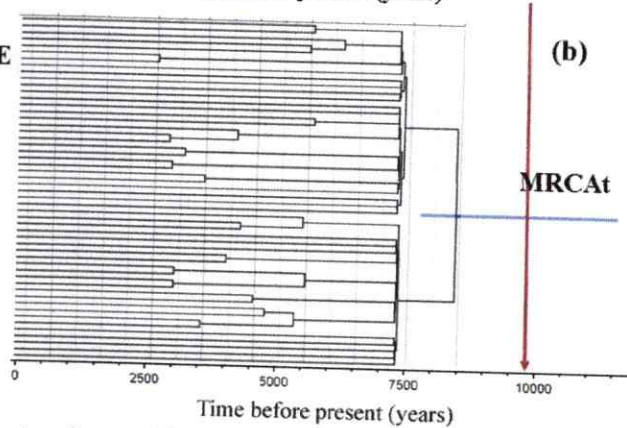
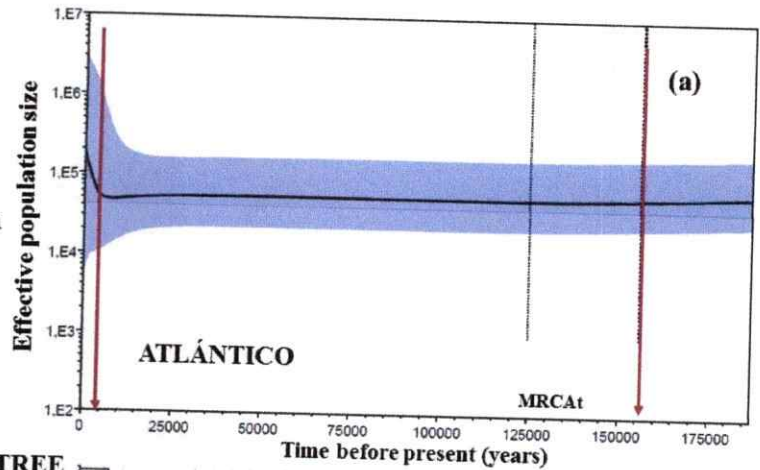


Figura 2.10 a) Bayesian Skyline plot mostrando cambio en el tamaño efectivo de la población de pulpos *E. megalocyahtus* de la costa del Pacífico. b) Árbol con el clado de máxima credibilidad, mostrando el tiempo del ancestro común más reciente (MRCAt).

BAYESIAN SKYLINE PLOT

Ausencia de expansión demográfica en el tiempo



MAXIMUM CLADE CREDIBILITY TREE

Coalescent tree:

MRCAt mean = 156000 years
(HPD 95 % 124860 – 187120 years)

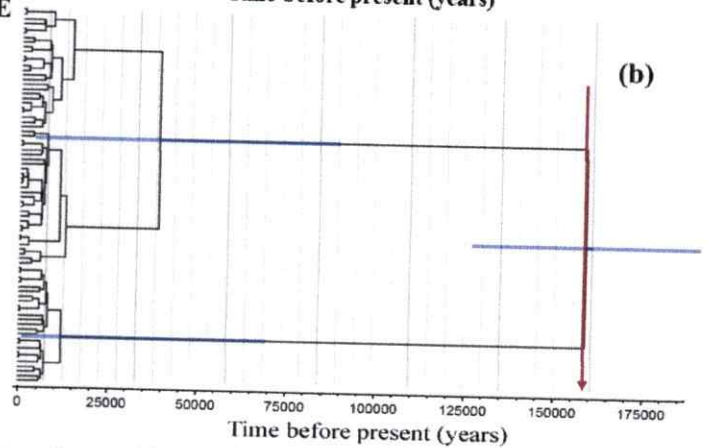


Figura 2.11 a) Bayesian Skyline plot mostrando cambio en el tamaño efectivo de la población de pulpos *E. megalocyahtus* de la costa del Atlántico. b) Árbol con clado de máxima credibilidad, mostrando el tiempo del ancestro común más reciente (MRCAt).

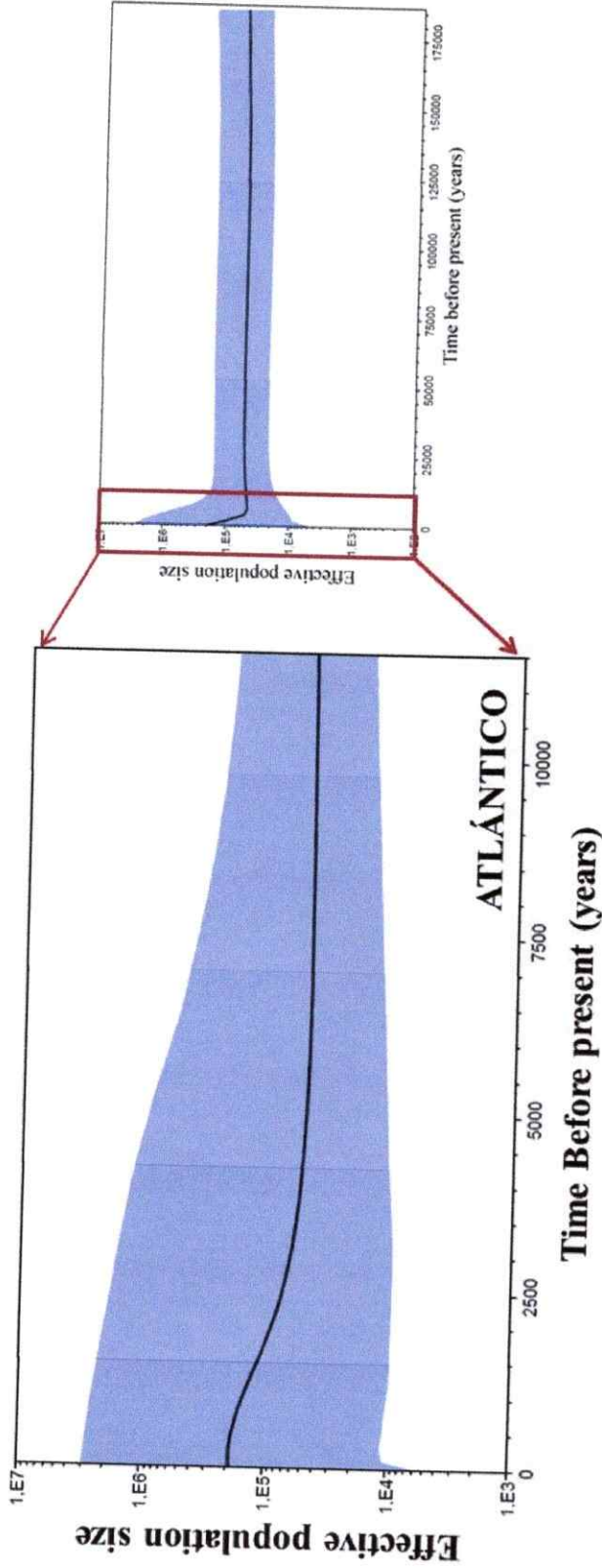


Figura 2.12 Bayesian Skyline plot, reconstrucción del cambio en el tamaño efectivo de la población del Atlántico de *E. megalocyanthus*, en los últimos 10000 años.

2.5 DISCUSIÓN

Diversidad y estructura genética de E. megalocyathus

Los resultados obtenidos con el gen COIII muestran una baja diversidad genética del ADN mitocondrial en *Enteroctopus megalocyathus*. Este patrón ha resultado común en cefalópodos, con marcadores relativamente conservados como las Allozimas (Brierley et al. 1993, Brierley et al. 1995, Sanjuan et al. 1996, Allcock et al. 1997, Pérez-Losada et al. 1999, 2002, Zheng et al. 2001, Maltagliati et al. 2002, Triantafillos et al. 2004), y con marcadores más variables como los genes mitocondriales (Oosthuizen et al. 2004, Zheng et al. 2005, Tello et al. 2006, Sandoval-Castellanos et al. 2010). Sin embargo, Teske et al. (2007) sugieren que los marcadores mitocondriales mutan rápido y por lo tanto, poblaciones establecidas por largo tiempo debieran mostrar alguna variación. En este sentido, poblaciones salvajes de *Octopus variabilis* en las costas de China mostraron una alta diversidad y estructuración genética con los genes mitocondriales COIII (Hd): 0.9092 y 12S rRNA(Hd): 0.9840, en un total de 80 pulpos (Mei-Ying et al. 2011). Este registro con el gen COIII, estaría sugiriendo que puede ser lo suficientemente variable como para realizar estudios genéticos y demográficos de las poblacionales. Ciertamente, con marcadores más variables como los microsatélites, se han obtenido valores más altos de diversidad genética, permitiendo detectar estructuración genética en especies de cefalópodos (Reichow & Smith 2001, Casu et al. 2002, Pérez-Losada et al. 2002, Cabranes et al. 2008, Doubleday et al. 2009, Shaw et al. 2010). Para el pulpo *E. megalocyathus*, no existe ningún estudio realizado con microsatélites para contrastar los bajos valores de diversidad encontrados en el presente estudio. Sin embargo, usando

marcadores nucleares RAPDs (Random amplified polymorphic DNA), considerados más variables que los mitocondriales, Hermosilla (2004) también detectó un bajo nivel de variabilidad genética en esta especie. Por consiguiente, ambos marcadores mitocondriales y nucleares muestran que la baja diversidad genética es un patrón más regular de lo que se cree en el pulpo *E. megalocyathus*.

A lo largo del rango de distribución de *E. megalocyathus* se identificaron dos unidades poblacionales, una por la costa sureste del Pacífico y otra por la costa suroeste del Atlántico. Estas dos poblaciones evidenciaron estructuración filogeográfica significativa, sugiriendo un proceso de separación de linajes intraespecíficos. Según Avise (2009), la interrupción del flujo genético entre dos poblaciones, da comienzo a un proceso de diferenciación hasta que todos los alelos de cada población lleguen a tener un ancestro común más cercano entre sí, que con los alelos de otra población. Este estado se le denominó monofilia recíproca, llegando luego de que la genealogía de alelos han transitado por estados previos parafilético y polifilético (Avise 2000). En este estudio un árbol de coalescencia con clados de máxima credibilidad (clado estimado el N_e y el ancestro común más reciente MRCA, Beast), evidenció un estado parafilético, donde el clado constituido por los pulpos de la población del Atlántico mostraron un MRCA, donde no todos sus descendientes estuvieron incluidos, dado que se encontraron coalesciendo con pulpos del clado de la población del Pacífico (Fig. 2.13). En término de muestreo, esto implicó encontrar la co-ocurrencia de haplotipos genealógicamente cercanos y lejanos en la población del Atlántico (H5, H7, H1, H6); y de solo haplotipos genealógicamente cercanos en la del Pacífico (H1, H3, H2, H4, Fig. 2.3). Además, la

coalescencia entre un grupo de pulpos del Atlántico y del Pacífico, sugieren la persistencia de un flujo genético entre ambas poblaciones, especialmente desde el Pacífico hacia el Atlántico.

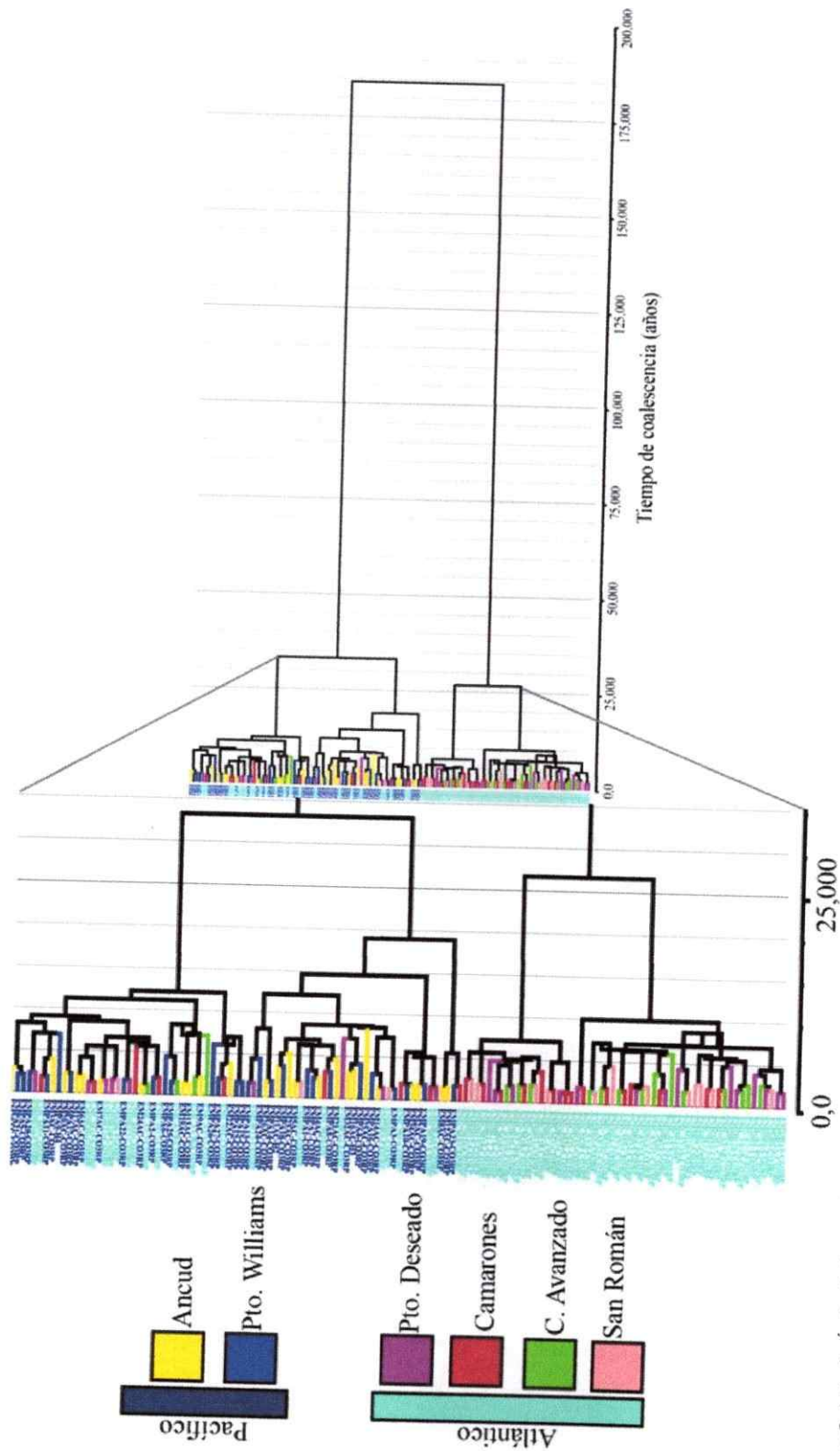


Figura 2.13 a) Árbol de coalescencia con los clados de máxima credibilidad, mostrando el tiempo del ancestro común más recientes en las poblaciones de *E. megalocyathus*. b) Imagen ampliada del árbol de coalescencia, mostrando los nodos de coalescencia de los pulpos de las poblaciones del Pacífico y Atlántico.

El flujo de pulpos migrantes entre ambas poblaciones por generación fue bajo y asimétrico, siendo casi inexistente desde el Atlántico hacia el Pacífico. Este flujo asimétrico sugiere ser la causa de la ausencia de una total separación genealógica entre ambas poblaciones. Por otro lado, también sugiere un sistema complejo de conectividad, producto de los propios factores ambientales, históricos y actuales, que caracterizan el extremo sur de Sudamérica.

En la región de la Patagonia, las rutas de dispersión de organismos marinos entre el Pacífico y el Atlántico, y en particular de los estadíos larvales, puede ocurrir a través de dos vías alternativas. Estas vías son: (1) a través del complejo de canales, asociado al Estrecho de Magallanes, y (2) rodeando el extremo sur del archipiélago chileno hasta Cabo de Hornos, continuando por el paso Drake, para seguir hacia el este por el Atlántico, bordeando la plataforma del extremo sur del Continente Sudamericano.

En general, las masas de agua en el sistema de fiordos y canales magallánicos corresponden a agua Subantártica (ASAA) del Pacífico y del Atlántico, y agua dulce (AD), que al mezclarse forman agua Estuarina (AE), y Agua Subantártica modificadas (ASAAM, aguas con salinidad > 31 psu), (Valdenegro & Silva, 2003). Las tres microcuencas que subdividen el Estrecho de Magallanes (“la oriental” entre la entrada del océano Atlántico y la Segunda Angostura, “la central” entre dicha angostura e isla Carlos III, y “la occidental” desde dicha isla hasta la boca occidental del estrecho (Fig. 2.14 a, Sievers & Silva 2006), producen un flujo superficial de AE desde la zona central del estrecho tanto hacia el Pacífico como hacia el Atlántico (Fig. 2.14 b). A la vez, en una capa sub-superficial se produce un flujo neto de ASAA desde el Pacífico, que

ingresa al estrecho sobrepasando el umbral costero de la boca occidental y se hunde hacia el interior bajo la capa superficial (Fig. 2.14 b). Esta masa de agua se mezcla con AD para formar AE y ASAAM en los primeros 150 m. Mientras, la microcuenca occidental se llena bajo los 150 m con ASAA. Una constricción-umbral alrededor de los 100 m de profundidad, frente a la isla Carlos III, actuaría como barrera física, impidiendo que el ASAAM y ASAA provenientes del Pacífico fluyan hacia la microcuenca central (Fig. 2.14 b). Sin embargo, una masa de Agua Estuarina-salada (AE-salada), ubicada entre 75 y 100 m de profundidad, sobrepasaría esta constricción-umbral, y se hundiría en la microcuenca central llenando la zona profunda con AE-salada (Fig. 2.14 b). El flujo entre estas masas o cuerpos de agua, finalmente producirían un llenado diferencial en ambas microcuencas, quedando la occidental con AE en la capa superior (< 75 m), ASAAM en la capa intermedia (75-150 m) y ASAA en la profunda (> 150 m). Mientras, la microcuenca central se llenaría con AE-salada en toda la columna vertical (Fig. 2.14 b, Valdenegro & Silva, 2003). Por otro lado, el ingreso de agua desde el océano Atlántico, no tendría mayor influencia en la microcuenca central del estrecho de Magallanes, pero sí en la microcuenca oriental, afectando el flujo de ingreso y salida de agua que es modulado por el sistema de mareas (Fig. 2.14 a y c, Valdenegro & Silva, 2003). Así, la circulación de las masas de agua por el Estrecho de Magallanes, sugieren que esta vía de conexión entre el océano Pacífico y Atlántico, tendría una limitada dispersión de animales planctónicos, por ejemplo de las paralarvas de *E. megalocyahtus*, consecuencia del restringido o ausente flujo de agua entre las microcuencas más cercanas hacia el Atlántico.

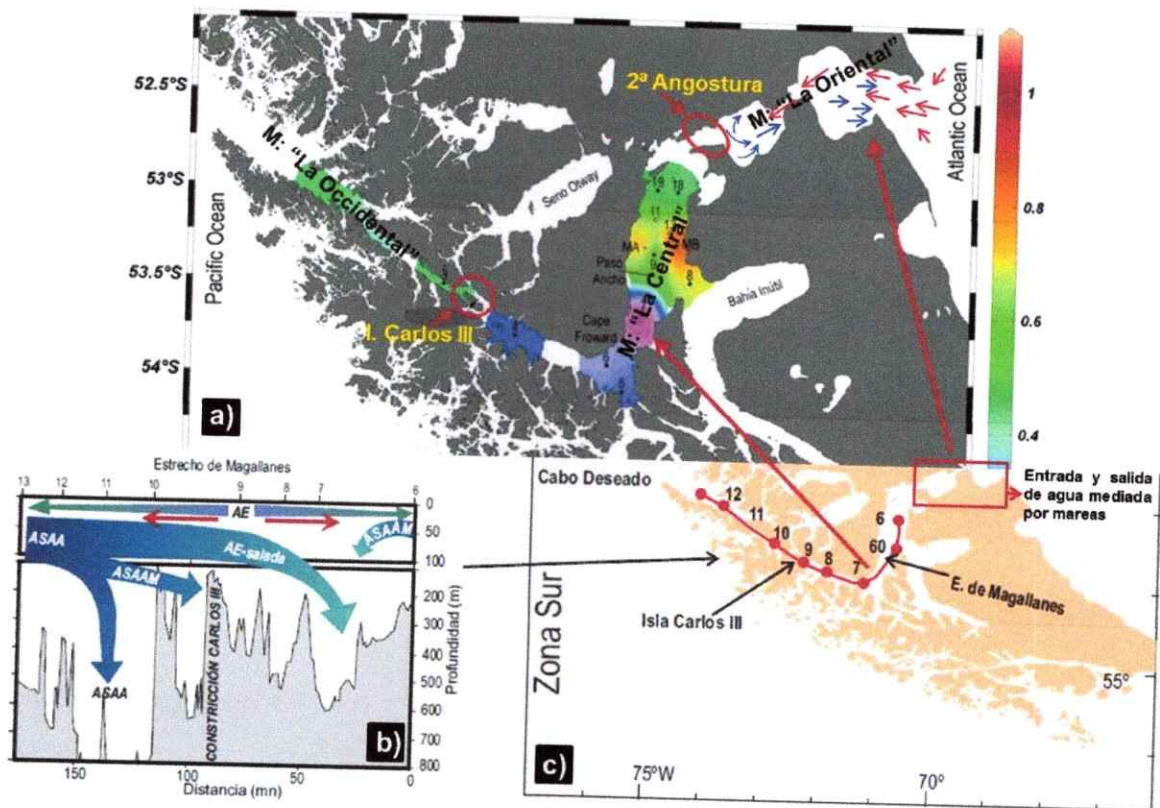


Figura 2.14 a, b y c. Modelo esquemático de circulación de masas de agua por el Estrecho de Magallanes (modificado de Sievers & Silva 2006, y Saggiomo et al. 2011).

Los pulpos son animales que no tienen tolerancia a las bajas concentraciones salinas (Vaz-Pires et al. 2004), dado que son condiciones estresantes hasta fatales, ejemplo es el pulpo *Octopus vulgaris* (Chapela et al. 2006). Incluso Hermosilla y colaboradores (2011) sugieren que la baja salinidad es un factor causal de la ausencia de pulpos en ambientes de estuarios. Entonces las características de un sistema semi-cerrado de los fiordos, con concentraciones alta de agua dulce, obstaculizando el

intercambio o flujo de agua entre el océano abierto y los canales interiores (a lo largo del Estrecho de Magallanes hasta el canal Beagle, incluyendo los canales interiores magallánicos y fueguinos, Antezana 1999), probablemente serían áreas que no se encuentren paralarvas o pulpos juveniles y adultos de *E. megalocyathus*. En este contexto, la conectividad entre las poblaciones de *E. megalocyathus* del Atlántico y del Pacífico, se mantendría o estaría en acuerdo con el patrón de corrientes marinas, bordeando la plataforma del extremo sur de Sudamérica, en un rango batimétrico entre la superficie y los 150 metro de profundidad (rango en el cual se han encontrado paralarvas de *E. megalocyathus*, Carrasco et al. 2012). De esta manera, el flujo de paralarvas migrantes desde el Pacífico hacia el Atlántico probablemente ocurra favorecido por la dirección de la corriente de Cabo de Hornos (que bordea todo el extremo sur del archipiélago chileno y continúa por el Paso Drake), continuando por la Corriente de Falkland hacia este, y por la corriente costera de la Patagonia hacia el norte por el Atlántico (Perillo et al. 2005) (Fig. 2.7). Sin embargo, y pese a que el flujo de las masas de agua debieran favorecer la dispersión en esta dirección, el reducido número de paralarvas migrantes a través del Cabo de Hornos, probablemente sea consecuencia de cambios en las condiciones oceanográficas y de la geomorfología estrecha de la plataforma (costa) en el extremo sur de Sudamérica, en el cruce desde el Pacífico hacia el Atlántico.

En contraste a la estructuración genética observada entre las poblaciones del Pacífico y del Atlántico, la alta homogeneidad genética intrapoblacional sugiere un importante flujo genético, promovido por el respectivo sistema de corriente marina que

circula a lo largo de la plataforma continental del Pacífico y del Atlántico. Un alto nivel de conectividad es una característica habitual para especies con fase planctónica (aunque no la regla, Kelly & Palumbi 2010), como es el caso de varios cefalópodos (Rodhouse et al. 1992, Villanueva 1995, Villanueva & Norman 2008, Hermosilla 2004). Además, se propone el posible aporte de los pulpos adultos al flujo genético, aunque probablemente menor al de las paralarvas. En este aspecto, no existen antecedentes sobre los movimientos migratorios de *E. megalocyahtus*. Los pulpos en general, a pesar de tener la facultad de nadar rápido por períodos cortos de tiempo, habitualmente se movilizan arrastrándose sobre el fondo marino, y por consiguiente se ha sugerido que la migración a grandes distancias de los adultos es poco probable (Allcock et al. 1997). Sin embargo, en el caso de *Octopus vulgaris* se han registrado distancias recorridas de aproximadamente 50 km en 40 días en pulpos marcados (Itami 1963). Por lo que frente a estos antecedentes, no se puede descartar en el caso de *E. megalocyahtus*, el posible aporte de los adultos en la conectividad dentro y entre ambas poblaciones del Pacífico y Atlántico.

En la población del Atlántico, a pesar de la alta homogeneidad genética, se detectó un incremento en los valores de los índices de diferenciación genética en relación con la distancia geográfica (Fig. 2.4). Esta relación sugiere que existiría un modelo de aislamiento por distancia a lo largo de la costa atlántica, donde cada localidad intercambiaría más migrantes con las localidades vecinas que con otras más lejanas (Gaines et al. 2007, White et al. 2010, Galindo et al. 2010). Este patrón se genera cuando la dispersión efectiva de los migrantes es menor al rango de distribución de la especie.

Además, la existencia de un gradiente latitudinal en las frecuencias de los haplotipos más comunes sustenta dicho modelo de diferenciación (Fig. 2.3). De este modo, el incremento de la distancia genética entre localidades más lejanas, permiten suponer que las paralarvas de *E. megalocyathus* no tienen la capacidad de dispersión suficiente para asegurar la conectividad entre localidades más lejanas hacia los extremos del rango geográfico. Según Ortiz et al. (2006), en evidencia basada en experimentos en acuarios, las paralarvas de *E. megalocyathus* tendrían un comportamiento alternado entre planctónico y bentónico (suprabentónico o hiperbentónico). Esto sugiere entonces que las paralarvas no tendrían una fase exclusivamente pelágica, y por lo tanto su potencial de dispersión podría ser condicionado a esta conducta supra o hiperbentónica.

Historia demográfica de Enteroctopus megalocyathus

Un resultado interesante de este estudio, corresponde a la baja diversidad genética mitocondrial detectada en el pulpo *E. megalocyathus*. En concordancia a esta baja diversidad, los tamaños efectivos asociados, han resultado muy inferiores a los tamaños poblacionales estimados indirectamente. En el caso de *E. megalocyathus*, los desembarques pesqueros han sido utilizados como medida indirecta del tamaño de la población del Pacífico, que en promedio han sido cerca de 640 ton anuales de pulpos de esta especie capturados principalmente en Chiloé, entre 1998-2009 (SERNAPESCA 2010). Asumiendo un peso promedio de 1,5 kg por adultos, las capturas ascienden entonces a más de 400.000 individuos (640000/1,5 kg). El tamaño real de esta población debería entonces superar esta cantidad estimada a través de las capturas, y alcanzar

números muy superiores al tamaño efectivo estimado en este estudio (80.000 individuos aprox.), bajo el supuesto del equilibrio mutación-deriva en el programa Lamarck. La diferencia entre tamaños efectivos y reales, ha sido generalmente explicada de dos maneras. Por un lado, una expansión rápida del tamaño poblacional puede generar este patrón, ya que la aparición de nueva diversidad a través de mutaciones es mucho más lenta que los procesos demográficos. Por otro lado, la selección positiva sobre un alelo mitocondrial genera una disminución de la diversidad genética y en consecuencia sobre los tamaños efectivos, sin alterar los tamaños reales. Si bien, ambos procesos no se pueden distinguir a partir del solo patrón de diversidad genética mitocondrial, el proceso demográfico debiera provocar a la vez una marcada disminución de la diversidad genética nuclear, mientras que la selección sobre un gen mitocondrial no tendrá tal efecto. En este sentido, Hermosilla (2004), también detectó una de baja diversidad genética en *E. megalocyathus* con RAPDs, marcadores nucleares altamente polimórficos. Por consiguiente, el patrón de baja diversidad genética con ambos marcadores, mitocondrial (estudio actual Tabla 2.1) y nuclear (Hermosilla en el 2004, Tabla 2.6), respaldaría un escenario donde el pulpo *E. megalocyathus* fue afectado por cambios demográficos pasados, en lugar de un evento de selección.

Tabla 2.6 *Enteroctopus megalocyathus*. Parámetros de diversidad genética de las poblaciones de Hueihue, Quellón, Cerro Avanzado, Bustamante, y de todas la poblaciones en conjunto, (Hermosilla 2004).

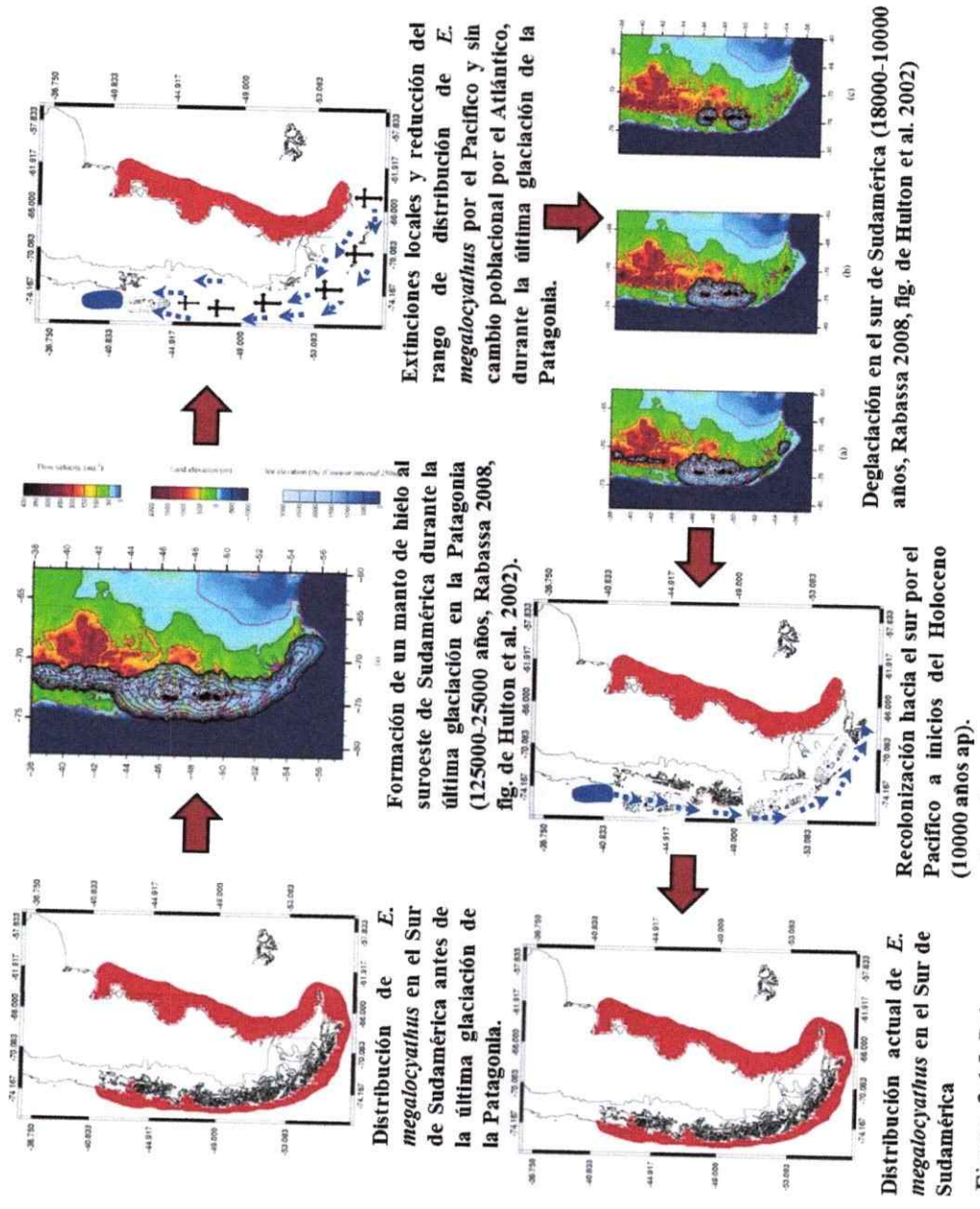
DESCRIPTOR	Huelhue	Quellón	Cerro Avanzado	Bustamante	TODAS
Diversidad génica de Nei (h)	0,230	0,235	0,243	0,231	0,256
(± desv. estándar)	± 0,192	± 0,167	± 0,172	± 0,177	± 0,160
Heterocigosidad promedio					
insesgada H	0,234	0,239	0,250	0,236	0,252
Índice de Información					
de Shannon (I) (± d.e.)	0,355	0,370	0,377	0,363	0,403
	± 0,259	± 0,223	± 0,235	± 0,234	± 0,204
Número de loci polimórficos	47	48	44	48	52
% loci polimórficos	90,38	92,31	84,62	92,31	100,00
Coefficiente de diferenciación					
génica G _{st}					0,088
Flujo Génico Nm					5,173
θ_p (± d.e.)					0,0904
					± 0,0136
Intervalo Confianza (95%)					0,1199 - 0,0688

Las inferencias demográficas realizadas con diferentes aproximaciones sugieren que *E. megalocyathus* experimentó cambios de tamaño poblacional en el Pacífico durante el último período glacial en el Pleistoceno tardío (LG, Last Glaciations). Estos cambios demográficos coinciden con el último máximo glacial (~25000 años), que finalizó después de dos breves re-avances de las condiciones frías, con el inicio del período del cálido Holoceno. La última deglaciación habría comenzado hace ~18000 años ap, intercalado con dos breves reavances glaciales entre los 15507–14348 y 12587–11773 años ap (McCulloch et al. 2005 Rabassa 2008), y finalizó con el inicio de un calentamiento que significó la retirada definitiva de los glaciares desde Magallanes antes de los 10.315 ¹⁴C años ap (11,770-12,580 años cal. años, McCulloch & Davies, 2001). En este contexto, el período de expansión demográfica de *E. megalocyathus* (~10000 años ap), es coincidente con el retroceso final de los glaciares desde Magallanes, y con

el inicio de la expansión de los bosques dentro de la Isla grande de Tierra de Fuego en el primer milenio del Holoceno (Rabassa et al. 2005, Rabassa 2008). En este contexto, y en base a los resultados de las inferencias demográficas, podemos proponer dos escenarios caracterizados por diferentes modelos demográficos en la población del Pacífico:

En el “primer escenario” (Fig. 2.15), la población del Pacífico de *E. megalocyathus* habría sufrido fuerte disminución del tamaño poblacional, que redujo al mínimo su diversidad genética (en un haplotipo H1) durante el último periodo glacial del Pleistoceno (entre los 125000-25000 años ap., Lambeck 2004, Rabassa 2008). En este periodo, además de disminuir drásticamente el nivel mar, se generó la formación de un gran manto de hielo glacial sobre la Patagonia suroeste, que se extendió hasta la zona costera y afectó gran parte del rango de distribución de *E. megalocyathus* por el Pacífico. Esto significó la pérdida de hábitats, provocando extinciones locales que contrajeron drásticamente el tamaño y el rango de distribución de la población de pulpos en áreas libres de hielo hacia latitudes más al norte por el Pacífico (Fig. 2.15). Por el lado Atlántico, la población no habría experimentado significativos cambios demográficos (ver Fig. 2.11 y 2.12). Según los resultados del presente estudio, la población del Atlántico no muestra un patrón particular de contracción y posterior expansión poblacional, inclusive sin alteración de su rango de distribución (similar al actual). Estos resultados calzan con los modelamientos sobre avances glaciales por la Patagonia suroeste, dejando en evidencia la ausencia de una cobertura glacial en la costa por el Atlántico (ver modelos distintos autores en Rabassa 2008), lo que sustenta que la población no habría sido afectada por esta causa. Posteriormente, sobre la base del

tiempo del MRCA (~9838 años ap.) y del patrón de cambio del tamaño efectivo en el tiempo de la población del Pacífico (Fig. 2.10), habría comenzado un proceso de expansión y recolonización hacia el extremo sur por la costa del Pacífico, que coincide con el comienzo del período cálido del Holoceno (\pm los 10000 años ap.). Durante este período habría aumentado la temperatura y el nivel del mar, y la zona del Estrecho de Magallanes fue liberándose del hielo glaciar (según el modelo de Hulton et al. 2002), generando nuevos hábitats que pudieron ser nuevamente colonizados por los pulpos refugiados en la zona norte del Pacífico.



Distribución de *E. megalocyathus* en el Sur de Sudamérica antes de la última glaciación de la Patagonia.

Formación de un manto de hielo al suroeste de Sudamérica durante la última glaciación en la Patagonia (125000-25000 años, Rabassa 2008, fig. de Hulton et al. 2002).

Extinciones locales y reducción del rango de distribución de *E. megalocyathus* por el Pacífico y sin cambio poblacional por el Atlántico, durante la última glaciación de la Patagonia.

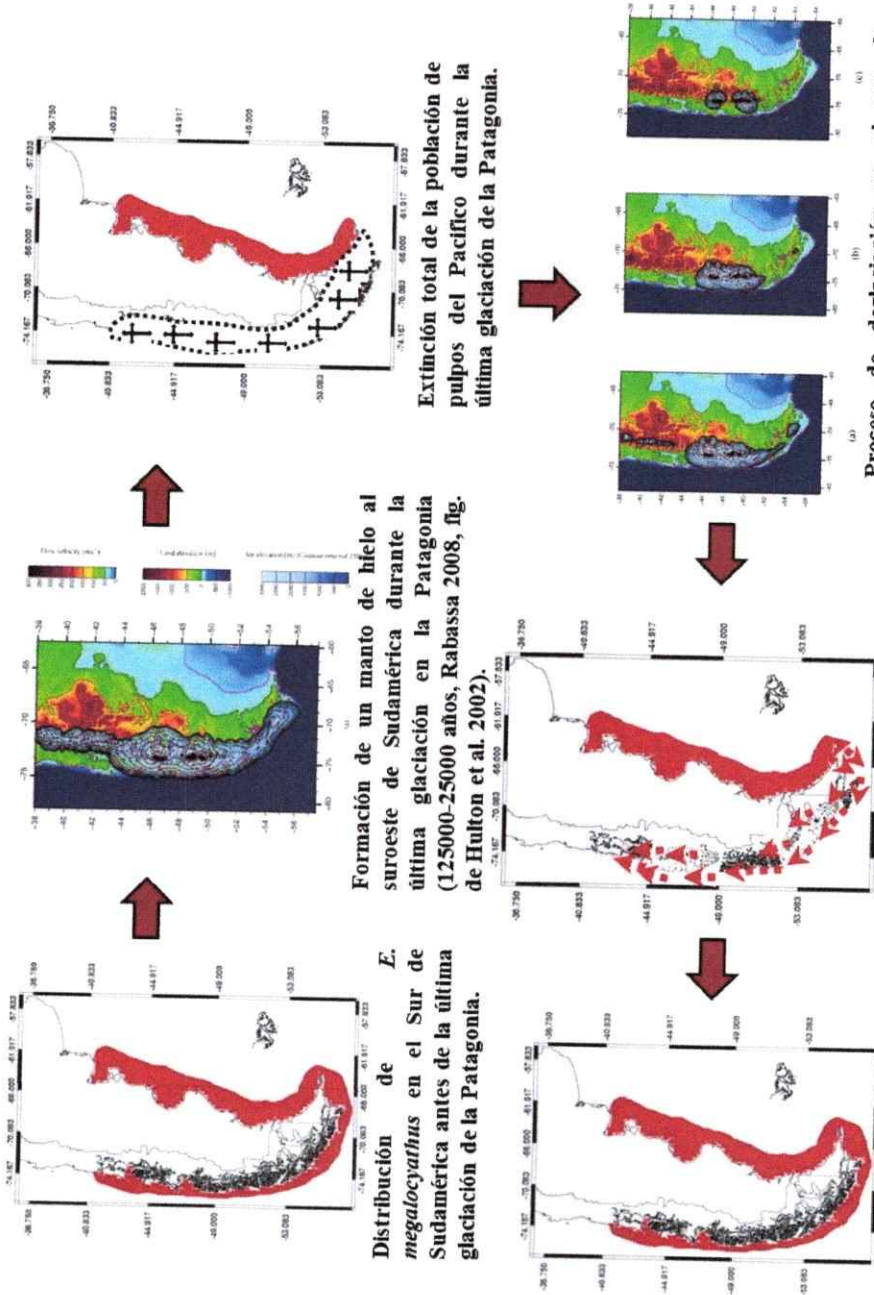
Distribución actual de *E. megalocyathus* en el Sur de Sudamérica

Recolonización hacia el sur por el Pacífico a inicios del Holoceno (10000 años ap).

Deglaciación en el sur de Sudamérica (18000-10000 años, Rabassa 2008, fig. de Hulton et al. 2002)

Figura 2.15 Primer escenario sobre la historia demográfica de *E. megalocyathus* en el sur de Sudamérica.

El “segundo escenario” (Fig. 2.16), concede una explicación potencial a la presencia del haplotipo H1 en ambas poblaciones. En este escenario, una fuerte reducción del tamaño efectivo sufrió la población del Pacífico durante el último periodo glacial, causando su extinción total a lo largo de la costa del Pacífico. Esto, significó que *E. megalocyathus* solo sobrevivió al período glacial, gracias a la persistencia de la población del Atlántico por ± 155000 años. Posteriormente, sobre la base del tiempo del MRCA de la población del Pacífico (~ 10000 años ap, señal de los cimientos de la población con el primer haplotipo), y del comienzo de expansión dentro de los últimos 10000 años, el proceso de recolonización habría comenzado por el extremo sur de la costa del Pacífico, coincidiendo con el comienzo del período cálido del Holoceno. Así, hace ± 10000 años ap, un reducido número de pulpos habrían iniciado un proceso lento de re-colonización hacia el Pacífico, desde la población del Atlántico (Fig. 2.7). Este proceso habría ocurrido con un número reducido de pulpos migrantes (necesitando más de un tiempo generacional para la migración de un pulpo), iniciando la expansión y recolonización, vía efecto fundador del haplotipo H1, por la costa del Pacífico.



Distribución actual de *E. megalocyathus* en el Sur de Sudamérica antes de la última glaciación de la Patagonia.

Formación de un manto de hielo al suroeste de Sudamérica durante la última glaciación en la Patagonia (125000-25000 años, Rabassa 2008, fig. de Hulton et al. 2002).

Extinción total de la población de pulpos del Pacífico durante la última glaciación de la Patagonia.

Distribución actual de *E. megalocyathus* en el Sur de Sudamérica.

Proceso de Colonización (por efecto fundador del haplotipo H1) de la costa suroeste del Pacífico, por pulpos provenientes de la población del Atlántico, durante el Holoceno.

Proceso de deglaciación en el sur de Sudamérica (Deglaciación en el sur de Sudamérica (18000-10000 años, Rabassa 2008, fig. de Hulton et al. 2002)

Figura 2.16 Segundo escenario sobre la historia demográfica de *E. megalocyathus* en el sur de Sudamérica.

En general, los resultados de estructuración genética y de inferencia demográfica se ajustan a las predicciones del primer y segundo escenario. Sin embargo, si se considera lo siguiente: a) Las características hidrológicas particulares en la zona de los fiordos y del Estrecho de Magallanes, las cuales dificultan el flujo de paralarvas mayormente desde el Atlántico hacia el Pacífico. b) La condición de paralarva planctónica concede la facilidad de ser transportada a grandes distancias vía dirección de las principales corrientes, la del Cabo de Hornos por el Pacífico, y la de Malvinas por el Atlántico, c) el patrón de estructuración filogeográfico, que sugiere un estado parafilético, consecuencia del flujo genético que se mantienen por el flujo de pulpos migrantes desde el Pacífico hacia el Atlántico. Todas estas características sugieren que el primer escenario sea el más probable de haber ocurrido, ya que es más probable el escape de las paralarvas del manto de hielo glacial hacia latitudes al norte por el Pacífico, donde la temperatura fue más adecuada para la sobrevivencia de la población. Luego de la deglaciación, los pulpos habrían comenzado su expansión nuevamente hacia el sur, a través de la corriente de Cabo de Hornos por el Pacífico, y luego por la de Falkland/Malvinas por el Atlántico. Finalmente, si bien los resultados de estructuración genética y de inferencia demográfica se ajustan a las predicciones de estos modelos planteados, la presencia y la persistencia del haplotipo H1 en ambas poblaciones durante todo el último ciclo glacial, no sustenta un escenario de separación por más de 100000 años. En este contexto, para estudios posteriores se sugiere poner a prueba un escenario alternativo, que trata de explicar la baja diversidad genética y el patrón de distribución la frecuencia de los haplotipos de la población del Atlántico. En los dos escenarios

propuestos anteriormente, la población del Atlántico es representativa de una estabilidad demográfica inferida. Bajo el punto de vista de la teoría de la Genética de Poblaciones, la estructura demográfica de una población define su estructura genética (Slatkin 1994). La variación temporal del tamaño poblacional determina la fuerza global de la deriva genética, y sus efectos pueden ser observados en cambios en su diversidad genética y por ende en su tamaño efectivo poblacional (Slatkin 1994). En este contexto, una población de gran tamaño y sin variaciones demográficas significativas, debería exhibir una alta diversidad alélica conformada por varios haplotipos frecuentes y muchos haplotipos únicos (Freeland 2005). En el caso de la población del Atlántico, constituida por solo dos haplotipos frecuentes (H1 y H5), cada uno enlazado con solo un haplotipo único (Fig. 2.2), no es representativo de una población de gran tamaño y estable en el tiempo. Al contrario, señala una población que podría haber sido afectada por eventos demográficos y recientes. Además, la inferencia demográfica de la población del Atlántico, sugiere ser producto de una sobreestimación de los tamaños efectivos en los intervalos de coalescencias mayores, consecuencia del mayor número de diferencias entre los haplotipos H1 y H5. Todos estos antecedentes mencionados, instan el planteamiento de un escenario alternativo, que ha diferencia de los dos escenarios anteriores, especifica contracción demográfica en la población del Atlántico, y posterior expansión post deglaciación. En este escenario alternativo ambas poblaciones, la del Pacífico y Atlántico, habrían experimentado reducciones del tamaño poblacional durante el último periodo glacial del Pleistoceno. Los cambios climáticos y oceanográficos que ocurrieron durante este período glacial, entre ellos la formación del manto de hielo sobre

la Patagonia suroeste (Hulton et al. 2002, Fig. 2.17 b), reducción en el nivel del mar (en 120 mt menos a lo actual), y disminución de la temperatura superficial (entre los 125000-25000 años ap., Lambeck 2004, Rabassa 2008), afectó a la especie causando masivas extinciones locales, reduciendo el tamaño y del rango de distribución de las dos poblaciones con los haplotipos H1 y H5 en el Pacífico y Atlántico respectivamente (Fig. 2.17 c). En el caso de la población del Pacífico, la diversidad genética se habría reducido al haplotipo H1, mientras la población del Atlántico se habría reducido al haplotipo H5. De este modo, ambas poblaciones tuvieron que migrar buscando refugio para su sobrevivencia, hacia latitudes más al norte por ambos lado de Sudamérica (Fig. 2.17 c). Consecutivamente, coincidiendo con el comienzo de la deglaciación y el período cálido del Holoceno (entre \pm los 10000 años ap., Fig. 2.17 d), la recolonización hacia el extremo sur de Sudamérica comenzó con la población H1, refugiado en latitudes al norte por el Pacífico (Fig. 2.17 e). Además, con el deshielo total desde la zona del Estrecho de Magallanes hacia el sur (según el modelo de Hulton et al. 2002), y con la estabilización de los dos sistema de corrientes, la de Cabo de Hornos por el Pacífico, y la de Falkland/Malvinas por al Atlántico, se originó un flujo genético mediante la migración de pulpos, vía efecto fundador del haplotipo H1 desde el Pacífico hacia el Atlántico (Fig. 2.17 e), reflejado en la relación inversa en la frecuencia de los haplotipos H1 y H5 a lo largo del Atlántico. Finalmente, *E. megalocyathus* en la actualidad mostró un rango de distribución que abarca toda la Provincia Magallanica del sur de Sudamérica (Fig. 2.17 f).

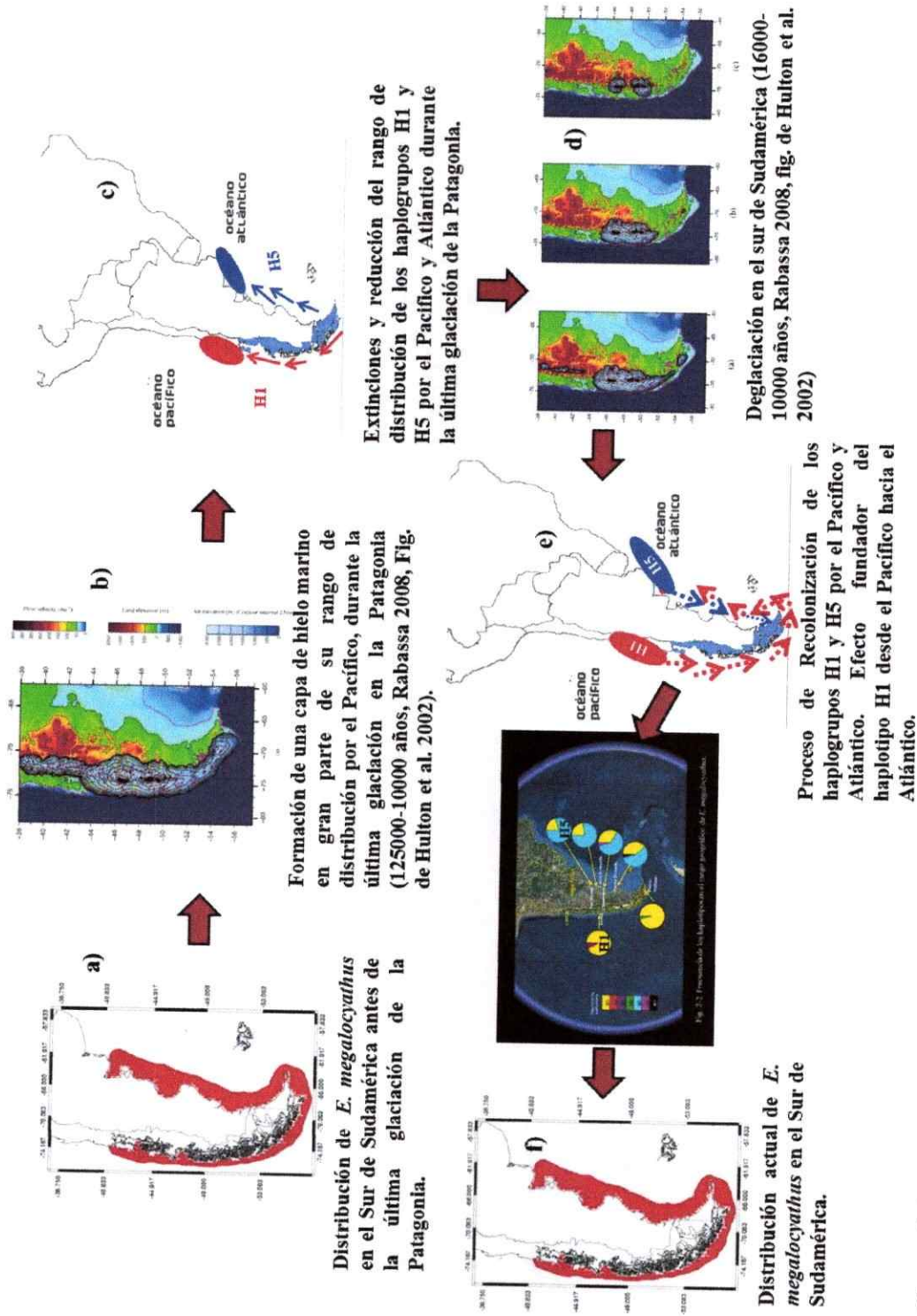


Figura 2.17 Escenario alternativo sobre la historia demográfica de la especie *E. megalocyathus* en el sur de Sudamérica.

2.6 LITERATURA

- Aljanabi SM & I Martinez (1997) Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research* 25(22):4692-4693.
- Allcock A.L., Strugnell J.M. & Johnson M.P. (2008). How useful are the recommended counts and indices in the systematics of the Octopodidae (Mollusca: Cephalopoda). *Biological Journal of the Linnean Society*, 95, 205–218.
- Allcock AL, AS Brierley, JP Thorpe & PG Rodhouse (1997). Restricted gene flow and evolutionary divergence between geographically separated populations of the Antarctic octopus *Pareledone turqueti*. *Marine Biology*, 129: 97-102.
- Antezana T (1999) Hydrographic features of Magellan and Fuegian inland passages and adjacent Subantarctic waters. *Scientia Marina*, 63 (1): 23-34.
- Avise JC (2000) *Phylogeography*. Harvard University Press, Massachusetts, pp 446.
- Bandelt HJ, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16: 37–48.
- Beerli P (2011) MIGRATE, Version 3.2.17: Migrate Documentation.<http://popgen.csit.fsu.edu/migrate/download.html>.
- Bo Sun, MJ Siegert, SM Mudd, D Sugden, S Fujita, C Xiangbin, JY Tang Xueyuan & L Yuansheng (2009). The Gamburtsev mountains and the origin and early evolution of the Antarctic Ice Sheet. *Nature*, 459 (4) 690-693.
- Brierley AS, JP Thorpe, GJ Pierce, MR Clarke & PR Boyle (1995) Genetic variation in the neritic squid *Loligo forbesi* (Myopsida: Loliginidae) in the northeast Atlantic

Ocean. Marine Biology 122: 79–86.

Brierley AS, PG Rodhouse, JP Thorpe & MR Clarke (1993) Genetic evidence of population heterogeneity and cryptic speciation in the ommastrephid squid *Martialia hyadesi* from the Patagonian Shelf and the Antarctic Polar Frontal Zone. Marine Biology 116: 593–602.

Burban C, RJ Petit, E Carcreff & H Jactel (1999) Range wide variation of the maritime pine bast scale *Matsucoccus feytaudi* Duc. (Homoptera: Matsucoccidae) in relation to the genetic structure of its host. Molecular Ecology 8: 1593-1602.

Cabranes C, P Fernandez-Rueda & J Martínez (2008) Genetic structure of *Octopus vulgaris* around the Iberian Peninsula and Canary Islands as indicated by microsatellite DNA variation. ICES Journal of Marine Science 65: 12–16.

Cárdenas L, AX Silva, A Magoulas, J Cabezas, E Poulin E & FP Ojeda (2009b) Genetic population structure in the Chilean jack mackerel, *Trachurus murphyi* (Nichols) across the South-eastern Pacific Ocean. Fisheries Research 100:109-115.

Cárdenas L, JC Castilla, F Viard (2009a) A phylogeographical analysis across three biogeographical provinces of the south-eastern Pacific: the case of the marine gastropod *Concholepas concholepas*. Journal Biogeography, 36: 969-981.

Carrasco SA, R Maltrain, F Villenas & MA Vega (2012) New records of early life-stages of cephalopods in the Chiloé Interior Sea. Latin American Journal of Aquatic Research, 40(1): 229-235.

Cassone BJ & EG Boulding (2006) Genetic structure and phylogeography of the lined shore crab, *Pachygrapsus crassipes*, along the northeastern and western Pacific

Coasts. *Marine Biology*, 149: 213–226.

Casu M, F Maltagliati, M Meloni, D Casu, P Cossu, G Binelli & M Curini-Galletti (2002) Genetic structure of *O. vulgaris* (Mollusca, Cephalopoda) from the Mediterranean Sea as revealed by a microsatellite locus. *Italian Journal of Zoology* 69: 295–300.

Chapela A, AF González, EG Dave, F Rocha & A Guerra (2006) Growth of common octopus (*Octopus vulgaris*) in cages suspended from rafts. *Scientia Marina* 70: 121–129.

Chevolot M, G Hoarau, AD Rijnsdorp, WT. Stam & JL Olsen (2006) Phylogeography and population structure of thornback rays (*Raja clavata* L., Rajidae). *Molecular Ecology* 15, 3693–3705.

Cunningham CW & T Collins (1998) Beyond area relationships: Extinction and recolonization in marine molecular biogeography. pp. 297–322 in *Molecular Approaches to Ecology and Evolution* (R. DeSalle, Schierwater, B., eds.). Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland.

Doubleday ZA, JM Semmens, AJ Smolenski & PW Shaw (2009) Microsatellite DNA markers and morphometrics reveal a complex population structure in a merobenthic octopus species (*Octopus maorum*) in south-east Australia and New Zealand. *Marine Biology* 156: 1183–1192.

Drummond AJ & Rambaut A (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7: 214–222.

- Drummond AJ, A Rambaut, B Shapiro & OG Pybus (2005) Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Molecular Biology and Evolution* 22: 1185–1192.
- Dupanloup I, S Schneider, L Excoffier (2002) A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology* 11: 2571–2581.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47–50.
- Filatov DA (2002) ProSeq: a software for preparation and evolutionary analysis of DNA sequence data sets. *Molecular Ecology Notes* 2:621–624.
- Freeland JR (2005) *Molecular Ecology*. John Wiley & Sons, Chichester.
- Fu YX (1997) Statistical Tests of Neutrality of Mutations Against Population Growth, Hitchhiking and Background Selection. *Genetics Society of America*, 147: 915–925.
- Gabe SH (1975) Reproduction in the giant octopus of the North Pacific, *Octopus dofleini martini*. *The Veliger* 18: 146–150.
- Gaines SD, B Gaylord, LR Gerber LR, A Hasting & BP Kinlan (2007) Connecting places. The ecological consequences of dispersal in the sea. *Oceanography*, 20: 3, 90–99.
- Galindo HM, AS Pfeiffer-Herbert, MA MCManus, Y Chao, F Chai & SR Palumbi (2010) Seascape genetics along a steep cline: using genetic patterns to test predictions of marine larval dispersal. *Molecular Ecology*, 19: 3692–3707.

- Geyer CJ & EA Thompson (1995) Annealing Markov-chain Monte-Carlo with applications to ancestral inference. *Journal of the American Statistical Association*, 90: 909-920.
- González-Wevar CA, B David & E Poulin (2011) Phylogeography and demographic inference in *Nacella (Patinigera) concinna* (Strebel, 1908) in the western Antarctic Peninsula. *Deep Sea Research II*, 58: 220-229.
- Grosberg RK & CW Cunningham (2001) Genetic structure in the sea: from populations to communities. In: M.D. Bertness, S. Gaines, & M.E. Hay (eds.) *Marine Community Ecology*. Sinauer Associates, Sunderland, MA. pp 61-84.
- Guillot G & F Santos (2009) A computer program to simulate multilocus genotype data with spatially auto-correlated allele frequencies. *Molecular Ecology Resources*, 9(4), 1112-1120.
- Guillot G (2008) Inference of structure in subdivided populations at low levels of genetic differentiation. The correlated allele frequencies model revisited. *Bioinformatics*, 24:2222-2228.
- Guillot G, A Estoup, F Mortier, & JF Cosson. (2005a) A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics*, 170(3): 1261-1280.
- Guillot G, F Santos & A Estoup (2008) Analysing georeferenced population genetics data with Geneland: a new algorithm to deal with null alleles and a friendly graphical user interface. *Bioinformatics*, 24(11):1406-1407.
- Guillot G, R Leblois, A Coulon & A Frantz (2009) Statistical methods in spatial genetics, *Molecular Ecology*, 18: 4734-4756.

- Guzik MT (2004) Molecular phylogenetics and the evolutionary history of reproductive strategies in benthic shallow-water octopuses (Cephalopoda: Octopodinae). PhD thesis, James Cook University, 145 pp.
- Guzik MT, MD Norman & RH Crozier (2005) Molecular phylogeny of the benthic shallow-water octopuses (Cephalopoda: Octopodinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37: 235–248.
- Gysels ES, B Hellemans, C Pampoulie & FA Volckaert (2004) Phylogeography of the common goby, *Pomatoschistus microps*, with particular emphasis on the colonization of the Mediterranean and the North Sea. *Molecular Ecology*, 13: 403–417.
- Harpending HC (1994) Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology* 66: 591-600.
- Haye PA, P Salinas, E Acuña & E Poulin (2010) Heterochronic phenotypic plasticity with lack of genetic differentiation in the southeastern Pacific squat lobster *Pleuroncodes monodon*. *Evolution and Development*, 12:628–633.
- Hermosilla (2004) Variación morfológica y genética entre poblaciones del pulpo de Chiloé *Enteroctopus megalocyathus* (Cephalopoda, Octopoda) en el sur de Chile y Argentina. Tesis DE Biología Marina, Universidad Austral DE Chile, 95 PP.
- Hermosilla C, F Rocha & VD Valavanis (2011) Assessing *Octopus vulgaris* distribution using presence-only model methods *Hydrobiologia*, 670:35–47, DOI 10.1007/s10750-011-0671-y.
- Hewitt G (2000) The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* 405: 907-913.

- Hewitt GM (1999) Post-glacial recolonization of European Biota. *Biological Journal of the Linnean Society*, 68:87-112.
- Hickerson MJ & CW Cunningham (2005) Contrasting Quaternary Histories in an ecologically divergent sister pair of low-dispersing intertidal fish (*Xiphister*) revealed by multilocus DNA analysis. *Evolution*, 59(2): 344–360.
- Hoarau G, JA Coyer, JH Veldsink, WT Stam & JL Olsen (2007) Glacial refugia and recolonization pathways in the brown seaweed *Fucus serratus*. *Molecular Ecology*, 16: 3606–3616.
- Holsinger K.E. & B.S. Weir (2009) Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F_{ST}. *Nature Reviews Genetics* 10, 639-650.
- Hulton NRJ, RS Purves, RD McCulloch, DE Sugden & MJ Bentley (2002) The Last Glacial maximum and deglaciation in southern South America. *Quaternary Science Reviews*, 21: 233–241.
- Ibáñez CM & J Chong (2008) Feeding ecology of *Enterocyathus megalocyathus* (Gould 1852) (Cephalopoda: Octopodidae). *Journal of the Marine Biological Association of the UK*. 88: 793-798.
- Ibáñez CM, J Argüelles, C Yamashiro, L Adasme, R Céspedes & E Poulin (2012) Spatial genetic structure and demographic inference of the Patagonian squid *Doryteuthis gahi* in the Southeastern Pacific Ocean. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*. 92: 197-203.
- Ibáñez CM, LA Cubillos, R Tafur, J Argüelles, C Yamashiro & E Poulin (2011) Genetic diversity and demographic history of *Dosidicus gigas* (Cephalopoda:

Ommastrephidae) in the Humboldt Current System. *Marine Ecology Progress Series* 431: 163-171.

Ibáñez CM, PA Camus & F Rocha (2009) Diversity and distribution of cephalopod species of the coast off Chile. *Marine Biology Research* 5(4): 374-384.

Itami K, Y Izawa, S Maeda & K Nakai (1963) Notes on the laboratory culture of octopus larvae. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 29: 514–520.

Janko K, G Lecointre, A DeVries, A Couloux, C Cruaud & C Marshall (2007) Did glacial advances during the Pleistocene influence differently the demographic histories of benthic and pelagic Antarctic shelf fishes? – Inferences from intraspecific mitochondrial and nuclear DNA sequence diversity. *BMC Evolutionary Biology*, 7:220, doi:10.1186/1471-2148-7-220.

Kaiser J & F Lamy (2008) Last glacial SST changes in the SE Pacific a bipolar seesaw perspective. *PAGES News*, 16 (1).

Kaplan MR, CJ Fogwill, DE Sugden, NRJ Hultona, PW Kubik & SPHT Freeman (2008) Southern Patagonian glacial chronology for the Last Glacial period and implications for Southern Ocean climate. *Quaternary Science Reviews*, 27: 284–294.

Kass RE & AE Raftery (1995) Bayes Factors. *Journal of the American Statistical Association*, 90:773-795.

Katsanevakis S & G Verriopoulos (2006) Modelling the effect of temperature on hatching and settlement patterns of meroplanktonic organisms: the case of the

- octopus. *Scientia Marina*, 70(4), 699-708.
- Keever CC, J Sunday, JB Puritz, JA Addison, RJ Toonen, RK Grosberg, & MW Hart (2009) Discordant distribution of populations and genetic variation in a sea star with high dispersal potential. *Evolution* 63(12): 3214-3227.
- Kelly RP & RS Palumbi (2010) Genetic structure among 50 species of the northeastern pacific rocky intertidal community. *PLoS ONE* 5(1): e8594. doi:10.1371/journal.pone.0008594.
- Kojima S, R Segawa, I Hayashi & M Okiyama (2001) Phylogeography of a deep-sea demersal fish, *Bothrocara hollandi*, in the Japan Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 217: 135–143.
- Kuhner MK (2006) LAMARC 2.0: maximum likelihood and Bayesian estimation of population parameters. *Bioinformatics* 22:768-70.
- Kuhner MK, J Yamato & J Felsenstein (1998) Maximum likelihood estimation of population growth rates based on the coalescent. *Genetics* 149: 429–434.
- Lambeck (2004) Sea-level change through the last glacial cycle: geophysical, glaciological and palaeogeographic consequences. *Comptes Rendus Geoscience*, 336: 677–689.
- Lamy F, C Rühlemann, D Hebbeln & G Wefer (2002) High- and low-latitude climate control on the position of the southern Peru-Chile Current during the Holocene. *Paleoceanography* 17:1028.
- Larmuseau MHD, JKJ Van Houdt, J Guelinckx, B Hellemans & FAM Volckaert (2009) Distributional and demographic consequences of Pleistocene climate fluctuations

- for a marine demersal fish in the north-eastern Atlantic. *Journal of Biogeography*, 36: 1138–1151.
- Lee Hj & Eg Boulding (2007) Mitochondrial Dna Variation In Space And Time In The Northeastern Pacific Gastropod *Littorina Keenae*. *Molecular Ecology* 16: 3084–310.
- Librado P. & Rozas J. (2009) Dnasp V5: A Software For Comprehensive Analysis Of Dna Polymorphism Data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452.
- Maggs CA, R Castilho, D Foltz, C Henzler, MT Jolly, J Kelly, J Olsen, KE Perez, W Stam, R Väinöla, F Viard & J Wares (2008) Evaluating signatures of glacial refugia for north Atlantic benthic marine taxa. *Ecology*, 89(11): S108–S122.
- Maltagliati F, P Belcari, D Cau, M Casu, P Sartor, G Vargiu & A Castelli (2002) Allozyme genetic variability and gene flow in *O. vulgaris* (Cephalopoda, Octopodidae) from the Mediterranean Sea. *Bulletin of Marine Science* 71: 473–486.
- Mantel N (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* 27: 209–220.
- Marko PB, JM Hoffman, SA Emme, TM MCGovern, CC Keever & LN Cox (2010) The ‘Expansion–Contraction’ model of Pleistocene biogeography: rocky shores suffer a sea change?. *Molecular Ecology*, 19: 146–169.
- McCulloch R & S Davies (2001) Late glacial and Holocene paleoenvironmental change in the central Strait of Magellan, southern Patagonia. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 173: 143–173.

- McCulloch RD, Bentley MJ, RS Purves, NRJ Hulton, DE Sugden & CM Clapperton (2000) Climatic inferences from glacial and palaeoecological evidence at the Last Glacial termination, southern South America. *Journal of Quaternary Science*, 15: 409–417.
- McCulloch RD, CJ Fogwill, DE Sugden, MJ Bentley & PW Rubik (2005a) Chronology of the last glaciation in Central Strait of Magellan and Bahía Inútil, southernmost South America. *Geografiska Annaler*, 87: 289–312.
- McCulloch RD, MJ Bentley, RM Tipping & CM Clapperton (2005b) Evidence for late-glacial ice dammed lakes in the Central Strait of Magellan and Bahía Inútil, southernmost South America. *Geografiska Annaler*, 87: 335–362.
- Mei-Ying X, Ji-Ji L, Bao-Ying G, Zhen-Ming L, Chao Z & Chang-Wen W (2011) Genetic diversity of seven populations of *Octopus variabilis* in china's coastal waters based on the 12s rRNA and COIII gene analysis. *Oceanologia et Limnologia Sinica* 42:387-396.
- Moore JK, MR Abbott, JG Richman & DM Nelson (2000) The Southern Ocean at the Last Glacial Maximum: A strong sink for atmospheric CO₂, *Global Biogeochemical Cycles*, 14(1), 455–475.
- Newton MA & AE Raftery (1994) Approximate bayesian-inference with the weighted likelihood bootstrap. *Journal of the Royal Statistical Society Series B-Methodological*, 56: 3-48.
- Olsen JL, WT Stam, JA Coyer, TBH Reusch, C Bostrom, E Calvert, H Christie, S Granger, R La Lumiere, N Milchakova, MP Oudot-Le Secq, G Procaccini, B

- Sanjabi, E Serrao, J Veldsink, S Widdicombe & S Wyllie-Echeverria (2004) North Atlantic phylogeography and large-scale population differentiation of the seagrass *Zostera marina* L. *Molecular Ecology* 13: 1923-1941.
- Oosthuizen A, M. Jiwaji, P. Shaw (2004) Genetic analysis of the *Octopus vulgaris* population on the coast of South Africa *South African Journal of Science* 100: 603-607.
- Ortiz N (2009) Biología poblacional del pulpo colorado *Enteroctopus megalocyathus* en la costa patagónica norte y central y sus implicancias en el manejo pesquero. Doctoral Thesis. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, 190 pp.
- Ortiz N, MA Ré, & F Márquez (2006) First description of eggs, hatchlings and hatchling behaviour of *Enteroctopus megalocyathus* (Cephalopoda: Octopodidae). *Journal of Plankton Research*. 28: 881-890.
- Patarnello T, S Marcato, L Zane, V Varotto & L Bargelloni (2003) Phylogeography of the *Chionodraco* genus (Perciformes, Channichthyidae) in the Southern Ocean. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 28:420-429.
- Perez-Losada MP, Guerra A & Sanjuan A (2002) Allozyme divergence supporting the taxonomic separation of *Octopus mimus* and *Octopus maya* from *Octopus vulgaris* (Cephalopoda: Octopoda). *Bulletin of Marine Science* 71 (2): 653-664.
- Perillo G, MC Piccolo & J Marcovecchio (2005) Coastal oceanography of the western south Atlantic continental shelf (33° to 55°S.) In: Robinson A, Brink KH (eds), *The Global Coastal Ocean: Interdisciplinary Regional Studies and Syntheses*, Vol.14, Ch.9, Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, USA.

- Pons O & RJ Petit (1995) Estimation, variance and optimal sampling of genetic diversity. I. Haploid locus. *Theoretical Applied Genetics* 90: 462-470.
- Pons O & RJ Petit (1996) Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles. *Genetics* 144: 1237-1245.
- Posada D (2008) jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1253–1256.
- Rabassa J & CM Clapperton (1990) Quaternary Glaciations of the Southern Andes. *Quaternary Science Reviews*, 9: 153–174.
- Rabassa J (2008) Late Cenozoic of Patagonia and Tierra del Fuego. En: Rabassa J (ed) *The Late Cenozoic of Patagonia and Tierra del Fuego*. Elsevier. 151-204.
- Rabassa J, AM Coronato & M Salemme (2005) Chronology of the late Cenozoic Patagonian glaciations and their correlation with biostratigraphic units of the pampean region (Argentina). *Journal of South American Earth Sciences*, 20, 81–103.
- Raftery A (1996) Aproximate bayes factor and accounting for model uncertainty in generalized linear models. *Biometrika*, 83: 251-266.
- Raj AK & AS Maurya (2009) Effect of Miocene paleoceanographic changes on the benthic foraminiferal diversity at ODP site 754A (southeastern Indian Ocean). *Indian Journal of Marine Science*, 38(4): 423-431.
- Rambaut A, Drummond AJ (2009) Tracer v1.5. Available at <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer>.
- Reichow D, Smith RJ (2001) Microsatellites reveal high levels of gene flow among populations of the California squid *Loligo opalescens*. *Mol Ecol* 10:1101–1109

- Rocha FJ (1997) Cephalopods in Chilean waters, a review. *Malacological Review*, 30:101-113.
- Rodhouse, PG, C Symon C & EMC Hatfield (1992) Early life cycle of cephalopods in relation to the major oceanographic features of the south-west Atlantic Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 89: 183–195.
- Rogers AR & H Harpending (1992) Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution* 9: 552-569.
- Rousset F (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics* 145: 1219–1228.
- Sandoval-Castellanos E, M Uribe-Alcocer & P Díaz-Jaimes (2010) Population genetic structure of the Humboldt squid (*Dosidicus gigas* d'Orbigny, 1835) inferred by mitochondrial DNA analysis. *J Exp Mar Biol Ecol* 385:73–78.
- Sanjuan A, M Pérez-Losada & A Guerra (1996) Genetic differentiation in three *Sepia* species (Mollusca: Cephalopoda) from Galician waters (Northwest Iberian Peninsula). *Mar. Biol.* 126: 253–259.
- Sá-Pinto A, M Branco, D Sayanda & P Alexandrino (2008) Patterns of colonization, evolution and gene flow in the species of the genus *Patella* in the Macaronesian Islands. *Molecular Ecology*, 17, 519–532.
- Sá-Pinto A, M Branco, GJ Harris & P Alexandrino (2005) Phylogeny and phylogeography of the genus *Patella* based on mitochondrial DNA sequence data. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 325, 95–110.
- Sernapesca (2010) Anuario estadístico de pesca. Servicio Nacional de Pesca, Ministerio

de Economía, Fomento y Turismo, Chile.

- Shaw PW, Hendrickson L, McKeown LJ, Stonier T, Naud MJ, Sauer WHH (2010) Discrete spawning aggregations of loliginid squid do not represent genetically distinct populations. *Marine Ecology Progress Series*, 408:117–127.
- Shemesh A, D Hodell, X Crosta, S. Kanfoush, C. Charles, & T Guilderson (2002) Sequence of events during the last deglaciation in Southern Ocean sediments and Antarctic ice cores. *Paleoceanography*, 17(4), 1056, Doi:10.1029/2000pa000599.
- Sievers HA & N Silva (2006) Masas de agua y circulación en los canales y fiordos australes. In: Silva, N., Palma, S., (Eds.), *Avances en el conocimiento oceanográfico de las aguas interiores chilenas, Puerto Montt a cabo de Hornos*. Comité Oceanográfico Nacional–Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, pp. 53–58.
- Slatkin M (1994) Gene flow and population structure. In: *Ecological Genetics*, L. Real (ed). Princeton University Press, Princeton NJ, 3-17 pp.
- Snyder S (1986a) Successful rearing of *Octopus dofleini* from hatchling to settlement. *American Association of Zoological Parks and Aquariums 1986 Annual Conference Proceedings*, 781–783.
- Strugnell JM & AR Lindgren (2007) A barcode of life database for the Cephalopoda? Considerations and concerns. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 17: 337-344.
- Suchard MA, RE Weiss & JS Sinsheimer (2001) Bayesian selection of continuous-time Markov chain evolutionary models. *Molecular Biology and Evolution* 18: 1001–1013.

- Tajima F (1989) Statistical methods to test for nucleotide mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123: 585–595.
- Tello J, J Escamilla Sánchez, L Rodríguez Gil, A Gongora & J Carrillo (2006) Estructura Genética del Pulpo *Octopus maya* en los Estados de Campeche y Yucatán en la Península de Yucatán. *Gulf and Caribbean Fisheries Institute* 57: 744-752..
- Teske PR, A Oosthuizen, I Papadopoulos & NP Barker (2007) Phylogeographic structure of *Octopus vulgaris* in South Africa revisited: identification of a second lineage near Durban harbor. *Marine Biology* 151: 2119–2122.
- Triantafillos T, GD Jackson, M Adams & ML McGrath Steer (2004) An allozyme investigation of the stock structure of arrow squid *Nototodarus gouldi* (Cephalopoda: Ommastrephidae) from Australia. *ICES J Mar Sci* 61:829–835.
- Uthicke S and Benzie JAH (2003) Gene flow and population history in high dispersal marine invertebrates: mitochondrial DNA analysis of *Holothuria nobilis* (Echinodermata: Holothuroidea) populations from the Indo-Pacific. *Molecular Ecology* 12: 2635-2648.
- Valdenegro A & N Silva (2003) Caracterización oceanográfica física y química de la zona de canales y fiordos australes de Chile entre el estrecho de Magallanes y cabo de Hornos (CIMAR 3 Fiordos). *Ciencia y Tecnología del Mar*, 26(2): 19-60.
- Vaz-Pires P, P Seixas & A Barbosa (2004) Aquaculture potential of the common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797): a review. *Aquaculture* 238: 221–238.
- Villanueva R & MD Norman (2008) Biology of the planktonic stages of benthic

- octopuses. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 46: 105-202.
- Villanueva R (1995). Experimental rearing and growth of planktonic *Octopus vulgaris* from hatching to settlement. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52: 2639–2650.
- Wares JP & CW Cunningham (2001) Phylogeography and historical ecology of the North Atlantic intertidal *Evolution* 55(12): 2455–2469.
- Warnke K, R Söller, D Blohm, & U Saint-Paul (2004) A new look at geographic and phylogenetic relationships within the species group surrounding *Octopus vulgaris* (Mollusca, Cephalopoda): indications of very wide distribution from mitochondrial DNA sequences. *Journal of Zoological Systematics and Evolution Research*, 42: 306–312.
- White C, KA Selkoe, J Watson, DA Siegel & DC Zacherl et al. (2010) Ocean currents help explain population genetic structure. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277: 1685–1694.
- Zane L, S Marcato, L Bargelloni, E Bortolotto, C Papetti, M Simonato, V Varotto & T Patarnello (2006) Demographic history and population structure of the Antarctic silverfish. *Pleuragramma antarcticum*. *Molecular Ecology*, 15: 4499-4511.
- Zheng X, Q Li, Z Wang, R Yu, C Tian & R Wang (2005) Genetic diversity in populations of *Sepiella Japonica* based on the mitochondrial DNA sequence analysis. *Phuket Marine. Biological Center Research Bulletin*. 66: 195–201.
- Zheng XD, RC Wang, XF Wang, S Xiao & B Chen (2001) Genetic variation in population of the common Chinese cuttlefish *Sepiella maindroni* (Mollusca:

Cephalopoda) using allozymes and mitochondrial DNA sequence analysis. *J. Shellfish Res.* 20(3): 1159–1165.

CAPITULO III

**FILOGEOGRAFÍA DEL PULPO *Octopus mimus* EN LA COSTA OESTE DE
SUDAMERICA: Conectividad, estructura y expansión en escenarios históricos y
contemporáneos**

3.1 RESUMEN

La costa oeste de Sudamérica ha sido afectada por varios eventos climáticos y oceanográficos durante la Última Glaciación. Estos eventos han dejado huellas genéticas en las poblaciones que pueden ser detectadas mediante aproximaciones filogeográficas. Al pulpo *Octopus mimus*, distribuido por la costa del Perú y norte de Chile se realizaron análisis filogeográficos. Para esto, se amplificó el gen COIII, con el propósito de realizar análisis de diversidad genética, estructura poblacional e historia demográfica. Se encontró una baja diversidad genética en esta especie, que además muestra una disminución en el rango de distribución hacia el sur. No fue posible detectar varias unidades genéticas distintas, pero se evidenció una sola unidad poblacional homogénea. Se detectó, un patrón de aislamiento genético por la distancia geográfica, sugiriendo limitaciones en la dispersión de las paralarvas a distancias mayores a 1000 km. Además se encontró un flujo asimétrico de pulpos migrante en diferentes direcciones, consecuencia del sistema de corrientes y contracorrientes que fluyen por la costa oeste de Sudamérica, A la vez, se se evidenció un patrón de estructuración filogeográfica en esta población a lo largo del rango de distribución. Finalmente, la inferencias demográficas sugieren que la población de *O. mimus* habría experimentado reducciones demográfica que calzan con los cambios océano-atmosféricos por el SCH durante la Última Glaciación del Pleistoceno. Esto significó reiteradas reducciones del tamaño y distribución de la población hacia latitudes cálidas durante los avances glaciales; con posteriores expansiones y recolonizaciones en los períodos interglaciales para finalmente en el Holoceno terminar de establecer el rango de distribución actual por el SCH.

3.2 INTRODUCCIÓN

El borde occidental de Sudamérica desde Perú hasta Chiloé se caracteriza por ser una línea costera continua y carente de quiebres geográficos considerables, a excepción del llamado “codo” de Arica (ca. 18° 20' S, límite entre Perú y Chile). Por causa de este quiebre, la dirección de la línea costera cambia desde una orientación suroeste a noroeste, y sigue virtualmente recta hasta el Canal de Chacao al norte de Chiloé (Camus 2001). Todo este rango latitudinal forma parte de la gran extensión del sistema de corrientes de Humboldt (SCH, Fig. 3.1 a), uno de los ecosistemas marinos más productivos (Thiel et al. 2007). Las condiciones oceanográficas dominadas por el SCH, caracterizan a la región por: 1) un flujo hacia el norte de aguas superficiales de origen sub-antártico; 2) la ocurrencia de surgencias de aguas frías sub-superficiales ricas en nutrientes que generan una alta productividad primaria (Fig. 3.1 b y c), y posiciona a la región a nivel mundial como una de las más productivas en recursos pesqueros (Thiel et al 2007, Chavez et al. 2008, Echevin et al. 2008, Montecino & Lange 2009); 3) la Zona de Mínimo Oxígeno (ZMO) en aguas sub-superficiales (Echevin et al. 2008, Fig. 3.2 a y b), condición oceanográfica que influye fuertemente en la distribución batimétrica de las comunidades sub-litorales (Thiel et al 2007). A su vez, estas condiciones oceanográficas en el SCH, son intervenidas por la advección de masas de aguas ecuatoriales hacia el sur, con una regularidad cíclica que puede ser Decadal (Oscilación Decadal del Pacífico, PDO) o interanual (El Niño), reconocidos como fuente moderna de variabilidad en el SCH (Wang et al. 1999, McPhaden, 1999, Chavez et al. 2008).

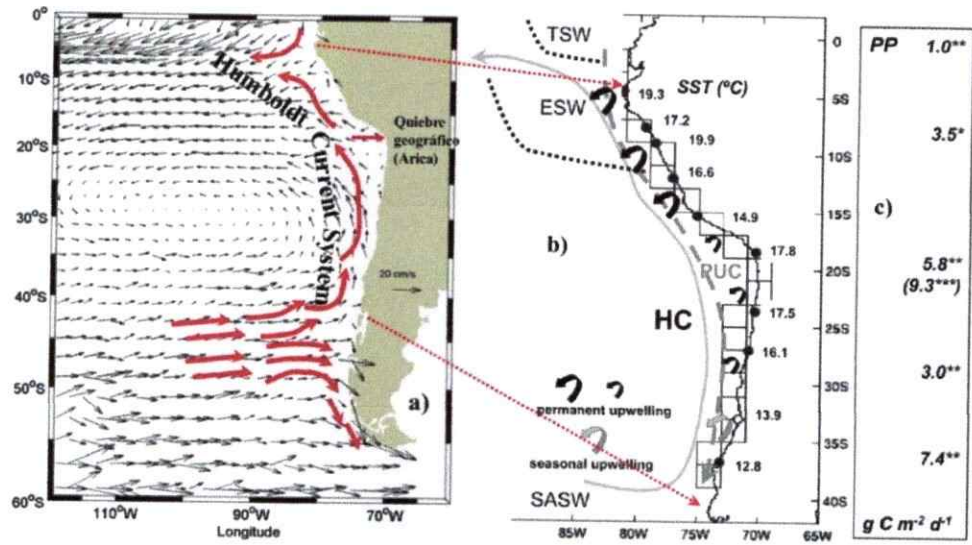


Figura 3.1: Principales características del Sistema de la Corriente de Humboldt (HCS). a) Corrientes superficiales promedio obtenidos desde un seguimiento por satélite desde 1991 a 2005 (O. Pizarro, de la Universidad de Concepción). b) Masas de agua y corrientes (Strub et al. 1998; Graco et al. 2007), representación esquemática de surgencias permanentes y temporales (flechas negro y gris claro respectivamente, Mackas et al. 2006), y valores promedios de las temperaturas superficiales del mar (TSM en C°) en diferentes localidades de Montecinos et al. (2003). c) Valores diarios de la producción primaria (PP) media (*) máxima (**) y gruesa (***) basados en Tarazona et al. (2003), Montecinos et al. (2006a), Henríquez et al. (2007) y Montero et al. (2007). Líneas grises sólidas y discontinuas representan la corriente de Humboldt (CH), contracorriente subterránea hacia el polo (PUC); (TSW) aguas tropicales superficiales, (ESW) aguas superficiales ecuatoriales, (SASW) aguas sub-antárticas superficiales (modificado de Montecino & Lange 2009).

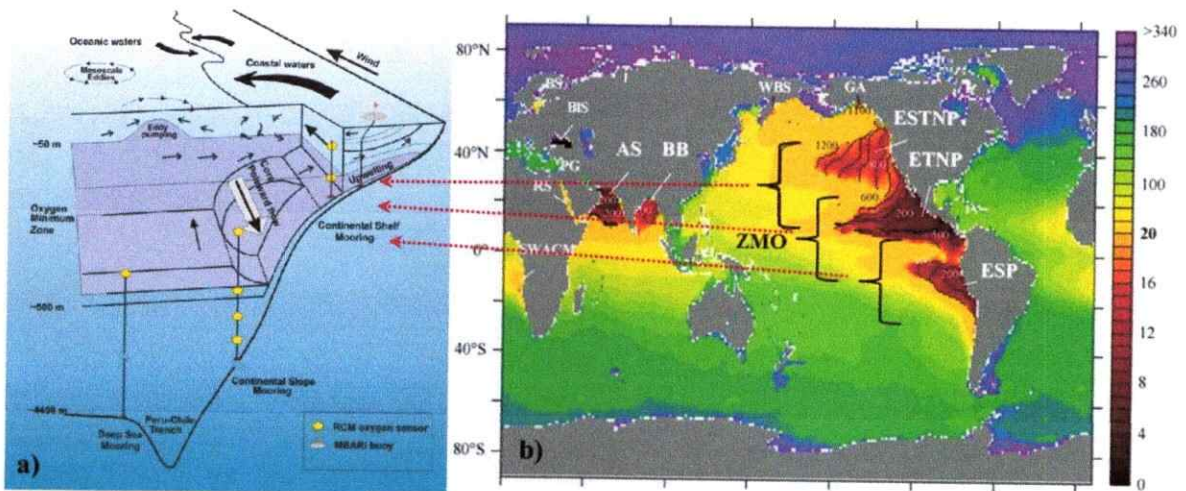


Figura 3.2 a) Masa de agua superiores del océano (flechas negras) con oxígeno obtenido por difusión y circulación rápida. Esta agua se hunde hacia el fondo marino distribuyendo oxígeno necesario para la vida en las profundidades. Sin embargo, una circulación lenta o una elevada descomposición de materia orgánica reducen severamente las concentraciones de oxígeno produciendo la zona de mínimo oxígeno (ZMO). La ZMO puede cubrir miles de kilómetros cuadrados y extenderse desde los 50 a 1300 metros de profundidad. b) Se forman generalmente en los márgenes orientales debido a corrientes intensas y eventos de surgencia. La surgencia de aguas ricas en nutrientes produce una superabundancia de organismos. La gran cantidad de materia orgánica que muere y sedimenta, es degradada por bacterias. Las bacterias consumen tanto oxígeno que lo agotan en bastas zonas y puede ocurrir que en profundidades medias contengan mucho menos oxígeno que aguas sobre y bajo ellas.

Las actuales condiciones en el sistema de corrientes de Humboldt son el resultado de una serie de cambios climáticos y oceanográficos históricos, que a su vez también han ido cambiando la distribución y la composición de la fauna marina costera (Thiel et al. 2007, Camus 2001, Cárdenas et al. 2009). En este ecosistema, las especies han experimentado cambios asociados a eventos en diferentes escalas de tiempo. Durante el Terciario se observaron cambios radicales en la fauna costera desde un tipo subtropical y en un ambiente mucho más cálido, a una fauna de carácter más frío similar a la actual (Camus 2001). Estos cambios estuvieron vinculados aparentemente con la aparición del SCH, y los sistemas de surgencias costeras (Camus 2001, Tsuchi 2002). Con la progresiva glaciación de la Antártica (durante el Mioceno) y con el inicio de la Corriente de Deriva del Oeste originando el SCH, habrían causado en consecuencia el enfriamiento de la costa Sureste del Pacífico (Camus 2001). Desde el Plioceno, y en particular durante el Pleistoceno tardío, los ciclos glaciales-interglaciales habrían causado en el hemisferio sur, el desplazamiento hacia latitudes más al norte de la Corriente Circumpolar Antártica (CCA), lo que en consecuencia implicó cambios en la fuerza y posición del Anticiclón del Pacífico Sureste, el desplazamiento del cinturón de Vientos del Suroeste y por ende de la Corriente Deriva del Oeste. Estas variaciones océano-atmosféricas causaron cambios en la intensidad de las surgencias y el incremento en la advección de masas de agua antárticas en el SCH (según registros durante el Último Máximo Glacial, Mohtadi et al. 2004, Kaiser et al. 2005, Hebbeln et al. 2002, Kaiser & Lamy 2008), lo que en consecuencia habría involucrado cambios en la temperatura de la superficie del mar (SST) y en los niveles de productividad marina a lo

largo de la costa del Pacífico oriental (Hebbeln et al. 2002, Mohtadi et al. 2004, Kaiser et al. 2005, Romero et al. 2006, Mohtadi et al. 2008, Fig. 3.3). Estudios realizados sobre la diversidad genética e historia demográfica en varias especies costeras del hemisferio norte, sustentan que durante los periodos de glaciación, las poblaciones habrían experimentado drásticos cambios en el rango de distribución (búsqueda de refugios en lugares libres de hielo), por causa de extinciones locales (con un fuerte cuello de botella en la diversidad genética), con el consiguiente patrón genético tipo estrella característico de una recolonización y expansión demográfica post-glaciación (Hewitt 2004, Provan & Bennett 2008, Marko et al. 2010, Lecomte et al. 2004, Grant et al. 2006, Grant & Bowen 2006, Dawson et al. 2006). En este contexto, los cambios océano-atmosféricos asociados a los periodos de glaciación por la costa sureste del Pacífico podrían ser un buen escenario para evaluar sus posibles efectos sobre la diversidad genética e historia demografía de especies marinas distribuidas a lo largo del SCH.

El entendimiento de la variabilidad natural en los ecosistemas marinos a diferentes escalas de tiempo, ha sido esencial para comprender los patrones de cambio en composición de las comunidades, como también para el adecuado manejo de los recursos marinos. En la actualidad, la evidencia sugiere que los grandes ecosistemas marinos son impulsados por fluctuaciones climáticas a escala decadal (Stenseth et al. 2002, Cahuin et al. 2009), promoviendo la reorganización de las comunidades marinas y de las relaciones tróficas, con los consiguientes cambios en la dominancia y la mezcla de especies (Steele 2004, Collie et al. 2004, Cahuin et al. 2009). A su vez, variaciones océano-atmosféricas han tenido un marcado impacto ecológico a escala interanual, repercutiendo en las especies marinas, particularmente en poblaciones de stock pesquero (Philander 1990). En el caso de la costa sureste del Pacífico, particularmente en el SCH ha sido fuertemente afectado por su interacción con la dinámica de la zona ecuatorial, con una periodicidad que va a escala multi-decadal (Oscilación Decadal del Pacífico, PDO), (Chavez et al. 2003, Montecino et al. 2007, Ramos et al, 2008), o interanual (El Niño-Oscilación del Sur, ENSO). Este tipo de ciclos naturales, considerados fuentes modernas de mayores cambios en el sistema océano-atmósfera (Wang et al. 1999, McPhaden, 1999, Chaves et al. 2008), han producido cambios correlacionados en la temperatura superficial, intensidad y fuerza de los vientos, productividad y extensión geográfica de la ZMO (Chavez et al. 2008). Asociados a estos cambios ambientales, es que se han manifestado los efectos biológicos que pueden ser episódicos, ocurriendo solamente a escala local (e.g. variación en la abundancia), o de mayor persistencia en el tiempo y ocurrir a gran escala espacial (e.g. extinciones locales correlacionadas

regionalmente, cambios geográficos en la estructura de las poblaciones y comunidades, Castilla & Camus 1992, Vasquez et al. 2006, Camus 2008). Por ejemplo, cambios en la abundancia de anchovetas y sardinas son algunas de las perturbaciones biológicas asociadas a un régimen de inter-decadal, interrelacionado con cambios en las termoclinas, en la temperatura de la superficie del mar y productividad entre el Pacífico oriental y occidental (ver Chavez et al. 2003). A escala interanual, el efecto biológico del ENSO ha sido en la disponibilidad de nutrientes y por ende la productividad que se propaga hacia los más altos niveles tróficos, inducción de los eventos de migración, importantes cambios en los niveles de sobrevivencia poblacional y/o reclutamiento, causando variaciones en la abundancia local, distribución geográfica y estructura del flujo genético de las poblaciones (Camus 2008). Otros efectos biológicos han sido el incremento en el crecimiento y desarrollo de varias especies oportunistas, algunas de ellas de importancia económica (e.g. *Octopus mimus* y *Argopecten purpuratus*, Ahumada et al. 2000), mortalidad de ciertas especies de macroalgas por falta de nutrientes lo que se traduce en la pérdida de hábitat por varias especies asociadas (Castilla & Camus 1992, Vega et al. 2005, Vásquez et al. 2006), desapariciones masivas o extinciones locales con nuevas invasiones (Camus et al. 1994, Castilla et al. 2005a). El calamar *Dosidicus gigas* es ejemplo de una especie pelágica con pulsos esporádicos y de corto plazo en la abundancia relacionado a cambios ambientales como el ENSO (Ichii et al. 2002; Waluda et al. 2006; Keyl et al. 2008), y la expansión de la ZMO (Caddy & Rodhouse 1998, Zeidberg & Robinson 2007, Keyl et al. 2008, Bograd et al. 2008). En este ecosistema, ciertas especies como el loco, *Concholepas concholepas*, ha mostrado

un patrón asociado a una compleja estructura metapoblacional, consecuencia de la variabilidad espacio-temporal de los períodos de asentamiento larval (González et al. 2004, 2006), dependiente de las condiciones oceanográficas y topográficas de las potenciales áreas de retención (Stotz 1997, González et al. 2004). Otro ejemplo es el ostión *Argopecten purpuratus*, con fluctuaciones pronunciadas del stock natural, y que se ha correlacionado positivamente con períodos de ENSO (Wolff & Mendo 2000). Durante el ENSO, las condiciones de hábitat para este ostión son mejoradas a nivel local o regional, de tal manera que las poblaciones proliferan, y la producción larval y dispersión se incrementan. Además, zonas extintas y nuevos hábitats son recolonizados durante estos períodos (produciendo un fuerte pulso de la biomasa bajo un modelo metapoblacional), para luego, la mayoría experimentar procesos de extinción local (Wolff & Mendo 2000, Fig. 3.4). En este contexto, las metapoblaciones en el SCH podrían mantenerse por un balance entre extinciones y recolonizaciones, sujetas a la dispersión y por ende al flujo génico entre las poblaciones locales (Freeland 2005). Las repetidas extinciones y recolonizaciones causarían una reducción de las poblaciones locales, incrementando el efecto de la deriva génica y por ende reduciendo la diversidad genética, lo que finalmente se manifestaría en un patrón de mayor diferenciación o variabilidad genética, bajo un equilibrio entre mutación y deriva génica (Freeland 2005). De este modo, la alteración de la estructura geográfica de las poblaciones, incluso del rango de distribución latitudinal de las especies, es el producto del cambio en la estructura del flujo de genes y la dispersión. En el caso de especies bentónicas costeras, las variaciones genéticas podrían ser impulsadas por la

fragmentación de los hábitat (Thiel et al. 2007), o por el incremento del auto-reclutamiento (Swearer et al. 2002), lo cual fomenta la retención de larvas en áreas particulares cerca de la costa (Vargas et al. 1997, Marín et al. 2001, Castilla et al. 2002a, Escribano et al. 2002, Wieters et al. 2003, Narváez et al. 2004). Esto, afectaría la dispersión (Poulin et al. 2002, Thiel & Haye 2006) y finalmente la conectividad entre las poblaciones locales (Poulin et al 2002a). En síntesis, las fuentes de cambios históricas y contemporáneas en la extensión del SCH, son un modelo referente para someter a prueba sus efectos sobre especies costeras, particularmente las con fase larval planctónica con alto potencial de dispersión, con altos niveles de conectividad y patrones históricos en ausencia de grandes cambios demográficos en esta región.

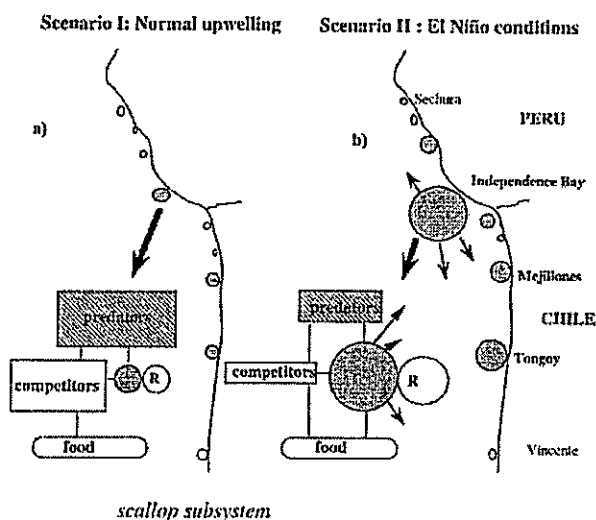


Figura 3.4 Escenarios para las diferentes etapas de la metapoblación de *A. purpuratus* en el Sureste del Pacífico. a): Escenario I. condiciones normales: Bajo éxito reproductivo y tasa de crecimiento en todas las poblaciones locales; alta mortalidad larval; biomasa poblacional fuertemente controlada por depredadores; la mortalidad de adultos compensada por el reclutamiento, sólo, en las principales áreas; fuera de estas áreas, las poblaciones comienzan a extinguirse en una o unas pocas generaciones. b): Escenario II. Condiciones de El Niño: calidad del hábitat incrementa regionalmente; el éxito reproductivo y la tasa de crecimiento de *A. purpuratus* incrementa significativamente; la mortalidad larval se reduce debido al su más corto período, y una menor probabilidad de alejamiento de las larvas desde banco de ostras, la biomasa de depredadores decrece, dando lugar a la liberación de la presión de depredación sobre los ostras. el reclutamiento excede significativamente la mortalidad de los adultos: una alta proliferación poblacional ocurre; nuevos hábitats, así como lugares extintos son colonizados nuevamente por reclutas desde las principales fuentes poblacionales (modificado de Wolff & Mendó 2000).

3.2.1 Modelo de estudio

Los cefalópodos son morfológicamente diversos, aunque comparten en común, que todos son carnívoros, la mayoría crecen rápido y viven poco (muchos viven menos de 1 o 2 años), con excepciones en algunas especies de aguas profundas o frías (Norman 2000, Boyle & Rodhouse 2005). Entre ellos, los pulpos de la Familia Octopodidae se destacan por tener amplios patrones latitudinales y globales de distribución, lo cual involucra ser continuamente susceptibles a cambios en las condiciones oceanográficas y climáticas, causando fluctuaciones en los patrones migratorios y demográficos, que finalmente se manifiestan en cambios en la estructura y distribución de las poblaciones (Anderson & Rodhouse 2001, Collins & Rodhouse 2006), y concomitante en grados distintos de estructuración genética. Miembros del género *Octopus* tienen como representante a dos especies con amplia distribución en distintos continentes, *Octopus vulgaris* y *Octopus cyanea*, ambas con una paralarva planctónica con un alto potencial de dispersión (Villanueva & Norman 2008). Estudios genéticos poblacionales han mostrado patrones complejos de estructuración poblacionales en estas especies. Por ejemplo, estudios realizados utilizando el gen mitocondrial COIII, sugieren una alta homogeneidad genética a lo largo de las costas de Sudáfrica en el pulpo *Octopus vulgaris* (Oosthuizen et al. 2004). Mientras, los marcadores mitocondriales COI y la subunidad ribosomal 16S rRNA han sugerido un cierto grado de estructuración genética en esta misma especie (Teske et al. 2007). También se ha reportado una alta estructuración genética en el Mediterráneo y en el Atlántico cuando se han utilizado marcadores microsatélites en *Octopus vulgaris* (Casu et al. 2002, Cabranes et al. 2007).

Otros ejemplos de estructuración genética con microsatélites han sido en las poblaciones de *Octopus maorum* del sureste de Australia y Nueva Zelanda (Doubleday et al. 2009), como también con isoenzimas en las poblaciones de *Octopus maya* en la Península de Yucatán en México (Tello et al. 2006) y de otras especies más en otros lugares (Maltagliati et al. 2002, Juárez et al. 2010). Todos estos antecedentes mencionados, contrastan con lo esperado para especies de pulpos que tienen una fase larval planctónica con alto potencial de dispersión (50 a 60 días para *Octopus vulgaris* Villanueva 1995); y para pulpos adultos que pueden contribuir con migraciones del orden de decenas de km (Mangold & Boletzky 1973, Smale & Buchan 1981). De esta manera, los pulpos pueden ser un modelo interesante para someter a prueba si los factores oceanográficos y climáticos estarían influyendo en el nivel de conectividad en el rango geográfico, a pesar de presentar una fase larval de larga duración.

Por la costa occidental de Sudamérica se encuentra el pulpo *Octopus mimus* Gould, 1852, distribuido a lo largo del rango latitudinal desde los 30° S en el norte de Chile, región de Coquimbo (Defeo & Castilla 1998) hasta los 4° S en el norte del Perú en Tumbes (Guerra et al. 1999, Cardoso et al. 2004, Fig. 3.5). Batimétricamente abarca el intermareal y roqueríos de la zona submareal hasta aproximadamente 50 metros de profundidad (Defeo & Castilla 1998).

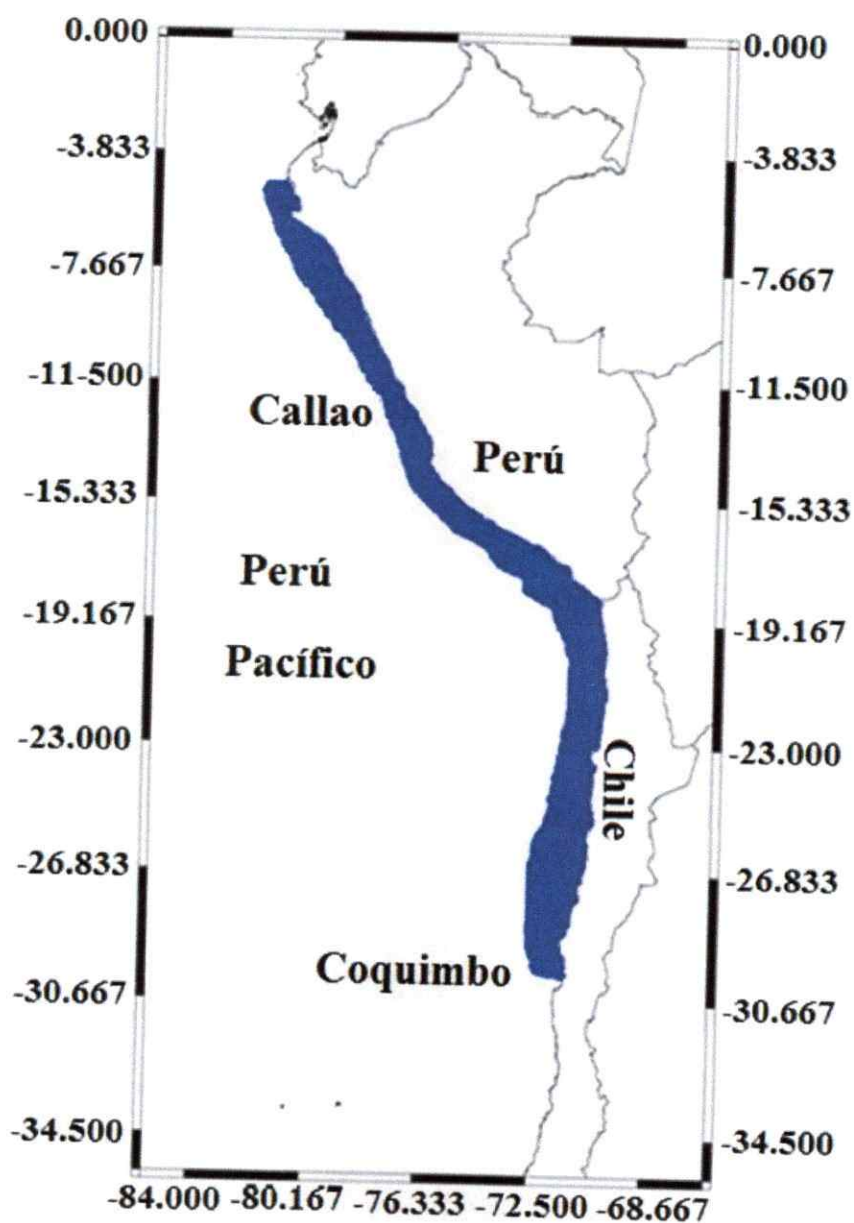


Figura 3.5 Rango de distribución de *Octopus mimus* a lo largo de la costa sureste del Pacífico.

Octopus mimus tiene una reproducción semélpara, con temporadas de desove que pueden extenderse por todo el año consecuencia de la sobreposición de grupos etarios en las poblaciones (Cortez et al. 1995a, 1999). En estado adulto es bentónico, tiene una producción de numerosos huevos pequeños que eclosionan y, de los cuales, salen paralarvas planctónicas que nadan libremente (Fig. 3.6), otorgándole una gran capacidad de dispersión (Boletzky 1977, 1992, Cortez et al. 1995a, Villanueva & Norman 2008). Tiene una vida corta (inferior a dos años), y un metabolismo que le permite altas tasas de crecimiento (O'Dor & Wells 1987; Cortez et al. 1995a). No obstante, su tasa de crecimiento se ha visto influenciado por factores bióticos y abióticos, como la alimentación y variación de la temperatura (Van Heukelem 1979, Boyle & Rodhouse 2005).

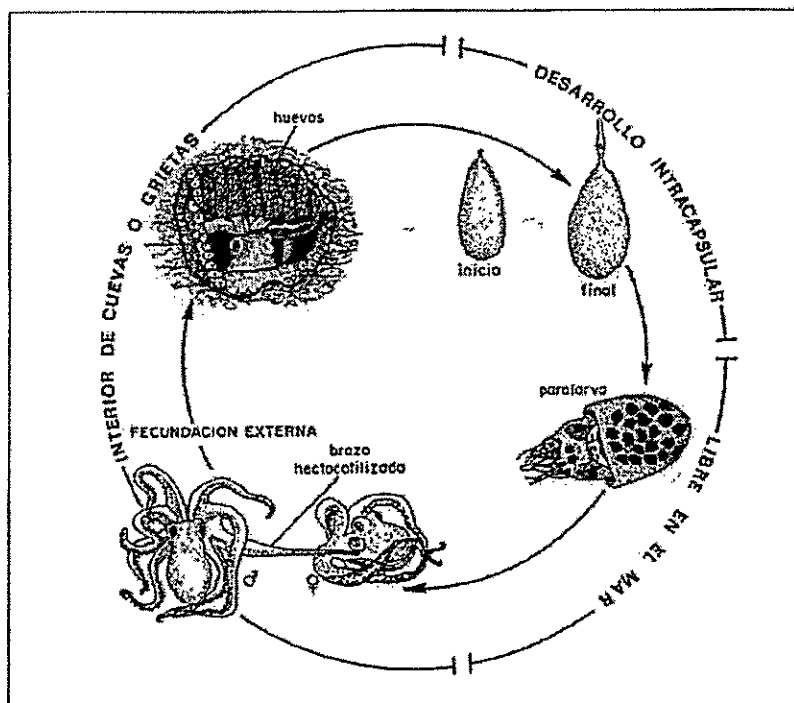


Figura 3.6 Ciclo de vida de *Octopus mimus* (Osorio 2002)

El rango de distribución de esta especie abarca una gran extensión de las aguas frías del sistema de corrientes de Humboldt (SCH) que, junto con la sobreposición de los cambios cíclicos asociados a El Niño Oscilación del Sur (ENSO, Thiel et al. 2007, Chavez et al. 2008), colocan a este pulpos en un escenario con considerables variaciones espacio-temporales. De hecho, en períodos de ENSO (en el 1982-1983) esta especie ha mostrado un aumento significativo en su tasa de crecimiento y abundancia, asociado con el incremento en la temperatura del agua (en un factor de 100 cercano a Antofagasta, Tomicic 1985, Cortez et al. 1995a), contrastando con la fuerte reducción de otros invertebrados (Tomicic 1985, Castilla & Camus 1992). Ciertamente, el aumento de la temperatura del mar durante El Niño, provoca la migración de especies de origen tropical hacia latitudes más altas, generando así un cambio en la composición de especies en el ecosistema del SCH (Castilla et al. 2005), involucrando una oferta nueva de presas para *Octopus mimus* (Cortez et al. 1995b). Sin embargo, las condiciones de temperatura durante El Niño Oscilación del Sur, también pueden afectar negativamente el potencial de dispersión de las paralarvas en esta especie. Un estudio experimental sugirió que en condiciones de surgencia normal, a una temperatura de 16° C, el desarrollo embrionario de *O. mimus* tomó un 35% más de tiempo que en condiciones de un ENSO medio (con 20° C), y un 62% más que en condiciones de un ENSO fuerte (24°C) (Warnke 1999). Si *Octopus mimus* presenta una reducción del período de desarrollo embrionario, esto podría implicar una eclosión más temprana y por consiguiente un periodo larval más corto durante un evento de El Niño, afectando finalmente la capacidad de dispersión de esta especie. En síntesis, *Octopus mimus* tiene

una condición biológica de producir numerosos huevos pequeños que eclosionan en paralarvas planctónicas con un gran potencial de dispersión. Sin embargo, su un rango de distribución a lo largo del SCH, es influenciado por una particular variabilidad espacio-temporal en las condiciones océano-atmosféricas. Estas características biológicas y ecológicas, sitúan a *O. mimus* como una unidad de estudio adecuada para evaluar si mantiene un nivel alto de conectividad, y un patrón histórico demográfico gobernado por una estabilidad poblacional en su rango de distribución por el Sistema de Corriente de Humboldt.

3.3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.3.1 Obtención de muestras

Las muestras de pulpos *Octopus mimus* fueron obtenidas desde siete localidades que abarcando 2000 km de la costa del Pacífico de Sudamérica, entre los 25° 38' 38.55''S - 70° 38' 47.55''O, y los 4° 43' 28.79''S - 81° 23' 52.44''O. Entre Agosto y Octubre del 2009, se recolectaron 30 ejemplares por cada localidad. En Chile se obtuvieron las muestras utilizando pesca artesanal y buceo desde cuatro localidades (Fig. 3.7). Mientras que en Perú, se obtuvieron desde tres localidades, utilizando pesca para investigación, actividad que fue realizada por IMARPE (Instituto del Mar del Perú), la institución gubernamental encargada de la investigación pesquera del Perú. A todos los pulpos se les tomó una muestra de tejido muscular en la zona del manto (2 cm²), la que posteriormente fue guardado en frascos con alcohol de 96°, bien rotulados.

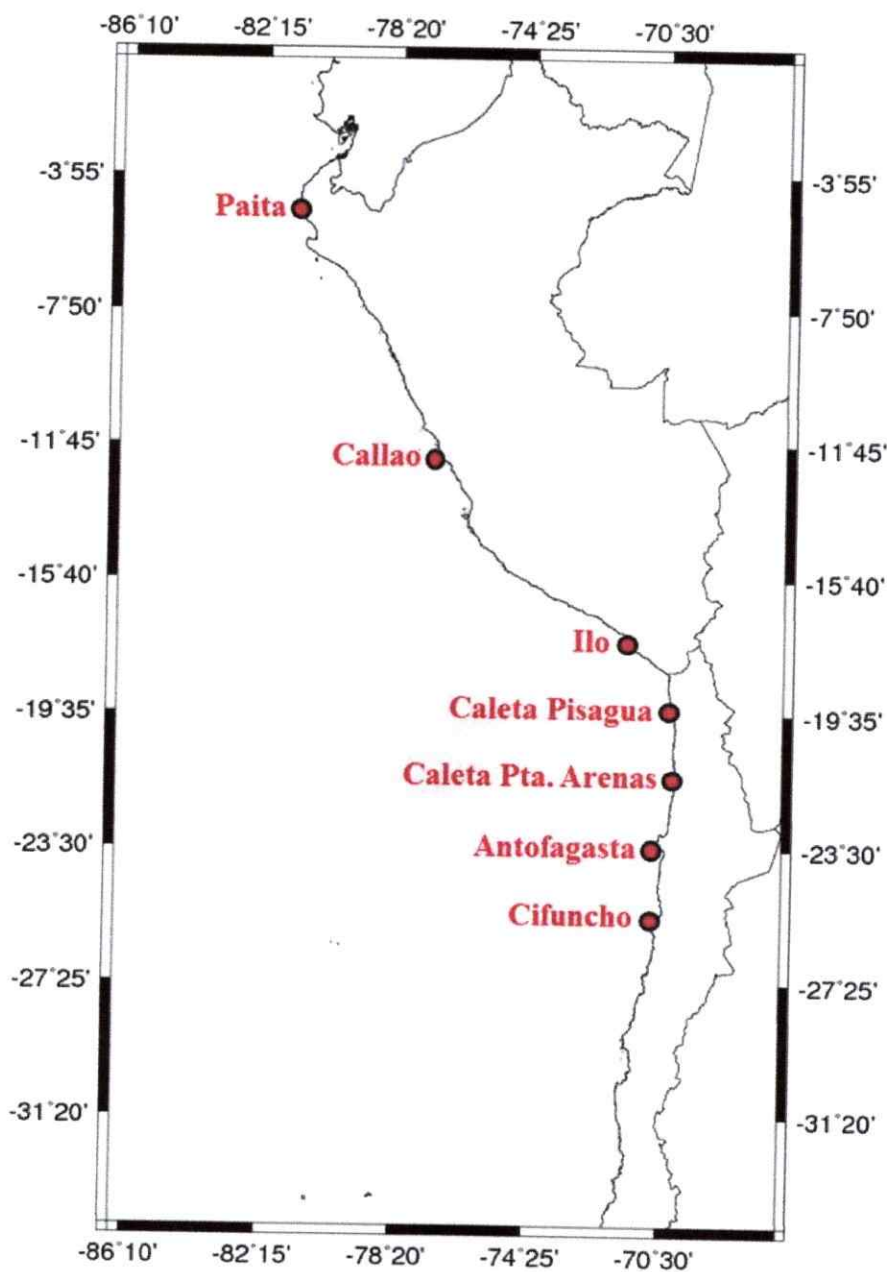


Figura 3.7 Localidades (7) donde fueron obtenidas las muestras de pulpos de la especie *Octopus mimus* a lo largo del Sistema de Corrientes de Humboldt.

3.3.2 Extracción y amplificación del DNA

Utilizando el protocolo de extracción salina (Alhjanabi and Martinez 1997), se realizó la extracción de DNA desde el tejido muscular del manto. La amplificación se realizó utilizando los primer universales (Co3a²: F-5'TTATTTATTGCATCAGAAGT3' y Co3b²: R-5'TCAACAAAGTGTCAGTATCA3', Allcock et al 2008), para amplificar 597 pares de bases (pb), del gen mitocondrial citocromo oxidasa subunidad III (Co3). Para el PCR se utilizó las siguientes especificaciones: 25 ul de reacción, conteniendo 0.25 µl of *Taq* DNA polimerasa (1.0 unidades), 2.5 µl buffer 10X (50mM KCl, 10mM Tris-HCl, pH 8.0), 2 µl dNTPs (10µM), 1.0µl 50mM MgCl₂, y 0.5 µl (10pg/µl) de cada primer (Co3a² y Co3b²). La condiciones óptimas para la amplificación fueron: A) Denaturación inicial a 94° C durante 120 s, B) amplificación que incluye 40 ciclos de denaturación a 94°C por 40s, anillamiento a 48°C por 40 s y extensión a 72°C por 90 s. Finalmente, se realizo una extensión final a 72°C durante 10 minutos. Los amplicones fueron purificados y secuenciados en la empresa MacroGen Inc en Korea. Las secuencias fueron editadas y alineadas al ojo, usando ProSeq version 2.9 (Filatov 2002).

3.3.3 Análisis de datos

Diversidad genética

Se amplificó un fragmento de 534 pares de base. La diversidad genética fue caracterizada mediante el número de sitios polimórficos (S), el número de número de haplotipos (K), la diversidad de haplotipos (Hd), la diversidad nucleotídica (π), y el número promedio de diferencias entre secuencias (Π). En estas estimaciones se

utilizaron aproximadamente 30 individuos por localidad. Todos los índices de diversidad fueron calculados usando Arlequin version 3.5 (Excoffier et al., 2005). Adicionalmente, se realizó un análisis de las relaciones genealógicas entre los haplotipos (datos poblacionales sin recombinación), utilizando el algoritmo Median-Joining para datos binarios, combinado con características del algoritmo de Kruskal's (para encontrar arboles con mínima expansión, favoreciendo conexiones cortas), y el algoritmo heurístico de Farris's máxima-parsimonia (MP, el cual adiciona secuencialmente nuevos vértices llamados "vectores de la mediana"). Se usó por defecto los parámetros $\epsilon = 0$ (nodos ancestrales), una razón de transición/transversión de 1:1, y el método "conexión de costo" para el calculo de distancia, en el software Network versión 4.501 (Bandelt et al. 1999).

Estructura genética poblacional y flujo génico

Para evaluar la estructura genética entre localidades, se utilizó el estadígrafo Φ_{ST} (calculado con el n° de diferencias entre pares de secuencias) y F_{ST} (calculado con la frecuencia de los haplotipos) (Holsinger & Weir 2009), realizado entre pares de distintas localidades, implementado en Arlequin 3.5 (Excoffier et al. 2005). La significancia estadística del Φ_{ST} se basó en 10000 permutaciones. La existencia de estructuración filogeográfica fue evaluada a través de la comparación de los coeficientes de diferenciación genética G_{ST} y N_{ST} observados, descrito por Pons & Petit (1995, 1996). La frecuencia de los haplotipos fue usada para estimar la diversidad genética promedio intra-poblacional (h_S), la diversidad genética total (h_T), y la proporción de la diversidad

total debido a diferencias entre poblaciones (G_{st}), además del número de diferencias entre los haplotipos (N_{st} , distancia entre haplotipos). Para este análisis se utilizó la metodología propuesta por Burban et al. (1999), mediante el uso del programa PERMUT (Pons & Petit, 1995, 1996). En este análisis se realiza un test con 10000 permutaciones aleatorias de N_{st} . Luego, la distribución de los valores de N_{st} permutados son comparados con el valor de N_{st} observado. En el caso de obtener el 5% de los valores permutados mayores al valor de N_{st} observado, entonces el test no es significativo, dado que N_{st} observado cae dentro del 95% de la zona de aceptación de la distribución. En el caso contrario de obtener valores de N_{st} significativamente mayores que G_{st} (95%), entonces es considerado como un indicador de estructuración filogeográfica.

Se realizó un Análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA, Spatial Analysis of Molecular Variance, Dupanloup et al. 2002), en el software SAMOVA, versión 1.01 para averiguar la posibilidad, que algún patrón alternativo de estructuración genética muestre un patrón geográfico. El algoritmo de SAMOVA hace uso de ambos datos, genéticos y geográfico para detectar estructura genética poblacional. La partición de SAMOVA agrupa las muestras (poblaciones locales) con el propósito de maximizar la varianza genética “entre-grupos de poblaciones” y reducir la varianza “entre poblaciones dentro de grupos”. El análisis hace uso del algoritmo de Monmonier el cual consiste en conectar las localidades muestreadas usando la triangulación Delaunay (Delaunay 1934), un método gráfico para definir puntos adyacentes en un mapa y de los genotipos individuales. Luego se asignan los individuos a grupos tales que el Φ_{CT}

(variación entre grupos) es maximizado. Este test de agrupamiento prueba todo los posibles grupos para un K dado, comenzando con $K-1$ grupos de un único individuo y un grupo conteniendo el resto. Los individuos son entonces movidos entre grupos vecinos, y los grupos con el más alto Φ_{CT} es registrado (Dupanloup et al. 2002). De este manera se genera un análisis jerárquico de la varianza genética total, mediante la fracción de la varianza entre localidades (del Φ_{st}), entre grupos de localidades (Φ_{sc}) y entre localidades dentro de grupos (Φ_{CT}) (ver Excoffier et al. 1992). El nivel de significancia de los índices de fijación fue estimado mediante permutaciones no-paramétricas de las poblaciones entre grupos, con 10000 iteraciones. Además, mediante inferencia bayesiana se estimó la probabilidad *a posteriori* de detectar estructuración genética con su respectiva organización espacial, usando datos genéticos y un modelo espacial geo-referenciado en el programa Geneland 4.0.2 (Guillot et al. 2008, Guillot 2008, Guillot & Santos 2009, Guillot et al. 2009). Este método se distingue de otros, por la capacidad de distinguir el número de poblaciones o clusters (K), con sus respectivos límites geográficos, asociado a una incerteza en la asignación de los individuos a estos clúster geográficos (Guillot et al. 2005a). En la ejecución del análisis, la estimación del número de cluster o poblaciones se realizó con cadenas de Markov-Monte Carlos (MCMC) con 10000000 de iteraciones. Primero se realizó un análisis bajo un modelo de frecuencias no-correlacionadas (vector de frecuencias haplotípicas mutuamente independientes entre poblaciones), y luego otro con frecuencias correlacionadas, ambos asociados a un modelo espacial geo-referenciado. En las iteraciones se fueron muestreando cada 1000 parámetros, fijando los valores de K a que sea determinado por

la moda de la distribución a posterior de la cadena de MCMC, descartando el 10 por ciento de las primeras iteraciones que no llegaron a una convergencia. Posteriormente, mediante una Bayes Factor descrito por Newton & Raftery (1994), y con las modificaciones propuestas por Suchard et al. (2001), en el programa Tracer 1.5 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>, Drummond & Rambaut, 2009) se eligió el modelo con mayor probabilidad *a posteriori*, y el que asignó mejor los datos genéticos de cada individuo en los clusters geográficos. Bayes Factor, definido por los likelihoods marginales de los modelos ($\text{pr}(D/M)$) y expresado en: $B_{10} = \text{pr}(D|M_1)/\text{pr}(D|M_0)$; donde B_{10} : logaritmo base 10 de BF, es la razón del likelihood marginal del modelo (M_1) con respecto al modelo (M_0) dado los datos (D). Para interpretar los valores de B_{10} se usó una clasificación donde los valores superiores a 0,5 se consideró una fuerte evidencia, valores superiores a 1 se consideró decisivo y valores inferiores a 0,5 no merecieron mención (Kass & Raftery 1995). Finalmente, los resultados fueron visualizados y graficados en el programa Tracer versión 1.5 (Rambaut and Drummond, 2009). La existencia de una relación entre aislamiento genético y distancia geográfica, bajo un modelo de aislamiento por distancia entre localidades, se evaluó mediante un análisis de correlación entre distancia genética, Φ_{st} (estimado del n° de diferencias entre pares de secuencias) y F_{st} (frecuencia de los haplotipos), y distancia geográfica (km) (test de mantel, Mantel 1967). Esto fue realizado usando el modelo unidimensional, utilizado para grandes distancias (hábitat extendidos), a través una relación lineal entre $\Phi/1-\Phi$ y $F_{st}/1-F_{st}$ con la distancia geográfica (Rousset 1997), implementado en Arlequin 3.5 y en el programa Past.exe (Hammer et al. 2001) respectivamente, donde el nivel de

significancia del coeficiente de correlación fue calculado mediante 10000 permutaciones dentro de las matrices de distancia de cada análisis.

Se estimaron las tasas de inmigración (en cada dirección) entre poblaciones usando el programa Migrate-n 3.2.17 (Beerli 2011). La estimación del número de inmigrantes por generación entre poblaciones locales, se estimó mediante un análisis de las relaciones genéticas entre grupos, aplicando aproximaciones de coalescencia. A través de inferencia bayesiana, y utilizando como priors una distribución uniforme y el único modelo por defecto de sustitución nucleotídica Felsenstein 84 (F84), se estimó la distribución de probabilidad *a posteriori* de los parámetros $\Theta = x \times N_e \times u$ (donde x es la ploidía y herencia de los datos, N_e es el tamaño efectivo de la población, u es la tasa de mutación por sitio por generación), y $M = m/u$. (donde m es la tasa de inmigrantes dividido por u); donde M es una medida de cuanto más importante es la inmigración sobre la mutación para traer nuevas variantes a la población. Del múltiplo de ambos parámetros ($\Theta \times M$) se obtiene el número de inmigrantes por generación ($x \times N_e \times m$). Con este análisis se generaron distribuciones de probabilidad de los parámetros y de las genealogías con distintos intervalos de credibilidad a posteriori (HPD, Highest Posterior Density 95%), representando la incerteza de los parámetros Θ y M estimados. La robustez de las estimaciones fueron evaluadas considerando: a) Diferentes corridas de MCMC (distribuciones con una sola moda) fueron realizadas para chequear la convergencia de las cadenas, b) Los valores de autocorrelación y del tamaño efectivo de las muestras (effective sample size, ESS). Donde altos valores de autocorrelación en los algoritmos involucran frecuentes rechazos de cambios en las cadenas y menor eficiencia

de búsqueda en el espacio. Menor eficiencia de búsqueda implican un insuficiente tamaño efectivo de las muestras de los parámetros ($ESS < 500$), es decir de muestras independientes, y por ende, de un análisis aún sesgado por las condiciones iniciales (priors).

Análisis de la Historia Demográfica

La inferencia demográfica de la(s) población(es) previamente identificadas de *Octopus mimus* (grupos de localidades que no mostraron diferencias genéticas significativas entre ellas) se realizaron los análisis demográficos. Inicialmente, se calculó los índices D de Tajima (el cual compara dos estimadores del parámetro poblacional θ , el número de sitios segregantes y en el número promedio de diferencias entre haplotipos, que bajo un modelo de sitios-infinito y sin recombinación, deben estimar similar cantidad, de lo contrario las diferencias pueden originarse bajo selección, expansión demográfica o heterogeneidad de la tasa de mutación entre sitios, Tajima 1989) y F_s de Fu (bajo un modelo mutacional de sitios-infinito, sin recombinación y basado en la probabilidad de observar k o más haplotipos en una muestra de un determinado tamaño, se obtiene una distribución del estadístico F_s por simulación de un muestreo, de acuerdo a un valor de θ estimado desde el número promedio de diferencias entre pares de haplotipos, Fu 1997), y sus respectivos valores de probabilidad (P-value) en el programa Arlequín. Estos índices detectan desviaciones del equilibrio mutación-deriva de Wright-Fisher, a través del exceso o déficit de haplotipos de baja frecuencia, originado por un crecimiento poblacional, un cuello de botella, o eventos de selección que hayan ocurrido en el

pasado. Posteriormente, para evaluar cambios demográficos se construyó una distribución observada de desajuste entre pares de secuencias (Mismatch distribution), que luego se comparó con una distribución unimodal esperada bajo el modelo de crecimiento poblacional instantáneo de Rogers y Harpending (1992). Conjuntamente, se estimó un índice de desigualdad (raggedness index, Harpending 1994) desde la distribución observada, para probar si se ajustó a la distribución unimodal esperada bajo el modelo de crecimiento instantáneo. En seguida, y solo cuando la población mostró un patrón de distribución de desajuste unimodal, se realizaron estimaciones de los parámetros de expansión demográfica de Θ_0, Θ_1 y τ , en el software DnaSP versión 5.10.01 (Librado & Rozas 2009). El parámetro $\Theta_0 = 2N_{e0}u$ (donde N_{e0} es el tamaño efectivo poblacional en la actualidad, y u es la tasa de mutación por secuencia, por año) es estimado antes del crecimiento de la población, y el $\Theta_1 = 2N_{e1}u$ es calculado después del crecimiento, mientras que el parámetro $\tau = 2ut$ depende del tiempo t transcurrido desde la expansión en el modelo de Rogers y Harpending (1992). Se estimaron los valores de tamaño efectivo N_e antes y después del crecimiento, así como el tiempo t transcurrido desde este evento, asumiendo una tasa de mutación de 2 % por nucleótido y por millón de años en molusco (Strugnell y Lindgren 2007, referencia incluidas).

Se realizaron nuevas inferencias demográficas por cada población, utilizando ahora el programa LAMARC versión 2.1.6. (Kuhner 2006). A diferencia del análisis anterior, el cual estimaba los parámetros del modelo de crecimiento poblacional instantáneo, este programa asume un modelo de crecimiento o decrecimiento poblacional de tipo exponencial (Kuhner et al. 1998). En este análisis se construyeron

genealogías de coalescencia, utilizando el criterio de optimización de Máxima Verosimilitud, y a partir de ellos se realizaron estimaciones del parámetro $\Theta = 2N_eu$, y de g que corresponde a la tasa de crecimiento o decrecimiento exponencial de la población, formulado como: $\Theta_t = \Theta_0 e^{-gt}$, donde Θ_t es el valor del parámetro a un tiempo t en el pasado y Θ_0 es el valor en la actualidad de Θ . Un valor positivo de g indica un crecimiento poblacional mientras que un valor negativo señala un decrecimiento. El tiempo se mide en unidades mutacionales y g se mide en unidades inversas de tiempo ($1/u$). Con las genealogías inferidas, se construyó una superficie de verosimilitud, y donde se estimaron también los parámetros Θ y g de interés. La estrategia de búsqueda de los parámetros fue una exploración con Cadenas de Markov-Monte Carlo (MCMC), usando el algoritmo Metropolis-Hasting, con múltiples cadenas cortas para hacer más eficiente la conducción de búsqueda de los valores reales (menos sesgada hacia los valores iniciales). Los valores iniciales de los parámetros Θ y g usados fueron 0,01 y 1,00 respectivamente. La ejecución comenzó con 30 cadenas iniciales cada una con 1000 iteraciones, breves, para obtener los valores conductores de búsqueda, y luego se terminó con 2 cadenas finales, mucho más largas para precisar en la estimación final. La longitud de las cadenas largas fue 40000 iteraciones (para controlar la capacidad de refinamiento de las estimaciones). Para reducir la influencia de las genealogías iniciales, se descartó el primer 10% (8000) de las genealogías. En este análisis se asumió una tasa de mutación constante entre secuencias y se utilizó en el algoritmo el modelo por defecto Felsenstein 84 (F84) de sustitución nucleotídica. Se calcularon los valores de tamaño efectivo N_e en función del tiempo t desde el presente, asumiendo la misma tasa

de mutación de 2 % por millón de años. Por convención, se estima el inicio del crecimiento al tiempo en que el tamaño efectivo se reduce al 1% del tamaño efectivo actual.

Un tercer método de inferencia demográfica de las poblaciones de *O. mimus* fue realizado usando inferencia bayesiana utilizando los métodos Bayesian skyride (BSR, Minin et al. 2008) y Bayesian Skyline plot (BSP, Drummond et al. 2005), en el software BEAST version 1.7.2 (Drummond & Rambaut, 2007). Estos análisis a diferencia de los anteriores, no asumen un modelo paramétrico de crecimiento (o decrecimiento) poblacional. Ambos métodos realizan múltiples puntos de cambios y asumen algún grado de autocorrelación entre los sucesivos tamaños efectivos poblacionales. Estos análisis utilizan MCMC que eficientemente van muestreando, en el campo aleatorio Markov Gausiano en el Skyride, y variantes en el generalized skyline plot, para generar una distribución *a posteriori* del parámetro Tamaño Efectivo Poblacional (N_e) a través del tiempo, y estimar el tiempo del ancestro común más reciente (tMRCA) en las genealogías de coalescencia. El método Skyride, a diferencia de los múltiples intervalos de coalescencia agrupados con similares tamaños efectivos en el Skyline plot, los cambios en el tamaño efectivo entre “pequeños” y consecutivos intervalos intercoalescencia son penalizados, ya sea con ser dependiente de las longitudes de los intervalos de coalescencia (time aware) o ser independiente del tiempo (Ho & Shapiro 2001). Estas distribuciones van generando intervalos de credibilidad a posteriori (95% HPD, Highest Posterior Density), representando la incerteza en el N_e y del tMRCA, (Drummond et al., 2005). Antes de realizar los análisis de Bayesian Skyride y Skyline

Plot, se estimó el mejor modelo de sustitución nucleotídica bajo un criterio de decisión bayesiana (BIC), en el programa jModelTest (Posada 2008). Luego, se comparó la generación de árboles de coalescencia utilizando los modelos de evolución molecular con reloj estricto, y luego con reloj relajado. La generación de árboles con reloj relajado se realizó con distribución exponencial y log-normal, con 10 grupos de coalescencia (m , parámetro de suavizamiento) en el BSP, y un método de suavizamiento a prior “time aware” en BSR, ambas usando una tasa de mutación de 2% por millón de años (ver Strugnell & Lindgren 2007 y referencias incluidas). Se corrieron cadenas de Markov Monte Carlos (MCMC) de 200000000 de iteraciones, las cuales se fueron muestreando parámetros y árboles cada 1000 generaciones, descartando los primeros 2000000 millones en el Bayesian Skyline plot. Mientras, se corrieron 25000000 de iteraciones de MCMC, y se fueron muestreando parámetros y árboles cada 1000 generaciones, descartando los primeros 250000 iteraciones en el Bayesian Skyride. En la elección del número de iteraciones, se consideró el número de secuencias analizadas y la complejidad del modelo usado, para así adquirir un tamaño efectivo de la muestra apropiado (> 200). Posteriormente, mediante una Bayes Factor (BF) descrito por Newton & Raftery (1994), y con las modificaciones propuestas por Suchard et al. (2001), en el programa Tracer 1.5 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>, Drummond & Rambaut, 2009) se eligió primero la inferencia demográfica realizada con el mejor método bayesiano descrito anteriormente, y segundo con el modelo de evolución (reloj molecular estricto vs relajado) con mayor probabilidad *a posteriori* y el que representó mejor la historia demográfica de las poblaciones. El Bayes Factor usado, es definido por los likelihoods

marginales de los modelos ($\text{pr}(D/M)$) y expresado en: $B_{10} = \text{pr}(D|M_1)/\text{pr}(D|M_0)$; donde B_{10} : logaritmo base 10 de BF, es la razón del likelihood marginal del modelo (M_1) con respecto al modelo (M_0) dado los datos (D). Para interpretar los valores de B_{10} se usó una clasificación donde los valores superiores a 0,5 se consideró una fuerte evidencia, valores superiores a 1 se consideró decisivo y valores inferiores a 0,5 no merecieron mención (Kass & Raftery 1995). Finalmente, los resultados fueron visualizados y graficados en el programa Tracer versión 1.5 (Rambaut and Drummond, 2009).

3.4 RESULTADOS

Diversidad genética

Se encontraron 8 haplotipos de los fragmentos de 534 pb del gen COIII, de un total de 197 pulpos *O. mimus*. Cada localidad en que se realizaron los muestreos mostró una baja diversidad haplotípica, nucleotídica, pocos sitios polimórficos y bajo número de diferencias entre secuencias (Tabla 3.1). Incluso con esta tendencia acentuándose hacia el sur del rango de distribución.

Tabla 3.1. Diversidad genética de *Octopus mimus* en el Sistema de Corrientes de Humboldt. N: n° de individuos, K: n° Haplotipos, S: sitios polimórficos, Hd: diversidad de Haplotipos, π : diversidad Nucleotídica, Π : n° diferencia entre pares de secuencias.

Tabla 4.1 *Octopus mimus* 534 pb

Localidades	N	K	S	Hd	π		P		
PERÚ				x	d.e.	x	d.e.	x	d.e.
Paíta	30	5	7	0,457	0,107	0,003	0,001	1,338	0,853
Callao	24	5	7	0,370	0,122	0,003	0,001	1,370	0,875
Ilo	33	2	1	0,117	0,073	0,000	0,001	0,117	0,189
CHILE									
Caleta Pisagua	23	5	9	0,324	0,124	0,002	0,002	0,783	0,590
Caleta Punta Arenas	26	1	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Antofagasta	25	1	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Taltal-Cifuncho	26	2	5	0,077	0,070	0,001	0,001	0,385	0,374
TOTAL	187	13	14	0,609	0,034	0,002	0,001	1,110	0,608

Las relaciones genealógicas de los haplotipos de *O. mimus* mostraron un patrón caracterizado por un haplotipo dominante H1, separado por un paso mutacional del haplotipo de menor frecuencia H4, y de 3 haplotipos únicos H5, H6, H8 (Fig. 3.8). El haplotipo H1 se presentó en 179 (90,9%) de los 197 pulpos analizados y fue encontrado en todas las localidades. Los haplotipos H7, H2 y H3, en este orden se encontraron unidos por un paso mutacional y separados por 6, 5 y 4 pasos mutacionales del haplotipo H1 respectivamente. Los Haplotipos H2 y H4 fueron encontrados en localidades tanto del Perú como en Chile. En cuanto a los haplotipos H3 y H5 fueron encontrados en Callao, los haplotipos H6 y H7 en Paita en el Perú, y el haplotipo H8 fue solo encontrado en caleta Punta Arenas en Chile.

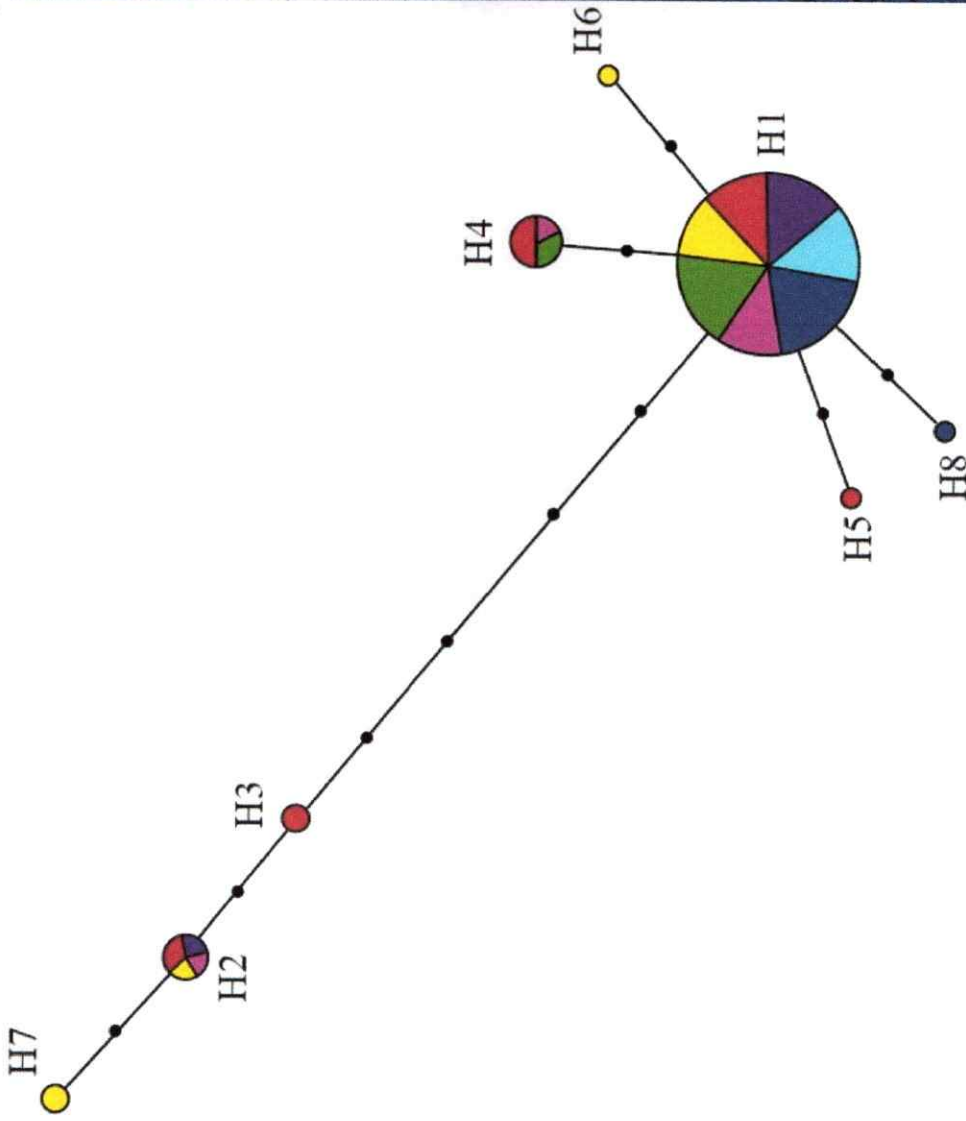


Figura 3.8 Red genealógica de los haplotipos del pulpo *Octopus minus*.

A lo largo del rango geográfico de *O. mimus* se encontró que el haplotipo H1 aumenta su frecuencia a medida que disminuye el número de haplotipos hacia el sur. (Fig. 3.9). Esta tendencia fue evidenciada con un análisis de correlación entre la distancia genética y geográfica de los pulpos, mostrando un incremento en los valores de $\Phi/(1-\Phi)$ y de $F_{st}/(1-F_{st})$ con la distancia geográfica ($\Phi/(1-\Phi)$: $(r)= 0,538$, $p= 0.025$, $F_{st}/(1-F_{st})$: $r= 0,8262$, $p= 0,00238$, Fig. 3.10).

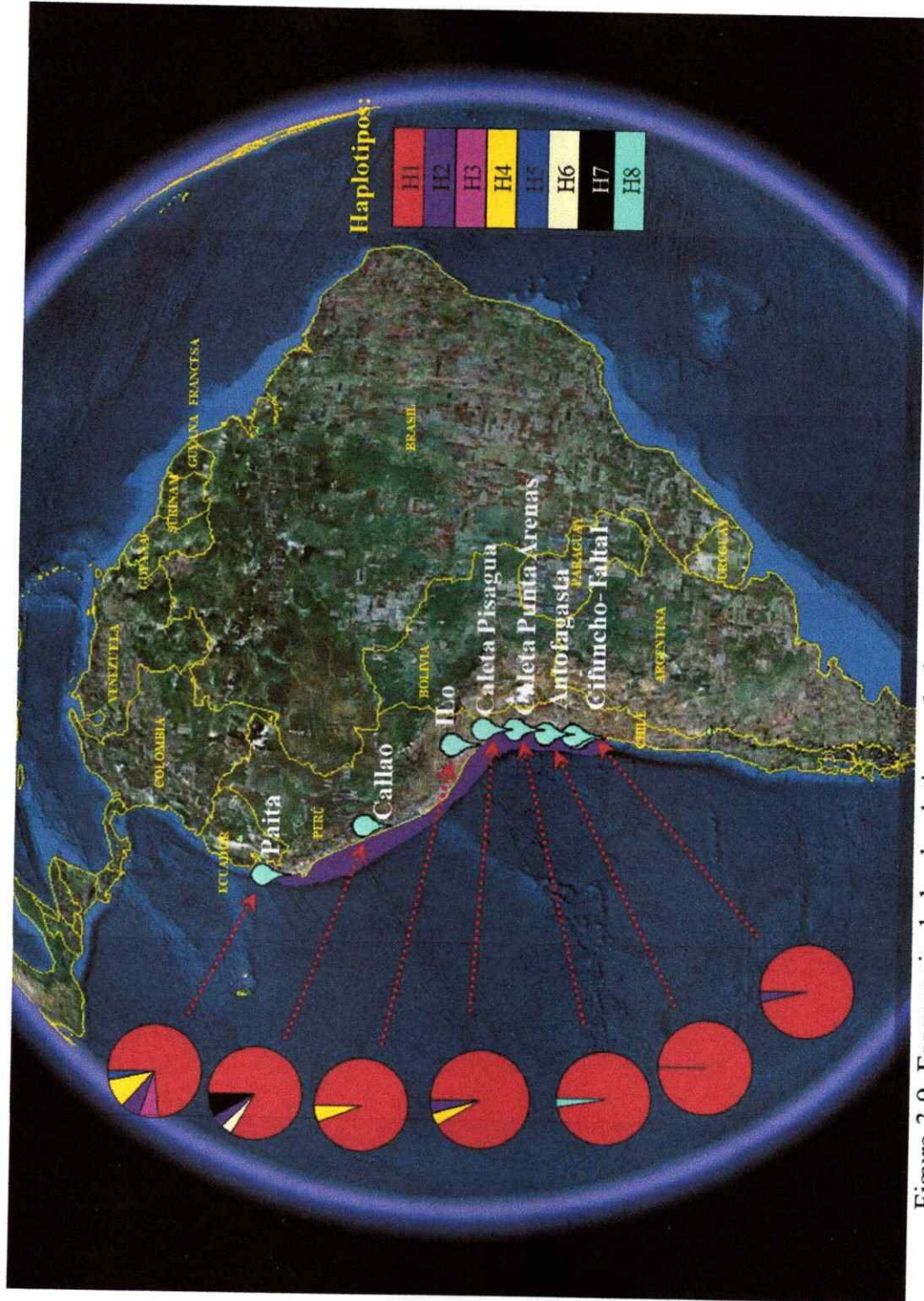


Figura 3.9 Frecuencia de los haplotipos a lo largo del rango geográfico de *Octopus mimus*.

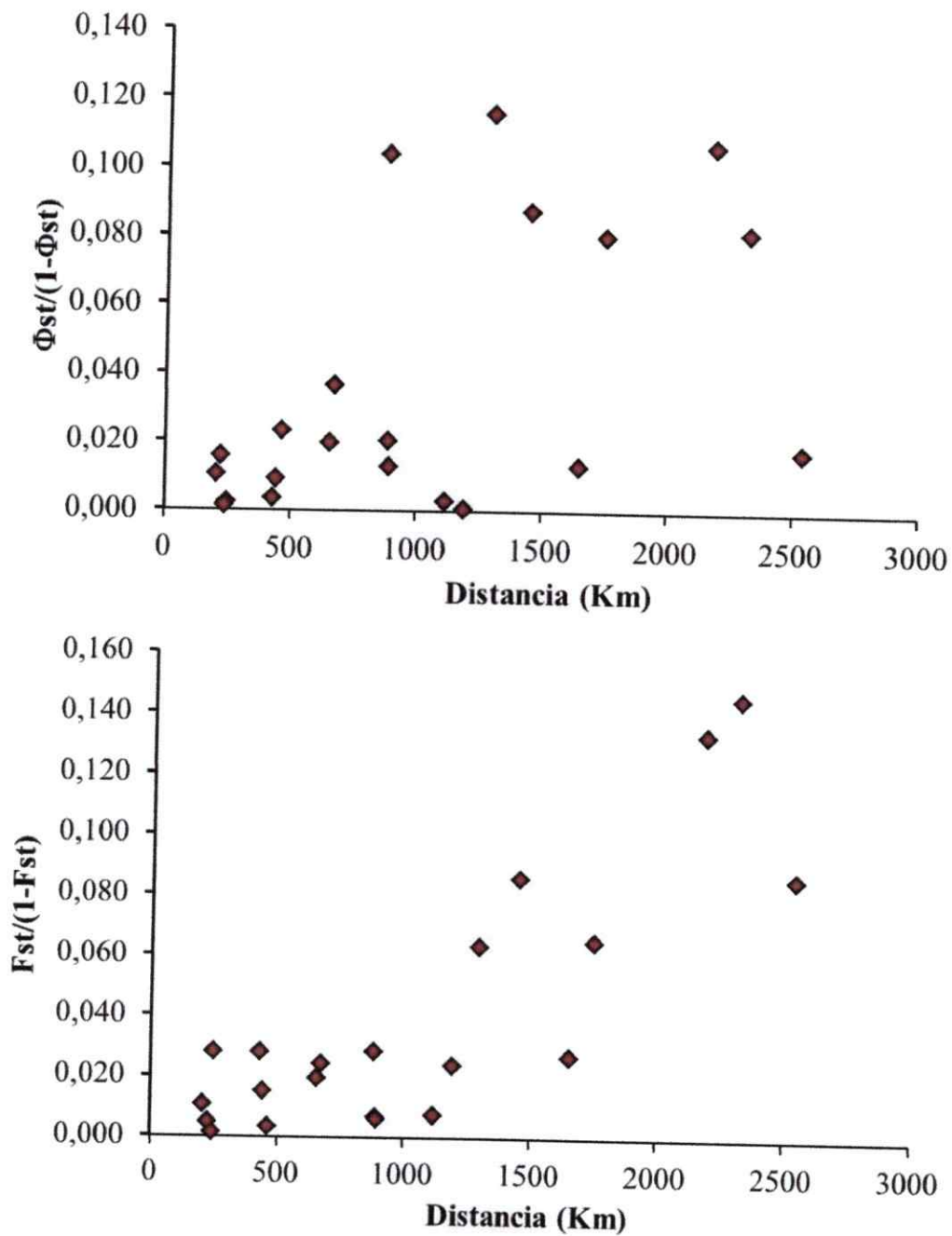


Figura 3.10 Aislamiento por distancia en la población de *O. mimus* desde la costa sureste del Pacífico. La diferenciación genética estimada por $\Phi/(1-\Phi)$ y $F_{st}/(1-F_{st})$, es graficado versus la distancia geográfica (km) por cada par de localidades.

Estructuración genética

Los valores de Φ_{st} (nº de diferencia entre haplotipos) y F_{st} (frecuencia de haplotipos) entre pares de localidades mostraron un nivel bajo de estructuración genética, con valores de probabilidad significativos (Tabla 3.2). Estos resultados, evidenciaron que las principales diferencias fueron entre Paita, Callao (localidades que concentraron el mayor número de haplotipos en el Perú) con respecto a las demás localidades.

Tabla 3.2 Estructura genética de las poblaciones de *O. mimus*. Resultados del Φ_{st} y F_{st} con los respectivos valores de probabilidad p .

Método de Distancia: diferencia entre pares de secuencias							
Φ_{st}	Paita	Callao	ILO	C. Pisagua	C. P. Arenas	Antofagasta	Cif.-Taltal
Paita		0,6793	0,0267	0,3564	0,0016	0,0565	0,2748
Callao	0,021		0,0176	0,3306	0,0310	0,0511	0,1658
ILO	0,074	0,094		0,5575	0,2301	0,5077	0,2152
C. Pisagua	0,001	0,003	0,002		0,2416	0,2309	0,7298
C. P. Arenas	0,096	0,104	0,023	0,016		0,9999	0,4190
Antofagasta	0,076	0,080	0,019	0,004	0,011		0,9999
Cif.-Taltal	0,017	0,013	0,013	0,038	0,009	0,002	

Frecuencia Haplotipos							
F_{st}	Paita	Callao	ILO	C. Pisagua	C. P. Arenas	Antofagasta	Cif.-Taltal
Paita		0,2842	0,0500	0,1852	0,0019	0,0068	0,0308
Callao	0,007		0,1024	0,5987	0,0499	0,0502	0,2202
ILO	0,061	0,028		0,9999	0,3700	0,5021	0,5019
C. Pisagua	0,023	0,007	0,027		0,5475	0,2219	0,7353
C. P. Arenas	0,118	0,059	0,003	0,005		0,9999	0,9999
Antofagasta	0,127	0,079	0,019	0,027	0,011		0,9999
Cif.-Taltal	0,079	0,026	0,006	0,024	0,015	0,002	

El nivel de diversidad intra-poblacional h_s (0,169) mostró ser muy bajo y similar a la diversidad total ($h_T = 0,179$), señalando un déficit global de diversidad genética, mayormente distribuida entre poblaciones G_{st} (0,040). Paralelamente, el análisis de estructuración filogeográfica mostró que el valor observado de coeficiente N_{st} (0,030) fue menor al valor de G_{st} observado (0,040). Esta diferencia, evaluada con una prueba de permutación del N_{st} observado, mostró que el valor de N_{st} permutado (0,066) en el percentil 95, fue mayor al N_{st} observado (0,030). Esto, significó que el valor de N_{st} observado se encontró fuera de la zona de rechazo (95%) de la distribución, y fue mucho más pequeño que el 5% de los valores permutados de N_{st} . Por consiguiente, el N_{st} observado no fue significativamente distinto al valor de G_{st} , señalando la ausencia de estructuración filogeográfica. Por otro lado, los resultados de SAMOVA mostraron hasta cinco agrupaciones genéticas significativas. Entre ellas, la constituida por tres grupos, G1: Paita, G2: Callao y G3: Ilo, Caleta Pisagua, Caleta Punta Arenas, Antofagasta y Cifuncho, mostró la máxima variación genética de un 10,6 % (Tabla 3.3). Mientras, la formación de cinco grupos, G1: Paita, G2: Callao, G3: Ilo, G4: C. Pisagua y Cifuncho y G5: C. P. Arenas y Antofagasta, mostró la menor varianza genética (Tabla 3.3). Por otro lado, los análisis bayesianos (con el modelo de frecuencias correlacionadas, elegido mediante Bayes Factor = 29,982), evidenciaron una máxima probabilidad *a posteriori* de la ocurrencia de cuatro clusters ($K = 4$) (Fig. 3.11). Gráficamente, los mapas muestran baja probabilidad *a posteriori* en la asignación de los pulpos (diagramas con valores menores a 0,4) a cuatro clusters geográficos, constituidos por C1: Paita y Callao; C2: Ilo, C. Pisagua, Cifuncho; C3: C. Punta Arenas y C4: Antofagasta (Fig. 3.12). Considerando

la falta de consenso en la composición de los grupos poblacionales encontrados en ambos análisis anteriores, por el bajo porcentaje de variación genética en el SAMOVA, y la baja probabilidad *a posteriori* de los grupos encontrados, el análisis de migración se realizó entre localidades, bajo el supuesto de una población con variación genética en su rango geográfico. A la vez, las inferencias demográficas se realizaron en una unidad genética poblacional.

Tabla 3.3 Tabla resultados de Samova con K grupos de poblaciones distintas de *O. mimus*. % σ^2 : porcentaje de varianza por diferencias entre grupos de poblaciones, Φ_{ct} : índice de fijación de la diferencia entre grupos de poblaciones y P: valor de probabilidad.

K	% σ^2	Φ_{ct}	Tests (50175 permutations) P(rand. value \geq obs. value)
2	10,53	0,105	0,04843+-0,00000
3	10,69	0,106	0,04787+-0,00000
4	8,35	0,083	0,02962+-0,00060
5	7,62	0,076	0,00943+-0,00000

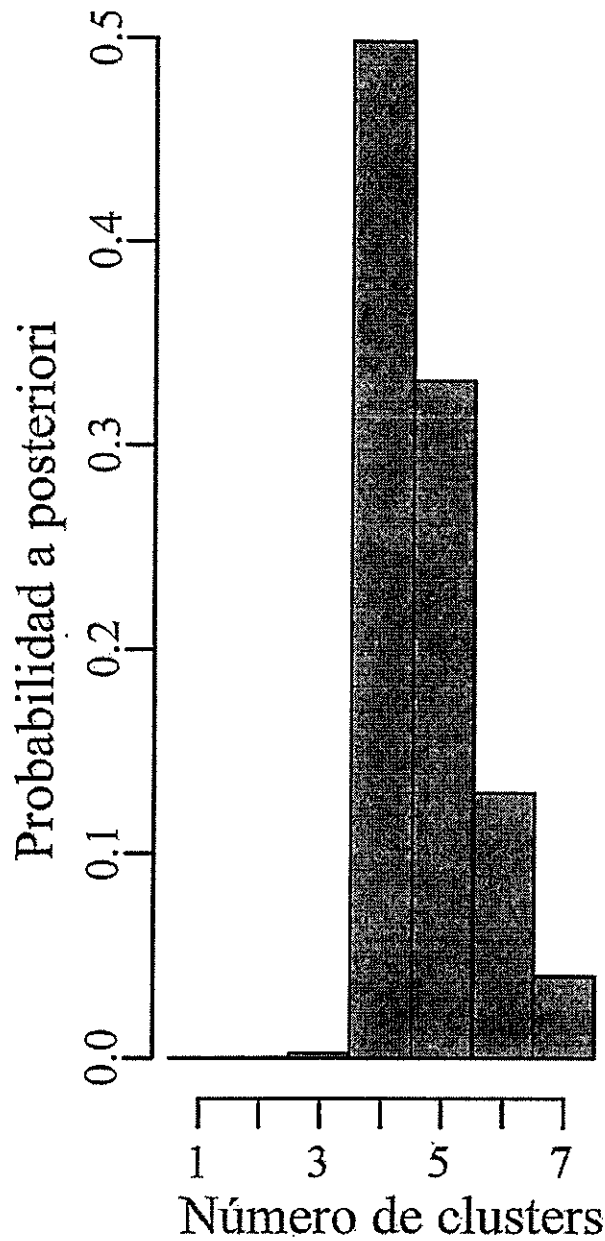


Figura 3.11 Distribución de probabilidad *a posteriori* de los cluster (K) o poblaciones a lo largo de la cadena de Markov Monte Carlo (MCMC).

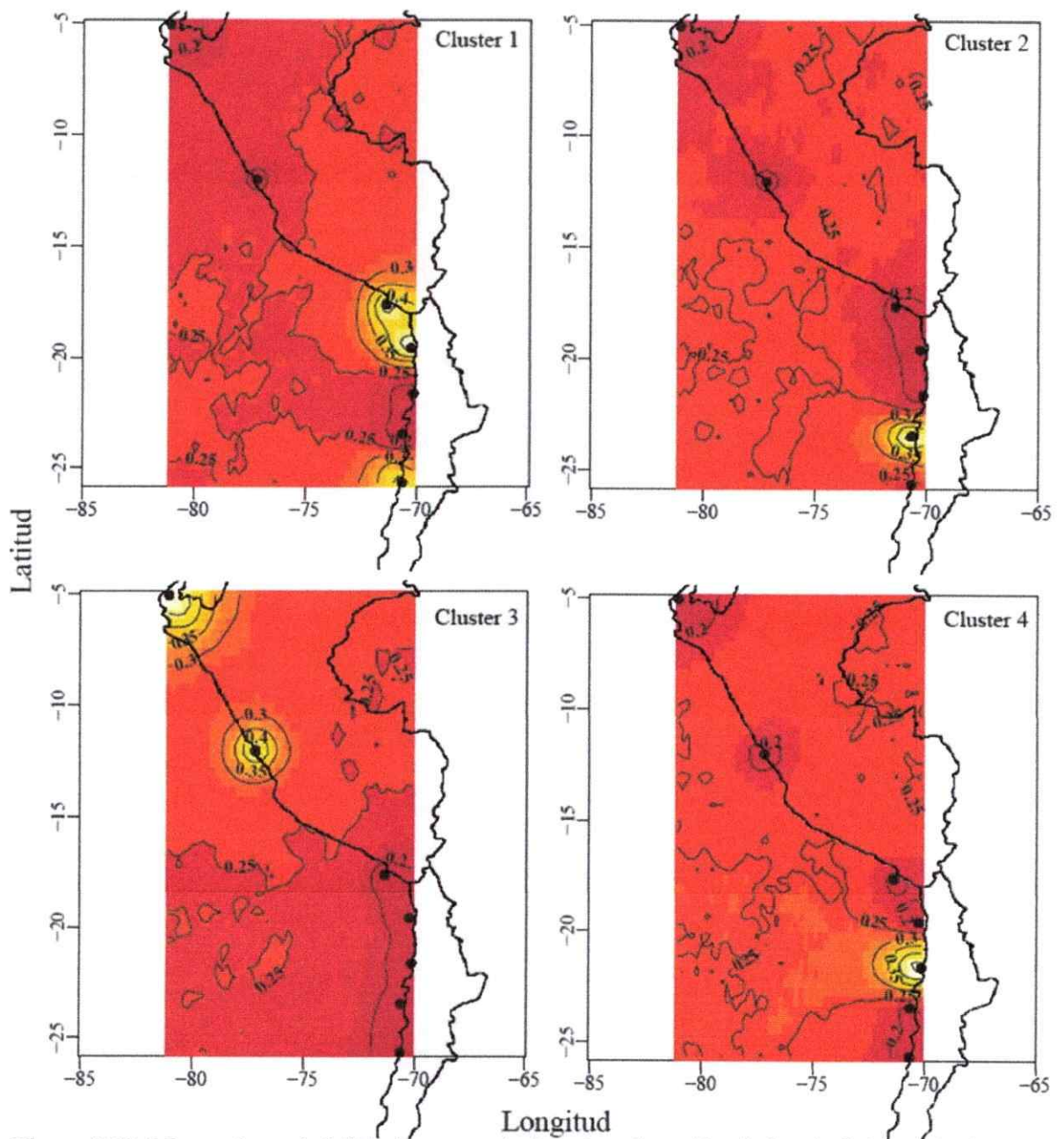


Figura 3.12 Mapas de probabilidad *a posteriori* en la asignación de los individuos (pulpos) a cada uno de los cuatro clusters (K) o poblaciones (1, 2, 3 y 4) georeferenciados. Isolneas indican la localización espacial de la discontinuidad genética entre poblaciones. Colores más claros indican probabilidad más alta de pertenencia a la población.

La estimación del número de pulpos migrantes por generación entre localidades dentro de la población mostró un flujo asimétrico en dirección latitudinal contrapuesto (Tabla 3.4, Fig. 3.13). El número de pulpos migrantes fue más alto desde el sur hacia el norte, e incluyó migraciones entre las localidades más distantes en el rango geográfico (Tabla 3.4). Mientras, el flujo del norte hacia el sur fue mucho menor, y las migraciones fueron principalmente entre localidades cercanas que lejanas, con una notoria reducción del flujo hacia el extremo sur. Los datos menores a un migrante por generación no fueron mostrados (Tabla 3.4).

Tabla 3.4 Tabla de distribución a Posterior de los parámetros Θ : ($x \cdot N_e \cdot u$) y M : (m/u). Del múltiplo de ambos parámetros ($M \cdot \Theta$) se obtuvo el número de inmigrantes por generación ($x \cdot N_e \cdot m$). Solo se muestran el número de inmigrantes por generación ≥ 1 .

Locus	Parameter	2.5%	25.0%	Mode	75.0%	97.5%	Median	Mean	
1	Θ 1 Paíta	0	0	0,0038	0,0165	0,079	0,0163	0,0273	
1	Θ 2 Callao	0	0	0,0023	0,0105	0,074	0,0108	0,0212	
1	Θ 3 Ilo	0	0	0,0003	0,001	0,003	0,0013	0,0008	
1	Θ 4 C. Pisagua	0	0	0,0008	0,005	0,068	0,0053	0,0184	
1	Θ 5 C.P. Arenas	0	0	0,0003	0,001	0,0025	0,0013	0,0006	
1	Θ 6 Antofagasta	0	0	0,0003	0,001	0,002	0,0013	0,0006	
1	Θ 7 Cifuncho-I	0	0	0,0003	0,001	0,016	0,0013	0,0037	
1	M2->1	235	880	982,5	990	990	517,5	508,8	M2->1
1	M3->1	110	685	982,5	1000	1000	687,5	630,1	M3->1
1	M4->1	105	565	962,5	990	1000	587,5	557,4	M4->1
1	M5->1	70	585	962,5	990	1000	602,5	568,1	M5->1
1	M6->1	95	630	947,5	995	1000	647,5	603,4	M6->1
1	M7->1	85	590	962,5	990	1000	582,5	557,5	M7->1
1	M1->2	0	0	192,5	405	865	467,5	476,7	M1->2
1	M3->2	70	580	982,5	995	1000	597,5	563	M3->2
1	M4->2	55	575	982,5	990	995	547,5	529,8	M4->2
1	M5->2	140	640	982,5	995	1000	657,5	605	M5->2
1	M6->2	110	640	957,5	995	1000	657,5	606,2	M6->2
1	M7->2	90	635	957,5	995	1000	632,5	589,8	M7->2
1	M1->4	55	585	952,5	990	995	552,5	536,1	M1->4
1	M2->4	0	0	7,5	165	335	502,5	499,3	M2->4
1	M3->4	115	665	962,5	995	1000	677,5	627,8	M3->4
1	M5->4	165	645	982,5	995	1000	637,5	589,5	M5->4
1	M6->4	85	630	982,5	995	1000	647,5	600,6	M6->4
1	M7->4	65	610	967,5	995	1000	587,5	558,3	M7->4

$M \cdot Q = (x \cdot N_e \cdot m)$

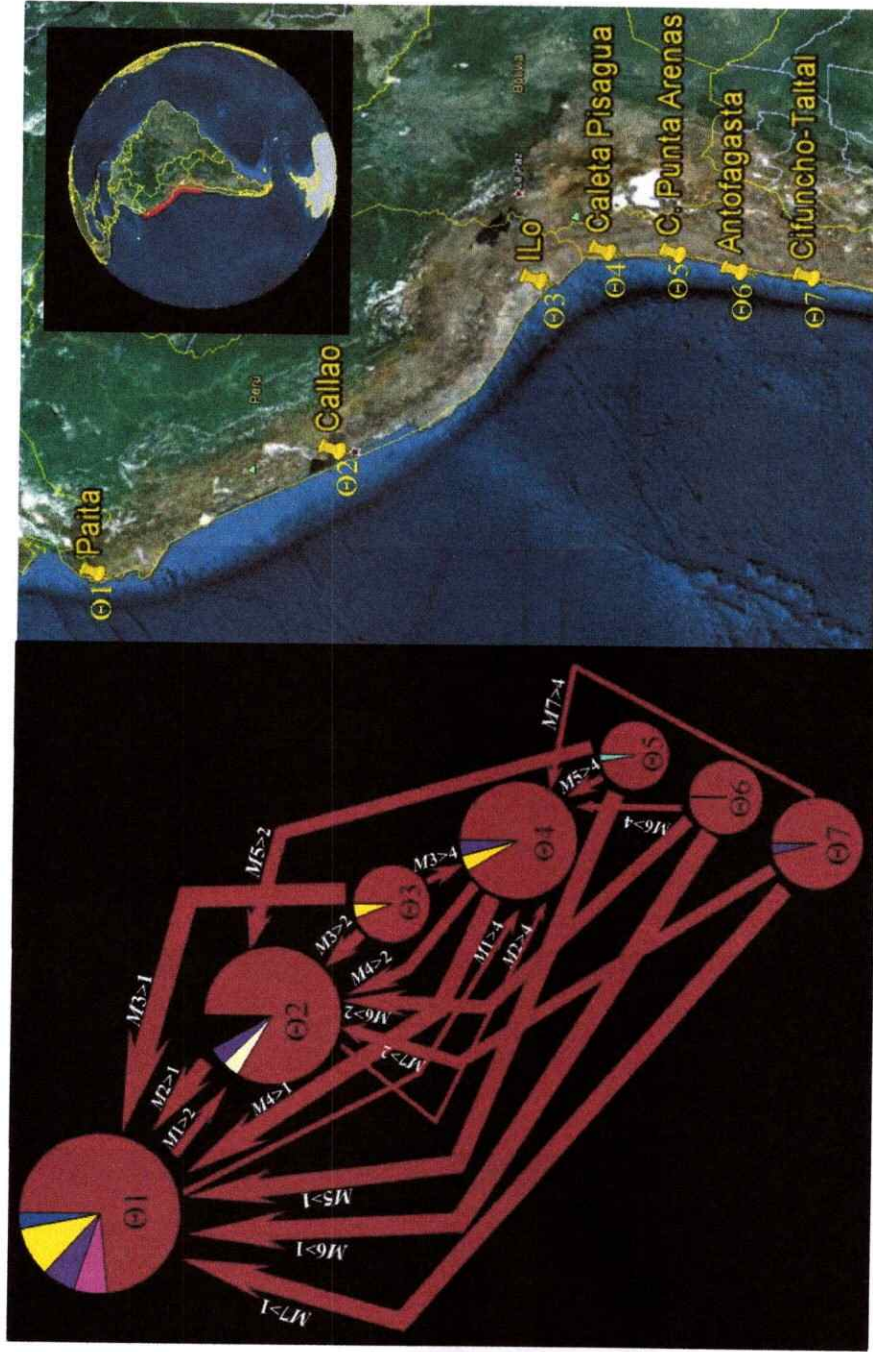


Figura 3.13 Resultados del número de pulpos migrantes por generación ($M \times \Theta = xNm$) entre localidades de la población de *O. mimus*. Flecha: indica dirección de la migración, grosor flecha: proporcional al número de pulpo migrante, $\Theta = xNe\mu$, $M = m/\mu$. Solo se muestran el número de inmigrantes por generación ≥ 1 .

Inferencia demográfica.

Los test de Tajima (D) y Fu (FS) mostraron valores negativos. El test de Tajima (D) mostró significancia estadística para la población de pulpos *O. mimus* (Tabla 3.5); mientras, el estadístico FS (más sensibles a los procesos de expansión demográfica, Fu 1997) mostró valores marginalmente no significativo, sugiriendo una población que no cumple con un modelo neutral en equilibrio mutación-deriva.

Tabla 3.5 Resultados del test de neutralidad en la población de pulpo *Octopus mimus* en la costa Sureste del Pacífico.

Estadístico	Todas las secuencias
Tajima's D test	
Sample size	197,0000
S	10,0000
Π	0,5295
Tajima's D	-1,6125
Tajima's D p-value	0,0214
Fu's FS test	
Real n° de alelos	8,0000
Orig. N° de alelos	8,0000
Theta_ Π	0,5295
Exp. N° de alelos	3,7637
FS	-4,0243
FS p-value	0,0519

La distribución observada de desajuste entre pares de secuencias (Mismatch distribution) de la población de *O. mimus*, mostró una distribución de tipo unimodal donde más del 80% de los pulpos no presentaron diferencias nucleotídicas, otro porcentaje menor al 10 % mostraron una diferencia, y otro porcentaje más pequeño de pulpos mostraron mayores diferencias nucleotídicas (Fig. 3.14 a). Este patrón se generó por el hecho de que la gran mayoría de los pulpos compartieron el haplotipo H1, del cual se originan otros 4 haplotipos de baja frecuencia (Fig. 3.14 b). A este patrón tipo estrella, característico de una población con crecimiento instantáneo (Rogers y Harpending, 1992), además mostró estar conectado a los haplotipos H3, H2, y H7, los cuales estaban separados por 4, 5 y 6 pasos mutacionales desde el haplotipo central H1, señalando un tiempo de coalescencia distante de H1 (Fig. 3.14 b). La distribución de desajuste observada no se diferenció significativamente al modelo esperado unimodal de crecimiento instantáneo (Raggedness statistic: $r \leq 0,5599$ $p = 0,72211$). Bajo este supuesto, el valor resultante del parámetro $\tau = 0,000$ sugirió que el evento de expansión instantánea en esta población sería muy reciente. A la vez, con un valor de Θ_0 de 1.247 señala un tamaño no muy reducido de esta población al comienzo de la expansión (considerando que Θ_1 tiende a ∞ en el modelo).

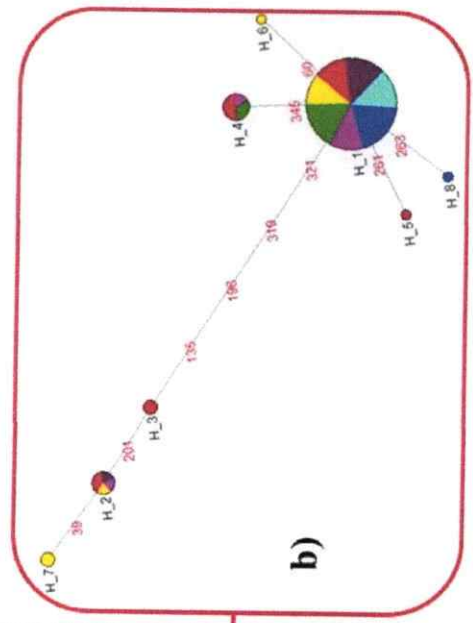
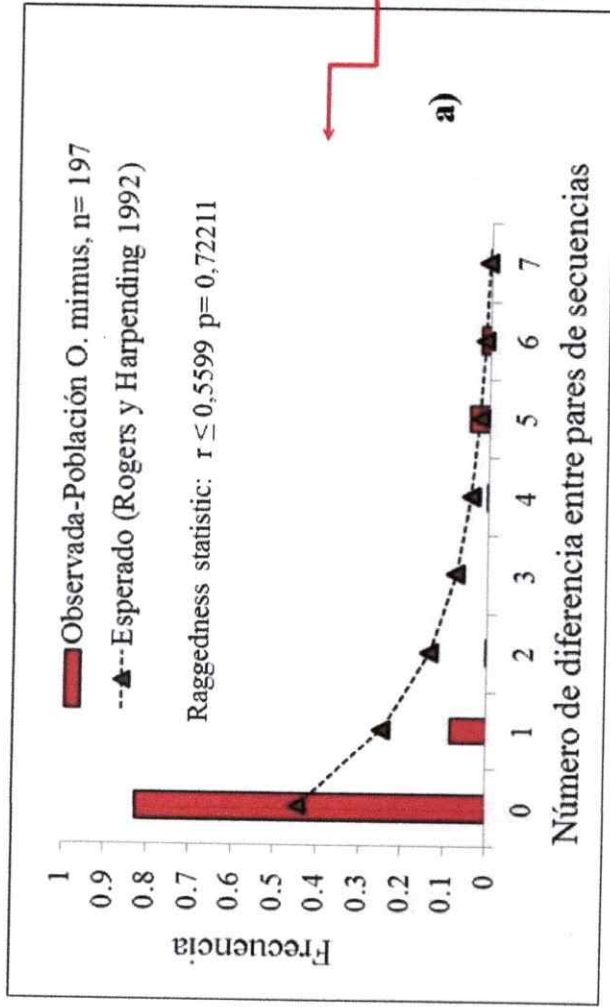


Figura 3.14 a) Distribución de desajuste entre pares de secuencias (Mismatch distribution) de la población de *O. mimus* en el suroeste del Pacífico. b) Red de haplotipos que compone a la población en cuestión.

Las Inferencias demográficas estimadas con máxima verosimilitud y bajo un modelo de crecimiento exponencial, mostraron valores de tasa de crecimiento (g) y tamaño efectivo (N_e) en el tiempo que señalan ausencia de expansión demográfica en la población de *O. mimus* en la costa sureste de Pacífico (Fig. 3.15 a y b). Dado los datos genéticos, el modelo no mostró cambios significativos en el tamaño efectivo, respaldando la existencia de una población estable por más de 100000 años, asumiendo una tasa de mutación de 0,02 mutaciones/nucleótido/millón de años.

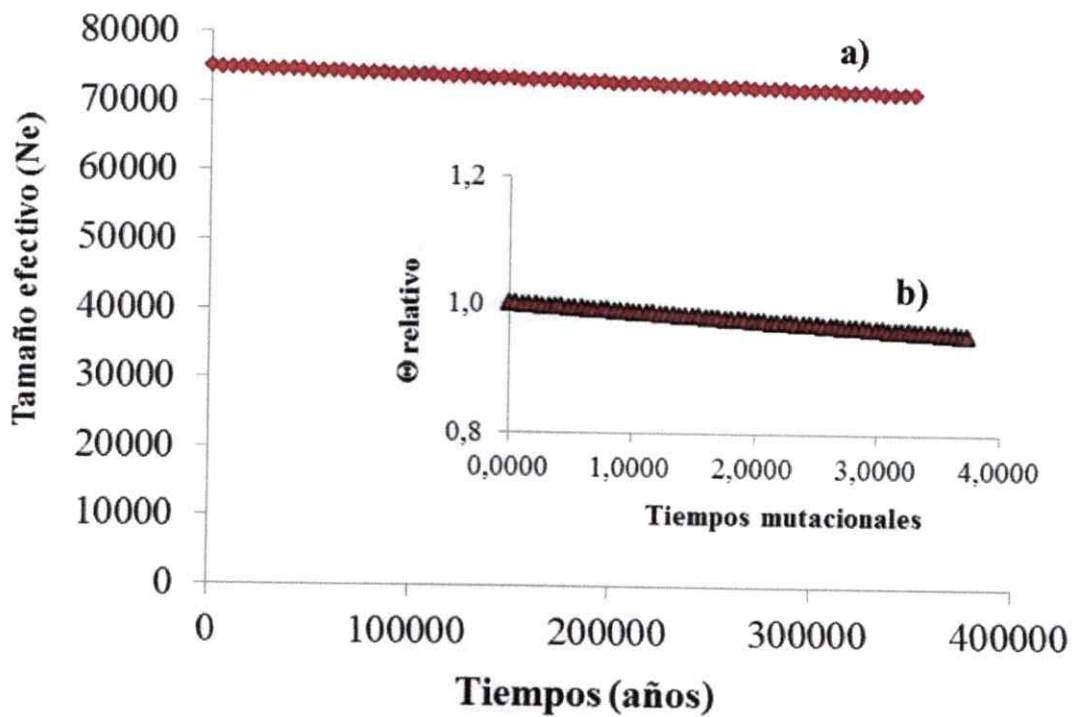


Figura 3.15 a) Variación del tamaño efectivo ($N_e = \Theta/2u$) de la población de pulpos *O. mimus* en el tiempo, basado en el modelo de crecimiento exponencial. b) Variación del Θ relativo de la población *O. mimus* en función del tiempo mutacional.

El método de análisis bayesian skyride (elegido con $BF = 3.541$), realizado con reloj molecular Log Normal ($BF = 3,186$), con el modelo HKY de sustitución nucleotídica ($-\ln L = 757.7646$, $BIC = 4002.5659$, jModelTest) y sin un modelo paramétrico pre-especificado, fue el utilizado para hacer la inferencia demográfica de la población de pulpos *O. mimus*. Este análisis reveló que la población de pulpos habría comenzado un proceso de expansión hace más de 40000 años atrás, incrementando en aproximadamente dos ordenes de magnitud en crecimiento en tamaño efectivo (Fig. 3.16). A la vez, el árbol con el clado de máxima credibilidad mostraría un tiempo estimado del ancestro común más reciente (MRCA) de aproximadamente 47837 años, señalando una población más antigua, al período del último máximo glacial (23000 años), (Fig. 3.17).

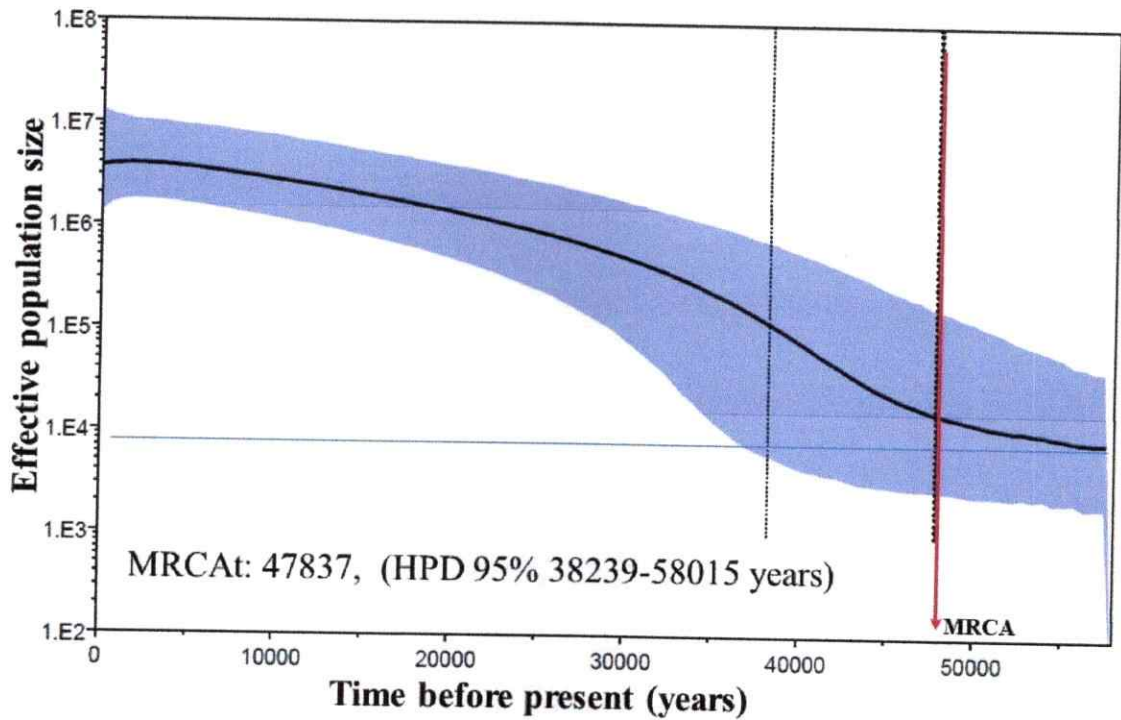


Figura 3.16 Bayesian Skyride mostrando el cambio en el tamaño efectivo de la población de pulpos *O. mimus* en la costa sureste del Pacífico.

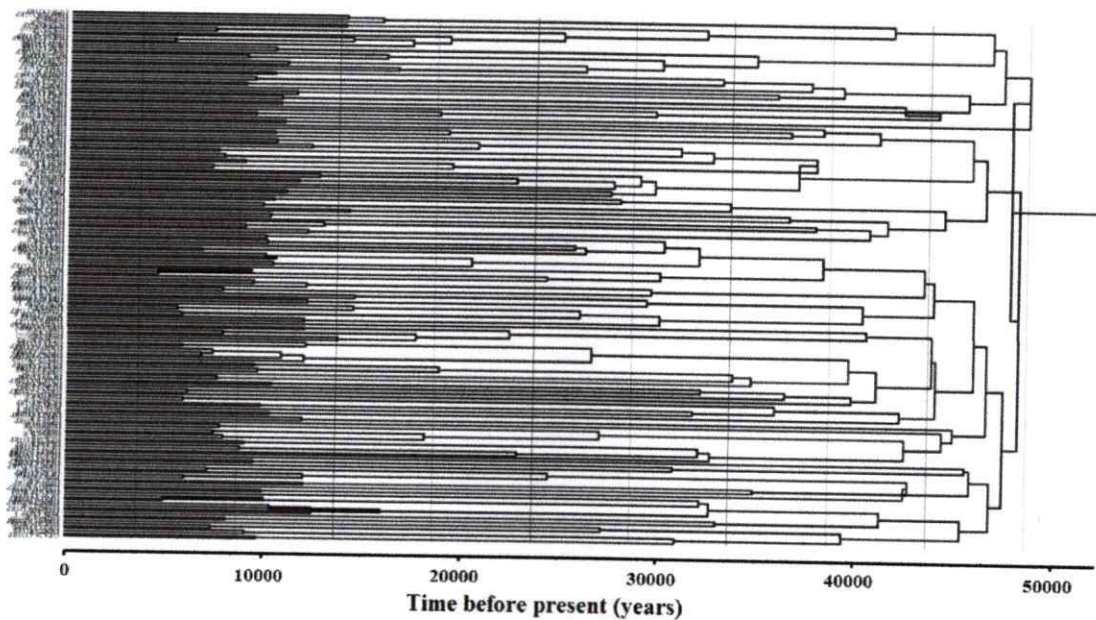


Figura 3.17 Árbol con el clado de máxima credibilidad, mostrando los nodos de coalescencia y el tiempos del ancestro común más reciente (MRCA) de la población de *O. mimus*.

3.5 DISCUSIÓN

Diversidad y estructura genética de Octopus mimus en el SCH.

El pulpo *Octopus mimus* reveló con el gen mitocondrial COIII una baja diversidad genética, que incluso se reduce mucho más hacia el sur de su rango de distribución. Tal patrón de variabilidad genética también ha sido registrado con este mismo marcador, en el pulpo congénico *Octopus vulgaris* en las costas de Sudáfrica (Oosthuizen et al. 2004), siendo incluso un patrón generalizado en especies marinas terrestre y marinas (Chek et al. 2003, Martin & McKay 2004, Hughes & Hughes 2007, Kelly & Eernisse 2007, Gwendolyn & Marshall 2010). A pesar de la baja diversidad genética encontrada en el presente estudio, y en el de Oosthuizen et al. (2004), el trabajo de Mei-Ying et al. (2011) realizado en otro pulpo congénico *Octopus variabilis* en las costas de China, mostró valores altos de diversidad genética (COIII Hd: 0.9092), demostrando así que este gen mitocondrial puede ser lo suficientemente variable, como para realizar caracterizaciones genéticas y demográficas poblacionales.

Los resultados de estructuración genética poblacional, no permiten llegar a definir poblaciones discretas a lo largo del rango geográfico; pero, tampoco se puede reconocer la existencia de una sola unidad poblacional panmíctica. El patrón genético de aislamiento por distancia, y la variación geográfica en la distribución de frecuencia de los haplotipos, son señal de ausencia de una total homogeneidad genética en *O. mimus*. Sin embargo, la relación entre distancia genética y geográfica aparece a partir de distancias superiores a 1000 km (Fig. 3.10), lo que sugiere que las paralarvas tendrían una duración larval suficiente para sostener una dispersión efectiva a distancias del

orden de los 1000 km. La diferenciación genética a distancias mayores de lo anteriormente señalado, sugiere limitaciones en la persistencia de las paralarvas para mantener el potencial de dispersión, y el nivel de flujo genético que siga sosteniendo una homogeneidad genética a escala mayor. Bajo estas circunstancias, se infiere que el nivel de conectividad se mantiene a mesoescala, pero se reduce progresivamente hacia los extremos del rango geográfico de *O. mimus*. Por otro lado, *O. mimus* no mostró señales de estructuración filogeográfica, lo que se evidencia en un árbol de coalescencia con un solo clado de máxima credibilidad (clado en el cual se estimó el N_e y el ancestro común más reciente en Beast), que no muestra fragmentación poblacional asociado con una separación del linaje intraespecífico (Fig. 3.18). La presencia de un solo clado intraespecífico, sugiere que en esta población a persistido un flujo genético en el tiempo, permitiendo la eventual co-ocurrencia de pulpos (haplotipos) genealógicamente cercanos y lejanos en cualquier punto a lo largo del rango de distribución de *O. mimus*.

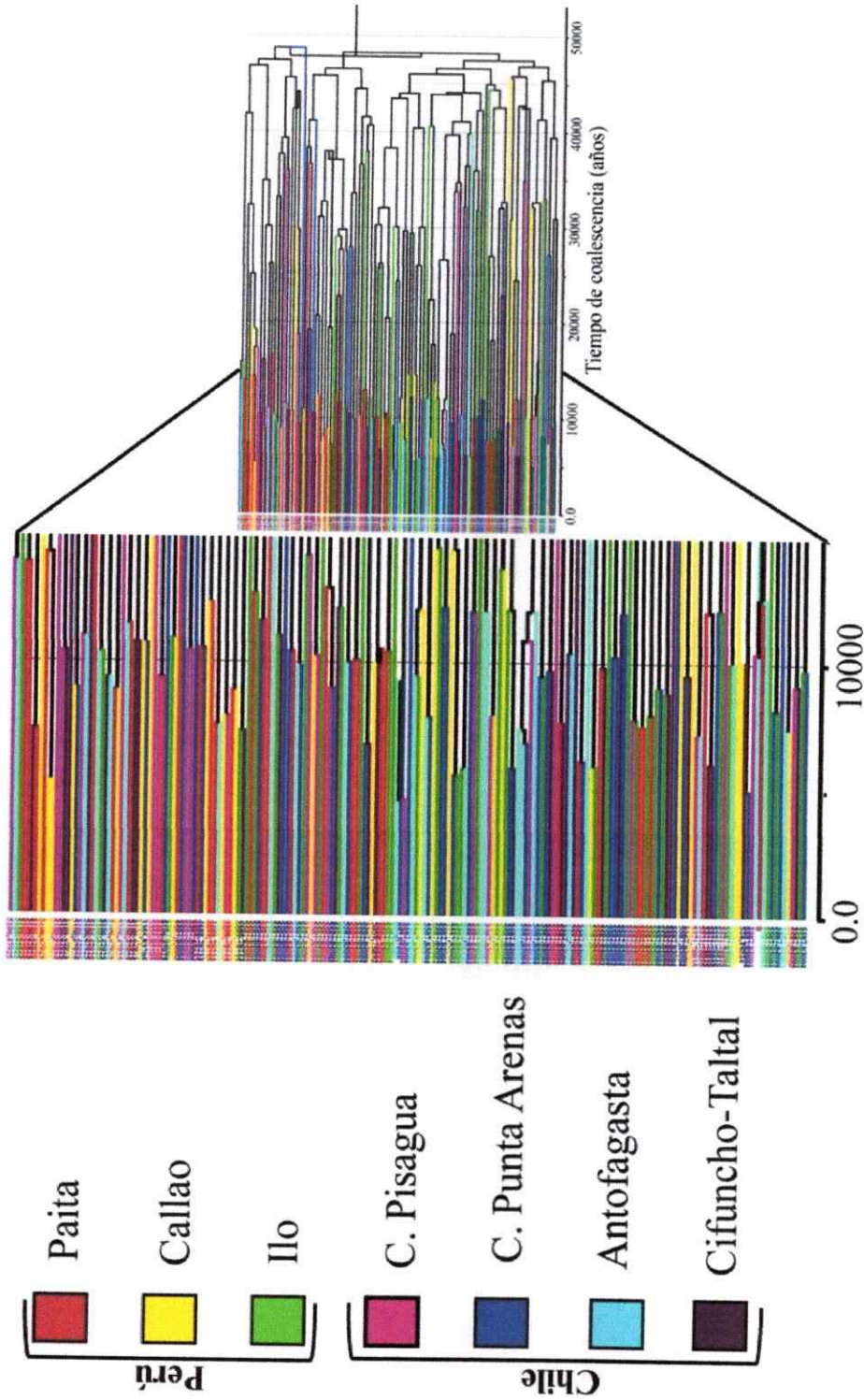


Figura 3.18 Clado de máxima credibilidad *a posteriori*, destacando el patrón de coalescencia entre pulpos de localidades distintas de *O. mimus*

La detección de un flujo asimétrico de pulpos migrantes por generación aporta mayores elementos para explicar el patrón de diversidad genética observado en el rango geográfico de *O. mimus*. En primer lugar, el alto flujo hacia el norte aparece independiente de la distancia geográfica (Tabla 3.4, Fig. 3.13). Esto sugiere una dispersión efectiva de las paralarvas que abarca todo el rango de distribución de la especie, sosteniendo un alto flujo genético, principalmente del haplotipo H1, y un alto nivel de conectividad en todo el rango geográfico. En segundo lugar, y en contraste con el alto flujo de pulpos hacia el norte, el flujo hacia el sur sería menor y ocurriría mayormente entre localidades cercanas (Fig. 3.13), reduciéndose a medida que aumenta la distancia geográfica. La baja migración de pulpos hacia el sur sería la causa del bajo flujo de los haplotipos de baja frecuencia presentes en el norte, generando el gradiente latitudinal de diversidad genética en el rango de distribución (Fig. 3.10). Finalmente, este flujo asimétrico de pulpos migrantes en direcciones opuestas, sería el factor responsable del tipo de conectividad encontrada, el cual es reflejado en la estructura genética detectada, y que permite el manteniendo o la existencia de una sola unidad evolutiva, a pesar de la señal de aislamiento por distancia encontrado entre sitios.

La asimetría de los flujos genéticos en esta especie podría ser el resultado de la influencia del sistema de corrientes y contracorrientes que fluyen paralelo a la costa sureste del Pacífico. Una síntesis descriptiva de varios autores (Sievers & Silva 1975, Silva & Neshyba 1979, Robles et al. 1980, Ahumada et al. 2000; Montecino et al. 2005), reconocen ocho corrientes y contracorrientes importantes que fluyen a lo largo de la costa oeste de Sudamérica (Fig. 3.19). Dentro de alguna de estas ochos corrientes y

contracorrientes es donde se sugiere la realización del flujo de paralarvas de pulpos, con la resultante de un flujo genético asimétrico. No obstante, no hay referencias geoespaciales del patrón de distribución y migración de las paralarvas de *Octopus mimus*, que indique con más exactitud las posibles corrientes utilizadas por las paralarvas en su dispersión. No obstante, referencias de las paralarvas de *Octopus vulgaris*, indican un rango batimétrico de movimiento que abarca desde la superficie hasta 110 m (Otero et al. 2009). Considerando que ambas especies son emparentadas filogenéticamente (Söller et al. 2000), y presentan características morfológicas muy similares, especialmente en su desarrollo embrionario (Warnke 1999), es razonable considerar un rango batimétrico similar para ambas especies. Además, Vega et al. (1999a) recolectaron paralarvas de pulpos, entre los 20 y 100 metros de profundidad frente a la península de Mejillones en Chile. Tomando en cuenta estos antecedentes, se sugiere en este estudio que el flujo asimétrico de pulpos migrantes se efectúe entre corrientes y contracorrientes que fluyan no más de los 150 a 200 metros de profundidad. Bajo estas circunstancias, el flujo de pulpos hacia el norte probablemente se realice por medio de dos corrientes: por la corriente costera de Humboldt [CCHumb] (4), que en primera instancia tiene un flujo superficial, y luego más al norte circula sub-superficialmente (50-80 m de profundidad); y por la corriente costera chilena [CCC] (8) que fluye superficialmente (Ahumada et al. 2000, Montecino et al. 2005, Fig. 3.19). Mientras, el flujo de pulpos hacia el sur se realizaría por la corriente Günther [CGü], de aguas ecuatoriales sub-superficiales que fluyen sobre la pendiente continental (Silva & Neshyba 1979), y la contracorriente costera chilena [CtCC] de agua subtropical que fluye superficialmente (menos de 30 m

de profundidad) hacia el sur (Robles et al. 1980). Como remota posibilidad, se propone la contracorriente del Perú [CCP] (Sievers & Silva 1975), si las paralarvas alcanzan profundidades cercanas a los 200 metros.

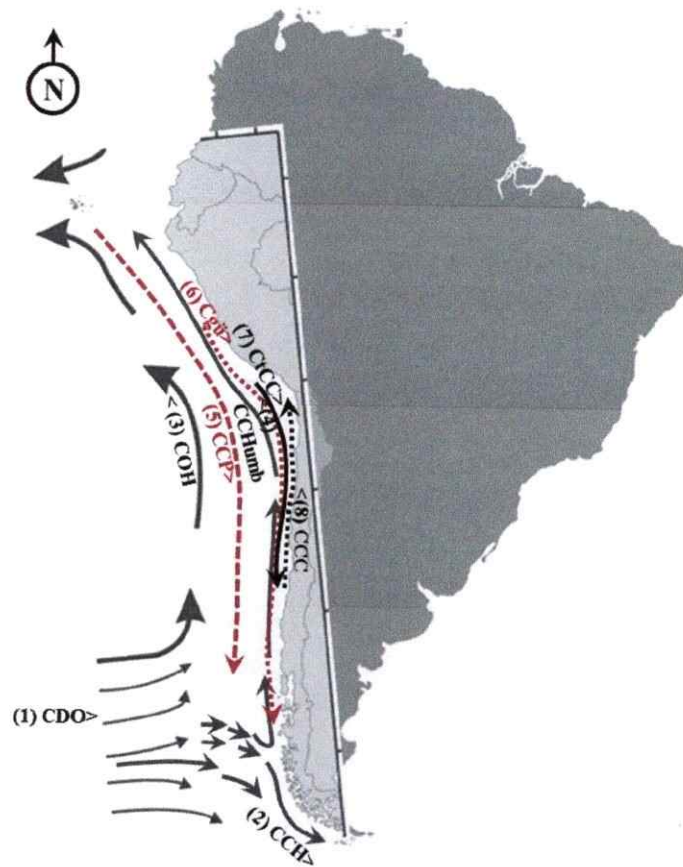


Figura 3.19 Síntesis de las principales corrientes y contracorrientes que fluyen paralelo en la costa oeste de Sudamérica.

(1) CDO: Corriente deriva de los Vientos del Oeste, (2) CCH: Corriente del Cabo de Hornos, (3) COH: Corriente Oceánica de Humboldt, (4) CCHumb: Corriente costera de Humboldt, (5) CCP: Contracorriente del Perú, (6) CGü: Corriente de Günther, (7) CtCC: Contracorriente costera chilena y (8) CCC: Corriente costera chilena.

Historia demográfica de Octopus mimus

Las inferencias demográficas realizadas con distintos métodos sugieren lo siguiente: Ambos test de neutralidad muestran valores negativos, lo cual es señal de exceso en el número de alelos raros y reducción en el número de alelos comunes (Fu 1997). La falta de significancia estadística del valor de FS, precisamente en los límites del valor de probabilidad, puede ser considerado como una probabilidad marginal de encontrar la población de *O. mimus* al equilibrio mutación-deriva. La distribución observada de desajuste entre pares de secuencias (Fig. 3.14), indica que un gran número de pulpos no muestran diferencias nucleotídicas entre ellos. Dado esto, la distribución de los datos se ajustó a un modelo de crecimiento instantáneo. Los resultados con inferencia bayesiana también sugieren que la población de *O. mimus* habría experimentado un proceso de expansión poblacional. En contraste, la aproximación con máxima verosimilitud (realizado en el programa Lamarc), no permitió evidenciar cambios demográficos, asumiendo un modelo de crecimiento exponencial (Fig.3.15).

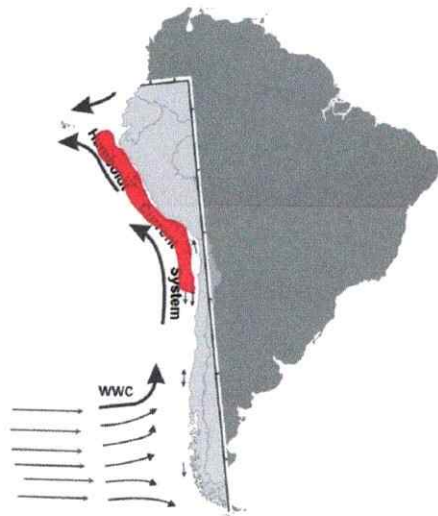
Los análisis demográficos realizados con inferencia bayesiana, a diferencia de los demás análisis, incorporan en los datos antecedentes a priori de la población de pulpos, y van generando intervalos de credibilidad *a posteriori*, es decir, incorporan una incerteza en los tamaños efectivos y en los tiempos de coalescencia estimados, lo cual entrega mayor robustez en los parámetros estimados. Considerando estos resultados, se sugiere que *Octopus mimus* habría experimentado un proceso de expansión demográfica hace más de 40000 años, período que calza con el último ciclo glacial del Peistoceno tardío. En este período se registraron una combinación de cambios, sobre la magnitud, frecuencia e

intensidad de las surgencia, además de los cambios en la circulación de las masas de aguas, en la salinidad y variación en la temperatura superficial (TSM) a lo largo del Sistema de Corriente de Humboldt (SCH) (Marchant et al. 1999, Hebbeln et al. 2000 a y b, 2002, Kim et al. 2002, Lamy et al. 2004, Vargas et al. 2004, Dezileau et al. 2004, Ortlieb et al. 2011). En este contexto, y sobre la base de los resultados en las inferencias genéticas de *O. mimus*, se propone el siguiente escenario para explicar los cambios demográficos que experimentó la población de pulpos a lo largo del SCH.

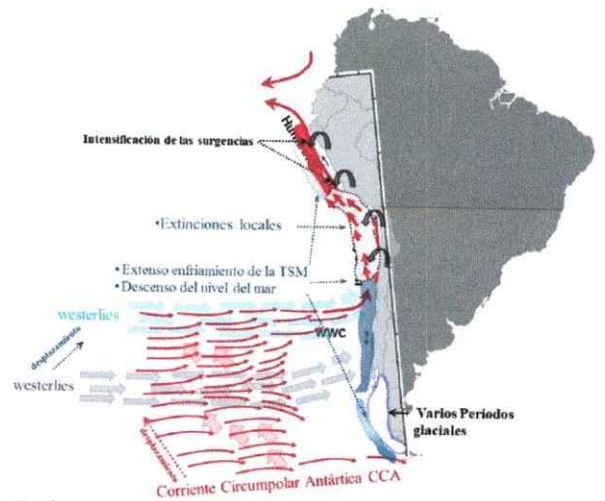
En este escenario, la especie *Octopus mimus*, compuesta por una unidad poblacional, se distribuía a lo largo del SCH antes de la Última Glaciación de la Patagonia (UG, Fig. 3.20 a). Posteriormente, habría experimentado reiterados contracciones en el tamaño poblacional, con pérdida de diversidad genética, consecuencia de los cambios océano-atmosféricos que ocurrieron a lo largo del Pacífico Sureste durante la Última Glaciación (UG) o Last Glaciation, desde los aproximadamente 85000 años, alcanzando su máximo hace ~25000, y finalizando hacia los ~16000 años calendario (EIO 2, Pleistoceno tardío, Rabassa et al. 2005 Rabassa 2008). El tiempo estimado del ancestro común más reciente (~47000 años), y el tiempo de expansión de esta población (> 40000 años), calza con el período de la UG, constituida por épocas geoclimáticas frías glaciales/estadales (Fig. 3.20 b), intercaladas con sus correspondientes equivalentes cálidos interglaciales/interestadales (Fig. 3.20 c), (Rabassa et al 2005). Clapperton (2000) reconoce un mínimo de cinco avances glaciales durante la UG en el sur de los Andes, alrededor de los 30, 27, 22,5, 15 y 12-9,3 ^{14}C ka antes del presente (ap.). Durante este período en la región del Pacífico sureste se habría

producido reiterados cambios en las zonas climáticas, consecuencia del posicionamiento hacia más al norte de los vientos del Oeste y de la extensión de la Corriente Circumpolar Antártica (CCA, fuentes generadora de nutrientes), lo que seguidamente habría incrementado la advección de masas de agua Subantártica ricas en nutrientes a través de la Corriente Perú-Chile o SCH (Marchant et al., 1999; Hebbelns et al. 2000, 2002, Kim et al 2002, Lamy et al. 1998, 2001, Mohtadi et al. 2004, Vargas et al 2004, Ortlieb et al. 2011, Fig. 3.20 b). Todos estos cambios, significaron una intensificación de los eventos de surgencia, y por ende de la productividad primaria frente a Chile (Marchant et al. 1999, Hebbeln et al. 2002, Mohtadi et el. 2004), a Perú (Feldberg & Mix 2003) y el Pacífico Ecuatorial (Martínez et al. 2003). Además habría producido un extenso enfriamiento de la temperatura superficial del mar (TSM) a lo largo de toda la costa de Chile, Perú y del Pacífico Ecuatorial (Feldberg & Mix 2002, Kim et al. 2002, Hulton et al. 2002, Romero et al. 2006). La reducción de la TSM y la reducción en el nivel del mar en ~120 metros a escala global (Hulton et al. 2002), habrían provocado las reiteradas reducciones del tamaño y del rango de distribución de la población de *O. mimus* por el SCH, hacia latitudes más cálidas, a la altura del centro y norte del Perú (Fig. 3.20 b). Posteriormente, sobre la base del tiempo del MRCA (~47000), y del tiempo estimado de inicio del crecimiento de la población (> a 40000 años), el proceso de expansión y recolonización hacia latitudes al sur habría ocurrido en los períodos cálidos interglaciales/interstadiales, intercalados por los avances glaciales/estadales (Fig. 3.20 c). Se sugiere que durante los períodos interglaciales se habría extendido la advección de masas de agua superficiales subtropicales (con su respectiva fauna de plancton tropical y

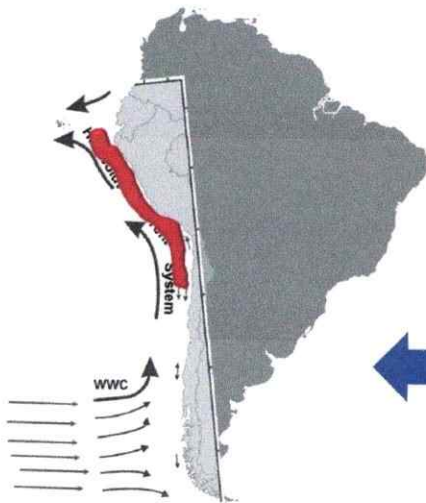
subtropical, Mohtadi et al. 2004). Esto habría causado el aumento latitudinal en la TSM, generando las condiciones adecuadas para la recolonización de nuevos hábitats disponibles hacia latitudes más altas (consecuencia del cambio hacia el sur en la posición de la CCA y de los vientos del Oeste, Hebbeln et al. 2002, Mohtadi et al. 2004, Fig. 3.20 c). En estos períodos interglaciales, la población de pulpos habría tenido reiteradas expansiones y recolonizaciones hacia el sur, evidenciado en el patrón de flujo genético de los haplotipos H1, H2 y H4 (Fig.3.20 c), resultando un proceso complejo y lento, condicionado por los re-avances glaciales. Finalmente, con el inicio del último período de calentamiento global o último ciclo interglacial durante el Holoceno, la recolonización hacia el sur habría seguido nuevamente, favorecido por las fluctuaciones oceanográficas que ocurrieron durante este período por el SCH. Esta fluctuaciones habrían involucrado un fuerte impacto del ENSO (a mediados y a fines del Holoceno, 5500-5300 años ap.), a través de la penetración de aguas subtropicales tanto al frente de Ecuador, de Perú y al norte de Chile, (Rodbell et al. 1999, Keefer et al. 1998, Ortlieb et al. 2011, respectivamente). Esto habría ayudado a establecer el actual rango de distribución de la población de *Octopus mimus* a lo largo del Sistema de Corriente de Humboldt (Fig. 3.20 d).



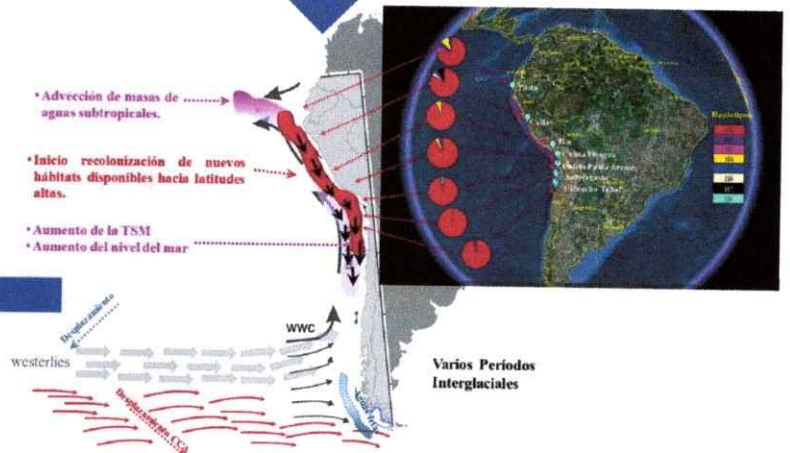
a). Pleistoceno tardío (125000 años ap.), la población de *O. mimus* antes de la Última Glaciación de la Patagonia (UG).



b). Última Glaciación (UG entre los ~85000 y 16000 años ap). Períodos glaciales con cambios océano-atmosféricos en la costa sureste del Pacífico. Reiteradas reducciones del tamaño y rango de distribución de la población de *O. mimus*, desplazando el límite sur hacia latitudes más cálidas, restringiendo considerablemente el rango de distribución por el SCH.



d). Finales del Holoceno (4000 ap.), actual rango de distribución de la población de *O. mimus* a lo largo del SCH.



c). Última Glaciación (UG entre los ~85000 y 16000 años ap). Durante los periodos interglaciales (85000 y 5000 años ap.), ocurre el proceso lento de repetidas expansiones y re-colonizaciones hacia latitudes al sur por el SCH de la población de *O. mimus*.

Figura 3.20 Escenario hipotético sobre la historia demográfica de *Octopus mimus* en la costa oeste de Sudamérica.

3.6 LITERATURA

- Ahumada RB, L Pinto & PA Camus (2000) The Chilean coast. En: Sheppard CRC (ed) Seas at the millenium: an environmental analysis: 699-717.
- Aljanabi SM & I Martinez (1997) Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research* 25(22):4692-4693.
- Allcock AL, JM Strugnell & MP Johnson (2008) How useful are the recommended counts and indices in the systematics of the Octopodidae (Mollusca: Cephalopoda). *Biological Journal of the Linnean Society* 95: 205–218.
- Anderson CIH & PG Rodhouse (2001) Life cycles, oceanography and variability: ommastrephid squid in variable oceanographic environments. *Fisheries Researches* 54:133–143.
- Bandelt HJ, P Forster & A Röhl (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16: 37–48
- Beerli P (2006) Comparison of Bayesian and maximum-likelihood inference of population genetic parameters. *Bioinformatics* 22: 341–345.
- Beerli P (2011) MIGRATE-n Version 3.2.17: Migrate Documentation. <http://popgen.csit.fsu.edu/migrate.download.html>.
- Bograd SJ, CG Castro, E Di Lorenzo, DM Palacios, H Bailey, W Gilly & FP Chavez (2008) Oxygen declines and the shoaling of the hypoxic boundary in the California Current. *Geophysical Research Letters* 35:L12607 doi:10.1029/2008GL034185
- Boletzky Sv (1977). Post-hatching behaviour and mode of life in cephalopods. *Symposia*

of the Zoological Society of London 38: 557–567.

Boletzky Sv (1992) Evolutionary aspects of development, life style, and reproductive mode in incirrate octopods (Mollusca, Cephalopoda). *Revue Suisse de Zoologie* 99: 755–770.

Boyle PR & PG Rodhouse (2005) *Cephalopods: ecology and fisheries*. Blackwell Science, Oxford.

Burban C, RJ Petit, E Carcreff & H Jactel (1999). Rangewide variation of the maritime pine bast scale *Matsucoccus feytaudi* Duc. (Homoptera: Matsucoccidae) in relation to the genetic structure of its host. *Molecular Ecology* 8: 1593-1602.

Cabranes C, P Fernandez-Rueda & J Martínez (2008) Genetic structure of *Octopus vulgaris* around the Iberian Peninsula and Canary Islands as indicated by microsatellite DNA variation. *ICES Journal of Marine Science* 65: 12–16.

Caddy JF & PG Rodhouse (1998) Cephalopod and groundfish landings: evidence for ecological change in global fisheries? *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 8:431–444.

Cahuín SM, LA Cubillos, M Ñiquen & R Escribano (2009) Climatic regimes and the recruitment rate of anchoveta, *Engraulis ringens*, off Peru. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 84: 591-597.

Camus PA (2001) Biogeografía marina de Chile continental. *Revista Chilena de Historia Natural* 74: 587-617.

Camus PA, JA Vásquez, EO González & LE Galáz (1994) Fenología espacial de la diversidad comunitaria intermareal en el norte de Chile: patrones comunitarios de

- variación geográfica e impacto de los procesos de extinción-recolonización post El Niño 82/83. *Medio Ambiente (Chile)* 12: 129–163.
- Cárdenas L, JC Castilla & F Viard (2009) A phylogeographical analysis across three biogeographical provinces of the south-eastern Pacific: the case of the marine gastropod *Concholepas concholepas*. *Journal Biogeography* 36: 969–981.
- Cardoso F, P Villegas & C Estrella (2004) Observaciones sobre la biología de *Octopus mimus* (Cephalopoda: Octopoda) en la costa peruana. *Revista Peruana de Biología* 11: 45–50.
- Castilla JC & PA Camus (1992) The Humboldt-El Niño scenario: coastal benthic resources and anthropogenic influences, with particular reference to the 1982/1983 ENSO. *South African Journal of Marine Science* 12:111–119.
- Castilla JC, M Uribe, N Bahamonde M, Clarke, R Desqueyroux-Faúndez, I Kong, H Moyano, N Rozbaczylo, B Santelices, C Valdovinos & P Zavala (2005) Down under the southeastern Pacific: marine non-indigenous species in Chile. *Biological Invasions* 7: 213–232.
- Castilla JC, NA Lagos, R Guíñez & J Largier (2002a) Embayments and nearshore retention of plankton: the Antofagasta Bay and other examples. En: *The Oceanography and Ecology of the Nearshore and Bays in Chile*, Castilla JC & JL Largier (eds). Santiago, Chile: Ediciones Universidad Católica de Chile, 179–203.
- Casu M, F Maltagliati, M Meloni, D Casu, P Cossu, G Binelli & M Curini-Galletti (2002) Genetic structure of *O. vulgaris* (Mollusca, Cephalopoda) from the Mediterranean Sea as revealed by a microsatellite locus. *Italian Journal of Zoology*

69: 295–300.

Chavez F, A Bertrand, R Guevara-Carrasco, P Soler & J Csirke (2008) The northern Humboldt Current System: Brief history, present status and a view towards the future. *Progress in Oceanography* 79: 95-105.

Chek AA, JD Austin & SC Loughheed (2003) Why is there a tropical–temperate disparity in the genetic diversity and taxonomy of species?. *Evolutionary Ecology Research*, 2003 (5): 69–77.

Clapperton C (2000). Interhemispheric synchronicity of Marine Oxygen Isotope Stage 2 glacier fluctuations along the American cordilleras transect. *Journal of Quaternary Science*, 15: 435–468.

Collie JS, K Richardson & JH Steele (2004) Regime shifts: can ecological theory illuminate the mechanisms. *Progress in Oceanography* 60: 281-302.

Collins MA & PG Rodhouse (2006) Southern Ocean cephalopods. *Advances in Marine Biology* 50: 193-265.

Cortez T, AF Gonzalez & A Guerra (1999) Growth of *Octopus mimus* Cephalopoda: Octopodidae) in wild populations. *Fisheries Research* 42: 31–39.

Cortez T, BG Castro & A Guerra (1995a) Reproduction and condition of female *Octopus mimus* (Mollusca: Cephalopoda). *Marine Biology* 123: 505-510.

Cortez T, BG Castro & A Guerra (1995b) Feeding dynamics of *Octopus mimus* (Mollusca: Cephalopoda) in northern Chile waters. *Marine Biology* 123: 497-503.

Dawson MN, Waples RS & G Bernardi (2006) Phylogeography. In: L.G.D. Allen, D.J. Pondella & M.H. Horn (eds.). *The Ecology of Marine Fishes: California and*

- Adjacent Waters. University of California Press. pp 26-54.
- Defeo O & Castilla JC (1998) Harvesting and economic patterns in the artisanal *Octopus mimus* (Cephalopoda) fishery in a northern Chile cove. *Fisheries Research* 38: 121–130.
- Delaunay B (1934) Sur la sphere vide. *A la mémoire de Georges Voronoi*. *Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR*, 7: 793-800.
- Dezileau L, O Ulloa, D Hebbeln, F Lamy, JL Reyss & M Fontugne (2004) Iron control of past productivity in the coastal upwelling system off the Atacama Desert, Chile. *Paleoceanography* 19: PA3012 doi:10.1029/2004PA001006.
- Doubleday ZA, JM Semmens, AJ Smolenski & PW Shaw (2009) Microsatellite DNA markers and morphometrics reveal a complex population structure in a merobenthic octopus species (*Octopus maorum*) in south-east Australia and New Zealand. *Marine Biology* 156: 1183–1192.
- Drummond AJ & Rambaut A (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7: 214–222.
- Drummond AJ, A Rambaut, B Shapiro & OG Pybus (2005) Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Molecular Biology and Evolution* 22: 1185–1192.
- Dupanloup I, S Schneider & L Excoffier (2002) A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology* 11: 2571–2581.
- Echevin V, O Amount, J Ledesma & G Flores (2008) The seasonal cycle of surface chlorophyll in the Peruvian upwelling system: A modeling study. *Progress in*

Oceanography 79: 167-176.

Escribano R, VH Marín, P Hidalgo & G Olivares (2002) Physical-biological interactions in the pelagic ecosystem of the nearshore zone of the northern Humboldt Current System. In *The Oceanography and Ecology of the Nearshore and Bays in Chile*, J.C. Castilla & J.L. Largier (eds). Santiago, Chile: Ediciones Universidad Católica de Chile, 145–175.

Excoffier L, Laval G & Schneider S (2005) Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47–50.

Faure V, C Inejih, AH Demarcq & P Cury (2000) The importance of retention process in upwelling areas for recruitment *Octopus vulgaris*: the example of the Arguin Bank (Mauritania). *Fisheries Oceanography* 9: 343–355.

Feldberg MJ & AC Mix (2003) Planktonic foraminifera, sea surface temperatures, and mechanisms of oceanic change in the Peru and south equatorial currents, 0–150 ka BP. *Paleoceanography* 18: 1016–1029.

Filatov DA (2002) ProSeq: a software for preparation and evolutionary analysis of DNA sequence data sets. *Molecular Ecology Notes* 2: 621–624.

Freeland JR (2005) *Molecular Ecology*. John Wiley & Sons, Ltd.

Fu YX (1995) Statistical properties of segregating sites. *Theoretical Population Biology* 48: 172–197.

Galleguillos R, S Ferrada, C Canales, A Barrera, M Dib, P Pizarro, C Gallardo, M Valenzuela, C Hernández, G Gajardo & P Beristain (2010) Caracterización

- molecular de los principales recursos bentónicos, y estudio de conectividad entre sus poblaciones entre la I y II regiones. Infotme Final FIP 2008-39. 137 pp.
- González J, C Tapia, A Wilson, W Stotz, JM Orensanz, AM Parma, J Valero, M Catrillao & J Garrido (2004) Bases biológicas para la evaluación y manejo de metapoblaciones de loco en las III y IV Regiones. Project FIP No. 2002-16, Informe Final. Valparaíso, Chile: IFOP.
- González J, W Stotz, J Garrido, JM Orensanz, AM Parma, C Tapia & A Zuleta (2006) The Chilean TURF system: how is it performing in the case of the loco fishery? *Bulletin of Marine Science* 78: 499–527.
- Grant WS & BW Bowen (2006) Living in a tilted world: climate change and geography limit speciation in Old World anchovies (*Engraulis*; Engraulidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 88: 673–689.
- Grant WS, IB Spies & MF Canino (2006) Biogeographic Evidence for Selection on Mitochondrial DNA in North Pacific Walleye Pollock *Theragra chalcogramma*. *Journal of Heredity* 97: 571–580.
- Guerra A, T Cortez & F Rocha (1999) Redescrición del pulpo de los Changos, *Octopus mimus* Gould, 1852, del litoral chileno-peruano (Mollusca, Cephalopoda). *Iberus* 17: 37–57.
- Gwendolyn KD, DJ Marshall & C Riginos (2010) Latitudinal variability in spatial genetic structure in the invasive ascidian, *Styela plicata*. *Marine Biology*, 157:1955–1965.
- Hammer Ø, DAT Harper & PD Ryan (2001) PAST: Paleontological Statistics Software

- Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4: 1-9.
- Harpending HC (1994) Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology* 66: 591-600.
- Hebbeln D, M Marchant & G Wefer (2000a) Seasonal variations of the particle flux in the Peru-Chile current at 30°S under 'normal' and El Niño conditions. *Deep-Sea Research II* 47: 2101-2128.
- Hebbeln D, M Marchant & G Wefer (2002) Paleoproductivity in the southern Peru-Chile current through the last 33,000 years. *Marine Geology*, 186: 487-504.
- Hebbeln D, M Marchant, T Freudenthal & G Wefer (2000b) Surface sediment distribution along the Chilean continental slope related to upwelling and productivity. *Marine Geology* 164: 119-137.
- Hewitt GM (2004) The structure of biodiversity – insights from molecular phylogeography. *Frontiers in Zoology*, 1:4 doi:10.1186/1742-9994-1-4.
- Ho SYW & B Shapiro (2011) Skyline-plot methods for estimating demographic history from nucleotide sequences. *Molecular Ecology Resources*, 11: 423-434.
- Holsinger KE & BS Weir (2009) Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F_{ST} . *Nature Reviews Genetics* 10: 639-650.
- Hughes AL & MAK Hughes (2007) Coding sequence polymorphism in avian mitochondrial genomes reflects population histories. *Molecular Ecology*, 16:1369-1376.
- Hulton NRJ, RS Purves, RD McCulloch, DE Sugden & MJ Bentley (2002) The Last Glacial maximum and deglaciation in southern South America. *Quaternary*

Science Reviews 21: 233–241.

Ichii T, K Mahapatra, T Watanabe, A Yatsu, D Inagake & Y Okada (2002) Occurrence of jumbo flying squid *Dosidicus gigas* aggregations associated with the countercurrent ridge off the Costa Rica Dome during 1997 El Niño and 1999 La Niña. Marine Ecology Progress Series 231: 151–166.

Juárez OE, C Rosas & L Arena (2010) Heterologous microsatellites reveal moderate genetic structure in the *Octopus maya* population. Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Puerto de abrigo s/n, CP 97135 Sisal, Yucatán, Mexico.

Kaiser J & F Lamy (2008) Last glacial SST changes in the SE Pacific - a bipolar seesaw perspective. PAGES News 16: 20-22.

Kaiser J, F Lamy & D Hebbeln (2005) A 70-kyr sea surface temperature record off southern Chile (Ocean Drilling Program Site 1233). Paleoclimatology, 20, 4, PA4009, doi: 10.1029/2005PA001146.

Keefer D, SD deFrance, ME Moseley, JB Richardson III, DR Satterlee & A Day-Lewis (1998) Early Maritime Economy and El Niño Events at Quebrada Tacahuay, Peru. Science 281: 1833-1835.

Kelly RP & Eernisse DJ (2007) Southern hospitality: a latitudinal gradient in gene flow in the marine environment. Evolution 61: 700–707.

Keyl F, Argüelles J, Mariátegui L, Tafur R, Wolff M, Yamashiro C (2008) A hypothesis on range expansion and spatio-temporal shifts in size-at-maturity of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) in the eastern Pacific Ocean. CalCOFI Rep 49:119-128.

- Kim JH, RR Schneider, D Hebbeln, PJ Müller & G Wefer (2002) Last deglacial sea-surface temperature evolution in the Southeast Pacific compared to climate changes on the South American continent. *Quaternary Science Reviews*, 21: 2085–2097
- Kuhner MK (2006) LAMARC 2.0: maximum likelihood and Bayesian estimation of population parameters. *Bioinformatics* 22:768-70.
- Kuhner MK, J Yamato & J Felsenstein (1998) Maximum likelihood estimation of population growth rates based on the coalescent. *Genetics* 149: 429–434.
- Lamy F, J Kaiser, U Ninnemann, D Hebbeln, H Arz & J Stoner (2004) Antarctic Timing of Surface Water Changes off Chile and Patagonian Ice Sheet Response. *Science* 304: 1959–1962.
- Lecomte F, WS Grant, JJ Dodson, R Rodríguez-Sánchez & BW Bowen (2004) Living with uncertainty: genetics imprints of climate shifts in East Pacific anchovy (*Engraulis mordax*) and sardine (*Sardinops sagax*). *Molecular Ecology* 13: 2169-2182.
- Librado P & J Rozas (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452.
- Maltagliati F, P Belcari, D Cau, M Casu, P Sartor, G Vargiu & A Castelli (2002) Allozyme genetic variability and gene flow in *O. vulgaris* (Cephalopoda, Octopodidae) from the Mediterranean Sea. *Bulletin of Marine Science* 71: 473–486.
- Mangold K & Sv Boletzky (1973) New data on reproductive biology and growth of

Octopus vulgaris. Marine Biology 19: 7–12.

Mantel N (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer Research 27: 209–220.

Marchant M, D Hebbeln & G Wefer (1999) High resolution planktic foraminiferal record of the last 13,300 years from the upwelling area off Chile. Marine Geology 161: 115–128.

Marín VH, R Escibano, LE Delgado, G Olivares & P Hidalgo (2001) Nearshore circulation in a coastal upwelling site off the northern Humboldt Current System. Continental Shelf Research 21: 1317–1329.

Marko PB, JM Hoffman, SA Emme, TM MCGovern, CC Keever & LN Cox (2010) The ‘Expansion–Contraction’ model of Pleistocene biogeography: rocky shores suffer a sea change?. Molecular Ecology 19: 146–169.

Martin PR and JK MCKay (2004) Latitudinal variation in genetic divergence of populations and the potential for future speciation. Evolution, 58:938–945.

Mayurama T & PA Fuerst (1985a) Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. III Genetic homoyigosity in population which experience periodic bottlenecks. Genetics 111: 691–703.

Mayurama T & PA Fuerst (1985b) Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. II Number of alleles in small that was formed by a recent bottlenecks. Genetics 111: 675–689.

McPhaden MJ (1999) Genesis and evolution of the 1997–98 El Niño. Science 283: 950–954.

- Mei-Ying X, Ji-Ji L, Bao-Ying G, Zhen-Ming L, Chao Z & Chang-Wen W (2011) Genetic diversity of seven populations of *Octopus variabilis* in china's coastal waters based on the 12s rRNA and COIII gene analysis. *Oceanologia et Limnologia Sinica* 42:387-396.
- Minin VN, Bloomquist EW, Suchard MA (2008) Smooth skyride through a rough skyline: Bayesian coalescent-based inference of population dynamics. *Molecular Biology and Evolution*, 25, 1459–1471.
- Mohtadi M, O E Romero & D Hebbeln (2004) Changing marine productivity off northern Chile during the past 19 000 years: a multivariable approach. *Journal of Quaternary Science*, 19(4) 347–360.
- Mohtadi M, P Rossel, CB Lange, S Pantoja, P Böning, DJ Repeta, M Grunwald, F Lamy, D Hebbeln & H-J Brumsack (2008) Deglacial pattern of circulation and marine productivity in the upwelling region off central-south Chile. *Earth and Planetary Science Letters* 272: 221-230.
- Montecino V & CB Lange (2009) The Humboldt Current System: ecosystem components and processes, fisheries, and sediment studies. *Progress in Oceanography* 83:65-79.
- Montecino V, Strub PT, Chavez FP, Thomas AC, Tarazona J, Baumgartner T (2005) Bio-physical interactions off western South America. In: Robinson AR, Brink KH (eds) *The sea*. Harvard University Press, Cambridge, MA, p 329–390.
- Montecinos A, O Leth & O Pizarro (2007) Wind-driven interdecadal variability in the eastern tropical and South Pacific. *Journal of Geophysical Research* 112.

doi:10.1029/2006JC003571.

- Narváez DA, E Poulin, G Leiva, E Hernández, JC Castilla & SA Navarrete (2004) Seasonal and spatial variation of nearshore hydrographic conditions in central Chile. *Continental Shelf Research* 24, 279–292.
- Nei M, Mayurama T & Chakraborty R. (1975) The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* 29: 1-10.
- Norman M (2000) *Cephalopods: A World Guide*. Hackenheim, ConchBooks, p. 156.
- O'Dor RK & MJ Wells (1987) Energy and nutrient flow. In P.R. Boyle (ed.) *Cephalopod Life Cycles. Comparative Reviews. Vol. 2*, 85–108. London, Orlando, Academic Press.
- Oosthuizen A, M. Jiwaji, P. Shaw (2004) Genetic analysis of the *Octopus vulgaris* population on the coast of South Africa *South African Journal of Science* 100: 603–607.
- Ortlieb L, G Vargas, JF Saliège (2011) Marine radiocarbon reservoir effect along the northern Chile–southern Peru coast (14–24°S) throughout the Holocene. *Quaternary Research* 75 91–103.
- Otero J, Álvarez-Salgado XA, González ÁF, Gilcoto M, Guerra Á (2009) High-frequency coastal upwelling events influence *Octopus vulgaris* larval dynamics on the NW Iberian shelf. *Marine Ecology Progress Series* 386:123-132
- Philander SG (1983) El Niño Southern Oscillation phenomena. *Nature* 302: 295-301.
- Philander SG (1990) *El Niño, La Niña, and the Southern Oscillation*. Academic Press, New York, 1990.

- Pons O & RJ Petit (1995) Estimation, variance and optimal sampling of genetic diversity. I. Haploid locus. *Theoretical Applied Genetics* 90: 462-470.
- Pons O & RJ Petit (1996) Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles. *Genetics* 144: 1237-1245.
- Posada D (2008) jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1253–1256.
- Poulin E, AT Palma, G Leiva, D Narváez, R Pacheco, SA Navarrete & JC Castilla (2002a) Avoiding offshore transport of competent larvae during upwelling events: the case of the gastropod *Concholepas concholepas* in Central Chile. *Limnology and Oceanography* 47: 1248–1255.
- Provan J, Bennett KD (2008) Phylogeographic insights into cryptic glacial refugia. *Trends in Ecology and Evolution*, 23, 564–571.
- Rambaut A, Drummond AJ (2009) Tracer v1.5. Available at <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer>
- Ramos M, B Dewitte, O Pizarro, G Garric (2008) Vertical propagation of extratropical Rossby waves during the 1997–1998 El Niño off the west coast of South America in a medium-resolution OGCM simulation. *Journal of Geophysical Research* 113: C08041.
- Robles F, E Alarcón & A Ulloa (1980) Las masas de agua en la región norte de Chile y sus variaciones en un periodo frío (1967) y en periodos cálidos (1969, 1971-1973) En: FAO Informes de Pesca (FAO), no. 185, *Reunión de Trabajo sobre el Fenómeno Conocido como "El Niño"*, Guayaquil (Ecuador), 4 Dec 1974 / FAO,

Rome (Italy).

- Rodbell DT, GO Seltzer, MB Abbott, DB Enfield & JH Newman (1999) An 15 000-year record of El Niño-driven alleviation in southwestern Ecuador, *Science* 283: 515–520.
- Rogers AR & H Harpending (1992) Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution* 9: 552-569.
- Romero OE, JH Kim, D Hebbeln (2006) Paleoproductivity evolution off central Chile from the Last Glacial Maximum to the Early Holocene. *Quaternary Research* 65: 519 – 525.
- Rousset F (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics* 145: 1219–1228.
- Ruzzante DE, SJ Walde, VE Cussac, ML Dalebout, J Seibert, S Ortubay & E Habit (2006) Phylogeography of the Percichthyidae (Pisces) in Patagonia: roles of orogeny, glaciation, and volcanism. *Molecular Ecology* 15: 2949–2968.
- SernaPesca (2010) Anuario estadístico de pesca. Servicio Nacional de Pesca, Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, Chile.
- Sievers HA & N Silva (1975) Masas de agua y circulación en el Océano Pacífico Sudoriental. Latitudes 18° S 33° S .(Operación Oceanográfica "Marchile VIII"). *Ciencia y Tecnología del Mar* 1: 7-67.
- Silva N & S Neshyba (1979) On the southernmost extension of the Perú-Chile Undercurrent, *Deep Sea Research Part A* 26: 1387-1393.
- Smale MJ & PR Buchan (1981) Biology of *Octopus vulgaris* off the east coast of South

- Africa. *Marine Biology* 65: 1–12.
- Söller R, K Warnke, U Saint-Paul, D Blohm (2000) Sequence divergence of mitochondrial DNA indicates cryptic biodiversity in *Octopus vulgaris* and supports the taxonomic distinctiveness of *Octopus mimus* (Cephalopoda: Octopodidae). *Marine Biology* 136: 29–35.
- Steele JH (2004) Regime shifts in the ocean: reconciling observations and theory. *Progress in Oceanography* 60: 135–141.
- Stenseth NC, A Mysterud, G Ottersen, JW Hurrell, K-S Chan & M Lima (2002) Ecological effects of climate fluctuations. *Science* 297: 1292–1296.
- Strugnell JM & AR Lindgren (2007) A barcode of life database for the Cephalopoda? Considerations and concerns. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 17: 337–344.
- Suchard MA, RE Weiss & JS Sinsheimer (2001) Bayesian selection of continuous-time Markov chain evolutionary models. *Molecular Biology and Evolution* 18: 1001–1013.
- Swearer SE, JS Shima, ME Hellberg, SR Thorrold, GP Jones, DR Robertson, SG Morgan, KA Selkoe, GM Ruiz & RR Warner (2002) Evidence of self recruitment in demersal marine populations. *Bulletin of Marine Science* 70: 251–271.
- Tajima F (1989) Statistical methods to test for nucleotide mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123: 585–595.
- Tello J, J Escamilla Sánchez, L Rodríguez Gil, A Gongora & J Carrillo (2006) Estructura Genética del Pulpo *Octopus maya* en los Estados de Campeche y Yucatán en la Península de Yucatán. *Gulf and Caribbean Fisheries Institute* 57:

744-752.

Teske PR, A Oosthuizen, I Papadopoulos & NP Barker (2007) Phylogeographic structure of *Octopus vulgaris* in South Africa revisited: identification of a second lineage near Durban harbor. *Marine Biology* 151: 2119–2122.

Thiel M, E Macaya, E Acuña, W Arntz, H Bastias, K Brokordt, P Camus, JC Castilla, LR Castro, M Cortés, CP Dumont, R Escribano, M Fernández, D Lancelloti, JA Gajardo, CF Gaymer, I Gomez, AE González, HE González, PA Haye, JE Illanes, JL Iriarte, G Luna-Jorquera, C Luxoro, PH Manríquez, V Marín, P Muñoz, SA Navarrete, E Pérez, E Poulin, J Sellanes, A Sepúlveda, W Stotz, F Tala, A Thomas, CA Vargas, JA Vásquez, A Vega (2007) The Humboldt Current System of northern and central Chile. Oceanographic processes, ecological interactions and socioeconomic feedback. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* 45:195-78.

Tomicic JJ (1985) Efectos del fenómeno de El Niño 1982–1983 en las comunidades litorales de la península de Mejillones. *Investigaciones Pesqueras (Chile)* 32: 209–213.

Tsuchi R (2002) Neogene evolution of surface marine climate in the Pacific and notes on related events. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* 19: 260–270.

Valdovinos C, S Navarrete & P Marquet (2003) Mollusk species diversity in the Southeastern Pacific: why are the most species towards the pole? *Ecography* 26: 139–144.

Van Den Hoek C (1984) World-wide latitudinal and longitudinal seaweed distribution

patterns and their possible causes, as illustrated by the distribution of Rodhopytan genera. *Helgolander Meeresuntersuchungen* 38: 227-257.

Van Heukelem WF (1979) Environmental control of reproduction and life span in octopus, an hypothesis. In S.E. Stancyk (ed.) *Reproductive Ecology of Marine Invertebrates*, 123–133. Columbia, University of Carolina Press.

Vargas CA, GS Valenzuela, SP Núñez & DF Arcos (1997) Role of oceanographic and topographic factors in the retention of hake (*Merluccius gayi gayi* Guichenot, 1848) larvae in the upwelling system off central-southern Chile. *Archive of Fishery and Marine Research* 45: 201–222.

Vargas G, J Rutilant & L Ortlieb (2006) ENSO tropical–extratropical climate teleconnections and mechanisms for Holocene debris flows along the hyperarid coast of western South America (17°–24°S). *Earth and Planetary Science Letters* 249: 467–483.

Vásquez JA, JMA Vega & AH Buschmann (2006) Long term variability in the structure of kelp communities in northern Chile and the 1997–1998 ENSO. *Journal of Applied Phycology* 18: 505–519.

Vega JMA, JA Vásquez & AH Buschmann (2005) Population biology of the subtidal kelps *Macrocystis integrifolia* and *Lessonia trabeculata* (Laminariales, Phaeophyceae) in an upwelling ecosystem of northern Chile: interannual variability and El Niño 1997–1998. *Revista Chilena de Historia Natural* 78: 33–50.

Vega MA, FJ Rocha, A Guerra, C Osorio & VH Marin (1999) Estudio preliminar de paralarvas de Cefalópodos frente a la Península de Mejillones (Antofagasta,

Chile). *Amici Molluscarum* 7: 25-31.

Villanueva R & MD Norman (2008) Biology of the planktonic stages of benthic octopuses. *Oceanography and Marine Biology Annual Review* 46: 105–202.

Waluda CM, C Yamashiro & PG Rodhouse (2006) Influence of the ENSO cycle on the light-fishery for *Dosidicus gigas* in the Peru Current: an analysis of remotely sensed data. *Fisheries Research* 79: 56–63.

Wang HJ, RH Zhang, J Cole & F Chavez (1999) El Niño and the related phenomenon Southern Oscillation (ENSO): the largest signal in interannual climate variation. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 96: 11071–11072.

Warnke K (1999) Observations on the embryonic development of *Octopus mimus* (Mollusca: Cephalopoda) from northern Chile. *The Veliger* 42: 211-217.

Wieters EA, DM Kaplan, SA Navarrete, A Sotomayor, J Largier, KJ Nielsen & F Véliz (2003) Alongshore and temporal variability in chlorophyll a concentration in Chilean nearshore waters. *Marine Ecology Progress Series* 249: 93–105.

Wolff M & J Mendo (2000) Management of the Peruvian bay scallop (*Argopecten purpuratus*) metapopulation with regard to environmental change. *Aquatic Conservation-Marine and Freshwater Ecosystems* 10: 117–126.

Zeidberg LD & BH Robison (2007) Invasive range expansion by the Humboldt squid, *Dosidicus gigas*, in the eastern North Pacific. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 104: 12948-12950.

Zhang Q, TY Chiang, M George, JQ Liu & RJ Abbott (2005) Phylogeography of the Qinghai-Tibetan Plateau endemic *Juniperus przewalskii* (Cupressaceae) inferred

from chloroplast DNA sequence variation. *Molecular Ecology* 14: 3513–3524.

Zinneister WJ (1978) Effect of formation of the West Antarctic ice sheet on shallow-water marine faunas of Chile. *Antarctic Journal of the United States* 13: 25–26.

CAPITULO IV
DISCUSIÓN GENERAL

4.1 DISCUSIÓN DE CAPITULOS II Y III.

Se realizará una discusión en relación con los resultados obtenidos en los dos capítulos anteriores para indagar si hay suficiente evidencia para rechazar las hipótesis planteadas originalmente al comienzo de este estudio. Se finalizará presentando las conclusiones del presente estudio.

4.1.1 Hipótesis Generales

Escenario contemporáneo:

La Provincia biogeográfica Magallánica es caracterizada por una geomorfología particular y diferente por el Pacífico y el Atlántico, generando condiciones hidrográficas con un elevado aporte de agua dulce sobre las masas de aguas costeras, promoviendo condiciones estuarinas semi-aisladas en los fiordos del Pacífico, y un flujo de aguas costeras menos salinas consecuencia de la confluencia de los ríos sureños sobre el mar por el Atlántico. En contraste, la provincia Templada del Pacífico Sureste es caracterizada por una configuración geofísica continua asociada a un flujo estable de masas de aguas subantárticas del SCH, que eventualmente son interrumpidas por el flujo de masas de aguas cálidas de origen subtropical.

Hipótesis 1: Especies con características ecológicas y atributos de historia de vida similares, pero habitantes de las distintas provincias biogeográficas, exhibirían patrones diferentes de conectividad, donde las especies de la Provincia Magallánica evidencien bajos niveles de conectividad, y las especies de la provincia Templada del Pacífico Sureste muestren altos niveles de conectividad.

Predicción: El pulpo *E. megalocyathus* mostrará altos niveles de estructuración genética en el extremo sur de Sudamérica. En contraste, el pulpo *O. mimus* mostrará ausencia o bajos niveles de estructuración genética a lo largo de su rango geográfico en la costa suroeste de Sudamérica.

Los resultados de los capítulos II y III, constituyen evidencia suficiente para aceptar la hipótesis 1, acerca del patrón contemporáneo de la conectividad de las dos especies de pulpos. Esto porque las predicciones asociadas a esta hipótesis ciertamente se cumplen. Por un lado, el patrón genético encontrado en *Octopus mimus* no mostró una estructuración significativa que permitiera delimitar unidades poblacionales discretas a lo largo del rango geográfico por la costa oeste de Sudamérica (Fig. 4.1 a). Además, el patrón de aislamiento por distancia sugirió un nivel de conectividad alto a mesoescala, afectado a medida que aumentó la distancia entre localidades hacia los extremos del rango geográfico. De esta manera, el mayor nivel de conectividad en la población de *O. mimus* resultó ser el resultado del flujo asimétrico de pulpos migrantes. Por el sistema de corrientes que fluyen en dirección hacia el norte, fue favorecido un nivel alto de pulpos migrantes y por ende flujo genético y conectividad por todo el rango geográfico de *O. mimus*. Mientras, en dirección hacia el sur, mostraría un bajo flujo de pulpos migrantes y por lo tanto, un nivel de conectividad limitado incluso entre localidades cercanas, lo que promovería la diferenciación genética originada por aislamiento por distancia. Por otro lado, *Enteroctopus megalocyathus* mostró estar estructurado genéticamente en extremo sur de Sudamérica (Fig. 4.1 b). Los análisis mostraron la existencia de dos unidades poblacionales, la del Pacífico y del Atlántico, con un reducido flujo de pulpos migrantes

y por ende una baja conectividad entre ellas. Este flujo de pulpos migrantes sería favorecido por el transporte a través del el sistema de corrientes que fluye desde el Pacífico hacia el Atlántico por el extremo sur (Fig. 4.1 b).

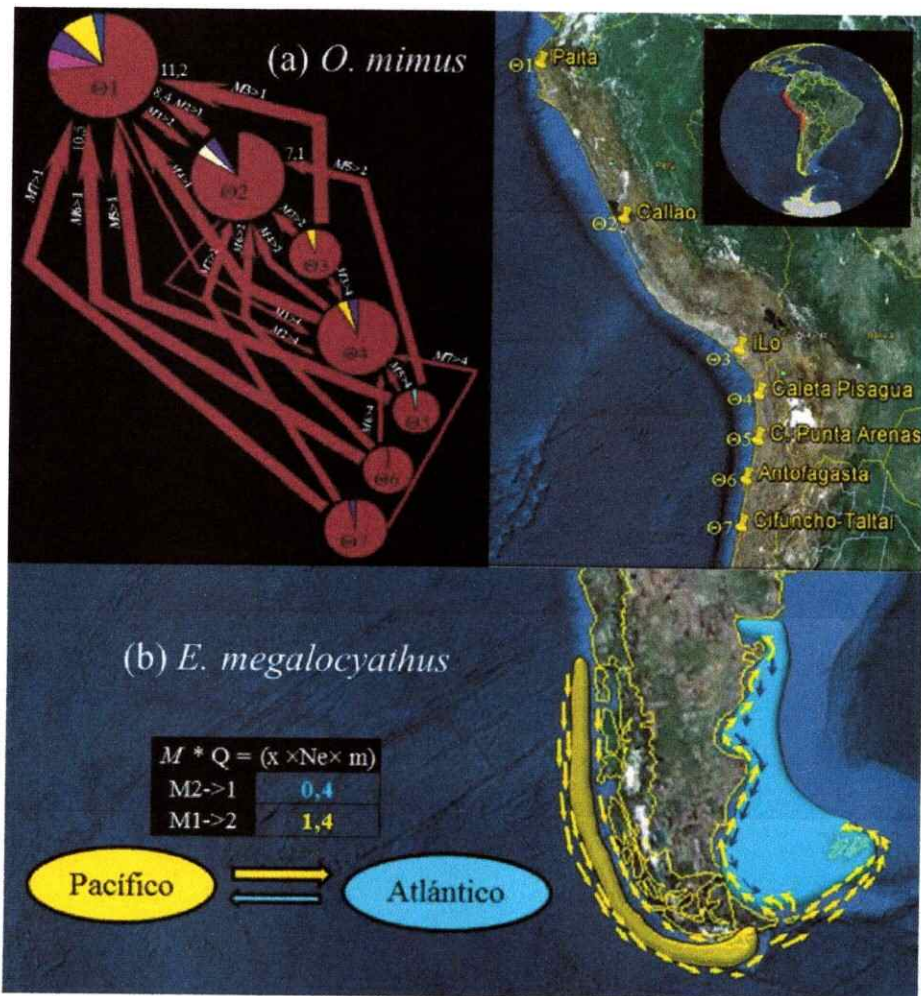


Figura 4.1 Número de pulpos migrantes por generación ($M \times \Theta = xNm$) entre localidades en la población de *O. mimus* (a), y entre las poblaciones del Pacífico y Atlántico de *E. megalocyathus* (b). Flechas: indican dirección de la migración, grosor flecha: proporcional al número de pulpo migrante, $\Theta = xNe\mu$, $M = m/\mu$. Solo se muestran el número de inmigrantes por generación ≥ 1 .

La población de *O. mimus* muestra mayor conectividad a lo largo de la costa oeste de Sudamérica. Sin embargo, el patrón genético de aislamiento por distancia es evidencia de un flujo genético asimétrico. Por un lado, la corriente costera de Humboldt (con un flujo inicial superficial y luego sub-superficial, 50-80 m de profundidad), y la corriente costera chilena superficial mantendrían una conectividad alta en dirección hacia el norte por el SCH. Por otro lado, las masas de aguas ecuatoriales sub-superficiales de la corriente de Günther, y las superficiales de la contracorriente costera chilena, promoverían un flujo bajo de pulpos en dirección hacia el sur, observado en el patrón de aislamiento por distancia. En contraste, el patrón de estructuración y de conectividad dentro y entre poblaciones de *E. megalocyathus*, son el reflejo de las condiciones geomorfológica e hidrológicas del extremo sur de Sudamérica. El elevado aporte de agua dulce sobre aguas costeras, disminuyen la salinidad, y promueven las condiciones estuarinas aisladas en esta zona (Camus 2001, Ibáñez et al. 2009). Estas características generarían sistemas semi-aislados en los canales, fiordos y Estrecho de Magallanes, afectando la conectividad de la especie en esa zona. Así, las únicas rutas de dispersión de *E. megalocyathus* entre el Pacífico y el Atlántico, sería rodeando el archipiélago chileno hasta Cabo de Hornos por medio de la corriente de Cabo de Hornos, continuando por el paso Drake, para seguir hacia el Atlántico a través de la corriente de Falkland (Camus 2001), bordeando la costa Atlántica hacia el norte a través de la Corriente de la Patagonia (Perillo et al. 2005). Los análisis de flujo genético apoyan un patrón de conectividad asimétrico, en acuerdo con el patrón de circulación oceánica de la región. El bajo número de pulpos migrantes efectivos por generación, dan

cuenta de la ausencia de flujo del Atlántico hacia el Pacífico ($Nem < 1$), mientras que del Pacífico hacia el Atlántico señalan un flujo restringido (Nem de ~ 1). En este contexto, y pese a que el flujo de las corrientes marinas favorecerían la dispersión de las paralarvas en esta dirección, se sugiere que la geografía estrecha de la plataforma continental, y las condiciones oceanográficas en el extremo sur de Sudamérica, podrían ser limitaciones o condiciones menos óptimas para la dispersión de paralarvas, causando la reducida conectividad entre las poblaciones de pulpos del Pacífico y Atlántico.

Escenario histórico:

La Provincia biogeográfica Magallánica fue afectada directamente por la formación de hielo en la patagonia occidental en el último ciclo glacial del Pleistoceno, mientras, la Provincia Templada del Pacífico sureste fue afectada solo por cambios océano-atmosféricos impulsados por este período glacial.

Hipótesis 2: Especies habitantes de la Provincia Magallánica habrían experimentado una historia demográfica marcada por extinciones locales (área cubierta con hielo), con reducción del tamaño efectivo poblacional, y posterior expansión demográfica y recolonización vía efecto fundador post-glacial. En contraste, las especies habitantes de la provincia Templada del Pacífico se caracterizarían por una historia demográfica de mayor estabilidad, sin grandes cambios en sus tamaños efectivos poblacionales en el tiempo.

Predicciones:

a.- El pulpo *E. megalocyathus* mostrará una baja diversidad genética y en consecuencia un bajo tamaño efectivo poblacional en el extremo sur de Sudamérica. Además, esta diversidad mostraría señales de expansión demográfica posterior al último período glacial.

b.- En contraste, el pulpo *O. mimus* mostrará una alta diversidad genética y un tamaño efectivo poblacional estable en el tiempo, en la costa oeste de Sudamérica.

En esta segunda hipótesis, los resultados de los capítulos II y III, constituyen evidencia suficiente para rechazar la hipótesis 2, sobre la historia demográfica de las dos especies de pulpos en las distintas provincias de Sudamérica. Las predicciones relacionadas a esta hipótesis se cumplen parcialmente, dado que *E. megalocyathus* en el extremo sur de Sudamérica mostró una baja diversidad genética. Sin embargo, y contrario a la hipótesis 2 propuesta, la especie *O. mimus* mostraría también una diversidad genética reducida por la costa oeste de Sudamérica, y que no fue significativamente distinta a la encontrada en *E. megalocyathus* (Tabla 4.1 y 4.2, Test-t, Hd: -1,702 p= 0,1154, y Π : -1.5931 p: 0.13102, realizadas con 50000 permutaciones respectivamente, programa PAST 2.14, Hammer et al. 2001).

Los resultados de inferencia demográfica sugieren que, a diferencia de lo propuesto en la hipótesis 2, ambas especies, *E. megalocyathus* y *O. mimus*, experimentaron procesos de contracción y expansión poblacional que calza con el último ciclo glacial-interglacial del Pleistoceno tardío. En este contexto, se propone que ambas especies sufrieron cambios en las condiciones de su hábitat, en particular hacia el sur de

su rango de distribución (Fig. 4.2). Para el caso de *E. megalocyathus*, el efecto directo habría sido por la formación de un manto de hielo, disminución de la temperatura y nivel del mar a lo largo de la costa del Pacífico, durante el máximo glacial (UMG, 25000 años) que alcanzó la última glaciación (UG) en la Patagonia. Mientras, los cambios en el hábitat de *O. mimus*, sugieren que habrían comenzado en ciclos glaciales-interglaciales anteriores al último máximo glacial (más de 45000 años atrás). Estos ciclos glaciales-interglaciales habrían causado reiterados cambios oceanográficos y climáticos (reducción de la temperatura superficial del mar (TSM), salinidad y nivel del mar, Kim et al, 2002) en el hábitat de *O. mimus* por el SCH durante la UG del Pleistoceno. Estos cambios habrían causado una reducción del rango de distribución, desplazando a ambas especies hacia latitudes al norte, en busca de refugios para su sobrevivencia. Posteriormente, durante las deglaciaciones del Pleistoceno tardío y luego en el Holoceno, cuando las condiciones del hábitat volvieron a ser adecuadas para la sobrevivencia de ambas especies, habrían comenzado con el proceso de recolonización hacia el sur nuevamente (Fig. 4.2).

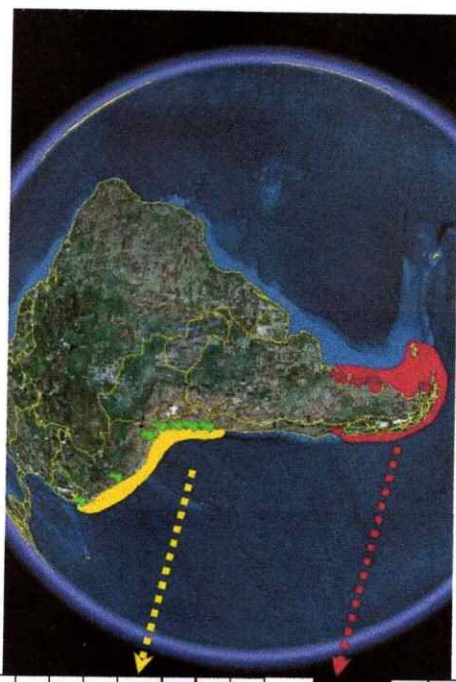
Tablas 4.1 y 4.2 Diversidad genética de *Octopus mimus* y *Enteroctopus megalocyathus*. N n° individuos, K: n° haplotipos, S: sitios polimórficos, Hd: diversidad haplotípica, π diversidad nucleotídica, Π : n° diferencia entre pares de secuencias.

Tabla 4.1 *Octopus mimus* 534 pb

Localidades	N	K	S	Hd	π	Π			
	x	x	x	d.e.	x	x			
PERÚ									
Paíta	30	5	7	0,4570	0,1070	0,0025	0,0008	1,3380	0,8538
Callao	24	4	7	0,3080	0,1180	0,0026	0,0011	1,3840	0,8820
ILO	33	2	1	0,1170	0,0730	0,0002	0,0001	0,1170	0,1897
CHILE									
Caleta Pisagua	23	3	6	0,1700	0,1020	0,0010	0,0007	0,5220	0,4539
Caleta Punta Arenas	36	2	1	0,0560	0,0520	0,0001	0,0001	0,0560	0,1265
Antofagasta	25	1	0	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Talal-Cifuncho	26	2	5	0,0770	0,0700	0,0007	0,0007	0,3850	0,3742
TOTAL	197	8	10	0,1730	0,0360	0,0010	0,0003	0,5290	0,4438

Tabla 4.2 *Enteroctopus megalocyathus* 551 bp

Localidades	N	K	S	Hd	π	Π			
	x	x	x	d.e.	x	x			
Pacífico									
Ancud	25	3	2	0,157	0,096	0,000	0,001	0,160	0,240
Puerto Williams	27	2	1	0,074	0,067	0,000	0,001	0,074	0,164
Atlántico									
Puerto Deseado	23	3	5	0,549	0,060	0,004	0,001	2,079	0,869
Camaronés	24	3	5	0,518	0,073	0,004	0,001	2,040	0,859
Cerro Avanzado	18	2	4	0,366	0,011	0,003	0,001	1,464	0,738
San Román	15	2	4	0,343	0,128	0,002	0,001	1,371	0,722
TOTAL	132	7	9	0,531	0,021	0,004	0,001	2,035	0,830



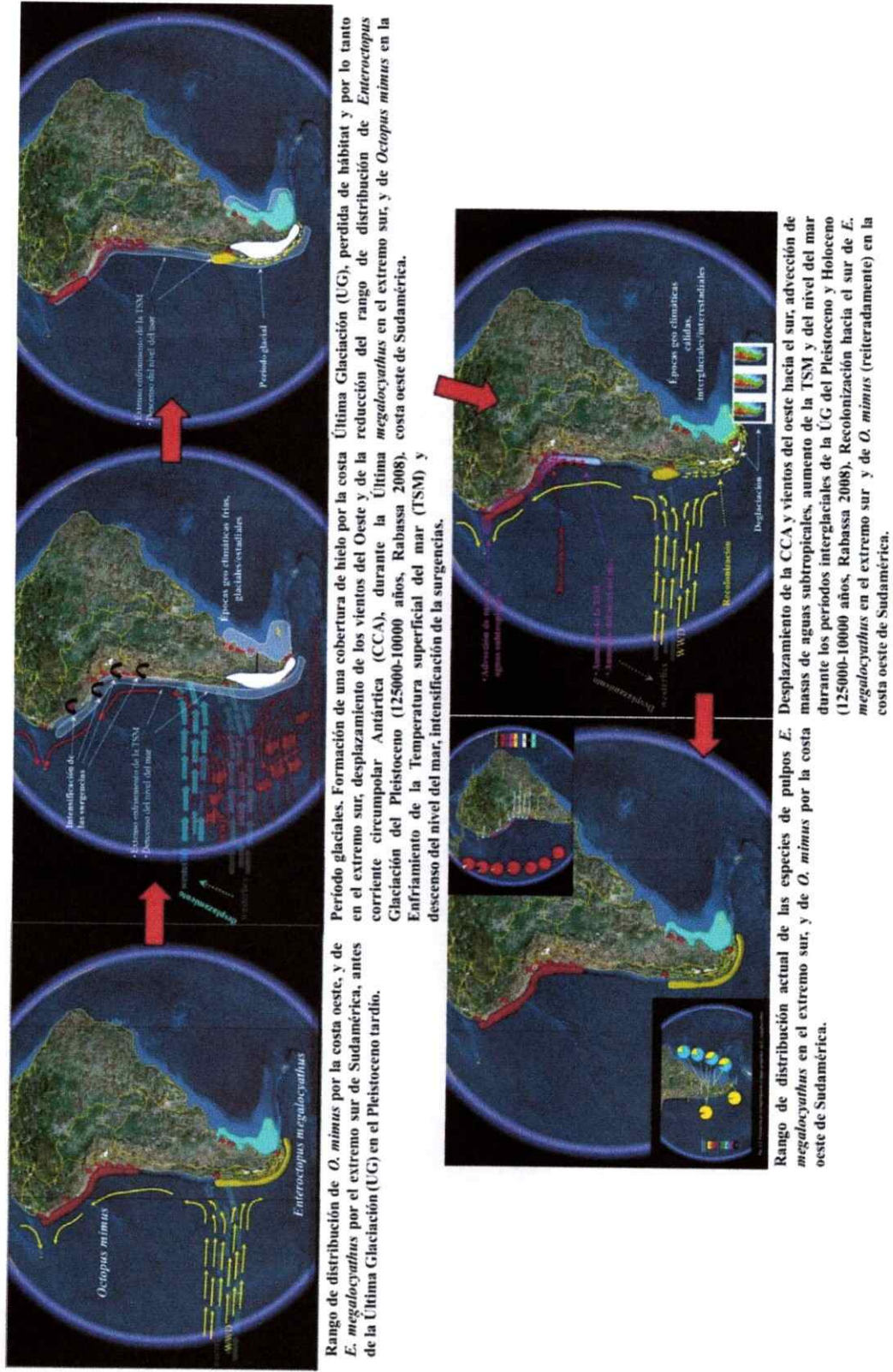


Figura 4.2 Escenario hipotético sobre la historia demográfica del pulpos *O. mimus* por la costa oeste, y de *E. megalocyathus* por el extremo sur de Sudamérica, durante la Última Glaciación del Pleistoceno.

4.2 CONCLUSIONES

En este estudio se confirma que las características geomorfológicas, oceanográficas y climáticas, históricas y contemporáneas, de la costa de Sudamérica han tenido una gran influencia en el patrón de conectividad e historia demográfica de especies costeras con fase larval planctónica. En este caso, las dos especies en estudio, los pulpos *Octopus mimus* y *Enteroctopus megalocyathus*, con características ecológicas y atributos de historia de vida similar, mostraron patrones de conectividad contemporáneos distintos, asociados a las características ambientales de sus respectivas provincias biogeográficas marinas. Por otro lado, desde una perspectiva histórica que considera una escala de los períodos glaciales del Pleistoceno, las inferencias demográficas de ambas especies de pulpos evidenciaron haber sido afectadas, aunque de manera distinta por las glaciaciones, con cambios demográficos y alteración del rango distribución, semejante a un patrón biogeográfico Pleistocénico de contracción-expansión post-glacial.

La Provincia Templada del Pacífico Sureste se caracteriza por una configuración geofísica continua con un flujo estable de masas de aguas subantárticas del Sistema de Corriente de Humboldt (SCH), interrumpidas periódicamente por el flujo de masas de aguas cálidas de origen subtropical. En esta región, la especie *O. mimus* mostró una gran homogeneidad genética y por ende un nivel alto de conectividad que mantiene una única unidad poblacional, caracterizada sin embargo, por un aislamiento genético gradual hacia los extremos de su rango geográfico. Ciertamente aún son pocos los estudios sobre la estructura genética y conectividad en organismos marinos por el SCH. Sin embargo, los registros existentes en especies con larva planctónica de larga duración (varias

semanas), como el calamar *Dosidicus gigas*, evidencia también un alto flujo génico y conectividad a lo largo del SCH (Ibáñez et al. 2011). Se suman otras especies como el cangrejo *Cancer setosus*, el langostino colorado *Pleuroncode monodon*, y el gastrópodo *Concholepas concholepas*, del jurel *Trachurus murphyi*, y del alga *Macrocystis pyrifera* con ausencia de estructuración genética (Gómez-Uchida et al. 2003, Haye et al. 2010, Cárdenas et al. 2009 a y b, Macalla & Zuccarello 2010). Además un reciente estudio comparativo entre especies con larva planctónica con distinto potencial de dispersión a lo largo de los 3000 km de costa por el SCH (el cangrejo topo *Emerita analoga*, las estrellas de mar *Heliaster helianthus* y *Stichaster striatus* y los equinoideos *Loxechinus albus* y *Tetrapygyus niger*), mostró ausencia de discontinuidad genética y filogeográfica, señalando un nivel alto de conectividad a escala macrogeográfica en especie con alto potencial de dispersión, contrastando con las de menor potencial (Haye et al. en revisión). Resultado similar se encontró también en peces con un amplio rango geográfico y una duración larval prolongada (varias semanas), como es el caso de la merluza chilena *Merluccius gayi gayi* (Guichenot, 1848) y el jurel *Trachurus murphyi* Nichols, 1920 (Galleguillos et al. 2000, 2012, Cárdenas et al. 2009 b). En contraste a estos estudios, es la estructuración genética encontrada en especies con reducido potencial de dispersión como las algas *Lessonia nigrescens* y *Mazzaella laminarioides*, y los gastrópodos *Chorus giganteus* y *Acanthina monodon* por el SCH (Faugeron et al. 2005, Tellier et al. 2009, Faugeron et al. 2001, Gajardo et al. 2002, Sánchez et al. 2011 respectivamente). En síntesis, los resultados de este estudio y los otros mencionados, sugieren que especies con una fase larval de larga duración, pueden sostener una

continuidad genética, y por lo tanto, un nivel de conectividad alto a lo largo del SCH, gracias a que su condición biológica es especialmente favorecida por las características geofísicas y océano-atmosféricas del SCH. A la vez, este nivel alto de conectividad podría ser un factor limitante a la formación de linajes intraespecíficos en especies con fase larval planctónico. Un nivel alto de conectividad, involucra un gran flujo genético, proceso clave que impide la separación de poblaciones, y por ende, las sucesivas etapas de la historia evolutiva que podrían llevar a la formación de poblaciones recíprocamente monofiléticas (Aulsebrook 2000, 2009).

La Provincia biogeográfica Magallánica, en contraste a la provincia anteriormente mencionada, es caracterizada por una geomorfología compleja que abarca la costa del Pacífico y el Atlántico en el extremo de Sudamérica. Las condiciones hidrográficas están marcadas por un elevado aporte de agua dulce sobre las masas de aguas costeras, promoviendo condiciones estuarinas semi-aisladas en los fiordos del Pacífico, y un flujo de aguas costeras menos salinas consecuencia de la afluencia de los ríos sureños sobre el Atlántico. En esta provincia, el pulpo *E. megalocyathus* evidenció estructuración genética, precisamente en el límite sur de las poblaciones del Pacífico y del Atlántico, que además ha generado un patrón de estructuración filogeográfica. Por otro lado, cada población ha mantenido un flujo de genes mediado por la dispersión de las paralarvas transportadas por las corrientes marinas, del Cabo de Hornos por el Pacífico, y de Flakland/Malvinas por el Atlántico, manteniendo niveles altos de conectividad intrapoblacional. Tal patrón de conectividad por la costa del Pacífico, también han sido reconocido en otros organismos con larva planctónica o pelágica

como, la lapa *Nacella magellanica* (Gonzalez-Weber et al. 2012), el mitílido *Mytilus edulis* (Toro et al. 2004), los peces *Sebastes oculatus* (Nuñez et al. 2010) y *Eleginops maclovinus* (Ceballos et al. 2012), las macroalgas *Durvillaea antarctica* (Fraser et al. 2010) y *Macrocystis pyrifera* (Macaya & Zuccarello 2010). Mientras, una estructuración genética alta y por ende baja conectividad entre poblaciones de la costa patagónica del Pacífico y del Atlántico, semejante a *E. megalocyathus*, solo a sido evidenciado en la lapa con fase larval planctónica de *Nacella magellanica* (Gonzalez-Weber et al. 2012), lo cual sugiere que son especies sensibles a los procesos oceanográficos que ocurren en el extremo sur de Sudamérica, limitando su dispersión entre el Pacífico y Atlántico. Sin embargo, también existen ejemplos con los peces *Sebastes oculatus* (Nuñez et al. 2010) y *Eleginops maclovinus* (Ceballos et al. 2012), que sugieren lo contrario a lo encontrado en este estudio, y más bien proponen que por las características de las larvas pelágicas de larga duración, han podido mantener una homogeneidad genética y conectividad que traspasa los límites del Pacífico hacia la costa del Atlántico. En resumen, esto antecedentes sugieren que las corrientes marinas que fluyen por la costa de la Patagonia del Pacífico y del Atlántico, son la causa del alto flujo genético que mantienen las especies con larva planctónica. Sin embargo, el cruce desde el Pacífico hacia el Atlántico, por el extremo sur, resultaría ser una gran barrera al flujo genético para algunas especies, como moluscos, que mantienen un rango geográfico por casi o toda la Provincia Biogeográfica Magallánica.

La evolución del patrón biogeográfico de ambas especies de pulpos, con fase planctónica, se relaciona estrechamente con los cambios oceanográficos y climáticos que

ocurrieron en las distintas provincias biogeográfica marinas de Sudamérica durante las glaciaciones del Pleistoceno tardío. Varios estudios moleculares en especies costeras, han sugerido un patrón biogeográfico pleistocénico de tipo Contracción-Expansión (C-E) post-glacial. Este modelo de C-E post-glacial, ha sido utilizado para describir la respuesta geográfica y demográfica de especies, frente a los cambios climáticos y oceanográficos durante los ciclos glaciales-interglaciales del Pleistoceno en el hemisferio norte (Provan & Bennett 2008, Marko et al. 2010, Kelly & Palumbi 2010). Durante las glaciaciones que afectaron la mayor parte del hemisferio norte, muchas especies sobrevivieron en refugios glaciales hacia el sur, para solo volver a poblar las latitudes más altas a través de expansiones posteriores a las glaciaciones (Hewitt & Ibrahim 2001, Hewitt 2004). De este modo, el modelo de C-E post-glacial, además de formar parte del paradigma fundamental de la biogeografía del Pleistoceno, ha sido utilizado como potencial explicación para comprender como las especies reponderían a los cambios climáticos (Gates 1993, Marko et al. 2010). Ciertamente en el hemisferio sur, las especies marinas de este estudio, ambas de provincias biogeográficas distintas de Sudamérica, también muestran un patrón biogeográfico pleistocénico asociado al modelo de C-E post-glacial. Estudios filogeográficos en áreas templadas o frías del hemisferio sur han aumentado durante la última década en diferentes grupos de especies del extremo sur de Sudamérica. Evidencia genética de recolonización post-glacial en la Patagonia se tiene en mamíferos (Himes et al. 2008, Lessa et al. 2010, Pardiñas et al. 2011, Palma et al. 2012), plantas (Fraser et al. 2010, Macalla & Zuccarello 2010, Sércic et al. 2011), peces de agua dulce del género *Galaxias* (Cussac et al. 2003, Zemlak et al.

2008, 2010), y de la familia Percichthyidae (Ruzzante et al. 2006), en reptiles (Victoriano et al. 2008, Vidal 2011), y anfibios (Nuñez et al. 2011). La mayoría de estos estudios han respondido a un modelo de C-E post-glacial, sugiriendo recolonización desde áreas libres de hielo (Jakob et al. 2009) o desde refugios glaciales (Himes et al. 2008, Zemplak et al. 2008, Nuñez et al. 2011). Sin embargo, aún son pocos los estudios moleculares que han profundizado en el efecto de los ciclos glaciales del cuaternario en organismos marinos, y la mayoría restringidos a la costa del Pacífico del extremo sur Sudamérica (Cárdenas et al. 2009 a, Macalla & Zuccarello 2010, Fraser et al. 2010, Sánchez et al. 2011, González-Wevar et al. 2011). Estudios que consideran ambas costas del sur de Sudamérica, como es el caso de este estudio y otros (Nuñez et al. 2010, Ceballos et al. 2012, González-Wevar et al. 2012), sugieren también un modelo de C-E como patrón biogeográfico post-glacial. Sin embargo, a diferencia de los estudios en peces (Nuñez et al. 2010, Ceballos et al. 2012), los realizados en molucos con larva plantónica, como en este estudio en el pulpo *Enteroctopus megalocyathus*, y los de *Nacella magellanica* (González-Wevar et al. 2012), evidencian estructuración genética y filogeográfica entre poblaciones del Pacífico y del Atlántico. Así, estos patrones de estructuración sugieren ser consecuencia de los ciclos glaciales del Cuaternario (1.8 Ma – 10 ka), que habrían generado cambios en el clima, afectando el paisaje terrestre y marino en Sudamérica. La edad estimada de los yacimientos glaciogénicos de la última glaciación (UG) del Pleistoceno tardío, considera que un comienzo aproximado de 85 ka, con un proceso lento de formación de un manto de hielo en los Andes Patagónico, que tomó al menos 30 ka, alcanzando su máximo alrededor de los 25 ka, durante el

último máximo glacial (UMG, Rabassa et al. 2005). Durante el UMG, el manto de hielo habría alcanzado aproximadamente 1800 km, cubriendo la parte occidental de los Andes, desde los 35° S hasta casi los 56° S, que alcanzó hasta el mar (Hulton et al. 2002, Rabassa 2008). Estos cambios glaciales sobre la Patagonia habrían producido un aislamiento regional y extinciones locales, cambiando la demografía y biogeografía de diversas especies, para evolucionar en los actuales patrones en las especies del extremo sur de Sudamérica. Otras regiones de Sudamérica, tales como la Provincia Biogeográfica Templada del Pacífico Sureste, los efectos de las glaciaciones del Pleistoceno tardío se manifestaron en reiterados cambios en las zonas climáticas, consecuencia del posicionamiento hacia más al norte de los vientos del Oeste y de la extensión de la Corriente Circumpolar Antártica (CCA, fuente generadora de nutrientes). Seguidamente esto habría incrementado la advección de masas de agua Subantártica ricas en nutrientes a través del Sistema de Corrientes de Humboldt (Marchant et al. 1999, Hebbeln et al. 2000, 2002, Kim et al 2002, Lamy et al. 1998, 2001, Mohtadi et al. 2004, Vargas et al 2004, Ortlieb et al. 2011), produciendo una reducción de la temperatura superficial del mar (TSM) y del nivel del mar (menos de ~120 metros a escala global, Hulton et al. 2002). Este estudio muestra que estos cambios climáticos y oceanográficos habrían afectado al pulpo *Octopus mimus*, causando un patrón C-E post-glacial. De estos resultados entonces se desprende que no solo las especies del extremo sur de Sudamérica mostrarían un patrón biogeográfico de tipo C-E post-glacial. Además podrían mostrarlo especies de latitudes más baja en Sudamérica, por causa probablemente del masivo enfriamiento y reducción en el nivel del mar, originando reiteradas constricciones y expansiones demográficas y geográficas. Además, evidencia

genética de expansión post-glacial, también ha sido sugerida con anterioridad en especies distribuidas en esta provincia, en un limitado número de estudios del gastrópodo *Concholepas concholepas* (Cárdenas et al. 2009a), del jurel *Trachurus murphyi* (Cárdenas et al. 2009b), del langostino *Pleuroncode monodon* (Haye et al. 2010), y de los calamares *Dosidicus gigas* (Ibáñez et al. 2011) y *Doryteuthis gahi* (Ibáñez et al. 2012), todo sugiriendo un patrón demográfico y geográfico de expansión post-glacial.

Para sintetizar la información de la tesis, finalmente se presenta una tabla resumen con las principales preguntas y sus resultados presentados a continuación:

Pregunta	Capítulo II: <i>Enteroctopus megalocyathus</i>	Capítulo III: <i>Octopus mimus</i>
¿Ambas especies de pulpos presentaron estructuración genética en cada provincia de Sudamérica?.	Esta especie mostró estructuración genética en dos unidades genéticas distintas, una del Pacífico y otra de Atlántico, asociado a una estructuración filogeográfica.	El patrón de diversidad genética en el rango geográfico de esta especie detectó una estructuración genética baja que no permite definir poblaciones discretas distintas. Pero, tampoco reconoce una sola unidad poblacional homogénea, consecuencia del aislamiento genético mediado por la distancia geográfica.
¿Cuáles fueron los efectos de la geomorfología e hidrología de la costa de cada provincia de Sudamérica, sobre el patrón de flujo genético y conectividad de ambas especies de pulpos?.	Ambas poblaciones, la del Pacífico y Atlántico, mostraron un nivel alto de flujo genético y conectividad intra-poblacional, principalmente favorecido por los sistemas de corrientes marinas del sur de Sudamérica. Sin embargo, entre poblaciones del Atlántico y Pacífico, el flujo genético y conectividad fue muy reducido y asimétrico. Esto, consecuencia de la ausencia de un flujo de paralarvas por los fiordos y Estrecho de Magallanes. Quedando solo el paso por el extremo sur de Sudamérica, donde el estrechamiento de la plataforma continental, podrían generar condiciones oceanográficas que	<i>O. mimus</i> muestra un flujo de pulpos migrantes asimétrico, lo que resulta en flujo genético un alto en dirección hacia el norte, sugiriendo una dispersión efectiva, y por consiguiente un nivel alto de conectividad que abarca todo el rango geográfico de <i>O. mimus</i> , supuestamente favorecido por las corriente costera de Humboldt y la corriente costera chilena. Mientras, el bajo flujo genético y conectividad hacia el sur sugiere una conectividad limitada entre localidades cercanas, consecuencia de una diferenciación genética originado por aislamiento por distancia, causado probablemente por el flujo de masas de

<p>¿Cuáles son los efectos de los periodos glaciales sobre la diversidad genética y el tamaño efectivo poblacional de los pulpos en cada provincia de Sudamérica?</p>	<p>restringen el flujo de paralarvas entre el Pacífico y Atlántico, generando la reducida conectividad entre ambas poblaciones.</p>	<p>aguas ecuatoriales sub-superficiales como la corriente de Günther, la contracorriente superficial costera chilena</p>
<p>¿Cuáles son los efectos de los periodos glaciales sobre la diversidad genética y el tamaño efectivo poblacional de los pulpos en cada provincia de Sudamérica?</p>	<p><i>E. megalocyathus</i> mostró una baja diversidad genética y señal de expansión demográfica en la población del Pacífico, en un periodo posterior al UMG, menos de 10000 años. Esto sugiere que esta especie experimentó una reducción en su tamaño efectivo, como consecuencia del último periodo glacial. En este contexto, las extinciones locales consecuentes de la pérdida de hábitat en el sur de Sudamérica, desplazaron y restringieron el rango de distribución hacia el norte por el Pacífico. Posteriormente, durante el periodo de deglaciación, habría comenzado el proceso de recolonización, vía efecto fundador del haplotipo H1 hacia el sur y luego hacia el Atlántico.</p>	<p><i>Octopus mimus</i> mostró una baja diversidad y señal de reiteradas expansión demográfica. A diferencia de lo propuesto en la hipótesis histórica, este pulpo si experimentó procesos de cambios demográficos (extinciones locales) y del rango geográfico, a pesar de estar distribuido en latitudes lejanas a la formación directa del manto de hielo durante la última glaciación del Pleistoceno, iniciándose aproximadamente 85000 años atrás. El cambio en el tamaño efectivo, como consecuencia también de las posibles extinciones locales hacia el sur del rango de distribución <i>O mimus</i>, habrían sido provocados por cambios en el hábitat, tales como el enfriamiento y reducción del nivel del mar y salinidad.. Estos cambios habrían reducido reiteradamente el rango de <i>O. mimus</i> hacia latitudes más cálidas, para luego comenzar con los procesos de recolonización hacia el sur, principalmente durante el Holoceno.</p>

4.3 LITERATURA

Avice JC (2000) *Phylogeography*. Harvard University Press, Massachusetts, pp 446.

Avice JC (2009) *Phylogeography: retrospect and prospect*. *Journal of Biogeography*, 36: 3–15.

Camus PA (2001) *Biogeografía marina de Chile continental*. *Revista Chilena de Historia Natural* 74: 587-617.

Cárdenas L, AX Silva, A Magoulas, J Cabezas, E Poulin E, FP Ojeda (2009 b) Genetic population structure in the Chilean jack mackerel, *Trachurus murphyi* (Nichols) across the South-eastern Pacific Ocean. *Fisheries Research* 100:109-115.

Cárdenas L, JC Castilla, F Viard (2009a) A phylogeographical analysis across three biogeographical provinces of the south-eastern Pacific: the case of the marine gastropod *Concholepas concholepas*. *Journal Biogeography*, 36: 969-981.

Ceballos SG, EP Lessa, MF Victorio & DA Fernández (2011) *Phylogeography of the sub-Antarctic notothenioid fish Eleginops maclovinus: evidence of population expansion*. *Marine Biology*, 159: 499-505.

Cussac V, S Ortubay, G Iglesias, D Milano, M Lattuca, J Barriga, M Battini & M Gross (2003) *The distribution of South American galaxiid fishes: the role of biological traits and postglacial history*. *Journal of Biogeography*, 31: 103–121.

Faugeron S, Martínez EA, Correa JA & Billot C (2005) *Long-term copper mine waste disposal in northern Chile associated with gene flow disruption of the intertidal kelp Lessonia nigrescens*. *Marine Ecology Progress Series*, 288: 129–140.

- Faugeron S, Valero M, Destombe C, Martin EA, Correa JA (2001) Hierarchical spatial structure and discriminant analysis of genetic diversity in the red alga *Mazzaella laminarioides* (Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of Phycology* 37: 705–716.
- Fraser C, M Thiel, H Spencer & J Waters (2010) Contemporary habitat discontinuity and historic glacial ice drive genetic divergence in Chilean kelp. *BMC Evolutionary Biology*, 10: 203.
- Galleguillos R, CB Canales-Aguirre & S Ferrada (2012) Genetic variability in jack mackerel (*Trachurus murphyi*): new SSRs loci and application. *Gayana*, 76 (1): 58-62.
- Galleguillos R, L Troncoso, C Oyarzún, M Astorga, & M Peñaloza (2000) Genetic differentiation in Chilean hake *Merluccius gayi gayi* (Pisces: Merlucciidae). *Hydrobiologia*, 420: 49–54.
- Gates DM (1993) *Climate Change and its Biological Consequences*. Sinauer Associates. Sunderland, MA.
- Gomez-Uchida D, D Weetman, L Hauser, R Galleguillos & M Retamal (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: 486–494.
- González-Wevar C A, M Hüne, JI Cañete, A Mansilla, T Nakano & E Poulin (2012) Towards a model of postglacial biogeography in shallow marine species along the Patagonian Province: lessons from the limpet *Nacella magellanica* (Gmelin, 1791). *BMC Evolutionary Biology*, 12:139, doi:10.1186/1471-2148-12-139

- González-Wevar CA, T Nakano, JI Cañete & E Poulin (2011) Concerted genetic, morphological and ecological diversification in *Nacella* limpets in the Magellanic Province. *Molecular Ecology*, 20:1936–1951.
- Hammer Ø, DAT Harper & PD Ryan (2001) PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4: 1-9.
- Haye PA, P Salinas, E Acuña & E Poulin (2010) Heterochronic phenotypic plasticity with lack of genetic differentiation in the southeastern Pacific squat lobster *Pleuroncodes monodon*. *Evolution and Development*, 12: 628–633.
- Hebbeln D, M Marchant & G Wefer (2002) Paleoproductivity in the southern Peru–Chile current through the last 33,000 years. *Marine Geology*, 186: 487-504.
- Hebbeln D, M Marchant, T Freudenthal & G Wefer (2000) Surface sediment distribution along the Chilean continental slope related to upwelling and productivity. *Marine Geology* 164: 119–137.
- Hewitt GM (2004) Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, 359: 183–195.
- Hewitt GM, Ibrahim KM (2001) Inferring glacial refugia and historical migrations with molecular phylogenies. In: *Integrating Ecology and Evolution in a Spatial Context*. BES Symposium Volume (ed. Silvertown J, Antonovics J), pp. 271–294. Blackwell Press, Oxford.
- Himes C, M Gallardo & G Kenagy (2008) Historical biogeography and post-glacial recolonization of South American temperate rain forest by the relictual marsupial *Dromiciops gliroides*. *Journal Biogeography*, 35: 1415–1424.

- Hulton NRJ, RS Purves, RD McCulloch, DE Sugden & MJ Bentley (2002) The Last Glacial maximum and deglaciation in southern South America. *Quaternary Science Reviews*, 21: 233–241.
- Ibáñez CM, J Argüelles, C Yamashiro, L Adasme, R Céspedes & E Poulin (2012) Spatial genetic structure and demographic inference of the Patagonian squid *Doryteuthis gahi* in the Southeastern Pacific Ocean. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*. 92: 197-203.
- Ibáñez CM, LA Cubillos, R Tafur, J Argüelles, C Yamashiro & E Poulin (2011) Genetic diversity and demographic history of *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae) in the Humboldt Current System. *Marine Ecology Progress Series*, 431: 163-171.
- Ibáñez CM, PA Camus & F Rocha (2009) Diversity and distribution of cephalopod species of the coast off Chile. *Marine Biology Research* 5(4): 374-384.
- Jakob S, E Martinez-Meyer & F Blattner (2009) Phylogeographic analyses and paleodistribution modeling indicate Pleistocene In Situ survival of *Hordeum* species (Poaceae) in Southern Patagonia without genetic or spatial restriction. *Molecular Biology and Evolution*, 26: 907–923.
- Keefer D, SD deFrance, ME Moseley, JB Richardson III, DR Satterlee & A Day-Lewis (1998) Early Maritime Economy and El Niño Events at Quebrada Tacahuay, Peru. *Science* 281: 1833-1835.

- Kelly RP & RS Palumbi (2010) Genetic structure among 50 species of the northeastern pacific rocky intertidal community. PLoS ONE 5(1): e8594. 128, doi:10.1371/journal.pone.0008594.
- Kim JH, RR Schneider, D Hebbeln, PJ Müller & G Wefer (2002) Last deglacial sea-surface temperature evolution in the Southeast Pacific compared to climate changes on the South American continent. Quaternary Science Reviews, 21: 2085–2097.
- Lamy F, J Kaiser, U Ninnemann, D Hebbeln, H Arz & J Stoner (2004) Antarctic Timing of Surface Water Changes off Chile and Patagonian Ice Sheet Response. Science 304: 1959–1962.
- Lessa E, G D'Elía & U Pardiñas (2010) Genetic footprints of late Quaternary climate change in the diversity of Patagonian-Fuegian rodents. Molecular Ecology, 19: 3031–3037.
- Macaya E & G Zuccarello (2010) Genetic structure of the giant kelp *Macrocystis pyrifera* along the southeastern Pacific. Marine Ecology Progress Series, 420:103-112.
- Marchant M, D Hebbeln & G Wefer (1999) High resolution planktic foraminiferal record of the last 13,300 years from the upwelling area off Chile. Marine Geology 161: 115-128.
- Marko PB, JM Hoffman, SA Emme, TM McGovern, CC Keever & LN Cox (2010) The 'Expansion–Contraction' model of Pleistocene biogeography: rocky shores suffer a sea change?. Molecular Ecology, 19: 146–169.

- Mohtadi M, O E Romero & D Hebbeln (2004) Changing marine productivity off northern Chile during the past 19 000 years: a multivariable approach. *Journal of Quaternary Science*, 19(4) 347–360.
- Nuñez J, N Wood, F Rabanal, F Fontanella & JW Jr Sites (2011) Amphibian phylogeography in the Antipodes: Refugia and postglacial colonization explain mitochondrial haplotype distribution in the Patagonian frog *Eupsophus calcaratus* (Cycloramphidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 58: 343–352.
- Nuñez JJ, MT González & M Pérez-Losada (2010) Testing species boundaries between Atlantic and Pacific lineages of the Patagonian rockfish *Sebastes oculatus* (Teleostei: Scorpenidae) through mitochondrial DNA sequences. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 45 (S1): 565-573.
- Ortlieb L, G Vargas, JF Saliège (2011) Marine radiocarbon reservoir effect along the northern Chile – southern Peru coast (14–24°S) throughout the Holocene. *Quaternary Research*, 75: 91–103.
- Palma R, D Boric-Bargetto, F Torres-Pérez, C Hernández & T Yates (2012) Glaciation effects on the phylogeographic structure of *Oligoryzomys longicaudatus* (Rodentia: Sigmodontinae) in the Southern Andes. *PLoS One* 7: e32206.
- Pardiñas UFJ, P Teta, G D'elfia & EP. Lessa (2011) The evolutionary history of sigmodontine rodents in Patagonia and Tierra del Fuego. *Biological Journal of the Linnean Society*, 103: 495–513.
- Perillo G, MC Piccolo & J Marcovecchio (2005) Coastal oceanography of the western south Atlantic continental shelf (33° to 55°S.) In: Robinson A, Brink KH (eds),

The Global Coastal Ocean: Interdisciplinary Regional Studies and Syntheses,
Vol.14, Ch.9, Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, USA.

Provan J & K Bennett (2008) Phylogeographic insights into cryptic glacial refugia.
Trends in Ecology & Evolution, 23: 564-571.

Rabassa J (2008) Late Cenozoic of Patagonia and Tierra del Fuego. En: Rabassa J (ed)
The Late Cenozoic of Patagonia and Tierra del Fuego. Elsevier. 151-204.

Rabassa J, AM Coronato & M Salemme (2005) Chronology of the late Cenozoic
Patagonian glaciations and their correlation with biostratigraphic units of the
pampean region (Argentina). *Journal of South American Earth Sciences*, 20, 81–
103.

Rodbell DT, GO Seltzer, MB Abbott, DB Enfield & JH Newman (1999) An 15000-year
record of El Niño-driven alleviation in southwestern Ecuador. *Science*, 283: 515–
520.

Ruzzante D, S Walde, V Cussac, M Dalebout, J Seibert, S Ortubay & E Habit (2006)
Phylogeography of the Percichthyidae (Pisces) in Patagonia: roles of orogeny,
glaciation, and volcanism. *Molecular Ecology*, 15: 2949–2968.

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

Sérsic A, A Cosacov, A Cocucci, L Johnson, R Pozner, L Avila, JW Jr Sites, M
Morando (2011) Emerging phylogeographical patterns of plants and terrestrial

vertebrates from Patagonia. *Biological Journal of the Linnean Society*, 103: 475-494.

Tellier F., Meynard A., Correa J., Faugeron S., Valero M. (2009). Phylogeographic analyses of the 30° south-east Pacific biogeographic transition zone establish the occurrence of a sharp genetic discontinuity in the kelp *Lessonia nigrescens*: Vicariance or parapatry? *Molecular Phylogenetic and Evolution* 53:679-693.

Toro J, J Ojeda, A Vergara (2004) The genetic structure of *Mytilus chilensis* (Hupe 1854) populations along the Chilean coast based on RAPDs analysis. *Aquaculture Research*, 35: 1466-1471.

Victoriano P, J Ortiz, E Benavides, B Adams, JWJr Sites (2008) Comparative phylogeography of codistributed species of Chilean *Liolaemus* (Squamata: Tropiduridae) from the central-southern Andean range. *Molecular Ecology*, 17: 2397-2416.

Vidal M, P Moreno & E Poulin (2011) Genetic diversity and insular colonization of *Liolaemus pictus* (Squamata, Liolaeminae) in north-western Patagonia. *Austral Ecology*, 37: 67-77.

Zemlak T, E Habit, S Walde, C Carrea, D Ruzzante (2010) Surviving historical Patagonian landscapes and climate: molecular insights from *Galaxias maculatus*. *BMC Evolutionary Biology*, 10: 67.

Zemlak T, E Habit, S Walde, M Battini, E Adams, D Ruzzante (2008) Across the southern Andes on fin: glacial refugia, drainage reversals and a secondary contact

zone revealed by the phylogeographical signal of *Galaxias platei* in Patagonia.
Molecular Ecology, 17: 5049–5061.

4.4 ANEXOS

4.4.1 Descripción de los índices de diversidad genética

Número de sitios polimórficos (S): número de sitios en las secuencias que presentan diferentes nucleótidos.

Número de haplotipos (K): número total de haplotipos diferentes encontrados en una muestra.

Diversidad haplotípica (Hd): es la probabilidad de que al elegir dos haplotipos al azar, estos sean diferentes.

$$Hd = n(1 - \sum p_i^2) / n - 1$$

donde n representa el número de secuencias y p_i es la frecuencia relativa de los i th haplotipos.

Promedio de diferencias entre pares de secuencias (Π): indica el número de diferencias promedio que existe entre todos los pares de secuencias de la muestra.

$$\Pi = n(\sum p_i p_j d_{ij}) / n - 1$$

donde n representa el número de secuencias, d es una estimación del número de mutaciones y p es la frecuencia relativa de los haplotipos i y j