

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE PESQUERÍA



**“FILOGEOGRAFÍA DEL ALGA *Chondracanthus chamissoi*
(GIGARTINACEAE, RHODOPHYTA) EN LA COSTA PERUANA
USANDO MARCADORES MOLECULARES”**

Presentada por:

Bach. SIGFRIED ANTONIO SUÁREZ ALARCÓN

**Tesis para optar el título de
INGENIERO PESQUERO**

Lima – Perú

2019

Dedico esta tesis a mis amados padres:

Manuel Antonio Suárez Traverso e Ivonne Albina Alarcón Padilla.

Esta vida no me alcanzará para retribuirles todo su apoyo y amor incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Quiero darle gracias a la Dra. Patricia Liliana Gil Kodaka, asesora de esta tesis y coordinadora general del proyecto 129-2015-FONDECYT “Diversidad de macroalgas de la costa central del Perú usando código de barras de ADN, en la perspectiva de sus usos potenciales y aplicaciones biotecnológicas”, del cual se eligieron algunas muestras para incluirlas en este trabajo. Gracias profesora Patricia por brindarme la oportunidad para desarrollar un trabajo de investigación y por sus sugerencias en esta tesis.

De la misma manera, un enorme agradecimiento a la Dra. Natalia Cristina Arakaki Makishi, co-asesora de esta tesis y coordinadora general del proyecto 017-2016-FONDECYT “Estudio poblacional y delimitación de especies de macroalgas de la costa peruana usando herramientas moleculares, para su aprovechamiento en la alimentación e industria”. Muchísimas gracias profesora Natalia por acogerme como tesista del proyecto, cuyo financiamiento sirvió para desarrollar la presente investigación, y por asesorarme de la mejor manera en el transcurso de la misma.

Un especial agradecimiento a la Dra. Florence Tellier, por su invaluable asesoramiento en la comprensión del fondo de esta tesis y por la revisión de los manuscritos. Ha sido realmente un privilegio y una experiencia inmejorable recibir las recomendaciones de una investigadora de primer nivel en filogeografía de macroalgas.

Igualmente, quiero agradecer a la Dra. María Eliana Ramírez. Su amplio conocimiento en taxonomía de macroalgas fue de gran utilidad en la identificación morfológica de las muestras y en la presentación del póster para el XII Congreso Latinoamericano de Botánica de Quito.

También quiero darle las gracias a la Mg. Sc. Carla Patricia Aguilar Samanamud, por otorgarme las facilidades en el Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos del IMARPE, lugar donde realicé la parte experimental de esta tesis. Agradezco también a la Mg. Sc. Cecil Tenorio García Blásquez por su empatía, solidaridad y por ayudarme en lo más mínimo en el laboratorio.

Quiero extenderles el cariño a mis queridos padres Manuel e Ivonne, por su constante aliento y motivación para lograr este objetivo trazado. Las palabras nunca me alcanzarán para decirles lo mucho que los amo y valoro. Esta tesis es por y para ustedes. De la misma forma, quiero agradecerle a mi hermano Erick, quien siempre me orientó en la toma de decisiones para poder crecer profesionalmente. Gracias mi querido hermano porque siempre quieres lo mejor para mí.

También quiero agradecer a Diego Márquez Corigliano y a Melissa Pérez Alania, por enseñarme y ayudarme con los ensayos experimentales en laboratorio. Gracias por su amistad, por el *bullying* mutuo y por hacer de este proceso académico una experiencia más llevadera.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
II.1. Aspectos bio-ecológicos de <i>Chondracanthus chamissoi</i>	3
II.1.1. Taxonomía y generalidades	3
II.1.2. Distribución y hábitat.....	3
II.1.3. Reproducción	4
II.1.4. Morfología externa.....	5
II.1.5. Importancia ecológica.....	6
II.1.6. Factores relacionados a su dispersión	7
II.2. Manejo de <i>Chondracanthus chamissoi</i> en Perú.....	9
II.2.1. Legislación	9
II.2.2. Estudios poblacionales.....	10
II.3. Provincias biogeográficas en el litoral peruano	10
II.4. Conceptos genéticos ligados a la filogenia y filogeografía de macroalgas	11
II.4.1. El ADN mitocondrial (ADNmt) y cloroplástico (ADNcp)	11
II.4.2. Filogenia	12
II.4.3. Filogenia dentro del género <i>Chondracanthus</i>	13
II.4.4. Filogeografía	14
II.4.5. Estructura genética.....	14
II.5. Trabajos previos en filogeografía de macroalgas en el Pacífico Sureste.....	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
III.1. Muestreo	21
III.2. Extracción y cuantificación de ADN.....	24
III.3. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	25
III.4. Electroforesis y secuenciamiento	26
III.5. Procesamiento de las secuencias	27
III.6. Análisis estadísticos.....	30
III.6.1. Filogenia	30
III.6.2. Redes de haplotipos	30
III.6.3. Índices de diversidad genética.....	30
III.6.4. Historia demográfica	31
III.6.5. Estructuración genética.....	32
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33

IV.1. Características de las secuencias de ADN procesadas	33
IV.2. Análisis filogenético con el marcador COI	35
IV.3. Análisis filogenético con el marcador <i>rbcL</i>	37
IV.4. Red de haplotipos COI	39
IV.5. Red de haplotipos <i>rbcL</i>	44
IV.6. Diversidad genética	48
IV.7. Historia demográfica	53
IV.8. Estructuración genética	56
IV.8.1. Índices de diferenciación genética ϕ_{ST}	56
IV.8.2. Análisis de Varianza Molecular	61
V. CONCLUSIONES	65
VI. RECOMENDACIONES	66
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
VIII. ANEXOS	77

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Síntesis de los estudios filogeográficos de macroalgas más relevantes en el Pacífico Sureste	19
Cuadro 2: Datos de colecta de <i>Chondracanthus chamissoi</i> en la costa peruana.	23
Cuadro 3: Lista de secuencias del género <i>Chondracanthus</i> y grupos externos disponibles en GenBank y utilizadas en los análisis filogenéticos (todas) y de redes de haplotipos (solo <i>C. chamissoi</i>).	28
Cuadro 4: Número de secuencias procesadas de <i>Chondracanthus chamissoi</i> para los marcadores COI y <i>rbcL</i>	34
Cuadro 5: Número de individuos de <i>Chondracanthus chamissoi</i> distribuidos según haplotipos COI y localidades.....	41
Cuadro 6: Número de individuos de <i>Chondracanthus chamissoi</i> distribuidos según haplotipos <i>rbcL</i> y localidades.....	47
Cuadro 7: Índices de diversidad genética de <i>Chondracanthus chamissoi</i> para el marcador COI, en cada población y nivel total.	49
Cuadro 8: Valores de las pruebas de neutralidad D y F_S en <i>Chondracanthus chamissoi</i> para el marcador COI, en cada población y a nivel total.....	54
Cuadro 9: Índices de diferenciación genética ϕ_{ST} entre pares de poblaciones de <i>Chondracanthus chamissoi</i> para el marcador COI.....	58
Cuadro 10: Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) para el marcador COI evaluando una estructuración genética a nivel interpoblacional e intrapoblacional.....	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo de vida de <i>Chondracanthus chamissoi</i>	4
Figura 2: Características morfológicas generales de <i>Chondracanthus chamissoi</i>	6
Figura 3: Localidades de colecta de <i>Chondracanthus chamissoi</i> en la costa peruana.	22
Figura 4: Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud para los haplotipos COI (600 pb) de <i>Chondracanthus chamissoi</i>	36
Figura 5: Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud para los haplotipos <i>rbcL</i> (922 pb) de <i>Chondracanthus chamissoi</i>	38
Figura 6: Red de haplotipos COI de <i>Chondracanthus chamissoi</i> y distribución geográfica de los haplotipos en la costa peruana	40
Figura 7: Frondas de <i>Chondracanthus chamissoi</i> adheridas a cabos y boyas de embarcaciones pesqueras artesanales ubicadas en distintas localidades visitadas	44
Figura 8: Red de haplotipos <i>rbcL</i> de <i>Chondracanthus chamissoi</i> y distribución geográfica de los haplotipos en la costa peruana	46
Figura 9: Distribución <i>Mismatch</i> (a nivel total) en <i>Chondracanthus chamissoi</i> bajo el modelo de expansión poblacional repentino para el marcador COI.	55

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Fórmulas de los índices de diversidad haplotípica (Hd) y nucleotídica (π)..... 77

RESUMEN

Chondracanthus chamissoi es una macroalga roja de importancia económica y de amplia distribución en las costas peruana y chilena. A pesar de su relevancia, no se han realizado estudios de conectividad genética de esta especie en un amplio rango latitudinal. Por ello, el objetivo del presente trabajo filogeográfico es reportar el estado genético-poblacional de *C. chamissoi* en la costa peruana. Análisis filogenéticos y filogeográficos fueron realizados con 143 secuencias del marcador mitocondrial COI y 36 secuencias del marcador cloroplástico *rbcL* de ejemplares distribuidos en 18 localidades peruanas. La filogenia usando ambos marcadores indica que *C. chamissoi* conforma un solo linaje génico en la costa peruana. La distribución geográfica de los haplotipos COI y *rbcL* de *C. chamissoi* sugiere la ausencia de quiebres filogeográficos en la costa peruana. A nivel de especie, los índices de diversidad genética de *C. chamissoi* son muy bajos, probablemente asociados a su alta dispersión pasiva, en combinación con los eventos ENSO y la presión extractiva. Las pruebas de historia demográfica y las redes de haplotipos COI y *rbcL* en forma de estrella sugieren que esta especie ha atravesado un evento de expansión poblacional reciente. Las siete poblaciones analizadas de Perú revelan ser muy similares genéticamente. La no estructuración genética de *C. chamissoi* inferida a partir de secuencias COI está posiblemente relacionada a un alto nivel de dispersión extrínseco, atribuido a sus características de propagación vegetativa y a la disponibilidad de sustrato.

Palabras clave: *Chondracanthus chamissoi*, COI, costa peruana, filogeografía, *rbcL*.

ABSTRACT

Chondracanthus chamissoi is a red seaweed of economic importance and of wide distribution in the Peruvian and Chilean coasts. Despite its relevance, genetic connectivity studies of this species have not been conducted in a wide latitudinal range. Therefore, the objective of this phylogeographic study is to report the genetic-population status of *C. chamissoi* in the Peruvian coast. Phylogenetic and phylogeographic analyzes were carried out with 143 sequences of the mitochondrial marker COI and 36 sequences of the chloroplast marker *rbcL* of specimens distributed in 18 Peruvian localities. The phylogeny using both markers indicates that *C. chamissoi* forms a single gene lineage in the Peruvian coast. The geographic distribution of the COI and *rbcL* haplotypes of *C. chamissoi* suggests the absence of phylogeographic breaks in the Peruvian coast. At the species level, the genetic diversity indices of *C. chamissoi* are very low, probably associated with its high passive dispersion, in combination with ENSO events and extractive pressure. Evidence of demographic history and star-like COI and *rbcL* haplotypes networks suggest that this species has gone through an event of recent population expansion. The seven populations analyzed in Peru reveal to be very similar genetically. The genetic non-structuring of *C. chamissoi* inferred from COI sequences is possibly related to a high level of extrinsic dispersion, attributed to its vegetative propagation characteristics and substrate availability.

Key words: *Chondracanthus chamissoi*, COI, Peruvian coast, phylogeography, *rbcL*.

I. INTRODUCCIÓN

Chondracanthus chamissoi (C. Agardh) Kützing es una macroalga roja conocida en Perú como “yuyo” y distribuida en Sudamérica a lo largo de las costas peruana y chilena. Es el alga comercial de mayor consumo en Perú, sirviéndose como acompañamiento en platos costeros típicos (PRODUCE 2017); sin embargo, en presentación fresca y deshidratada posee mayor demanda de los países asiáticos que la consumen ampliamente en sopas y ensaladas (Macchiavello *et al.* 2012). Así mismo, es rica en contenidos nutricionales y sintetiza el polisacárido carragenano, el cual se usa como emulsificante en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica (Kradolfer 2007). La obtención de este recurso en Perú se da generalmente mediante la extracción directa de praderas por parte de los pescadores artesanales, actividad que sustenta económicamente a muchas familias y contribuye a la seguridad alimentaria del país (Flores *et al.* 2015).

La identificación taxonómica de las macroalgas rojas usando solo caracteres morfológicos resulta insuficiente debido a su alta plasticidad (Saunders 2005). Por ello, se le debe complementar con herramientas moleculares como los análisis de secuencias de ADN mitocondrial y cloroplástico, que son capaces de discriminar genéticamente los organismos a nivel intraespecífico (Gielly y Taberlet 1994, Avise 2009). Con la ayuda de estas herramientas moleculares, la distribución conocida de *C. chamissoi* ha sufrido cambios recientes, dejando de ser considerada como endémica de Perú y Chile. Los individuos identificados morfológicamente como *C. chamissoi* de Chile, *C. teedei* de Japón y Corea del Sur y *Chondracanthus* sp. de Francia han demostrado ser *C. chamissoi*, al ser evaluados filogenéticamente con secuencias de ADN mitocondrial y cloroplástico (Yang *et al.* 2015).

Luego de la identificación molecular de los organismos, toman lugar los estudios filogeográficos, encargados de explicar la variabilidad genética producida por sucesos geográficos, climáticos o biológicos que ocurren en su distribución (Avise 1998). La filogeografía analiza la estructura genética de una especie y explica las causas de su variación genético-poblacional (Avise 2009). Por ejemplo, dentro de la familia Gigartinaceae, *Mazzaella laminarioides* presenta dos quiebres genéticos en su distribución, asociados a una zona de transición biogeográfica y a extensas áreas de arena, y se ha sugerido que las tres entidades genéticas corresponden a tres especies crípticas (especies aisladas reproductivamente pero no distinguibles morfológicamente) (Montecinos *et al.* 2012). Así mismo, en *Gigartina skottsbergii* existe una fuerte estructuración genética entre

poblaciones sudamericanas y subantárticas, relacionada a un aislamiento geográfico histórico entre estas regiones (Billard *et al.* 2015).

Las algas de amplia distribución en el Pacífico Sureste representan importantes focos de estudio para probar hipótesis que involucran fuerzas de diversificación o especiación (Montecinos *et al.* 2012). Realizar un estudio filogeográfico aplicado a la conservación de estas algas permite conocer las características de su diversidad genética, la cual es reconocida como el nivel basal de la biodiversidad desde el Convenio sobre Diversidad Biológica (Río de Janeiro 1992). De esta manera, la filogeografía intenta aportar bases genéticas y evolutivas que sirvan como precedentes en las políticas gubernamentales de manejo de recursos (Domínguez y Vázquez 2009). Por ejemplo, comprender cómo se han dispersado las algas o cómo se distribuyen sus linajes génicos, es crucial para relacionar estas características con factores geográficos, climáticos o biológicos que puedan darles explicación (Hu y Fraser 2016).

Aún no existen trabajos asociados al conocimiento genético-poblacional de *C. chamissoi* en un amplio rango latitudinal. Por ello, la presente investigación tiene como objetivo principal caracterizar la variabilidad genética de *C. chamissoi* a lo largo del litoral peruano, relacionándola con eventos históricos o características biológicas que afecten su dinámica poblacional. Para ello, se plantearon los siguientes objetivos específicos: 1) inferir la filogenia del género *Chondracanthus* en base a los marcadores COI y *rbcL*, 2) inferir las relaciones entre los haplotipos COI y *rbcL* encontrados, 3) determinar los índices de diversidad genética, 4) inferir la historia demográfica, y 5) estimar el grado de estructuración genética. En este estudio filogeográfico se analizó el efecto que tienen los factores biogeográficos de la costa peruana y las características bio-ecológicas de *C. chamissoi* sobre su estructura poblacional. Principalmente, se puso a prueba la hipótesis de que no existe una marcada estructuración genética en *Chondracanthus chamissoi* a lo largo de la costa peruana.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

II.1. Aspectos bio-ecológicos de *Chondracanthus chamissoi*

II.1.1. Taxonomía y generalidades

El estatus taxonómico de *C. chamissoi* ha sufrido cambios a lo largo de los años, esencialmente el género. Fue descrita por primera vez como *Sphaerococcus chamissoi* (basónimo) en base a la observación de su morfología externa y estructuras reproductivas de material colectado en Chile (Agardh, C 1820). Posteriormente, se le cambió de género nombrándose como *Gigartina chamissoi* (Agardh, J 1842) y finalmente adoptó su actual nombre científico como *Chondracanthus chamissoi* (Kützing 1843), ubicándose taxonómicamente como sigue:

Reino	Plantae
Subreino	Biliphyta
Phylum	Rhodophyta
Subphylum	Eurhodophytina
Clase	Florideophyceae
Subclase	Rhodymeniophycidae
Orden	Gigartinales
Familia	Gigartinaceae
Género	<i>Chondracanthus</i>
Especie	<i>Chondracanthus chamissoi</i> (C. Agardh) Kützing

Esta especie se conoce comúnmente como “yuyo”, “mococho” y “cochayuyo” en Perú, “chicorea de mar” en Chile y “suginori” en Japón (Macchiavello *et al.* 2012).

II.1.2. Distribución y hábitat

La distribución de *C. chamissoi* en Sudamérica abarca las costas de Perú y Chile (desde 5°S hasta 42°S). En Perú, se ha reportado en Piura (Talara y Paita), La Libertad (Chicama y Pacasmayo), Áncash (Chimbote), Lima (Ancón, San Bartolo y Pucusana), Callao (Isla San Lorenzo) e Ica (Lagunillas, Mendieta y Laguna Grande) (Dawson *et al.* 1964, Ramírez y Santelices 1991); mientras que en Chile, se ha encontrado desde la Región de Tarapacá (Iquique) hasta la Región de Los Lagos (Chiloé, localidad tipo) (Ramírez y Santelices 1991, Silva *et al.* 1996). *Chondracanthus chamissoi* ha sido reconocida por ser endémica del Pacífico Sureste; sin embargo, su presencia ha sido confirmada en las costas de Japón, Corea del Sur y Francia, mediante análisis moleculares (Yang *et al.* 2015). En Perú y Chile, esta especie crece habitualmente en sustratos rocosos o calcáreos del intermareal

inferior y submareal superior (4-6 m) de bahías protegidas, aunque en Chile también se le ha hallado hasta los 15 m (Hoffmann y Santelices 1997). Se adapta a un amplio rango de temperaturas (condición euritámica) con un óptimo crecimiento entre 10 °C y 25 °C, siendo este factor el más importante para su desarrollo en ambientes naturales con un amplio rango latitudinal (Bulboa y Macchiavello 2001).

II.1.3. Reproducción

Chondracanthus chamissoi posee un ciclo de vida trifásico característico de las algas rojas de clase Florideophyceae: una fase tetraesporofítica diploide, una fase gametofítica haploide y dioica, y una fase carposporofítica diploide que se desarrolla en el gametofito femenino (Figura 1) (Otaíza y Cáceres 2015). El tetraesporofito libera esporas haploides (tetrásporas) que se asientan en un sustrato fijo para dar origen a los gametofitos masculinos y femeninos. Los gametofitos masculinos y femeninos producen gametos por mitosis, los cuales se fecundan (reproducción sexual) en el talo del gametofito femenino dando origen al carposporofito que crece dentro de una estructura reproductiva llamada cistocarpo. El carposporofito produce esporas diploides (carpósporas) que se asientan y forman el tetraesporofito, cerrando el ciclo.

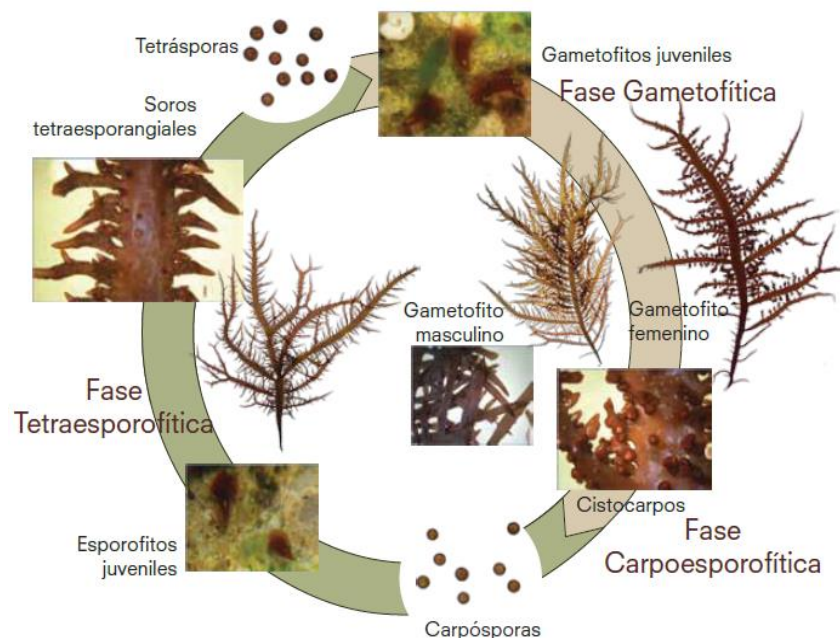


Figura 1: Ciclo de vida de *Chondracanthus chamissoi*.

FUENTE: Tomado de Otaíza y Cáceres 2015.

Aparte de la reproducción sexual y por esporas, *C. chamissoi* presenta un tercer tipo de reproducción llamado reproducción vegetativa. Esta ocurre cuando sus fragmentos de talo, que están a la deriva en el mar, logran tomar contacto con un sustrato adecuado (se readhieren), formando discos de fijación secundaria (DFS) que desarrollan nuevas plántulas (Macchiavello *et al.* 2003). Es muy común encontrar flotando estos fragmentos en el intermareal durante todo el año y se ha demostrado que no existen diferencias importantes en la capacidad de readhesión entre las frondas gametofíticas y tetraesporofíticas (Sáez *et al.* 2008).

II.1.4. Morfología externa

Las características morfológicas más comunes de *C. chamissoi* son la presencia de uno o varios ejes principales aplanados, que pueden alcanzar hasta 50 cm y de los cuales emergen varios tipos de ramificaciones. Los tipos de ramificaciones pueden ser ramas laterales, de forma semejante al eje principal y cuyos extremos se denominan ápices; pínulas, son ramas muy pequeñas donde se forman los cistocarpos y se encuentran en los márgenes del eje principal o ramas laterales; y ramas basales, son cilíndricas y orientadas hacia el sustrato (Figura 2) (Otaíza y Cáceres 2015). El tetraesporófito se distingue por tener unos “almohadillados” (soro tetraesporangial) en las pínulas y ramas laterales; el gametófito femenino por albergar los cistocarpos en sus pínulas; y el gametófito masculino por la forma puntiaguda de los ápices de sus ramas laterales (Acleto 1986). Sus láminas poseen color café rojizo, pero cuando se encuentran bajo el mar tienen un brillo azul metálico denominado iridiscencia, característica distintiva e importante para reconocer a esta especie (Otaíza y Cáceres 2015).

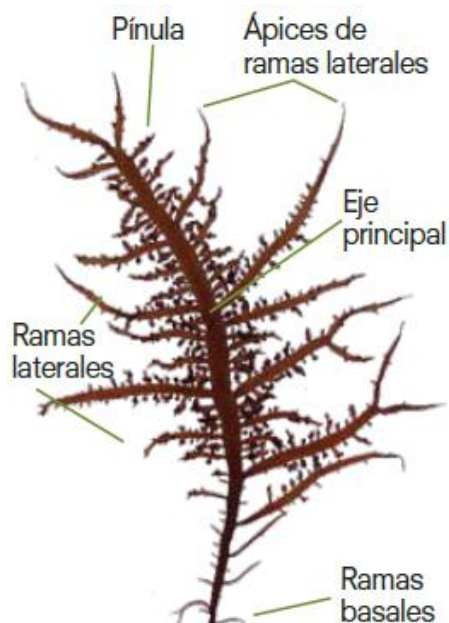


Figura 2: Características morfológicas generales de *Chondracanthus chamissoi*.

FUENTE: Tomado de Otaíza y Cáceres 2015.

Así mismo, también se ha reportado que la morfología de *C. chamissoi* es altamente variable (Acleto 1986). En ese sentido, es pertinente mencionar la variabilidad morfológica de *C. chamissoi* reportada previamente. Aparte de *Gigartina chamissoi* (como se conocía anteriormente a *Chondracanthus chamissoi*), antes se reconocían adicionalmente dos especies emparentadas a esta, que incluían las formas angostas y anchas de sus frondas: *Gigartina lessonii* y *Gigartina chauvinii*, respectivamente. *Gigartina chamissoi* presentaba formas intermedias entre estas, pero no podía ser diferenciada claramente (Howe 1914). Posteriormente, las tres “especies” se consideraron como *C. chamissoi*, con mención que dentro de esta especie existen y cohabitan dos grupos morfológicos con frondas angostas y anchas (Dawson *et al.* 1964).

II.1.5. Importancia ecológica

El epifitismo y la herbivoría son factores bióticos asociados a *C. chamissoi* en su ambiente natural, el primero incluye a los organismos que viven adheridos a su talo y el segundo a los organismos herbívoros que se alimentan de su tejido (Otaíza y Cáceres 2015). Los epífitos y herbívoros de *C. chamissoi* de Bahía La Herradura (norte de Chile) han demostrado tener una máxima biomasa en los meses de verano (Vásquez y Vega 2001). En La Herradura, se ha registrado alrededor de 25 especies de epífitos de los cuales las algas

rojas *Polysiphonia japonica* y *Chondrus californica* representan el 80 % de la biomasa epífita. Por su parte, se observó que los herbívoros más voraces de *C. chamissoi* son los erizos de mar *Tetrapygus niger* y los chitones del género *Tonicia*, y los que consumen menos tejido de *C. chamissoi* (máximo 12 % de su dieta) son las lapas del género *Fissurella* y los caracoles negros de *Tegula* (Vásquez y Vega 2001).

En el norte de Chile, el factor abiótico temperatura ha demostrado tener un efecto positivo en la abundancia de *C. chamissoi* en ambiente natural (Vásquez y Vega 2001). En primavera, el incremento de la temperatura se traduce en la máxima actividad reproductiva y biomasa de *C. chamissoi*; en verano, el mayor incremento de la temperatura se traduce en un nivel de abundancia ligeramente inferior, debido a la debilitación y ablandamiento del talo producto de la intensa luminosidad y por la herbivoría que es más abundante en verano (Vásquez y Vega 2001). Igualmente, en ambiente natural de la Bahía de Ancón (Perú), el incremento de la temperatura durante el evento El Niño 1997-98 favoreció el aumento de la densidad poblacional de *C. chamissoi* en esa zona (Tarazona *et al.* 1999). Así mismo, mediante observaciones *in situ* en el norte de Chile, se ha reportado que *C. chamissoi* presenta un reclutamiento de sus esporas durante todo el año y con un nivel máximo en verano y primavera (Macchiavello *et al.* 2003). Por otro lado, los distintos contenidos bioquímicos y respuestas fisiológicas de seis poblaciones de *C. chamissoi* de Chile (20°S-41°S) han mostrado tener registros similares en ambiente natural y bajo condiciones controladas, sugiriendo una diferenciación ecotípica de esta especie en ese rango geográfico (Véliz *et al.* 2018).

II.1.6. Factores relacionados a su dispersión

La dispersión en algas marinas puede ser considerada como la distancia que los propágulos (esporas o fragmentos de talo) pueden alcanzar luego de separarse de sus progenitores (Hoffmann 1987). El potencial de dispersión de las algas marinas, así como las características ecológicas y de su ciclo de vida, son factores importantes que pueden influenciar su conectividad poblacional (Fraser 2016). Aunque poco se ha podido evaluar acerca de la dispersión de *C. chamissoi*, existen algunos trabajos realizados en ambiente natural y en laboratorio de Chile y Perú, que indirectamente dan respuestas de su potencial de dispersión.

En el norte de Chile, *C. chamissoi* ha demostrado producir esporas todo el año pero con una mayor intensidad en primavera y verano (Vásquez y Vega 2001), y con mayor cantidad de carpósporas que tetrásporas (González y Meneses 1996). No obstante, sus tetrásporas muestran mayor capacidad de persistir en la columna de agua y tener mayor porcentaje de germinación y asentamiento, lo que en parte explicaría la mayor abundancia de la fase gametofítica de *C. chamissoi* en esa zona (González y Meneses 1996). Así mismo, en experimentos *in vitro* con tejido de *C. chamissoi* del centro de Chile, ambos tipos de esporas han podido germinar sin fijarse a un sustrato, formando juveniles no asentados y viables en la columna de agua (Barrientos y Otaíza 2014). Los juveniles de hasta cuatro meses de edad muestran la capacidad de fijarse a cerámicos, formar discos de fijación secundaria (DFS) y desarrollarse (Barrientos y Otaíza 2014). Por último, en el sur del Perú (playa Mendieta) también se ha reportado la fijación de esporas *in situ* de *C. chamissoi* sobre el caracol común *Stramonita chocolata* y su posterior colonización (Pariona y Gil-Kodaka 2011).

La presencia en ambiente natural de fragmentos del talo a la deriva es un evento común en algas rojas, que puede ser causada por diversos factores bióticos o abióticos (Thomsen y Wernberg 2005). La propagación vegetativa de las algas rojas depende del éxito de la readhesión de estos fragmentos a un sustrato (Santelices y Varela 1994). En el norte de Chile, la presencia en simultáneo de frondas a la deriva y fragmentos readheridos de *C. chamissoi* en ambiente natural se observa durante todo el año y con mayor intensidad en primavera y verano (Macchiavello *et al.* 2003). Además, la capacidad de fijación de distintos tipos de fragmentos de *C. chamissoi* (pínulas, ramas laterales o basales) del sur de Chile ha sido probada en laboratorio. Todos los fragmentos demostraron tener una óptima readhesión a cerámicos y vidrio, formando discos de fijación secundaria (DFS) (Otaíza y Fonseca 2011). Los factores que afectan esta capacidad de readhesión se han evaluado *in vitro* con fragmentos de talo de *C. chamissoi* del norte de Chile, demostrándose que disminuye más allá de los 20 días a la deriva y aumenta con la disponibilidad de sustratos calcáreos (Fonck *et al.* 2008). De igual manera, en experimentos de cultivo suspendido en ambiente natural del norte de Chile, los fragmentos de talo también han mostrado una óptima readhesión al material polipropileno (Bulboa *et al.* 2005).

El incrustamiento de organismos en los cascos de embarcaciones (*fouling*) también puede ser un vector de dispersión a larga distancia llevando a aumentar la conectividad poblacional (Carlton 1987). En ese sentido, se han observado a las algas *Polysiphonia* sp.,

mitílidos y cirrípedos incrustados al casco de un velero a lo largo de su trayectoria entre cuatro bahías del Pacífico Noreste (800 km) (Carlton y Hodder 1995). Así mismo, existe otro estudio que sugiere la propagación mediante tráfico marítimo del tunicado *Asterocarpa humilis* hasta la costa de la Región del Biobío (Chile central) (Pinochet *et al.* 2017). A partir de estos antecedentes se infiere que podría existir un transporte a gran distancia de *C. chamissoi* entre Perú y Chile vía tráfico marítimo, teniendo en cuenta que las condiciones oceanográficas de sus costas son similares y que los organismos incrustantes antes mencionados están relacionados ecológicamente a *C. chamissoi*.

II.2. Manejo de *Chondracanthus chamissoi* en Perú

II.2.1. Legislación

El artículo 9 de la Ley General de Pesca del Perú (Decreto Ley N°25977) indica que el ordenamiento pesquero es el conjunto de normas que permiten administrar una pesquería en base al conocimiento actualizado de sus componentes biológico-pesqueros, económicos y sociales. Así mismo, el artículo 5 de su reglamento (Decreto Supremo N°012-2001-PE) señala que el ordenamiento pesquero se aprueba mediante un Reglamento de Ordenamiento Pesquero (ROP), el cual establece las medidas regulatorias aplicables a los recursos hidrobiológicos para que puedan ser manejados sosteniblemente.

En el Perú existe un ROP de Macroalgas Marinas (Decreto Supremo N°019-2009); sin embargo, esta norma posee medidas de ordenamiento bastante generales ya que aplican en conjunto para *C. chamissoi* y para las especies de los géneros *Macrocystis*, *Lessonia*, *Porphyra* y *Ulva*. Los lineamientos más importantes del ROP de Macroalgas Marinas, en el ámbito de su conservación, señalan que el Ministerio de la Producción (PRODUCE) es el organismo encargado de i) establecer, mediante Resolución Ministerial, las zonas y temporadas de extracción/veda, volúmenes de extracción permisible y tamaño mínimo de extracción para cada macroalga y ii) delimitar las zonas de reserva de praderas de macroalgas marinas con carácter intangible, con el fin de garantizar su reclutamiento y reserva genética para así conservar su biodiversidad. Actualmente, no existe un ROP ni Resoluciones Ministeriales que regulen el acceso a la actividad extractiva y las medidas de conservación del recurso *Chondracanthus chamissoi*. Es urgente promulgar estos decretos, ya que esta especie es empleada en el consumo humano directo local y posee importancia comercial en las exportaciones y como insumo en la industria de los ficocoloides.

II.2.2. Estudios poblacionales

Existen estudios de distribución espacial y densidad poblacional de *C. chamissoi* a lo largo del litoral peruano desde 1996 hasta 2010. En una evaluación hecha a la pradera de la Bahía de Ancón durante el período enero 1996-diciembre 1998, en 32 m de orilla se observó un mínimo de 6 individuos en octubre de 1998 y un máximo de 2600 individuos en octubre de 1997 (Tarazona *et al.* 1999). También se ha registrado la presencia de siete parches de *C. chamissoi* en Chérrepe (Chepén), cuyo nivel de abundancia en el 2005 se recuperó con respecto al 2004 (Carbajal *et al.* 2005a). Además, se ha reportado la existencia de seis parches de *C. chamissoi* en Huanchaco (Trujillo) para el 2005, los cuales sumaron una superficie cubierta de 800 m² y una biomasa total de 1.9 t (Carbajal *et al.* 2005b). Igualmente, se ha reconocido una pradera de *C. chamissoi* de 5 km de extensión en Bahía El Ferrol (Chimbote), donde las extracciones del recurso fluctuaron entre 150 y 350 kg.año⁻¹ en el período 2004-2008 (IMARPE 2009). Finalmente, mediante prospecciones a las praderas de Pisco y Paracas en otoño del 2010, se reportó una biomasa mayor en Atenas, seguida de Puerto Nuevo y Lobería con 180 t, 30.1 t y 2.1 t, respectivamente. Estas dos últimas praderas registraron reducciones con respecto al 2007 debido a la intensificación de la actividad extractiva (Flores *et al.* 2015). No se han reportado nuevos registros del nivel de biomasa de las poblaciones peruanas de *C. chamissoi* desde el 2010 (9 años). Considerando que este recurso seguirá bajo una intensa presión extractiva por su alto valor comercial (industria y exportaciones), es indispensable reevaluar sus principales praderas (Chérrepe, Isla San Lorenzo, Ancón, Paracas, Marcona, entre otras) de tal manera que se disponga de información actualizada para los planes de manejo.

II.3. Provincias biogeográficas en el litoral peruano

En el ecosistema marino, las regiones biogeográficas se denominan provincias biogeográficas marinas y presentan un agrupamiento regional en cuanto a temperatura superficial del mar, masas de agua y diversidad de organismos (Lourie y Vincent 2004). Entre las provincias marinas, se encuentran los límites biogeográficos marinos (zonas de transición), ubicados generalmente en un gradiente latitudinal con condiciones oceanográficas que permiten la coexistencia de biota de origen biogeográfico distinto (Ferro y Morrone 2014). A escala evolutiva, los factores ambientales que gobiernan los

límites biogeográficos también pueden demarcar los límites de distribución de los linajes genéticos de una especie. Es decir, eventualmente el flujo génico de una especie a través de los límites biogeográficos puede verse limitado, lo que puede conllevar a una posible divergencia genética de un organismo en la zona de transición (Dawson 2005). Este factor puede impactar la estructura genética intraespecífica, dando origen a quiebres genéticos congruentes con los límites biogeográficos, lo que se denomina “quiebres filogeográficos” (Avice 2000).

Desde el punto de vista biogeográfico, el litoral peruano se divide en la Provincia Panameña (al norte de los 4°S), relacionada a la Corriente Costera Ecuador-Perú y la Provincia Peruana (al sur de los 6°S), relacionada a la Corriente Costera Peruana (Strub *et al.* 1998). Estos límites se han basado solo en aspectos cualitativos (presencia/ausencia de especies). Por ello, recientemente estas delimitaciones han sido reestructuradas mediante análisis cuantitativos (más exactos) del macrobentos (algas e invertebrados) del intermareal rocoso (Ibáñez 2016). Considerando la relación entre la estructura comunitaria y los factores abióticos, las unidades biogeográficas propuestas para el norte y centro del Perú son la Provincia Panameña (3.5°S-4.5°S), una zona de transición (4.5°S-5.5°S) y la Provincia Peruana (5.5°S-13.5°S) (Ibáñez 2016). No obstante, cabe mencionar que la Provincia Peruana se extiende hasta los 30°S e incluye biota de ambiente templado-cálido (Camus 2001).

Particularmente para Perú, ya ha sido evaluada la influencia de la zona de transición de los 3.5°S-4.5°S en la conectividad poblacional de los moluscos intermareales *Echinolittorina paytensis* y *Brachidontes adamsianus* (Barahona 2017). La zona de transición ha demostrado no actuar como una barrera efectiva al flujo génico. La incidencia frecuente de los eventos El Niño Oscilación del Sur (ENSO) en los 4°S-6°S y la alta dispersión larval, son los factores que explicarían la ausencia de quiebres filogeográficos en estos moluscos (Barahona 2017).

II.4. Conceptos genéticos ligados a la filogenia y filogeografía de macroalgas

II.4.1. El ADN mitocondrial (ADNmt) y cloroplástico (ADNcp)

El ADNmt es una molécula circular que se caracteriza por tener una alta tasa mutacional, herencia generalmente materna y ausencia de recombinación (Wilson *et al.* 1985). Estas características hacen que el ADNmt sea utilizado en estudios filogeográficos para inferir el

grado de estructuración genética y la historia evolutiva poblacional (Avice *et al.* 1987). Una parte pequeña del ADNmt (alrededor de 650 pares de bases nucleotídicas) la constituye el gen Citocromo *c* oxidasa subunidad I (COI). Las secuencias del marcador COI han demostrado tener alta variabilidad intraespecífica, permitiendo abordar temas de genética intrapoblacional (Lanteri y Confalonieri 2003) y discriminar especies cercanamente emparentadas (Hebert *et al.* 2003). Particularmente en algas rojas, han sido muy usadas en estudios filogeográficos a lo largo del Pacífico Sureste (Guillemin *et al.* 2016) y en la identificación a través de código de barras (Saunders 2005, Robba *et al.* 2006).

Por su parte, el ADNcp es el genoma circular encontrado en plantas y algas que posee herencia generalmente materna y ausencia de recombinación. No obstante, a diferencia del ADNmt, el ADNcp presenta una tasa mutacional más lenta (es más conservado) (Palmer 1985). Una parte del ADNcp (alrededor de 1400 pares de bases nucleotídicas) la constituye el gen que codifica para la subunidad mayor de la enzima Ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa (*rbcL*). Este gen cloroplástico ha demostrado ser de gran utilidad para resolver filogenias de macroalgas rojas en varios niveles taxonómicos (Freshwater *et al.* 1994) y en particular con éxito en la clase Florideophyceae (Janouškovec *et al.* 2013), el grupo más diverso de las algas rojas.

II.4.2. Filogenia

La filogenia es el estudio de las relaciones evolutivas dentro de un determinado grupo taxonómico (Lemey *et al.* 2009). El objetivo final de la filogenia es obtener un árbol filogenético que sea reflejo del proceso evolutivo entre especies ancestrales y descendientes (Valcárcel *et al.* 2016). Los métodos más usados para construir árboles filogenéticos son basados en los criterios de Máxima Parsimonia (MP), Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB) (Holder y Lewis 2003). El método de MP selecciona los árboles con menor cambio evolutivo. Por su parte, los métodos de ML e IB son métodos estadísticos basados en modelos de sustitución nucleotídica, donde ML estima la probabilidad de qué tan bien la matriz de caracteres (alineamiento de secuencias de ADN) es explicada por el árbol filogenético, y el método IB estima la probabilidad de qué tan bien el árbol filogenético es explicado por la matriz de caracteres (Peña 2011).

Los modelos de sustitución nucleotídica (modelos evolutivos) se utilizan para describir cómo han sido los cambios de las secuencias de ADN en el pasado, a través de la estimación de parámetros (frecuencia e intercambio de bases nucleotídicas) (Valcárcel *et al.* 2016). La estimación de estos parámetros mediante algoritmos sistematizados permite obtener los modelos evolutivos que mejor se ajusten al set de secuencias en estudio. Por ejemplo, el modelo evolutivo más simple es el propuesto por Jukes y Cantor (1969), el cual asume que la probabilidad de sustitución entre las cuatro bases nucleotídicas es la misma (25 %). Por el contrario, el modelo de Kimura (1980) establece que las tasas de sustitución de las transiciones son distintas a las de las transversiones. Además, un modelo muy usado es el *General Time Reversible* (GTR) establecido por Tavaré (1986), el cual considera que las tasas de sustitución entre las cuatro bases nucleotídicas es distinta.

II.4.3. Filogenia dentro del género *Chondracanthus*

Chondracanthus Kützing (1843) es uno de los siete géneros reconocidos dentro de la familia Gigartinaceae (Hommersand *et al.* 1993) y su historia evolutiva se remonta desde 1994. Una evaluación a toda la familia Gigartinaceae mediante el marcador *rbcL* ha demostrado que el género *Chondracanthus* es de amplia distribución, con centros de origen en el Este de Asia y en el Pacífico Norte de América, y que solo *C. teedei* y *C. acicularis* se encuentran en el océano Atlántico (Hommersand *et al.* 1994). Posteriormente y con el mismo marcador *rbcL*, se demostró que *Chondracanthus* se encuentra dividido en dos grupos de especies (del Pacífico Este y del Pacífico Oeste), y que dentro de estos grupos sí se encuentran *C. teedei* y *C. acicularis*, respectivamente (las cuales Hommersand *et al.* 1994 las describieron como propias del Atlántico) (Hommersand *et al.* 1999). Además, a través de estudios filogenéticos con los marcadores *rbcL* e ITS1 al grupo *Chondracanthus* del Pacífico Noreste, se ha identificado dos especies propias del Golfo de California y nueve especies propias de la costa del Pacífico Norte de América (Hughey y Hommersand 2008). Igualmente, mediante los marcadores COI y *rbcL*, se ha resucitado a *C. okamurae* y se ha descrito a *C. cincinnus* como una especie nueva del género, estando ambas distribuidas en el Este de Asia (Yang y Kim 2016). Finalmente, un estudio molecular reciente extiende la distribución de *C. chamissoi*, la cual era conocida por ser endémica de Perú y Chile (Yang *et al.* 2015). Mediante los marcadores COI y *rbcL* se evaluaron los especímenes identificados morfológicamente como *C. chamissoi* de Chile, *C. teedei* de

Japón y Corea del Sur y *Chondracanthus* sp. de Francia, demostrando ser todos conespecíficos con *C. chamissoi* de Chile (Yang *et al.* 2015).

II.4.4. Filogeografía

La filogeografía es el análisis de la distribución geográfica de los linajes génicos de una especie o de especies cercanamente emparentadas, con el objetivo de inferir los procesos históricos o actuales que determinan dicha distribución (Avice 2000). La filogeografía estudia tanto los aspectos temporales (procesos evolutivos) como espaciales (estructura genética) de los organismos, utilizando dos métodos de análisis basados en la teoría de la coalescencia: un método gráfico, representado por árboles de genes, y un método matemático, representado por estadísticos de resumen y parámetros demográficos (Posada y Crandall 2001). Los linajes génicos permiten trazar las relaciones evolutivas entre los haplotipos, las cuales pueden ser reconstruidas mediante la coalescencia. La teoría de la coalescencia es un modelo matemático retrospectivo que permite “rastrear hacia atrás en el tiempo” hasta el punto en que los haplotipos “coalescen” en un haplotipo ancestral común (Rosenberg y Nordborg 2002). Para ello, usualmente se utilizan secuencias de ADN altamente variables y selectivamente neutrales que permitan reconstruir los linajes y estudiarlos en un contexto geográfico (Avice *et al.* 1987).

Los principales aspectos a tener en cuenta en un análisis filogeográfico son: 1) la unidad de estudio es cada haplotipo de una especie o de especies cercanas, 2) los datos que se evalúan se encuentran en secuencias de ADN mitocondrial, cloroplástico o nuclear, 3) las relaciones genealógicas entre haplotipos se representan mediante redes de haplotipos, las que se superponen a la distribución geográfica para interpretar el proceso evolutivo, y 4) se utilizan enfoques basados en principios de coalescencia (Lanteri y Confalonieri 2003).

II.4.5. Estructura genética

La estructura genética de las especies se define como la distribución espacial de su diversidad genética (Chakraborty 1993). Una estructura genética marcada implica muchas diferencias de las frecuencias de los haplotipos entre poblaciones locales (subpoblación de la población total) y se considera que estas se encuentran altamente diferenciadas entre sí; por el contrario, una estructura genética leve supone muy pocas diferencias de las

frecuencias de los haplotipos entre poblaciones locales, estando poco diferenciadas genéticamente entre ellas (Grosberg y Cunningham 2001).

En particular, la estructura genética de las macroalgas está determinada por dos fuerzas evolutivas principales: la deriva génica y la migración (flujo génico) (Valero *et al.* 2001). Generalmente, si una especie está estructurada es porque sus poblaciones locales han sufrido una intensa deriva génica y/o porque existe poco flujo génico entre ellas. La deriva génica es la fuerza principal que genera diferencias de las frecuencias de los haplotipos entre las poblaciones locales de manera aleatoria, lo que conlleva a la pérdida de su diversidad genética, y por lo tanto, a una marcada estructuración genética (Hellberg *et al.* 2002). Por el contrario, una especie poco o no estructurada es la consecuencia de un alto flujo génico entre sus poblaciones locales, lo que contrarresta los efectos de la deriva génica y hace que sus poblaciones locales evolucionen de manera cohesiva (homogeneidad) debido a la alta migración de sus individuos (Hellberg *et al.* 2002).

II.5. Trabajos previos en filogeografía de macroalgas en el Pacífico Sureste

El nivel de conectividad poblacional en especies marinas puede ser influenciado por diversos factores como la dispersión, oceanografía, continuidad del hábitat, características de historia de vida, etc. (Palumbi 1994). Los estudios filogeográficos de macroalgas en el Pacífico Sureste (en su mayoría en Chile) han mostrado, generalmente, que las especies de limitada dispersión presentan quiebres filogeográficos fuertes y una estructuración genética marcada, como se ha observado en *Lessonia nigrescens* (Tellier *et al.* 2009) (ahora *L. berteroa* y *L. spicata*, González *et al.* 2012), en *Mazzaella laminarioides* (Montecinos *et al.* 2012) y en *Gigartina skottsbergii* (Billard *et al.* 2015). Contrariamente, las especies con alto potencial dispersivo (mediante sus estructuras de flotación o como epífitos sobre algas flotantes) presentan ausencia de quiebres filogeográficos fuertes y una estructuración genética leve (o nula), como se sugiere para *Macrocystis pyrifera* (Macaya y Zuccarello 2010) y *Gracilaria chilensis* (Guillemin *et al.* 2014) (ahora *Agarophyton chilensis*, Gurgel *et al.* 2018). Aunque, como se mencionó previamente, existen otros factores (discontinuidad del hábitat, el nivel de distribución batimétrica, *rafting*, etc.) que sugieren patrones filogeográficos más complejos como los observados en *Durvillaea antarctica* (Fraser *et al.* 2010), *Gelidium lingulatum* (López *et al.* 2017) y *Gelidium rex* (López *et al.* 2017).

En el caso de *L. nigrescens* existe un quiebre filogeográfico en los 29°S-30°S coincidente con una zona de transición biogeográfica reportada por Camus (2001) (Tellier *et al.* 2009) (Cuadro 1). Este quiebre divide al complejo *L. nigrescens* en dos linajes divergentes (propuestos como especies crípticas): un linaje norte desde los 17°S hasta los 30°S, asociado a la Provincia Peruana, y un linaje sur desde los 29°S hasta los 41°S, asociado al Área Intermedia. La razón de la divergencia de *L. nigrescens* se atribuye a un evento histórico de especiación peripátrica, donde el linaje sur (ancestral) probablemente sufrió una expansión hacia el norte en la periferia de su distribución dando lugar al linaje norte. Así mismo, los linajes norte y sur se superponen de manera estrecha en los 29°S-30°S aunque no forman poblaciones mixtas en un mismo sitio y se encuentran reproductivamente aislados (Tellier *et al.* 2011). Posteriormente, los linajes de *L. nigrescens* fueron confirmados como especies crípticas a partir de estudios morfológicos, nombrándoseles como *Lessonia berteroa* para la especie del norte (17°S-30°S) y *Lessonia spicata* para la del sur (29°S-41°S) (González *et al.* 2012).

En *M. laminarioides* existen dos quiebres filogeográficos fuertes a lo largo de su distribución (28°S-56°S), uno en los 32°S-34°S y el otro en los 37°S-39°S (Montecinos *et al.* 2012) (Cuadro 1). Estos quiebres filogeográficos están asociados a la presencia de tres especies crípticas, es decir, tres linajes genéticos altamente divergentes (denominados norte, centro y sur). El quiebre en los 32°S-34°S coincide con un límite biogeográfico descrito por Camus (2001) y es un área con altos niveles de surgencias y fuertes remolinos cinéticos (Thiel *et al.* 2007), los que han podido causar la divergencia entre los linajes norte y centro. Por su parte, el quiebre ubicado en los 37°S-39°S es congruente con grandes extensiones de playas de arena de hasta 4 km cada una, lo que puede explicar la falta de conectividad entre los linajes centro y sur, ya que *M. laminarioides* es una especie que crece en el intermareal rocoso.

Para *G. skottsbergii* se ha reportado un quiebre filogeográfico asociado a dos especies crípticas: las poblaciones pertenecientes al sur de Chile más las Islas Falkland (linaje sudamericano) y las poblaciones propias de la península Antártica más las Islas Orkney y Shetland del Sur (linaje subantártico) (Billard *et al.* 2015) (Cuadro 1). Se ha propuesto que un evento histórico de aislamiento geográfico entre Sudamérica y la Antártida podría explicar la divergencia entre los dos linajes genéticos. El evento de aislamiento geográfico probablemente ocurrió a fines del Mioceno (hace 10-12 millones de años). Este evento dio lugar a la apertura del Paso Drake entre estas regiones y sumado a la posterior

intensificación de la Corriente Circumpolar Antártica, constituyen los factores que han podido reducir la conectividad entre el linaje sudamericano y el subantártico.

Los estudios de conectividad poblacional del alga parda *M. pyrifera* indican que posee dos discontinuidades genéticas leves (de pocos pasos mutacionales) en el Pacífico Sureste (Macaya y Zuccarello 2010) (Cuadro 1). La primera discontinuidad se encuentra en los 33°S y no ha sido reportada previamente en otra alga parda, pero sí en otros organismos marinos; la segunda discontinuidad se encuentra en los 42°S y es congruente con un límite biogeográfico descrito por Camus (2001). Además, se ha sugerido que la baja diversidad genética inferida para el linaje sudamericano de *M. pyrifera* se debe a su alta capacidad de dispersión mediante sus talos maduros que se desprenden de su disco y empiezan a flotar a la deriva. Igualmente, la baja diversidad genética de *M. pyrifera* también se le atribuye al efecto de los eventos El Niño Oscilación del Sur (ENSO) en el norte de Chile y al Último Máximo Glacial (UMG) en el sur de Chile.

El estudio de *G. chilensis* (ahora *Agarophyton chilensis*) en ambas costas del Pacífico Sur propone que esta especie no es endémica de las costas chilenas, ya que logró colonizar Chile desde Nueva Zelanda hace aproximadamente 19000 años (luego del UMG) sobre estructuras flotantes a la deriva (*rafting*) (Guillemin *et al.* 2014). Además, mediante el análisis de secuencias ITS2, la población chilena muestra índices de diversidad genética muy bajos y ningún quiebre filogeográfico (Cuadro 1). Se plantea que la baja diversidad genética de la población chilena de *G. chilensis* posiblemente esté relacionada con un evento de cuello de botella (disminución del tamaño poblacional), el cual se pudo ocasionar por la sistemática sobreexplotación de sus praderas o por la domesticación del recurso. Además, el cultivo de *G. chilensis* (por propagación clonal) se viene realizando a partir de poblaciones genéticamente no saludables, lo que puede estar llevando al recurso a un proceso paulatino de extinción.

En el caso del alga parda *D. antarctica* se propone que posee dos linajes genéticos divergentes a lo largo del centro y sur de Chile (Fraser *et al.* 2010) (Cuadro 1). El linaje de Chile central (32°S-43°S) presenta alta diversidad genética y un patrón de aislamiento por distancia, posiblemente producido por grandes extensiones de arena presentes en ese rango latitudinal que impiden el asentamiento de *D. antarctica* (crece en sustrato rocoso). El linaje del sur de Chile (48°S-56°S) es totalmente homogéneo genéticamente y se plantea que ha surgido a partir de una recolonización (luego del UMG) proveniente de individuos situados en la región Subantártica. Este estudio indica que el conocido potencial de

dispersión de *D. antarctica* (mediante sus talos maduros a la deriva) facilita la colonización de las costas inhabitadas, pero no conllevaría a aumentar la conectividad genética de sus poblaciones fuertemente establecidas (linaje de Chile central).

También resulta interesante el caso del alga agarofita *G. lingulatum* en el litoral chileno (29°S-42°S) (López *et al.* 2017). Esta especie es considerada por tener baja capacidad de dispersión autónoma, pero a pesar de ello, sí presenta una alta conectividad poblacional y ausencia de quiebres filogeográficos (Cuadro 1). La explicación propuesta para la alta conectividad genética de *G. lingulatum* se basa en la observación de individuos reproductivos adheridos como epífitos sobre discos varados de *D. antarctica*. Este factor da señales que los individuos de *G. lingulatum* se encontrarían “viajando” sobre los discos de *D. antarctica* (*rafting*), lo que le conferiría a *G. lingulatum* una alta dispersión de tipo pasiva, y como consecuencia, un incremento de su flujo génico entre sus poblaciones locales.

Finalmente, otro caso singular es el estudio en Chile de *G. rex* (28°S-34°S) (López *et al.* 2017). Esta especie posee patrones de conectividad discordantes a los de *G. lingulatum* a pesar de ser del mismo género. *Gelidium rex* tiene una estructuración genética leve con un quiebre filogeográfico sutil en los 31°S, congruente con el límite biogeográfico descrito por Camus (2001) (Cuadro 1). También se le ha observado adherida a los discos de *D. antarctica* pero en menor cantidad que *G. lingulatum*, aun así, su nivel de conectividad poblacional es bajo. La explicación que se plantea está relacionada con una respuesta fisiológica asociada a la batimetría de su hábitat. *Gelidium rex* es una especie que crece en un nivel más bajo que *G. lingulatum* con respecto a lo intermareal, estando la mayor parte del tiempo sumergida y poco estresada. Este factor probablemente explique que no logre tolerar las variables condiciones ambientales que se presentan al estar desplazándose vía *rafting* (como sí las toleraría *G. lingulatum*). Esta condición explicaría su baja abundancia como epífito de *D. antarctica*, y por ende, la nula conectividad entre sus poblaciones locales.

Cuadro 1: Síntesis de los estudios filogeográficos de macroalgas más relevantes en el Pacífico Sureste. Se indican las características de historia de vida e información del estudio filogeográfico para cada especie. Distribución: rango de distribución conocido en el Pacífico Sureste, Hábitat: distribución batimétrica y sustrato del hábitat, Dispersión: capacidad de dispersión mediante esporas, con estructuras de flotación o como epífito. Rango del estudio: rango geográfico del muestreo, Marcador genético: nombre del marcador molecular y genoma de origen (nu: nuclear, mt: mitocondrial y cp: cloroplástico), Quiebres filogeográficos: ubicación en el Pacífico Sureste de los quiebres filogeográficos para cada especie, Referencia: autores del estudio filogeográfico (Tabla modificada de Tellier 2009).

Especies	<i>Características de historia de vida</i>				<i>Información del estudio filogeográfico</i>			
	Familia	Distribución	Hábitat	Dispersión	Rango del estudio	Marcador genético	Quiebres filogeográficos	Referencia
<i>Lessonia nigrescens</i> (Ahora <i>L. berteroa</i> y <i>L. spicata</i>)	Laminariaceae	12°S-55°S	Intermareal (rocoso)	Baja (sin estructura de flotación)	17°S-41°S	ITS1, ITS2 (nu) atp8/trnS (mt) Rubisco spacer (cp)	29°S-30°S	Tellier <i>et al.</i> (2009)
<i>Durvillaea antarctica</i>	Durvillaceae	30°S-56°S	Intermareal (rocoso)	Alta (con estructura de flotación)	32°S-56°S	COI (mt) Rubisco spacer (cp)	43°S-48°S	Fraser <i>et al.</i> (2010)
<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	12°S-56°S	Submareal (rocoso)	Alta (con estructura de flotación)	14°S-53°S	atp8/trnS (mt)	33°S y 42°S	Macaya y Zuccarello (2010)
<i>Mazzaella laminarioides</i>	Gigartinaceae	28°S-56°S	Intermareal (rocoso)	Baja (sin estructura de flotación)	29°S-54°S	COI (mt) <i>rbcL</i> (cp)	33°S y 38°S	Montecinos <i>et al.</i> (2012)
<i>Gracilaria chilensis</i> (Ahora <i>Agarophyton chilensis</i>)	Gracilariaceae	18°S-44°S	Intermareal y submareal (rocoso y arenoso)	Alta (sobre algas flotantes)	36°S-43°S	ITS2 (nu) <i>rbcL</i> (cp)	Sin quiebre	Guillemin <i>et al.</i> (2014)

Especies	<i>Características de historia de vida</i>				<i>Información del estudio filogeográfico</i>			
	Familia	Distribución	Hábitat	Dispersión	Rango del estudio	Marcador genético	Quebres filogeográficos	Referencia
<i>Gigartina skottsbergii</i>	Gigartinaceae	40°S-56°S y Península Antártica	Submareal (rocoso)	Baja (sin estructura de flotación)	41°S-55°S y Península Antártica	Cox2-3 (mt) <i>rbcL</i> (cp)	Paso Drake	Billard <i>et al.</i> (2015)
<i>Gelidium lingulatum</i>	Gelidiaceae	23°S-56°S	Intermareal (rocoso)	Alta (sobre discos de <i>D. antarctica</i>)	29°S-42°S	COI (mt) <i>rbcL</i> (cp)	Sin quiebre	López <i>et al.</i> (2017)
<i>Gelidium rex</i>	Gelidiaceae	16°S-39°S	Intermareal (rocoso)	Alta (sobre discos de <i>D. antarctica</i>)	28°S-34°S	COI (mt) <i>rbcL</i> (cp)	31°S	López <i>et al.</i> (2017)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1. Muestreo

Se colectaron 356 ejemplares completos de *C. chamissoi* de 18 localidades del litoral peruano durante las estaciones de otoño, invierno y primavera del 2016 y 2017 (Figura 3). Los individuos colectados el 2016 son mayormente muestras únicas que pertenecen al proyecto 129-2015-FONDECYT de diversidad de macroalgas de la costa central del Perú, y se decidieron incluir en esta investigación debido a que aún no habían sido evaluados molecularmente y además se encuentran en buenas condiciones. Los individuos colectados en el 2017 son los que representan el mayor material para esta investigación y pertenecen al proyecto 017-2016-FONDECYT de estudio poblacional de macroalgas de la costa peruana (Cuadro 2).

El objetivo fue coleccionar 30 ejemplares por cada localidad de la zona intermareal o submareal; sin embargo, existieron localidades donde se colectaron menos individuos por la poca disponibilidad de los especímenes (Cuadro 2). Cada ejemplar coleccionado provenía de distintos discos de fijación adheridos a sustratos calcáreos o rocosos, con una distancia mínima entre ellos de 3 m para lograr mayor representatividad poblacional. En El Gramadal y DPA Ilo se colectaron 30 individuos y 4 individuos de *C. chamissoi* respectivamente, adheridos a boyas y cabos de embarcaciones pesqueras artesanales porque no se encontró una población establecida del alga (Cuadro 2).

La identificación taxonómica de *C. chamissoi* fue realizada en base a caracteres morfológicos externos, teniendo en cuenta lo descrito por Calderón *et al.* (2010). Los ejemplares de mayor tamaño, más saludables y de preferencia con estructuras reproductivas, se seleccionaron para su herborización, catalogación científica e inclusión en la Colección Científica del IMARPE. Esta identificación taxonómica *a priori* se puso a prueba molecularmente mediante los posteriores análisis filogenéticos.

Para los ensayos de extracción de ADN, cada muestra correspondía a 4-5 cm de talo por individuo. Las muestras fueron lavadas con agua dulce separando cualquier epífito u otro organismo ajeno adherido a su tejido, secadas con papel toalla y preservadas individualmente con sílica gel en bolsas ziploc rotuladas. Las muestras conservadas en sílica gel se mantuvieron sin humedad y en buen estado.

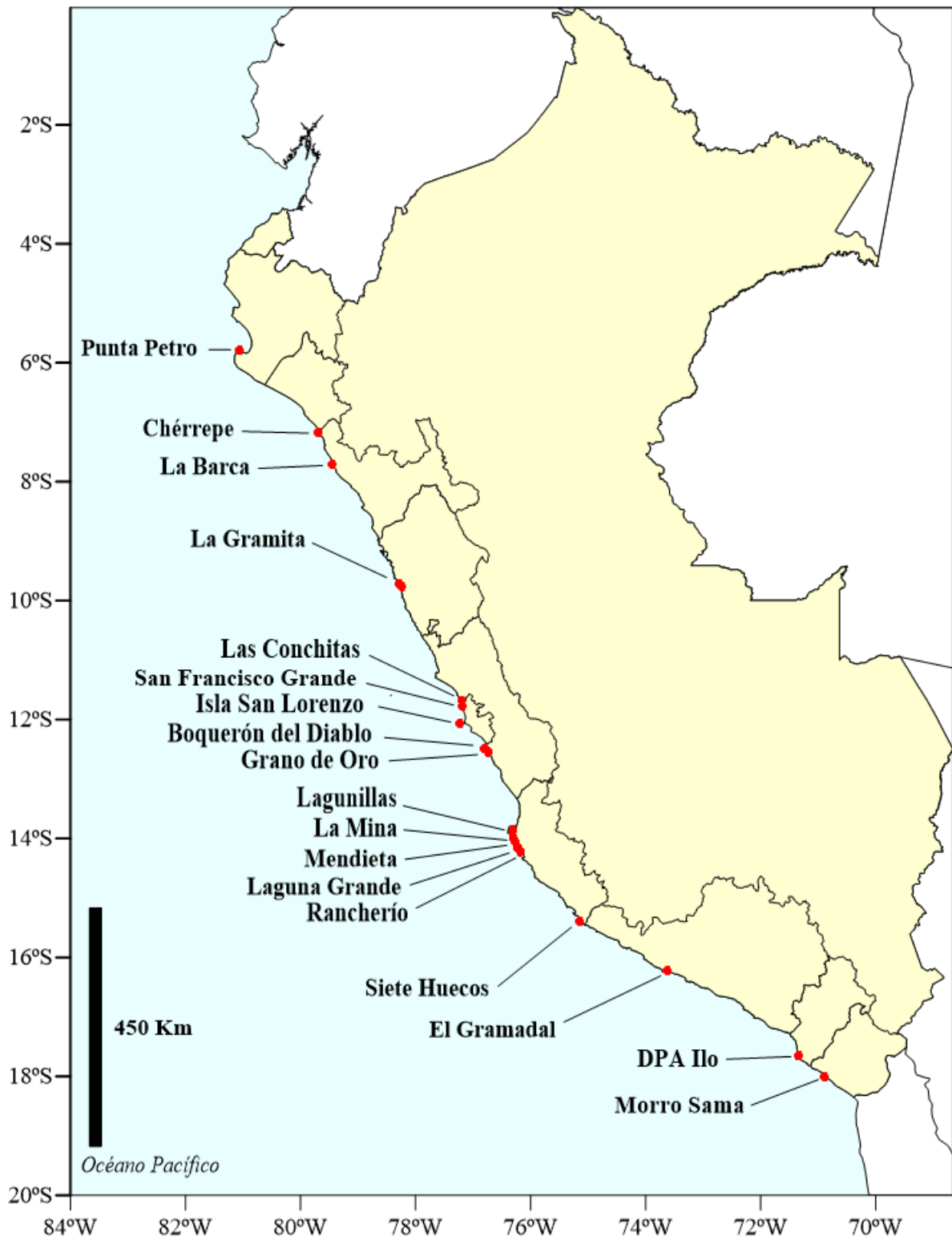


Figura 3: Localidades de colecta de *Chondracanthus chamissoi* en la costa peruana.

Cuadro 2: Datos de colecta de *Chondracanthus chamissoi* en la costa peruana. E/P: embarcación pesquera artesanal.

Localidad	Código	Distrito, Región	Latitud Sur/Longitud Oeste	Hábitat	Fecha	Ejemplares colectados
Punta Petro	PPE	Sechura, Piura	05°47'02.10''/81°04'01.90''	Intermareal bajo	16/09/2017	16
Chérrepe	CHE	Pueblo Nuevo, La Libertad	07°10'20.50''/79°41'27.90''	Intermareal bajo	23/09/2017	30
La Barca	LBA	Malabrigo, La Libertad	07°42'19.20''/79°27'07.70''	Intermareal bajo	23/09/2017	30
La Gramita	LGR	Casma, Áncash	09°42'47.50''/78°17'40.70''	Intermareal bajo	21/09/2017	30
Las Conchitas	CON	Ancón, Lima	11°45'33.90''/77°10'18.20''	Submareal (3 m)	14/05/2016	1
San Francisco Grande	SFG	Ancón, Lima	11°46'14.20''/77°11'26.30''	Intermareal bajo	20/05/2017	30
Isla San Lorenzo	ISL	La Punta, Callao	12°03'41.30''/77°14'20.60''	Submareal (4 m)	16/06/2017	30
Boquerón del Diablo	BDD	Pucusana, Lima	12°28'55.00''/76°48'02.20''	Intermareal bajo	17/06/2017	30
Grano de Oro	GDO	Pucusana, Lima	12°29'25.40''/76°47'55.80''	Intermareal bajo	14/11/2016	1
Lagunillas	LAG	Paracas, Ica	13°53'49.50''/76°18'45.10''	Intermareal bajo	09/12/2016	3
La Mina	LMI	Paracas, Ica	13°54'40.50''/76°19'04.20''	Intermareal bajo	31/04/2016	1
Mendieta	MEN	Paracas, Ica	14°02'49.60''/76°15'54.50''	Submareal (5 m)	27/05/2017	30
Laguna Grande	LGD	Paracas, Ica	14°08'28.20''/76°15'50.30''	Intermareal bajo	08/10/2016	1
Rancherío	RAN	Paracas, Ica	14°09'06.60''/76°15'02.80''	Intermareal bajo	03/04/2016	1
Siete Huecos	SHU	Marcona, Ica	15°23'07.10''/75°09'32.70''	Intermareal bajo	08/04/2017	80
El Gramadal	GMD	Atico, Arequipa	16°13'48.80''/73°38'12.00''	Cabo de E/P	29/09/2017	30
DPA Ilo	ILO	Ilo, Moquegua	17°38'38.60''/71°20'49.70''	Boya de E/P	31/08/2017	4
Morro Sama	MOR	Sama, Tacna	18°00'01.80''/70°53'11.40''	Intermareal bajo	01/09/2017	8

III.2. Extracción y cuantificación de ADN

La extracción y cuantificación de ADN fueron realizadas en el Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos del IMARPE. La extracción de ADN siguió el protocolo del GF-1® Plant DNA Extraction Kit (Vivantis). La extracción incluyó el material de *C. chamissoi* colectado en 2016 y 2017 (Cuadro 2). El número de extracciones de ADN fue de 18 ejemplares por cada localidad; sin embargo, en las localidades donde no había 18 muestras se realizaron extracciones de todas las disponibles (Cuadro 2). Como paso previo, se molió 5 mg de talo seco y limpio con arena estéril en morteros de porcelana hasta obtener partículas homogéneas muy finas, que se colocaron en tubos de microcentrífuga de 2 ml. La cantidad de muestra para moler fue pequeña para que en la lisis de tejidos se obtenga poco carragenano (polisacárido que afecta considerablemente la pureza de la extracción). El protocolo de extracción de ADN fue el siguiente:

1. *Lisis de tejidos*: A cada muestra molida se añadió 300 µl de Buffer PL y se homogenizó en un agitador *vortex* por 30 s. Luego se agregó 20 µl de Proteinasa K agitando el tubo repetidas veces. Después, cada tubo fue incubado en baño maría con agua destilada a 65 °C por 30 min agitándolo cada 10 min.
2. *Centrifugación*: Las muestras fueron centrifugadas en una microcentrífuga Sigma 1-14 a 16000 xg por 7 min para que precipite todo el material insoluble (proteínas, lípidos y polisacáridos). El sobrenadante de las muestras (que contiene el ADN) fue transferido a nuevos tubos de microcentrífuga de 2 ml.
3. *Homogenización*: Dos volúmenes de Buffer PB (dependiendo del volumen del sobrenadante transferido) se añadieron a los tubos, mezclándolo hasta obtener una solución homogénea. Seguidamente, los tubos se incubaron en agua destilada a 65 °C por 10 min. Las soluciones se tornaron casi transparentes.
4. *Adición de etanol*: A cada tubo se añadió 200 µl de etanol absoluto y se mezclaron inmediatamente invirtiéndolos repetidas veces.
5. *Carga en la columna*: Las muestras fueron transferidas (como máximo 650 µl) a las columnas de los tubos colectores, para luego centrifugarlos a 10000 xg por 3 min. Todo el filtrado fue descartado.
6. *Lavado de la columna*: A cada columna se añadió 650 µl de Wash Buffer y se centrifugó a 10000 xg por 3 min, luego se eliminó el filtrado. Este paso se realizó dos veces.

7. *Secado de la columna*: Los tubos colectores fueron centrifugados nuevamente a 10000 xg por 3 min, para asegurar que todo el residuo etanólico se volatilice.

8. *Elución de ADN*: Las columnas fueron transferidas a tubos microcentrífuga de 1.5 ml, donde se les agregó (justo al centro de estas) 50 μ l de Elution Buffer precalentado a 65 °C. Las muestras se dejaron en reposo por 2 min, para luego centrifugarlas a 10000 xg por 3 min. Todas las extracciones de ADN se conservaron a -20 °C.

Las muestras de ADN extraído fueron cuantificadas en un espectrofotómetro NanoDrop Lite Thermo Scientific. Antes de cargar 1 μ l de cada muestra de ADN en el espectrofotómetro, se cargó 1 μ l de Elution Buffer como lectura de blanco. La concentración de la extracción se midió en $\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ y su pureza según la relación A260/A280. La mayoría de las extracciones presentaron concentraciones suficientes para la amplificación por PCR (mayor a 20 $\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$) y óptima pureza (entre 1.8 y 2.0, Wu *et al.* 2009).

III.3. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Los marcadores amplificados fueron los genes COI (mitocondrial) y *rbcL* (cloroplástico). Las reacciones de PCR se hicieron en el Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos del IMARPE usando un termociclador Mastercycler nexus gradient Eppendorf. El método usado fue el de Saunders y Kucera (2010), el cual se modificó ligeramente para ambos marcadores. El marcador COI posee mayor variabilidad intraespecífica (tasa evolutiva) que *rbcL*, por lo que comúnmente es muy usado en análisis genético-poblacionales. Por esta razón, por cada localidad se escogieron 15 extracciones de ADN con concentraciones mayores a 20 $\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ y óptima pureza (1.8-2.0) para amplificar la región COI y solo una extracción de ADN para amplificar la región *rbcL*. En las localidades donde no había 15 extracciones de ADN, se realizaron amplificaciones de COI de todas las disponibles. Para ambos marcadores, los componentes del PCR por muestra incluyeron 10.5 μ l de agua ultra pura, 4 μ l de desoxirribonucleótidos (dNTPs) 1.8 mM (Analytic Jena), 2.5 μ l de *buffer* 1x (abm), 1.5 μ l de sulfato de magnesio (MgSO_4) 1.7 mM (abm), 1.5 μ l de betaína 1.4 M, 1 μ l de cada *primer* 0.45 μM , 0.3 μ l de *Taq* polimerasa 5U. μl^{-1} (abm) y 1 μ l del ADN extraído, completando un volumen final de 22.3 μ l. En cada reacción se usó un control negativo (sin muestra de ADN) para detectar alguna contaminación de los componentes.

La región COI de las 15 muestras de ADN por cada localidad fueron amplificadas con los *primers* descritos por Saunders (2005) para algas rojas:

- GazF1 (*forward*): 5' TCAACAAATCATAAAGATATTGG 3'
- GazR1 (*reverse*): 5' ACTTCTGGATGTCCAAAAAYCA 3'

Las etapas de PCR para la región COI incluyeron una desnaturalización a 94 °C por 1 min; 40 ciclos de: desnaturalización a 94 °C por 1 min, alineamiento a 45 °C por 1 min y extensión a 72 °C por 1 min; y una extensión final a 72 °C por 5 min.

La región *rbcL* de la única muestra de ADN por cada localidad fue amplificada con los *primers* descritos por Hommersand *et al.* (1994) para algas rojas. Debido a que la región *rbcL* es más extensa que COI, se amplificó la parte izquierda del gen *rbcL* con el juego de *primers* F-57 y R-753 y la parte derecha con el juego de *primers* F-577 y R-start:

- F-57 (*forward*): 5' GTAATTCCATATGCTAAAATGGG 3'
- R-753 (*reverse*): 5' GCTCTTTCATACATATCTTCC 3'
- F-577 (*forward*): 5' GTATATGAAGGTCTAAAAGGTGG 3'
- R-start (*reverse*): 5' TGTGTTGCGGCCGCCCTTGTGTTAGTCTCAC 3'

Las etapas de PCR para la región *rbcL* incluyeron una desnaturalización a 94 °C por 3 min; 40 ciclos de: desnaturalización a 94 °C por 20 s, alineamiento a 50 °C por 1 min 20 s y extensión a 72 °C por 2 min; y una extensión final a 72 °C por 7 min.

III.4. Electroforesis y secuenciamiento

La electroforesis fue realizada en el Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos del IMARPE mediante un equipo nanoPac-300 Cleaver. Se preparó una solución de agarosa al 1.2 % (0.9 g de agarosa en 75 ml de *buffer* bórax 1x), se le agregó 2 µl de Safe DNA Gel Stain 10000x (Invitrogen) y se vació en un molde preparado con dos peines para dejarlo gelificar. Luego de enfriarse, se retiraron los peines quedando 30 pocillos que albergaron a las muestras de ADN amplificado. El molde con el gel de agarosa se colocó en la cámara de electroforesis añadiendo en el primer pocillo 2 µl de *ladder* 0.1 mg/ml (GeneOn) y a los demás pocillos la mezcla de 5 µl de cada muestra de ADN amplificado con 2 µl de Loading Buffer 6x (GeneOn). Finalmente, se realizó una corrida electroforética de las muestras durante 25 min a 150 V, para luego visualizar las bandas de ADN en un transiluminador UV Maestrogen y fotografiarlas.

Los productos amplificados que presentaron bandas anchas y nítidas se transfirieron en su totalidad a tubos PCR estériles y rotulados de 0.2 ml para luego sellarlos con Parafilm. Los tubos sellados se enviaron a la empresa MacroGen (Seúl, Corea del Sur) para ser purificados y secuenciados en un solo sentido con los *primers* GazF1, F-57 y R-start.

III.5. Procesamiento de las secuencias

Todas las secuencias enviadas por MacroGen se editaron manualmente, visualizando su cromatograma con el programa CodonCode Aligner 7.1.2 (CodonCode Corporation 2017). Los nucleótidos extremos ambiguos fueron cortados y las secuencias que tuvieron altos niveles de ruido (más de un pico en cada posición nucleotídica) fueron eliminadas. Luego de la limpieza de secuencias, estas se compararon con las secuencias disponibles en la base de datos GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI), mediante el programa *online* BLASTn (Altschul *et al.* 1990). El programa BLASTn es una herramienta basada en un alineamiento local de secuencias con el propósito de encontrar similitud genética. Cabe mencionar que en la base de datos GenBank existen secuencias disponibles de los marcadores COI y *rbcL* para *C. chamissoi* usadas en distintos artículos científicos (ver <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/?term=Chondracanthus+chamissoi>). Luego de verificar el análisis BLASTn, se descartaron algunas secuencias COI y *rbcL* que no pertenecieron a la especie *C. chamissoi* (poliquetos, epífitos, etc.) debido a la contaminación durante el proceso de extracción de ADN.

En los análisis filogenéticos se usaron las secuencias COI y *rbcL* de *C. chamissoi* obtenidas en este estudio, así como las secuencias COI y *rbcL* de *C. chamissoi* y del género *Chondracanthus* obtenidas de GenBank (Cuadro 3). En los análisis de redes de haplotipos se usaron las secuencias COI y *rbcL* de *C. chamissoi* de este estudio y de GenBank (Cuadro 3). En los análisis poblacionales de índices de diversidad genética, historia demográfica (estadísticos de neutralidad D y F_s y distribución *Mismatch*) y estructuración genética (índices de diferenciación genética ϕ_{ST} y Análisis de Varianza Molecular (AMOVA)) se evaluaron solo las localidades (poblaciones) que tenían como mínimo 12 secuencias COI de *C. chamissoi* de este estudio, ya que este marcador posee alta tasa de sustitución nucleotídica lo que permite analizar la variabilidad genética a nivel de especie (intraespecífica) con mayor claridad que el marcador *rbcL*.

Cuadro 3: Lista de secuencias del género *Chondracanthus* y grupos externos disponibles en GenBank y utilizadas en los análisis filogenéticos (todas) y de redes de haplotipos (solo *C. chamissoi*). AN: código de acceso de GenBank. *: secuencias usadas como grupos externos para COI y *rbcL*. Las localidades chilenas se indican de norte a sur.

Especie	Información de la localidad	Accession number (AN)		Referencias
		COI	<i>rbcL</i>	
<i>C. acicularis</i>	Sebastian Inlet, Florida, EE. UU.	KR909521		Yang y Kim (2016)
	Roche, Andalucía, España		KP059097	Yang <i>et al.</i> (2015)
<i>C. bajacalifornicus</i>	Playa San Miguel, Baja California, México		DQ869093	Hughey y Hommersand (2008)
<i>C. canaliculatus</i>	Pescadero Point, California, EE. UU.		DQ869086	Hughey y Hommersand (2008)
<i>C. chamissoi</i>	Iquique, Tarapacá, Chile	KP059068		Yang <i>et al.</i> (2015)
	Iquique, Tarapacá, Chile		KP059081	Yang <i>et al.</i> (2015)
	Huayquique, Tarapacá, Chile	KP059067	KP059080	Yang <i>et al.</i> (2015)
	Puerto Aldea, Coquimbo, Chile	KP059069	KP059082	Yang <i>et al.</i> (2015)
	Puerto Aldea, Coquimbo, Chile		KP059092	Yang <i>et al.</i> (2015)
	Cocholgüe, Biobío, Chile	KP059070	KP059088	Yang <i>et al.</i> (2015)
	Cocholgüe, Biobío, Chile	KP059066	KP059091	Yang <i>et al.</i> (2015)
	Cocholgüe, Biobío, Chile		KP059089	Yang <i>et al.</i> (2015)
	Cocholgüe, Biobío, Chile		KP059077	Yang <i>et al.</i> (2015)
	Lebu, Biobío, Chile	KP059065	KP059079	Yang <i>et al.</i> (2015)
	Lechagua, Los Lagos, Chile		AF146193	Hughey y Hommersand (2008)
	Chonchi, Los Lagos, Chile	KP059071		Yang <i>et al.</i> (2015)
	Chonchi, Los Lagos, Chile	KP059072	KP059090	Yang <i>et al.</i> (2015)
	Chonchi, Los Lagos, Chile		KP059078	Yang <i>et al.</i> (2015)
	Misaki, Chiba, Japón	KP059061	KP059085	Yang <i>et al.</i> (2015)
	Enoshima, Kanagawa, Japón	KP059062	KP059083	Yang <i>et al.</i> (2015)
	Enoshima, Kanagawa, Japón	KP059060	KP059084	Yang <i>et al.</i> (2015)
	Gwangan-ri, Busan, Corea del Sur	KP059063	KP059086	Yang <i>et al.</i> (2015)
	Gwangan-ri, Busan, Corea del Sur	KP059064	KP059087	Yang <i>et al.</i> (2015)
	Toulindac, Golfo de Morbihan, Francia		JQ405738	Mineur <i>et al.</i> (2012)
<i>C. chapmanii</i>	Island Bay, Wellington, Nueva Zelanda		U02940	Hommersand <i>et al.</i> (1994)
<i>C. corymbiferus</i>	Canadá	GQ398090		Le Gall y Saunders (2010)

Especie	Información de la localidad	Accession number (AN)		Referencias
		COI	<i>rbcL</i>	
<i>C. exasperatus</i>	Indian Island, Washington, EE. UU.		DQ869094	Hughey y Hommersand (2008)
	Canadá	GQ398091		Le Gall y Saunders (2010)
<i>C. harveyanus</i>	Bahía Colnett, Baja California, México		DQ869105	Hughey y Hommersand (2008)
	Horseshoe Cove, California, EE. UU.		DQ869116	Hughey y Hommersand (2008)
<i>C. intermedius</i>	Tokawa, Chiba, Japón		U02942	Hommersand <i>et al.</i> (1994)
<i>C. kjeldsenii</i>	North and West Cove, California, EE. UU.		DQ869084	Hughey y Hommersand (2008)
<i>C. saundersii</i>	Walsingham Pond, Hamilton Parish, Bermudas		AY698062	Schneider y Lane (2005)
<i>C. serratus</i>	Mission Bay, California, EE. UU.		DQ869090	Hughey y Hommersand (2008)
<i>C. spinosus</i>	Fort Point, California, EE. UU.		U02943	Hommersand <i>et al.</i> (1994)
<i>C. squarrulosus</i>	Bahía de los Ángeles, Golfo de California, México		DQ869101	Hughey y Hommersand (2008)
<i>C. teedei</i>	San Fernando, Andalucía, España	KP059073	KP059095	Yang <i>et al.</i> (2015)
<i>C. tenellus</i>	Okinoshima, Chiba, Japón		AF146197	Hughey y Hommersand (2008)
<i>Chondrus crispus</i> *	Peggy's Cove, Nueva Escocia, Canadá	AY970567		Saunders (2005)
<i>Mazzaella laminarioides</i> *	Chacao, Los Lagos, Chile	AY970593		Saunders (2005)
<i>Gigartina grandifida</i> *	Waitangi West, Islas Chatham, Nueva Zelanda		DQ104828	Nelson y Broom (2008)
<i>Rhodoglossum gigartinooides</i> *	Flinders Jetty, Victoria, Australia		JN403074	Schneider <i>et al.</i> (2011)

III.6. Análisis estadísticos

III.6.1. Filogenia

Las relaciones filogenéticas entre haplotipos se construyeron a partir de las secuencias de los marcadores COI y *rbcL*. Cada set de datos (COI y *rbcL*) incluyó una secuencia por haplotipo de *C. chamissoi* (obtenida de este estudio o de GenBank), más las secuencias del género *Chondracanthus* y grupos externos, disponibles en GenBank (Cuadro 3). Previamente al análisis, a cada set de datos se le realizó un alineamiento múltiple con el programa *online* MUSCLE (Edgar 2004). Los dos árboles filogenéticos de haplotipos (COI y *rbcL*) se construyeron en el programa *online* W-IQ-TREE (Trifinopoulos *et al.* 2016) con el método Máxima Verosimilitud mediante 1000 réplicas *bootstrap* (Felsenstein 1985). Se eligió el modelo de sustitución nucleotídica sugerido por el programa jModelTest 2.1.10 (Darriba *et al.* 2012) en base al criterio de información AIC (Akaike 1973). Los grupos externos usados fueron *Chondrus crispus* (AN: AY970567) y *Mazzaella laminarioides* (AN: AY970593) para el marcador COI, y *Gigartina grandifida* (AN: DQ104828) y *Rhodoglossum gigartinoides* (AN: JN403074) para *rbcL* (Cuadro 3).

III.6.2. Redes de haplotipos

En el programa NETWORK 5.0.0.3 y mediante el algoritmo *Median-Joining* (Bandelt *et al.* 1999), se construyeron redes de haplotipos COI y *rbcL* con las secuencias de *C. chamissoi* de esta investigación más las secuencias de *C. chamissoi* disponibles en GenBank (Cuadro 3). Cada círculo coloreado de la red representa un haplotipo y su tamaño está en relación directa con su frecuencia. Las relaciones entre los haplotipos permitieron analizar el patrón filogeográfico a nivel intraespecífico. En ese sentido, una red de haplotipos en forma de estrella se asocia a un evento demográfico de expansión poblacional reciente (Bandelt *et al.* 1995). Además, se mostró la distribución geográfica de los haplotipos COI y *rbcL* en la costa peruana. Esto se realizó con el propósito de detectar la presencia de quiebres filogeográficos en el rango latitudinal evaluado (6°S-18°S).

III.6.3. Índices de diversidad genética

Mediante el programa DnaSP 6.10.1 (Rozas *et al.* 2017) se obtuvo cuatro índices de diversidad genética para *C. chamissoi*. Los índices se calcularon para cada población (con 12 o más secuencias COI) y a nivel total. Los índices calculados fueron el número de

haplotipos (h) (número de secuencias distintas entre sí), el número de sitios polimórficos (S) (número de sitios del alineamiento donde existe variabilidad nucleotídica), la diversidad haplotípica (Hd , Nei 1987) (probabilidad de que dos haplotipos tomados al azar sean distintos en una población, Anexo 1) y la diversidad nucleotídica (π , Nei y Li 1979) (probabilidad de que dos nucleótidos homólogos tomados al azar sean distintos en una población, Anexo 1).

III.6.4. Historia demográfica

La historia demográfica de las poblaciones de *C. chamissoi* se infirió mediante el cálculo de los estadísticos D (Tajima 1989) y F_s (Fu 1997) en el programa DnaSP 6.10.1 (Rozas *et al.* 2017). El nivel de significancia de estas pruebas fue de 0.05 y se evaluó empleando 1000 simulaciones de coalescencia. Estos estadísticos se calcularon para cada población (con 12 o más secuencias COI) y a nivel total. D y F_s son estadísticos de neutralidad que permiten detectar cambios pasados en el tamaño efectivo de la población (cambios demográficos). La hipótesis nula para estas pruebas son valores de D y F_s iguales a cero. En caso de cumplir con la hipótesis nula, estos estadísticos poseen ciertas interpretaciones bajo el supuesto de ausencia de presión selectiva en el marcador utilizado: un valor de cero o distintos de cero no significativamente ($p > 0.05$) se traduce como un tamaño constante de las poblaciones (equilibrio demográfico o estabilidad poblacional), valores negativos y distintos de cero significativamente ($p < 0.05$) indican un exceso de haplotipos de baja frecuencia (expansión poblacional), y valores positivos y distintos de cero significativamente ($p < 0.05$) indican un predominio de haplotipos frecuentes (disminución poblacional, también llamada cuello de botella).

Para confirmar los eventos antes mencionados, se realizó una distribución *Mismatch* a nivel total en el programa DnaSP 6.10.01 (Rozas *et al.* 2017). La distribución *Mismatch* es un histograma que indica cómo se distribuyen las frecuencias observadas del número de diferencias mutacionales entre pares de secuencias. Se espera una distribución multimodal en poblaciones en equilibrio demográfico y una distribución unimodal en poblaciones que han experimentado una expansión poblacional reciente (Rogers y Harpending 1992). En el programa DnaSP 6.10.1 se comprobó el ajuste de la curva observada con la esperada mediante la prueba de bondad de ajuste Índice de Desigualdad de Harpending (Hri) (Harpending 1994), bajo el modelo teórico de expansión poblacional reciente. El nivel de

significancia de esta prueba fue de 0.05 y se evaluó usando 1000 simulaciones de coalescencia. Los valores de H_{ri} bajos y no significativos ($p > 0.05$) indican que la distribución observada se ajusta a un modelo de expansión poblacional reciente, mientras que valores altos y significativos ($p < 0.05$) indican que la distribución observada no se ajusta a este modelo de expansión poblacional.

III.6.5. Estructuración genética

En el programa Arlequin 3.5.2 (Excoffier y Lischer 2010) se calcularon los índices de diferenciación genética ϕ_{ST} (Excoffier *et al.* 1992) entre pares de poblaciones de *C. chamissoi* (con 12 o más secuencias COI). En esta prueba, al nivel de significancia de 0.05 se le realizó una corrección secuencial de Bonferroni (0.05/número total de comparaciones entre poblaciones) y se evaluó empleando 1000 permutaciones. La corrección de Bonferroni se realizó para ajustar las probabilidades de las comparaciones múltiples (Rice 1989). El índice ϕ_{ST} es un estadístico análogo al F_{ST} de Wright (1931) que se utiliza para datos haploides y considera tanto la frecuencia de los haplotipos como la divergencia entre los haplotipos. Los valores del índice ϕ_{ST} oscilan entre 0 y 1, valores altos y distintos de cero significativamente ($p < 0.05$) se interpretan como una fuerte diferenciación genética entre las poblaciones (Excoffier *et al.* 1992).

Así mismo, también se ejecutó un AMOVA en el programa Arlequin 3.5.2 (Excoffier *et al.* 1992). El nivel de significancia para esta prueba fue de 0.05 y se evaluó empleando 1000 permutaciones. El AMOVA se realizó para determinar qué porcentaje de la varianza genética total es explicado a nivel interpoblacional e intrapoblacional.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1. Características de las secuencias de ADN procesadas

En la presente tesis se procesaron un total de 143 secuencias COI y 36 secuencias *rbcL* de *C. chamissoi*, considerando las obtenidas de esta investigación más las de GenBank. Mayores detalles de las secuencias por localidad y marcador se indican en el Cuadro 4. El segmento analizado de COI fue de 600 pares de bases nucleotídicas (pb) y el segmento analizado de *rbcL* fue de 922 pb. Se encontraron un total de ocho haplotipos COI (cinco presentes en Perú) y ocho haplotipos *rbcL* (tres presentes en Perú).

Cuadro 4: Número de secuencias procesadas de *Chondracanthus chamissoi* para los marcadores COI y *rbcL*. *: secuencias obtenidas de GenBank. El conjunto de localidades de Perú y Chile se indica de norte a sur.

Localidad	Código	COI	<i>rbcL</i>
Punta Petro	PPE	12	1
Chérrepe	CHE	12	1
La Barca	LBA	10	1
La Gramita	LGR	8	1
Las Conchitas	CON	1	1
San Francisco Grande	SFG	12	1
Isla San Lorenzo	ISL	14	1
Boquerón del Diablo	BDD	12	1
Grano de Oro	GDO	1	0
Lagunillas	LAG	3	1
La Mina	LMI	1	1
Mendieta	MEN	14	1
Laguna Grande	LGD	1	0
Rancherío	RAN	1	1
Siete Huecos	SHU	14	3
El Gramadal	GMD	8	1
DPA Ilo	ILO	3	1
Morro Sama	MOR	3	1
Subtotal Perú (18 localidades)		130	18
Iquique*		1	1
Huayquique*		1	1
Puerto Aldea*		1	2
Cocholgue*		2	4
Lebu*		1	1
Lechagua*		0	1
Chonchi*		2	2
Subtotal Chile (7 localidades)		8	12
Enoshima*		2	2
Misaki*		1	1
Subtotal Japón (2 localidades)		3	3
Gwangan-ri*		2	2
Subtotal Corea del Sur (1 localidad)		2	2
Toulindac*		0	1
Subtotal Francia (1 localidad)		0	1
Total (29 localidades)		143	36

IV.2. Análisis filogenético con el marcador COI

El árbol filogenético COI de Máxima Verosimilitud (Figura 4) incluye los ocho haplotipos COI encontrados en las 143 secuencias procesadas para este marcador (nombrados de C1 a C8), así como cuatro secuencias del género *Chondracanthus* (*C. corymbiferus*, *C. exasperatus*, *C. teedei* y *C. acicularis*) y dos *outgroups* (*Mazzaella laminarioides* y *Chondrus crispus*) de GenBank (Cuadro 3). El modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajusta al alineamiento de las secuencias COI (600 pb), en base al criterio de información de Akaike (1973), es el *Transversion Model* con distribución gamma (TVM+G). La topología del árbol COI, con respecto a la obtenida por Yang *et al.* (2015), solo difiere en la posición de *C. corymbiferus* que se encuentra muy próxima al clado de *C. chamissoi* y por las secuencias añadidas de *C. chamissoi* de este estudio.

El árbol COI muestra que todos los individuos de *C. chamissoi* (de este estudio y de GenBank) forman un clado monofilético altamente soportado (*bootstrap* 93) (Figura 4). En este clado monofilético (*bootstrap* 93), cinco haplotipos (C1 a C5) se indican con colores llamativos y distintos ya que se encuentran solo en la costa peruana o en la costa peruana y chilena. Los haplotipos C1 y C2 se encuentran en individuos de Perú (de este estudio) y en individuos de Chile (de GenBank). Los haplotipos C3, C4 y C5 solo se encuentran en individuos de Perú (de este estudio). Finalmente, los haplotipos C6, C7 y C8 solo incluyen secuencias de GenBank y corresponden a individuos de Chile, Japón y Corea del Sur, respectivamente (Figura 4). Cabe resaltar que en 130 secuencias COI de *C. chamissoi* provenientes de ejemplares de casi toda la costa peruana, no se encontraron los haplotipos C6, C7 y C8 en Perú.

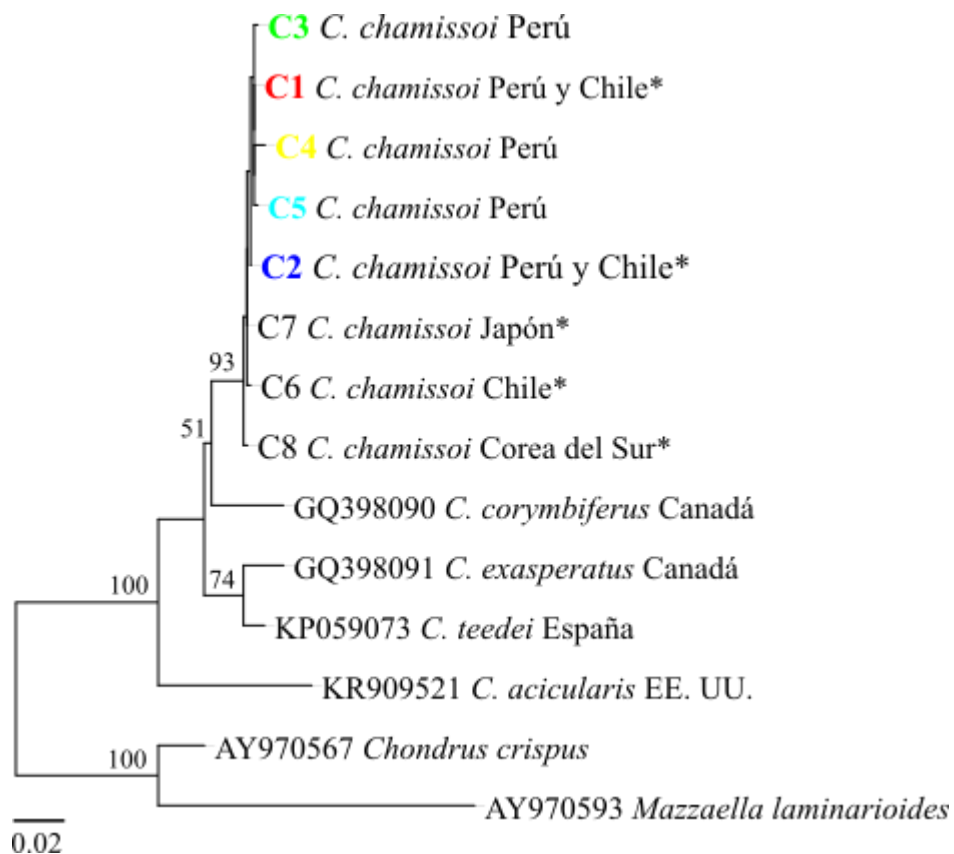


Figura 4: Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud para los haplotipos COI (600 pb) de *Chondracanthus chamissoi*. Se usó el modelo de sustitución nucleotídica TVM+G. Los haplotipos presentes solo en Perú o en Perú y Chile están coloreados.*: secuencias de *C. chamissoi* obtenidas de GenBank. Se indican los códigos de acceso (AN) de GenBank para las secuencias del género *Chondracanthus* y para los *outgroups*. En los clados solo se muestran los valores de *bootstrap* mayores a 50.

Las secuencias COI de *C. chamissoi* de Yang *et al.* (2015) (GenBank) provienen de individuos reconocidos como tal en base a análisis filogenéticos con muestras de Chile, Japón y Corea del Sur (Cuadro 3), apoyados por observaciones morfológicas de sus estructuras reproductivas y vegetativas. El árbol filogenético COI muestra que los individuos considerados como *C. chamissoi* de este estudio y los reconocidos como *C. chamissoi* por Yang *et al.* (2015) conforman un único linaje génico (clado monofilético con *bootstrap* 93) (Figura 4). De acuerdo a ello, la filogenia con COI demuestra que los especímenes considerados para este trabajo han sido correctamente identificados y que se trata de una sola especie filogenética.

IV.3. Análisis filogenético con el marcador *rbcL*

El árbol filogenético *rbcL* de Máxima Verosimilitud (Figura 5) incluye los ocho haplotipos encontrados en las 36 secuencias procesadas para este marcador (nombrados de R1 a R8), así como 15 secuencias del género *Chondracanthus* y dos *outgroups* (*Rhodoglossum gigartinoides* y *Gigartina grandifida*) de GenBank (Cuadro 3). El modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajusta al alineamiento de las secuencias *rbcL* (922 pb), en base al criterio de información de Akaike (1973), es el Tamura-Nei con distribución gamma (TrN+G) (Tamura y Nei 1993). La topología del árbol *rbcL* solo difiere con la obtenida por Yang *et al.* (2015) por las secuencias añadidas de *C. chamissoi* de este estudio.

El árbol *rbcL* también muestra que todos los individuos de *C. chamissoi* (de este estudio y de GenBank) forman un grupo monofilético muy soportado (*bootstrap* 94) (Figura 5). En este clado monofilético (*bootstrap* 94), tres haplotipos (R1 a R3) se indican con diversos matices grises porque se encuentran solo en la costa peruana o en la costa peruana y chilena. En cuanto a este marcador cloroplástico, el haplotipo R1 se encuentra en individuos de *C. chamissoi* de Perú (de este estudio), así como en individuos de *C. chamissoi* de Chile (de GenBank). Los haplotipos R2 y R3 se encuentran solo en individuos de *C. chamissoi* de Perú (de este estudio). Finalmente, los haplotipos de R4 a R8 solo incluyen secuencias de GenBank y corresponden a individuos de *C. chamissoi* de Chile (R4 y R5), Japón y Francia (R6) y Corea del Sur (R7 y R8) (Figura 5).

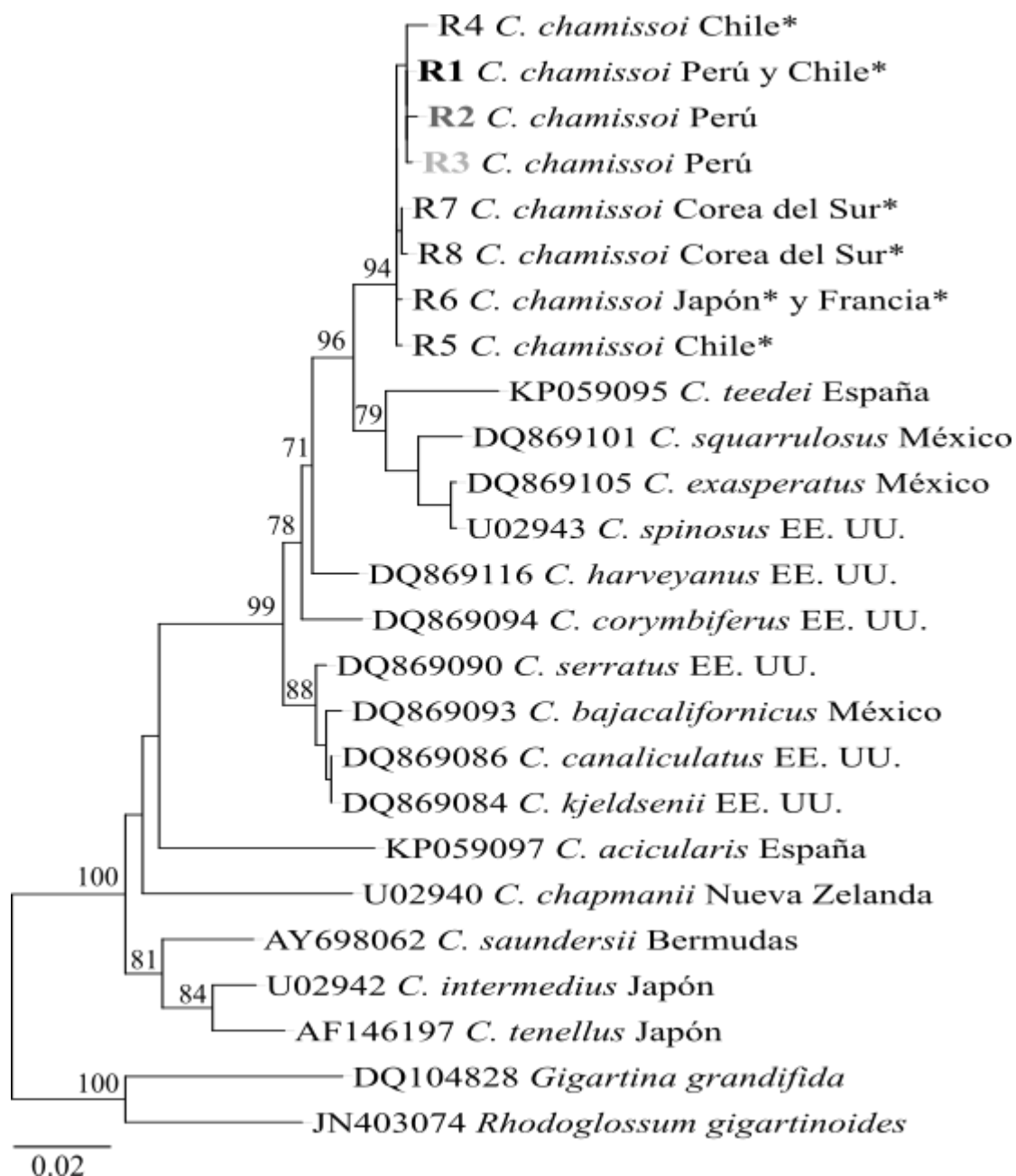


Figura 5: Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud para los haplotipos *rbcL* (922 pb) de *Chondracanthus chamissoi*. Se usó el modelo de sustitución nucleotídica TrN+G. Los haplotipos presentes solo en Perú o en Perú y Chile tienen matices grises. *: secuencias de *C. chamissoi* obtenidas de GenBank. Se indican los códigos de acceso (AN) de GenBank para las secuencias del género *Chondracanthus* y para los *outgroups*. En los clados solo se muestran los valores de *bootstrap* mayores a 50.

Las secuencias *rbcL* de *C. chamissoi* de Hughey y Hommersand (2008) y Yang *et al.* (2015) (GenBank) provienen de individuos cuyo estatus taxonómico ha sido correctamente confirmado mediante análisis en simultáneo de filogenia y morfología de muestras de Chile, Japón, Corea del Sur y Francia (Cuadro 3). El árbol filogenético *rbcL* también

muestra que los individuos considerados como *C. chamissoi* de este estudio y los reconocidos como *C. chamissoi* por Hughey y Hommersand (2008) y Yang *et al.* (2015) conforman un único linaje genético (clado monofilético de *bootstrap* 94) (Figura 5). De esta manera, el árbol *rbcL* fortalece lo obtenido en el árbol COI demostrando que los ejemplares de *C. chamissoi* de este trabajo han sido correctamente identificados y pertenecen a la misma especie.

IV.4. Red de haplotipos COI

La construcción de la red de haplotipos COI se realizó con las 143 secuencias procesadas para este marcador (Cuadro 4) y mostró la relación entre los ocho haplotipos COI encontrados para *C. chamissoi*. La distribución geográfica de los haplotipos de C1 a C5 (con colores llamativos) a lo largo de la costa peruana se muestra en un rango latitudinal de 6°S a 18°S (Figura 6).

La red de haplotipos COI muestra que los haplotipos de *C. chamissoi* de este estudio así como los *C. chamissoi* reconocidos por Yang *et al.* 2015 se diferencian entre ellos hasta en máximo cuatro pasos mutacionales (Figura 6). Este resultado no hace más que confirmar la conespecificidad entre los especímenes de *C. chamissoi* de este trabajo y los registrados en GenBank, obtenida en el análisis filogenético COI (Figura 4).

La red de haplotipos COI presenta forma de estrella (Figura 6), donde C1 es el haplotipo central y se encuentra rodeado de haplotipos de baja frecuencia (C2-C5): características que sugieren que C1 es el haplotipo ancestral. Una red de haplotipos en forma de estrella suele presentarse en especies que han pasado por un evento de expansión poblacional reciente (Bandelt *et al.* 1995). Los haplotipos C2, C3 y C5 se diferencian del haplotipo C1 por un paso mutacional, mientras que el haplotipo C4 lo hace por tres pasos mutacionales. El haplotipo C7 se diferencia por un paso mutacional del haplotipo C2 y del haplotipo C6, y por dos pasos mutacionales del haplotipo C8.

El haplotipo C1 (ancestral) es el más frecuente (82.5 %), estando presente en 118 individuos repartidos en 17 de las 18 localidades consideradas de Perú (Cuadro 5), desde Punta Petro (6°S) hasta Morro Sama (18°S) (Figura 6). El haplotipo C2 tiene una frecuencia notoriamente inferior que el haplotipo C1 (6.3 %), una distribución parchosa e igualmente se encuentra en un amplio rango latitudinal, desde Punta Petro (6°S) hasta Morro Sama (18°S) (Figura 6). Tres haplotipos (C3 a C5) de los cinco encontrados en Perú

son haplotipos privados, es decir, están presentes en una sola localidad y además el haplotipo C5 es único (presente en un solo individuo) (Cuadro 5). El haplotipo C6 solo se encuentra en Chile y está presente en tres localidades, mientras que los haplotipos C7 y C8 solo se encuentran en Japón y Corea del Sur, respectivamente (Cuadro 5).

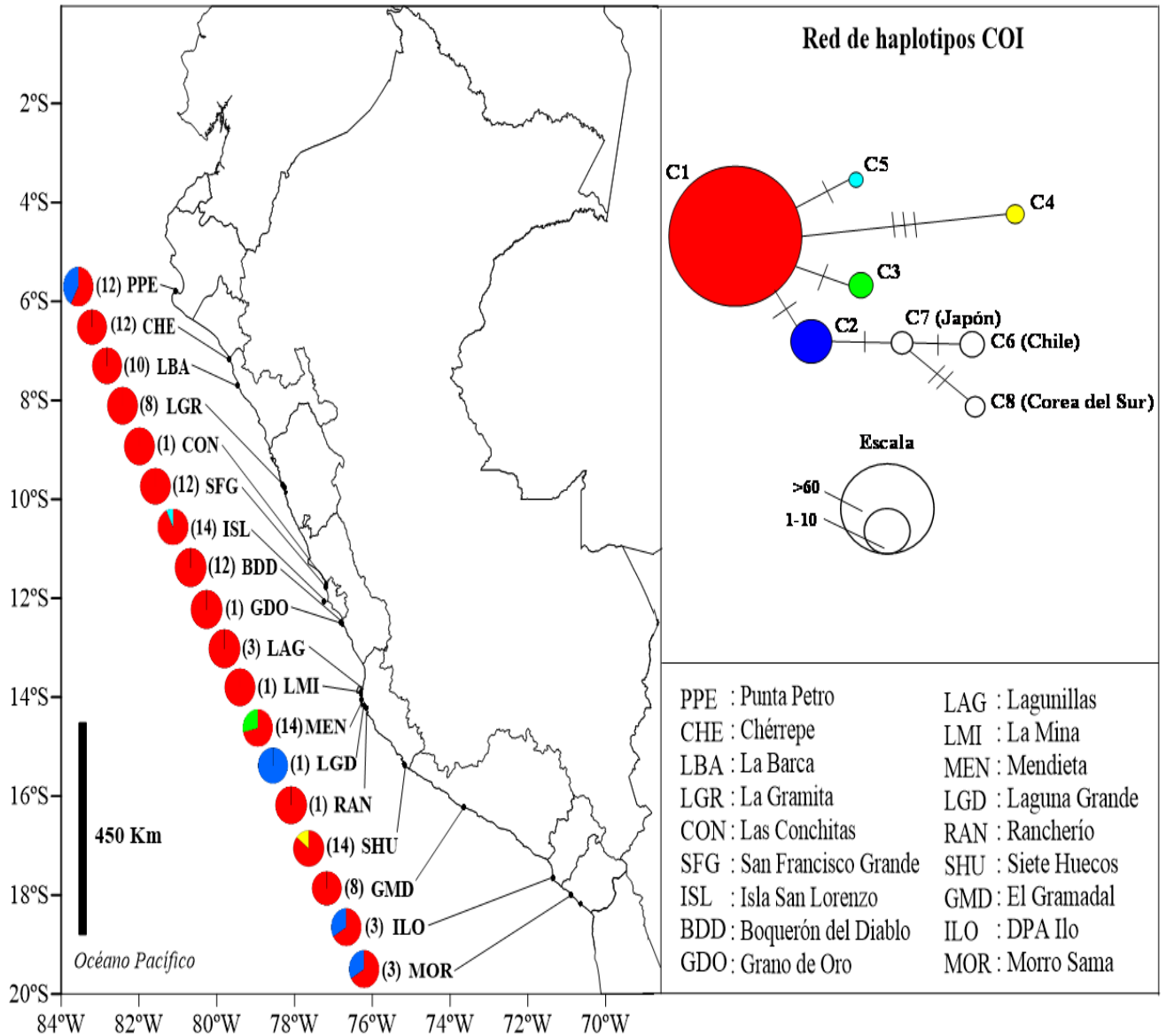


Figura 6: Red de haplotipos COI de *Chondracanthus chamissoi* y distribución geográfica de los haplotipos en la costa peruana. En la red, cada círculo representa un haplotipo donde su tamaño es proporcional a su frecuencia (ver escala) y los segmentos indican el número de pasos mutacionales entre haplotipos. En la distribución, los círculos indican la proporción de individuos según cada haplotipo y entre paréntesis se indica el número total de secuencias COI analizadas por localidad.

Cuadro 5: Número de individuos de *Chondracanthus chamissoi* distribuidos según haplotipos COI y localidades. *: secuencias COI obtenidas de GenBank. Las localidades se indican de norte a sur exceptuando Enoshima y Misaki (Japón) y Gwangan-ri (Corea del Sur).

Localidad	Código	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	Total
Punta Petro	PPE	7	5							12
Chérrepe	CHE	12								12
La Barca	LBA	10								10
La Gramita	LGR	8								8
Las Conchitas	CON	1								1
San Francisco Grande	SFG	12								12
Isla San Lorenzo	ISL	13				1				14
Boquerón del Diablo	BDD	12								12
Grano de Oro	GDO	1								1
Lagunillas	LAG	3								3
La Mina	LMI	1								1
Mendieta	MEN	10		4						14
Laguna Grande	LGD		1							1
Rancherío	RAN	1								1
Siete Huecos	SHU	12			2					14
El Gramadal	GMD	8								8
DPA Ilo	ILO	2	1							3
Morro Sama	MOR	2	1							3
Iquique*		1								1
Huayquique*		1								1
Puerto Aldea*							1			1
Cocholgue*		1					1			2
Lebu*			1							1
Chonchi*							2			2
Enoshima*								2		2
Misaki*								1		1
Gwangan-ri*									2	2
Total		118	9	4	2	1	4	3	2	143

Aún no existen análisis previos de relaciones entre haplotipos COI para *C. chamissoi* en la costa peruana ni en la chilena. No obstante, la red COI obtenida en este trabajo podría ser comparada en parte con la de *Gelidium rex* (Gelidiaceae) (López *et al.* 2017), pero teniendo en cuenta que si bien ambas especies habitan generalmente el intermareal inferior, los estudios se realizaron en latitudes diferentes: 28°S-34°S en *G. rex* y 6°S-18°S en *C. chamissoi*. En el análisis para *G. rex* se reportan dos haplotipos COI frecuentes separados por una sutil discontinuidad en los 31°S (López *et al.* 2017), resultado que contrasta lo obtenido en este estudio ya que en *C. chamissoi* solo se encontró un haplotipo frecuente (C1) y ninguna discontinuidad.

En la red de haplotipos COI de este estudio, los tres haplotipos privados (C3-C5) son muy cercanos genéticamente al haplotipo ancestral C1 (la máxima distancia es de tres pasos mutacionales para C5) (Figura 6). Este hallazgo no es señal de estructuración genética, pues para que esto ocurra los haplotipos privados deberían estar muy alejados del haplotipo ancestral (varios pasos mutacionales) (Ferrerri *et al.* 2011). Si los haplotipos privados se diferencian del ancestral por pocos pasos mutacionales (como en este caso), se afirma en cambio que existe un alto nivel de flujo génico (Ferrerri *et al.* 2011). Por otro lado, las poblaciones con presencia de un solo haplotipo (monomórficas) usualmente se encuentran bien establecidas y ejercen un efecto de bloqueo ante el arribo de nuevos individuos inmigrantes (Thiel y Gutow 2005). Los pocos individuos con haplotipos nuevos que llegan a estas poblaciones tienen alta probabilidad de ser eliminados por deriva génica debido a su rareza. Esto podría estar ocurriendo en las tres poblaciones monomórficas presentes en este estudio para el marcador COI (Chérrepe, San Francisco Grande y Boquerón del Diablo), aunque la condición de monomórficas se debe tomar con cautela ya que se deben analizar mínimo 20 ejemplares de estas poblaciones para confirmar esta característica.

La población de Punta Petro (Sechura, Perú) está ubicada a una latitud que coincide con el límite norte de la distribución de *C. chamissoi* en Sudamérica (5°S-6°S) (Figura 6) y además se caracteriza por encontrarse en una zona de transición biogeográfica (4°S-6°S) reportada para la costa peruana (Ibáñez 2016). A pesar de encontrarse en una zona de transición, la población de Punta Petro no muestra alguna diferenciación genética con respecto a las demás poblaciones, ya que presenta el haplotipo más frecuente (C1) y el haplotipo compartido en menor proporción (C2). Aún no existen reportes de conectividad de macroalgas cuya distribución atraviesa los 4°S-6°S, probablemente porque esta zona de transición posee condiciones oceanográficas bien marcadas que hacen que represente un límite de distribución (límite biogeográfico) para las macroalgas propias de la provincia Panameña (norte de los 4°S) o de la Peruana (sur de los 6°S). Pero para los moluscos intermareales *Echinolittorina paytensis* y *Brachidontes adamsianus*, cuyas distribuciones atraviesan los 4°S-6°S, sí se ha realizado un estudio filogeográfico (Barahona 2017). En ese estudio se propone que la alta dispersión larval de *E. paytensis* y *B. adamsianus* sumada a la inestabilidad de la zona de transición por los eventos ENSO, explicaría que la zona de transición no constituya una barrera efectiva ante el flujo génico de esos moluscos (Barahona 2017).

Por otro lado, los trabajos relacionados a la producción de esporas, propagación vegetativa y fijación de las frondas de *C. chamissoi* a sustratos naturales o artificiales han sido enfocados a técnicas de cultivo, pero a pesar de ello, algunos hallazgos dan señales indirectamente que *C. chamissoi* podría tener gran dispersión a grandes distancias. En ese sentido, se ha notado que la producción de esporas de *C. chamissoi* en el norte de Chile ocurre todo el año (Vásquez y Vega 2001), y se ha observado en laboratorio que las esporas no asentadas de *C. chamissoi* pueden generar juveniles viables y que estos tienen la capacidad de adherirse a sustratos artificiales y formar discos de fijación secundaria (DFS) (Barrientos y Otaíza 2014). En Perú y Chile, también se ha reportado que los sustratos calcáreos favorecen el asentamiento de estas esporas (Fonck *et al.* 2008, Pariona y Gil-Kodaka 2011, Rodríguez y Otaíza 2018). Igualmente, se ha observado que los fragmentos de talo a la deriva de *C. chamissoi* están presentes todo el año en el norte de Chile (Macchiavello *et al.* 2003), y que la capacidad de readhesión de las frondas gametofíticas a sustratos artificiales es similar a las tetrasporofíticas (Sáez *et al.* 2008). En particular, las frondas de *C. chamissoi* han mostrado que pueden adherirse óptimamente al material polipropileno (Bulboa *et al.* 2005). Lo anterior se corroboró en campo en este trabajo, ya que en algunas localidades se fotografió frondas adheridas a cabos y boyas (usualmente hechas de polipropileno) de embarcaciones pesqueras artesanales (Figura 7). Además, el *biofouling* de estas embarcaciones está compuesto por diversos organismos calcáreos entre mitílidos y cirrípedos (Carlton y Hodder 1995) sobre los cuales podría reclutarse las esporas de *C. chamissoi*. Estas características podrían explicar el alto nivel de flujo génico propuesto para *C. chamissoi*, como consecuencia de una dispersión de tipo pasiva al estar desplazándose adheridos a cabos, boyas y *biofouling* de embarcaciones pesqueras artesanales. Esta inferencia podría explicar la amplia distribución de los haplotipos C1 y C2 en prácticamente toda la costa peruana (6°S-18°S), y por ende, la ausencia de quiebres filogeográficos en ese rango latitudinal (Figura 6).



Figura 7: Frondas de *Chondracanthus chamissoi* adheridas a cabos y boyas de embarcaciones pesqueras artesanales ubicadas en distintas localidades visitadas. A: DPA Ilo (Moquegua), B: Punta Petro (Piura), C: La Gramita (Áncash).

IV.5. Red de haplotipos *rbcL*

La construcción de la red de haplotipos *rbcL* se realizó con las 36 secuencias procesadas para este marcador (Cuadro 4) y mostró las relaciones entre los ocho haplotipos *rbcL* encontrados para *C. chamissoi*. La distribución geográfica de los haplotipos de R1 a R3 (con matices grises) a lo largo de la costa peruana se muestra en un rango latitudinal de 6°S a 18°S (Figura 8).

Al igual que la red de haplotipos COI, la red de haplotipos *rbcL* confirma la conespecificidad entre los especímenes de *C. chamissoi* de este trabajo y los registrados en GenBank. Esto se infiere debido a los pocos pasos mutacionales de diferencia que se observa entre todos los individuos considerados en la red de haplotipos *rbcL* (máximo cuatro pasos mutacionales) (Figura 8).

La red de haplotipos *rbcL* posee el mismo patrón filogeográfico que la red de haplotipos COI: un haplotipo ancestral y central (R1) rodeado de haplotipos de baja frecuencia (R2-R7). Los haplotipos R2 y R3 se diferencian del haplotipo R1 por un paso mutacional,

mientras que R5, R6 y R7 los hacen por tres pasos mutacionales. Solo el haplotipo R4 se diferencia del haplotipo R1 por cuatro pasos mutacionales. Los haplotipos R7 y R8 se diferencian entre ellos por un paso mutacional.

El haplotipo R1 (ancestral) es el más frecuente (52.8 %), estando presente en 19 individuos repartidos en 11 de 16 localidades (Cuadro 6), desde Punta Petro (6°S) hasta Morro Sama (18°S) (Figura 8). El haplotipo R2 es menos frecuente (11.1 %) y está presente en cuatro individuos provenientes de cuatro localidades distintas, desde Las Conchitas (12°S) hasta Rancherío (14°S). De los tres haplotipos encontrados en Perú, solo el haplotipo R3 es privado y además único (Cuadro 6). Los haplotipos R4 y R5 solo se encuentran en Chile, el haplotipo R6 se encuentra en Japón y Francia, y los haplotipos R7 y R8 solo se encuentran en Corea del Sur (Cuadro 6).

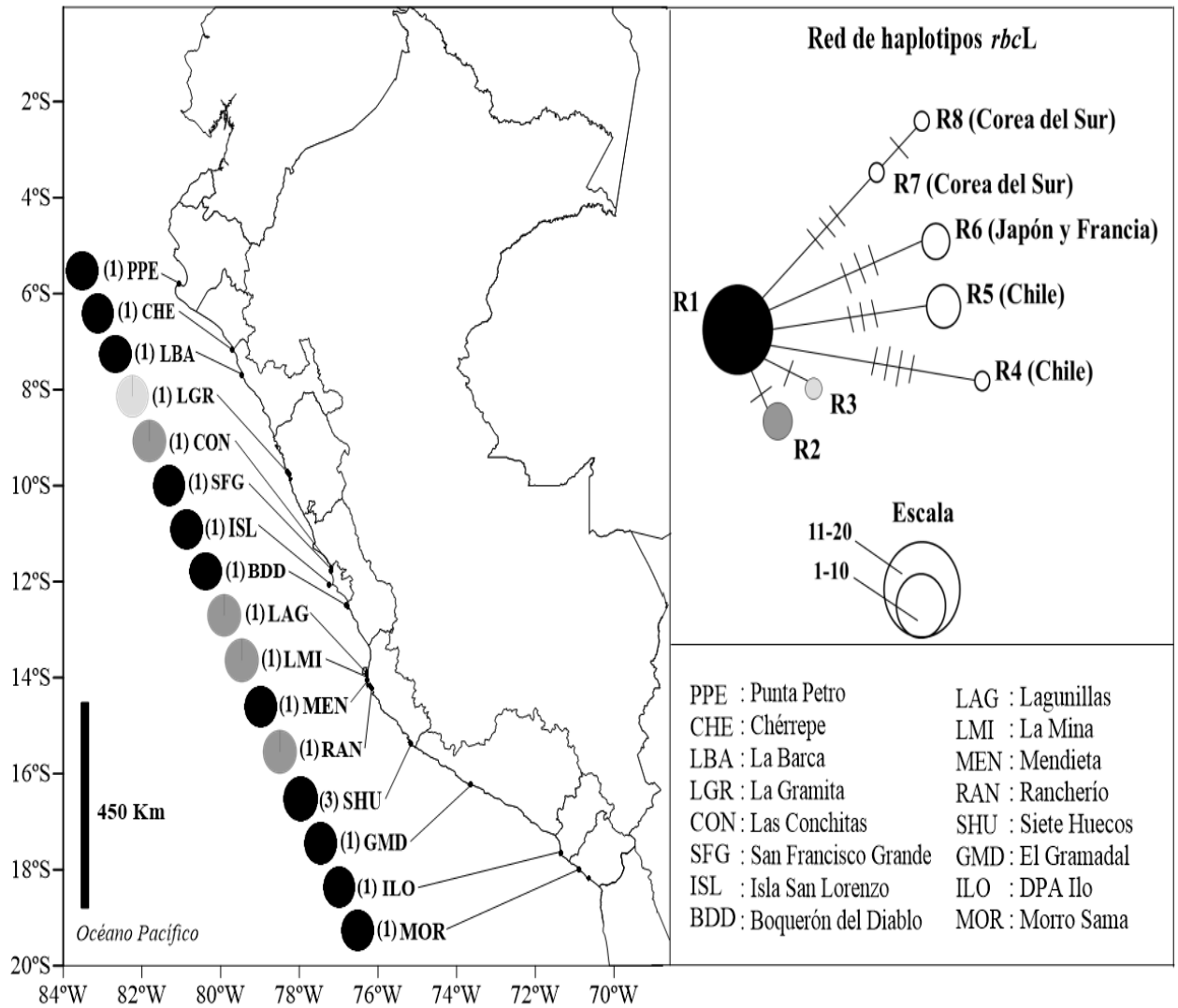


Figura 8: Red de haplotipos *rbcL* de *Chondracanthus chamissoi* y distribución geográfica de los haplotipos en la costa peruana. En la red, cada círculo representa un haplotipo donde su tamaño es proporcional a su frecuencia (ver escala) y los segmentos indican el número de pasos mutacionales entre haplotipos. En la distribución, los círculos indican la proporción de individuos según cada haplotipo y entre paréntesis se indica el número total de secuencias *rbcL* analizadas por localidad.

Cuadro 6: Número de individuos de *Chondracanthus chamissoi* distribuidos según haplotipos *rbcL* y localidades. *: secuencias *rbcL* obtenidas de GenBank. Las localidades se indican de norte a sur exceptuando Enoshima y Misaki (Japón), Gwangan-ri (Corea del Sur) y Toulindac (Francia).

Localidad	Código	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	Total
Punta Petro	PPE	1								1
Chérrepe	CHE	1								1
La Barca	LBA	1								1
La Gramita	LGR			1						1
Las Conchitas	CON		1							1
San Francisco Grande	SFG	1								1
Isla San Lorenzo	ISL	1								1
Boquerón del Diablo	BDD	1								1
Lagunillas	LAG		1							1
La Mina	LMI		1							1
Mendieta	MEN	1								1
Rancherío	RAN		1							1
Siete Huecos	SHU	3								3
El Gramadal	GMD	1								1
DPA Ilo	ILO	1								1
Morro Sama	MOR	1								1
Iquique*		1								1
Huayquique*		1								1
Puerto Aldea*		1				1				2
Cocholegüe*		1				3				4
Lebu*		1								1
Lechagüa*					1					1
Chonchi*		1				1				2
Enoshima*							2			2
Misaki*							1			1
Gwangan-ri*								1	1	2
Toulindac*							1			1
Total		19	4	1	1	5	4	1	1	36

También se notan diferencias al comparar la red de haplotipos *rbcL* obtenida en este trabajo con la registrada para *Gelidium rex* (López *et al.* 2017). *Gelidium rex* solo presenta un haplotipo *rbcL* en cinco localidades chilenas (12 individuos en total), cubriendo un rango latitudinal desde 28°S hasta 34°S (López *et al.* 2017). Esta situación contrasta a lo obtenido en este estudio, ya que para *C. chamissoi* se ha encontrado tres haplotipos *rbcL* en Perú. Sin embargo, se debe tener en cuenta que el rango latitudinal aquí es mayor, cubriendo un rango desde 6°S hasta 18°S y considerando 16 localidades (36 individuos en total).

Como se ha mencionado previamente, los marcadores cloroplásticos generalmente poseen menor variabilidad intraespecífica que los marcadores mitocondriales (Palmer 1985). Por este motivo, en la mayoría de localidades analizadas de este estudio solo se secuenció un individuo con *rbcL* por localidad (Cuadro 6), ya que su aporte al análisis genético-poblacional sería limitado. Aun así, se optó por mostrar la distribución geográfica de los haplotipos *rbcL* encontrados en Perú pero solo con fines ilustrativos (Figura 8), teniendo en cuenta que su poder resolutivo iba a ser menor que COI. Como se esperaba, el marcador *rbcL* también sugiere la ausencia de quiebres filogeográficos de *C. chamissoi* en la costa peruana.

IV.6. Diversidad genética

La estimación de los índices de diversidad genética se realizó para las siete poblaciones que tenían como mínimo 12 secuencias COI de *C. chamissoi*. A nivel total, se obtuvo cinco haplotipos (h), tres haplotipos privados (hp), seis sitios polimórficos (S), diversidad haplotípica (Hd) de $0.246 (\pm 0.059)$ y diversidad nucleotídica (π) de $0.058 \% (\pm 0.017 \%)$ (Cuadro 7). Las poblaciones de Chérrepe, San Francisco Grande y Boquerón del Diablo son monomórficas ($h = 1$, $Hd = 0$ y $\pi = 0 \%$). Las poblaciones de Isla San Lorenzo, Mendieta y Siete Huecos presentan valores muy bajos de diversidad haplotípica ($Hd = 0.10-0.45$). Solo la población de Punta Petro presenta un valor de diversidad haplotípica ligeramente superior a las demás ($Hd = 0.530$) debido a que presenta dos haplotipos con frecuencias más o menos equitativas. Estos resultados reflejan un muy bajo grado de diversidad genética en *C. chamissoi*.

Cuadro 7: Índices de diversidad genética de *Chondracanthus chamissoi* para el marcador COI, en cada población y nivel total. *n*: número de individuos analizados, *h*: número de haplotipos, *hp*: número de haplotipos privados, *S*: número de sitios polimórficos, *Hd*: diversidad haplotípica, π : diversidad nucleotídica y DE: desviación estándar. Se excluyeron del análisis las poblaciones que tenían $n < 12$.

Población	Latitud Sur	n	h	hp	S	Hd (DE)	%π (DE)
Punta Petro	05°47'02.10''	12	2	0	1	0.530 (0.076)	0.089 (0.013)
Chérrepe	07°10'20.50''	12	1	0	0	0	0
San Francisco Grande	11°46'14.20''	12	1	0	0	0	0
Isla San Lorenzo	12°03'41.30''	14	2	1	1	0.143 (0.119)	0.024 (0.020)
Boquerón del Diablo	12°28'55.00''	12	1	0	0	0	0
Mendieta	14°02'49.60''	14	2	1	1	0.440 (0.112)	0.073 (0.019)
Siete Huecos	15°23'07.10''	14	2	1	3	0.264 (0.136)	0.132 (0.068)
Total (siete poblaciones)		90	5	3	6	0.246 (0.059)	0.058 (0.017)

La diversidad haplotípica (*Hd*) es un índice de diversidad genética que depende tanto del número y de la frecuencia de los haplotipos (Nei 1987). Si las frecuencias de los haplotipos son más o menos equitativas, sin predominancia de un haplotipo en particular, la diversidad haplotípica será alta. Por el contrario, si un haplotipo es predominante en la población, se espera que la diversidad haplotípica sea baja. En este caso, a nivel total (90 individuos) se tiene diversidad haplotípica muy baja ($Hd = 0.246$) porque precisamente el haplotipo C1 está presente en las siete poblaciones analizadas, presentando una frecuencia de 86.7 % de los 90 ejemplares considerados.

Por su parte, la diversidad nucleotídica (π) depende tanto de las frecuencias de los haplotipos como del número de pares de bases en que se distinguen, por lo que está directamente relacionada al número de sitios polimórficos (*S*) (Nei y Li 1979). A mayor cantidad de sitios polimórficos en una población, mayor será el número de pares de bases en que se diferencian sus haplotipos, por lo que la diversidad nucleotídica aumentará. Para este caso, a nivel total (90 individuos) se tiene diversidad nucleotídica muy baja ($\pi = 0.058$ %) porque se tienen solo seis sitios polimórficos (Cuadro 7), lo que indica que los haplotipos se diferencian por pocos pares de bases nucleotídicas. Igualmente, tres poblaciones polimórficas (Punta Petro, Isla San Lorenzo y Mendieta) presentan diversidad nucleotídica muy baja ($\pi = 0.020$ %- 0.090 %), lo que se puede explicar porque los haplotipos que presentan estas poblaciones se diferencian entre ellos por solo un sitio polimórfico. Solo Siete Huecos presenta un valor ligeramente superior ($\pi = 0.132$ %) a las

demás poblaciones (Cuadro 7), posiblemente por la presencia del haplotipo C4 en esta población, el cual se diferencia por tres sitios polimórficos de C1.

López *et al.* (2017) calcularon los índices de diversidad genética de *Gelidium rex* para el marcador COI a partir de 176 individuos de 11 poblaciones de Chile (28°S-34°S). Las condiciones del estudio de *G. rex* son distintas a las de este estudio para *C. chamissoi*; sin embargo, la comparación resulta prudente debido a que ambas especies habitan el intermareal bajo. Los índices de diversidad genética de *C. chamissoi* ($h = 5$, $hp = 3$, $S = 6$, $Hd = 0.246$ y $\pi = 0.058$ %) (Cuadro 7) son menores a los registrados para *G. rex* ($h = 11$, $hp = 9$, $S = 10$, $Hd = 0.628$ y $\pi = 0.136$ %) (López *et al.* 2017). La razón de esta diferencia se da básicamente porque en *G. rex* existen dos haplotipos frecuentes con distribuciones geográficas contrastadas, es decir, las poblaciones analizadas de *G. rex* presentan uno de estos dos haplotipos frecuentes pero no ambos. En cambio, en *C. chamissoi* existe solo un haplotipo (C1) que se encuentra en todas las poblaciones evaluadas. Así mismo, es importante señalar que las poblaciones de una especie que se encuentran en los límites de su distribución (poblaciones de borde de rango) generalmente presentan menos diversidad genética que las poblaciones más centrales, debido al poco intercambio de migrantes (flujo génico) entre las poblaciones de borde de rango y las centrales (Gaston 2009). En el presente estudio, la población de Punta Petro es una población de borde de rango ya que se encuentra dentro del límite norte de la distribución de *C. chamissoi* en Sudamérica (5°S-6°S); sin embargo, sus índices de diversidad genética ($h = 2$, $S = 1$, $Hd = 0.530$ y $\pi = 0.089$ %) no son inferiores a los de las poblaciones más centrales (Cuadro 7). Que la población de Punta Petro no tenga una diversidad genética inferior a las centrales ha podido ser efecto del elevado flujo génico que tendría *C. chamissoi* entre sus poblaciones locales, característica que se puede inferir principalmente a partir de las redes de haplotipos COI y *rbcL* en forma de estrella (Figuras 6 y 8).

La diversidad genética es la cantidad de variación genética presente en una población como consecuencia de su evolución (Graur y Li 1971). La diversidad genética actúa como un reservorio genético que permite la adaptación de las poblaciones a los cambios ambientales. Altos niveles de variación genética favorecen el potencial de las poblaciones de mantener la salud de los individuos (Frankham *et al.* 2002). En este caso, la población total de *C. chamissoi* (90 individuos) presenta índices de diversidad genética muy bajos ($h = 5$, $S = 6$, $Hd = 0.246$ y $\pi = 0.058$ %) (Cuadro 7), lo que podría suponer que este recurso sería susceptible a cambios ambientales fuertes. Sin embargo, en un estudio

realizado entre enero de 1996 y diciembre de 1998 a la pradera de *C. chamissoi* de la Bahía de Ancón (Perú), se reportó un incremento de la densidad poblacional entre julio y diciembre de 1997 y de la proporción de gametófitos entre enero y julio de 1998, períodos que coincidieron con el evento El Niño 1997-98 en la costa peruana (Tarazona *et al.* 1999). No obstante, se debe tener en cuenta que solo se tiene registro del impacto de un evento ambiental (El Niño 1997-98) en una sola población (Bahía de Ancón) y fue hace más de 20 años, por lo que no se podría llegar a establecer una inferencia general de su efecto sobre las praderas de *C. chamissoi*.

La alta capacidad de dispersión es también otro factor asociado a la baja diversidad genética en organismos marinos. Este factor ha sido relacionado a la baja diversidad encontrada en invertebrados (Gómez-Uchida *et al.* 2003, Toro *et al.* 2006) y peces (Galleguillos *et al.* 2000). La alta dispersión de la macroalga parda *Macrocystis pyrifera*, mediante sus frondas maduras a la deriva y estructuras de flotación, también ha sido relacionada a su baja diversidad genética (Macaya y Zuccarello 2010). En ese sentido, el alto potencial de dispersión pasivo propuesto en este estudio para *C. chamissoi* a través del tráfico marítimo probablemente también pueda explicar el bajo grado de diversidad genética encontrado para este recurso.

Así mismo, se ha sugerido que los eventos El Niño Oscilación del Sur (ENSO) en las costas peruana y chilena también constituye un factor relacionado a bajos índices de diversidad genética en macroalgas ya que juega un papel homogenizador de la diversidad genética. Por ejemplo, los eventos ENSO han sido asociados a una baja diversidad genética de la macroalga parda *Lessonia nigrescens* en los 20°S (Iquique) y 23°S (Antofagasta) (Martínez *et al.* 2003). Igualmente, para *Macrocystis pyrifera* se ha sugerido que la baja diversidad genética inferida para la población del norte de Chile está relacionada a los eventos ENSO (Macaya y Zuccarello 2010). Además, un aspecto muy importante a tomar en cuenta es que todos los individuos considerados para el análisis de diversidad genética (Cuadro 7) fueron colectados el 2017, año en el que la costa peruana fue fuertemente afectada por El Niño Costero (IMARPE 2017). Considerando que el rango de tolerancia de *C. chamissoi* varía entre 10 °C y 25 °C (Bulboa y Macchiavello 2001), un factor muy probable de la baja diversidad genética de *C. chamissoi* observada a nivel poblacional y total podría explicarse por la mortandad de los individuos como consecuencia del arribo de aguas calientes de más de 26 °C en la costa norte del Perú producto del El Niño Costero (IMARPE 2017). No obstante, existe un reporte del efecto de El Niño 1997-98 sobre la

pradera de *C. chamissoi* de Bahía de Ancón, el cual paradójicamente describe un aumento de la densidad poblacional (Tarazona *et al.* 1999); sin embargo, ese reporte fue hace más de 20 años y se evaluó solo una pradera. De todos modos, es altamente probable que El Niño Costero 2017 haya disminuido la densidad poblacional de las praderas de *C. chamissoi* debido a la llegada de aguas muy calientes, lo que se traduce en la disminución de haplotipos raros o poco frecuentes, y por consiguiente, llevando a la disminución de su diversidad genética. Por ende, los recurrentes eventos ENSO deben ser considerados como un factor muy importante que también podría explicar el bajo grado de polimorfismo observado en este recurso.

La sobreexplotación es otro factor que causa baja diversidad genética en especies marinas (Dulvy *et al.* 2003). Se debe tener en cuenta que tres poblaciones analizadas presentan diversidad genética nula (Chérrepe, San Francisco Grande y Boquerón del Diablo) (Cuadro 7). En estas poblaciones generalmente se observaron características ecológicas típicas de una población bajo fuerte presión extractiva: poca abundancia y tamaño pequeño de los individuos. Cabe mencionar que justamente en Chérrepe, Carbajal *et al.* (2005a) advirtieron que el esfuerzo extractivo al que estaba siendo sometido *C. chamissoi* era muy elevado y podría llevarlo a estados críticos. En otro estudio, Carbajal *et al.* (2005b) reportaron que la pradera de Huanchaco (muy cercana a la localidad de La Barca de este estudio) estaba siendo intensamente sobreexplotada. Precisamente las 10 secuencias COI consideradas de la localidad de La Barca presentan el haplotipo C1 (ancestral) (Figura 6), por lo que también se le podría considerar una población monomórfica. Los estudios poblacionales mencionados dan algunos indicios de que la nula diversidad genética observada en las poblaciones de Chérrepe y La Barca podría ser el efecto de la sobreexplotación a la que están siendo sometidas.

Otro factor que puede causar una baja diversidad genética en macroalgas es la domesticación asociada a técnicas de cultivo como la propagación clonal (Guillemin *et al.* 2008). En ese contexto, en Chile se han realizado algunos intentos de cultivo mediante fragmentación del talo de *C. chamissoi*, específicamente en ambiente natural de Antofagasta (Macchiavello *et al.* 2012b) y Coquimbo (Macchiavello *et al.* 2012a). Sin embargo, estas experiencias de cultivo en Chile son aún incipientes ya que posteriormente no se han podido desarrollar a un nivel de escalamiento productivo, por lo que no representan un factor crítico que estaría asociado a la diversidad genética de *C. chamissoi*. Por otro lado, en Perú sí se ha logrado tener mayor éxito en el cultivo de *C. chamissoi*

mediante una técnica combinada de esporocultivo y reproducción vegetativa a cargo de la empresa Acuisur, pero su desarrollo se ha enfocado específicamente en la Bahía de Paracas (Vidal y O’Ryan 2015). En el presente estudio, no se ha evaluado índices de diversidad genética de poblaciones provenientes de la Bahía de Paracas, por lo que no se podría sugerir de manera confiable alguna relación o efecto de la técnica de cultivo desarrollada en Paracas sobre la diversidad genética de las praderas de *C. chamissoi* de esa zona.

Considerando que el cultivo y la domesticación de *C. chamissoi* aún no se encuentran desarrollados a gran escala, se podría sugerir que el alto potencial de dispersión pasivo de *C. chamissoi*, en combinación con los recurrentes eventos ENSO en la costa peruana y la sobreexplotación de este recurso son los factores que estén probablemente asociados a su baja diversidad genética. Sin embargo, en este estudio se han calculado los índices de diversidad genética para solo siete poblaciones. Por ello, para que el factor sobreexplotación justifique con mayor firmeza la baja diversidad genética inferida para *C. chamissoi*, es necesario considerar más poblaciones peruanas con señales de fuerte presión extractiva y aumentar el número de individuos colectados en cada una de ellas.

IV.7. Historia demográfica

Las pruebas de neutralidad, mediante los estadísticos D de Tajima (1989) y F_S de Fu (1997) se realizaron para las siete poblaciones con mínimo 12 secuencias COI de *C. chamissoi*. A nivel total, el estadístico D es negativo y significativo ($D = -1.617$, $p = 0.001$) y el estadístico F_S es negativo y cercano a lo significativo ($F_S = -2.584$, $p = 0.072$) (Cuadro 8). Para ambos estadísticos, las poblaciones de Punta Petro y Mendieta registran valores positivos y distintos de cero no significativamente ($p > 0.05$), los cuales indican un equilibrio demográfico. Solo en Isla San Lorenzo, ambos estadísticos son negativos y distintos de cero no significativamente ($p > 0.05$), lo que también indica un equilibrio demográfico. Los valores de ambos estadísticos a nivel total indican que la población analizada de *C. chamissoi* ha experimentado una expansión poblacional reciente. La inferencia de este evento demográfico histórico también es apoyada por las redes de haplotipos COI y *rbcL* en forma de estrella: los haplotipos C1 y R1 (ancestrales) rodeados de haplotipos de baja frecuencia (Figuras 6 y 8).

Cuadro 8: Valores de las pruebas de neutralidad D y F_S en *Chondracanthus chamissoi* para el marcador COI, en cada población y a nivel total. n : número de individuos analizados, D : D de Tajima (1987), F_S : F_S de Fu (1997), p : probabilidad asociada a cada estadístico de neutralidad (significativo para $p < 0.05$) y NI: no se entrega información. Se excluyeron del análisis las poblaciones que tenían $n < 12$.

Población	Latitud Sur	n	D	p	F_S	p
Punta Petro	05°47'02.10''	12	1.381	0.938	0.152	0.849
Chérrepe	07°10'20.50''	12	NI	NI	NI	NI
San Francisco Grande	11°46'14.20''	12	NI	NI	NI	NI
Isla San Lorenzo	12°03'41.30''	14	-1.155	0.115	-0.595	0.269
Boquerón del Diablo	12°28'55.00''	12	NI	NI	NI	NI
Mendieta	14°02'49.60''	14	0.842	0.811	0.944	0.771
Siete Huecos	15°23'07.10''	14	-0.493	0.307	2.033	0.918
Total (siete poblaciones)		90	-1.617	0.001	-2.584	0.072

Para confirmar gráficamente los resultados de las pruebas de neutralidad, se realizó una distribución *Mismatch* a nivel total, con las 90 secuencias COI de *C. chamissoi*. La distribución *Mismatch* presenta una curva unimodal, en donde 0 y 1 diferencias entre pares de secuencias presentan las mayores frecuencias. Además, la prueba de bondad de ajuste *Hri* presenta un valor positivo y no significativo ($Hri = 0.3502$, $p = 0.5063$) (Figura 9), lo que indica que la distribución de frecuencias observadas del número de diferencias entre pares de secuencias sí se ajusta a un modelo de expansión poblacional reciente. De esta manera, el histograma *Mismatch* corrobora los resultados obtenidos en las pruebas de neutralidad a nivel total (Cuadro 8).

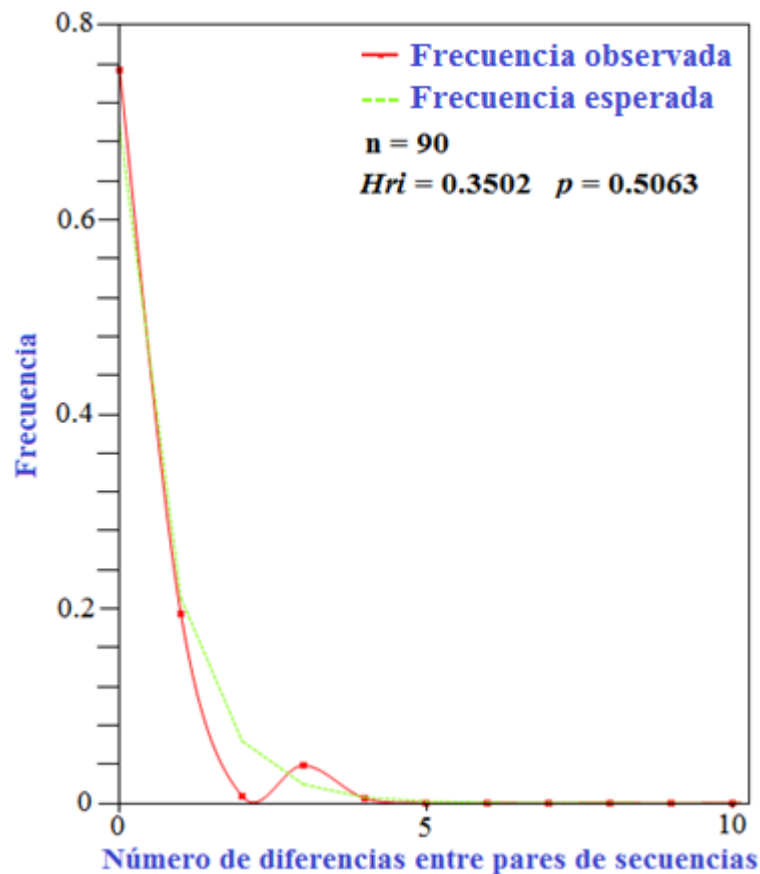


Figura 9: Distribución *Mismatch* (a nivel total) en *Chondracanthus chamissoi* bajo el modelo de expansión poblacional repentino para el marcador COI. Se indica la distribución de frecuencias observadas (rojo) y esperadas (verde), el número total de secuencias analizadas y el valor de la prueba de bondad de ajuste *Hri* con su probabilidad.

Para una población que intercambia un gran número de migrantes debido a su alta dispersión, se ha sugerido que los estadísticos de neutralidad negativos y significativos sumados a una red de haplotipos en forma de estrella están asociados a un evento de expansión demográfica (Ray *et al.* 2003). Estas características coinciden con los resultados de este estudio para la población analizada de *C. chamissoi*. Además, según la teoría de la coalescencia, este escenario se puede interpretar como una población recientemente expandida (Slatkin y Hudson 1991). Dentro de la historia evolutiva de una especie, una población que ha atravesado una expansión demográfica reciente posee haplotipos de baja frecuencia y que han mutado recientemente a partir de un haplotipo ancestral, el cual es el haplotipo más antiguo de la especie (Ferreri *et al.* 2011). La falta de registros fósiles en algas hace muy impreciso calcular hace cuánto tiempo ha ocurrido esta expansión (Provan y Bennett 2008), por esta razón, no se optó por estimar la fecha de expansión más reciente para *C. chamissoi*.

En macroalgas e invertebrados existen algunos estudios que sugieren eventos demográficos de expansión poblacional en determinadas latitudes de la costa peruana. Por ejemplo, mediante el análisis de 337 secuencias COI del murícido *Concholepas concholepas* (12°S-49°S), se ha sugerido que este invertebrado experimentó una expansión demográfica repentina de norte a sur hace 400000 años durante la etapa isotópica marina 11 (MIS 11) (Cárdenas *et al.* 2009). Presumiblemente, durante el MIS 11 existieron eventos similares al ENSO los que sumados a la alta dispersión larval de *C. concholepas* promovieron su expansión demográfica (Cárdenas *et al.* 2009). Igualmente, mediante el análisis de 95 secuencias COI del litorínido *Echinolittorina paytensis* (2°S-8°S) se ha reportado un evento de expansión poblacional reciente (Barahona 2017). Posiblemente, la aparición de los eventos ENSO hace 130000 años durante el Pleistoceno tardío en combinación con la alta dispersión larval sugerida para *E. paytensis* hayan provocado su expansión demográfica (Barahona 2017). Finalmente, también se ha inferido un evento de expansión poblacional a partir de 730 secuencias atp8/trnS (ADN mitocondrial) de *Macrocystis pyrifera* (14°S-53°S) (Macaya y Zuccarello 2010). Para *M. pyrifera* se obtuvo una red de haplotipos en forma de estrella, la cual es señal de una expansión poblacional reciente que se sugiere que ocurrió luego del Último Máximo Glacial (UMG) (~18000 años) (Macaya y Zuccarello 2010). En el presente estudio, la expansión demográfica inferida para *C. chamissoi* cubre un rango latitudinal desde 6°S hasta 15°S, pero se debe tener en cuenta que solo se han analizado 90 secuencias COI (Cuadro 8). Por ello, resulta impreciso establecer comparaciones con los casos mencionados de invertebrados y macroalgas, ya que en esos estudios se han incluido más secuencias que en este estudio y además solo de determinadas zonas de la costa peruana. Aun así, es importante resaltar que la mayoría de los eventos demográficos de invertebrados y macroalgas ocurridos en ciertas latitudes de la costa peruana son de expansión poblacional. No obstante, es preferible incluir más secuencias COI de *C. chamissoi* de poblaciones de Perú bien distanciadas latitudinalmente, de tal manera que se obtenga una inferencia más precisa de la historia demográfica de este recurso en toda su distribución peruana (6°S-18°S).

IV.8. Estructuración genética

IV.8.1. Índices de diferenciación genética ϕ_{ST}

Los índices de diferenciación genética ϕ_{ST} entre pares de poblaciones se calcularon para las siete poblaciones que tenían como mínimo 12 secuencias COI de *C. chamissoi*. De los 21

índices φ_{ST} obtenidos, 20 de ellos (95.2 %) son no significativos ($p > 0.0024$, luego de la corrección de Bonferroni) (Cuadro 9). El único valor significativo de φ_{ST} es 0.31182 y se presenta al comparar las poblaciones de Punta Petro y Mendieta. Estos resultados sugieren la ausencia de estructuración genética en *C. chamissoi* y un alto flujo génico entre las poblaciones peruanas consideradas.

El haplotipo C1 es el más frecuente en las siete poblaciones de *C. chamissoi* consideradas para las comparaciones con el índice φ_{ST} , estando presente en más del 85 % de los individuos en la mayoría de las poblaciones. Esa es la razón principal por la que casi no existen diferencias genéticas significativas entre las poblaciones de *C. chamissoi* (Cuadro 9). En ese sentido, la probable razón de la única diferencia significativa encontrada entre la población de Punta Petro y Mendieta ($\varphi_{ST} = 0.31182$, $p < 0.0001$) es debido a que las frecuencias de C1 en esas poblaciones son del 58.3 % y 71.4 % respectivamente, mucho menores que las frecuencias de C1 de las otras cinco poblaciones. Igualmente, el hecho de que Punta Petro presente al haplotipo C1 en solo el 58.3 % de los ejemplares, es posiblemente la razón por las que los valores más altos de φ_{ST} (aunque no significativos) se encuentran al comparar la población de Punta Petro con Chérrepe, San Francisco Grande, Isla San Lorenzo, Boquerón del Diablo y Siete Huecos (Cuadro 9).

Cuadro 9: Índices de diferenciación genética ϕ_{ST} entre pares de poblaciones de *Chondracanthus chamissoi* para el marcador COI. La significancia corregida mediante Bonferroni es de $0.05/21 = 0.0024$ para todas las comparaciones entre pares de poblaciones. Por debajo de la diagonal se indican los valores del estadístico y por encima sus probabilidades ajustadas mediante Bonferroni. Valores altos y significativos ($p < 0.0024$) se resaltan en gris. Se excluyeron del análisis las poblaciones con $n < 12$.

	Punta Petro	Chérrepe	San Francisco Grande	Isla San Lorenzo	Boquerón del Diablo	Mendieta	Siete Huecos
Punta Petro	*	0.03613	0.03418	0.00781	0.02637	< 0.00001	0.00586
Chérrepe	0.36364	*	0.99902	0.99902	0.99902	0.10254	0.49316
San Francisco Grande	0.36364	0	*	0.99902	0.99902	0.10352	0.47852
Isla San Lorenzo	0.32448	-0.01158	-0.01158	*	0.99902	0.08887	0.47070
Boquerón del Diablo	0.36364	0	0	-0.01158	*	0.09668	0.47754
Mendieta	0.31182	0.20978	0.20978	0.18462	0.20978	*	0.04199
Siete Huecos	0.21400	0.06145	0.06145	0.06593	0.06145	0.13846	*

Los índices φ_{ST} obtenidos a partir de secuencias COI entre las siete poblaciones consideradas de *C. chamissoi* pueden ser comparados con los obtenidos entre ocho poblaciones de *G. lingulatum* (Fierro 2014), teniendo en cuenta que los análisis difieren en cuanto al rango latitudinal: 6°S-15°S para *C. chamissoi* y 33°S-42°S para *G. lingulatum*. De los 28 índices φ_{ST} obtenidos entre las ocho poblaciones de *G. lingulatum*, 23 de ellos (82 %) son significativos y sus valores fluctúan entre 0.125 y 1 (Fierro 2014). En el presente estudio, de los 21 índices φ_{ST} obtenidos, solo 1 de ellos (4.8 %) es significativo y presenta un valor de 0.31182 (Cuadro 9). A diferencia de los resultados de este estudio, *G. lingulatum* presenta altos niveles de diferenciación genética entre sus poblaciones posiblemente debido a que existen haplotipos COI que aparecen y desaparecen repetidamente a lo largo del rango de distribución analizado (33°S-42°S) (Fierro 2014). En el presente caso, la situación de *C. chamissoi* es distinta ya que existe un haplotipo COI (C1, ancestral) que siempre aparece a lo largo del rango de distribución analizado (6°S-15°S). Por esa razón, se sugiere que *C. chamissoi* tendría un alto nivel de flujo génico, y como consecuencia, un bajo nivel de diferenciación genética entre las poblaciones analizadas.

Como se ha mencionado en las secciones anteriores, el alto flujo génico inferido en este estudio para *C. chamissoi* puede ser explicado a partir de los trabajos enfocados mayormente a su cultivo. En primer lugar, se podrían mencionar sintéticamente algunas características asociadas a su reproducción por esporas. *Chondracanthus chamissoi* ha demostrado producir esporas todo el año en el norte de Chile (Vásquez y Vega 2001) y tener una mayor resistencia fisiológica de sus tetrásporas para persistir en la columna de agua (González y Meneses 1996, González *et al.* 1997). Así mismo, juveniles de hasta cuatro meses provenientes de esporas no asentadas muestran la capacidad de poder fijarse a sustratos artificiales (Barrientos y Otaíza 2014). Igualmente, sus esporas son capaces de asentarse en un amplio rango de temperaturas (10 °C-25 °C), siendo este un factor clave para su desarrollo en distintos ambientes (Bulboa y Macchiavello 2001). Estas características dan señales que las esporas de *C. chamissoi* poseen cualidades fisiológicas y fenológicas propicias para que este recurso tenga altas probabilidades de asentarse en ambiente natural, siempre y cuando tenga sustratos disponibles y viables.

Así mismo, algunas características de su propagación vegetativa también podrían explicar la alta conectividad poblacional sugerida para *C. chamissoi*. En ese sentido, se han observado fragmentos de talo a la deriva de *C. chamissoi* durante todo el año en el norte de

Chile (Macchiavello *et al.* 2003). Además, estas frondas han demostrado que pueden adherirse óptimamente a sustratos tanto naturales (calcáreos) (Sáez *et al.* 2008, Fonck *et al.* 2008) como artificiales (polipropileno) (Bulboa *et al.* 2005, Bulboa y Macchiavello 2006, Bulboa *et al.* 2013). Considerando que los cabos o boyas de las embarcaciones pesqueras artesanales (chalanas) están hechos generalmente de polipropileno o materiales sintéticos similares, y que los organismos que estas embarcaciones transportan como *biofouling* son en su mayoría calcáreos (mitílidos, cirrípedos, pectínidos, etc.), se podría inferir que estos factores podrían explicar el alto potencial de dispersión extrínseco de *C. chamissoi* propuesto en este estudio. Consecuentemente, la alta colonización de estos sustratos se verificó en campo al observar frondas reproductivas de *C. chamissoi* adheridas a cabos/boyas de chalanas bastante distanciadas latitudinalmente: Punta Petro (6°S), La Gramita (10°S) y DPA Ilo (18°S) (Figura 7). Estas observaciones *in situ* sugieren que la disponibilidad de sustrato constituye un factor importante que podría explicar la alta conectividad poblacional (flujo génico) inferida para *C. chamissoi* a lo largo de la costa peruana. Además, otra evidencia fundamental que apoya la premisa del alto flujo génico es el hecho de que prácticamente todas las localidades evaluadas comparten el haplotipo C1 y R1 (Figuras 6 y 8).

Por otro lado, también se deben considerar los factores oceanográficos como la convergencia de corrientes marinas (Palumbi 1994) y los focos de afloramiento (Henriques *et al.* 2014), los cuales pueden limitar el flujo génico de organismos marinos. En ese sentido, la zona de confluencia de la Corriente de Humboldt y la Corriente Costera Ecuador-Perú ubicada en los 4°S-6°S, y que también constituye el único límite biogeográfico reconocible para la costa peruana (Ibáñez 2016), no está asociada a alguna diferenciación genética de la población de Punta Petro (6°S). Así mismo, las zonas de afloramiento permanente reportadas para la costa peruana se encuentran en los 7°S-8°S (Pimentel-Chicama), 11°S-12°S (Huacho-Callao) y 14°S-15°S (Bahía Independencia-San Juan de Marcona) (Morón 2000), las cuales son cercanas a algunas localidades analizadas de *C. chamissoi*: La Barca (8°S), San Francisco Grande (12°S), Isla San Lorenzo (12°S) y Siete Huecos (15°S). Los haplotipos presentes en estas poblaciones tampoco muestran alguna diferenciación genética notable, siendo el haplotipo C1 el predominante en cada una de ellas. Por ende, existen entonces varias evidencias asociadas a factores biológicos de *C. chamissoi* y a las características ambientales de su hábitat, que sugieren que la

población peruana de *C. chamissoi* posee un elevado flujo génico y que probablemente constituya una sola unidad panmíctica.

IV.8.2. Análisis de Varianza Molecular

El AMOVA fue realizado para determinar qué porcentaje de la variación genética total es explicado cuando se pone a prueba una estructuración genética entre poblaciones (interpoblacional) y dentro de las poblaciones (intrapoblacional). Se utilizaron las siete poblaciones que tenían como mínimo 12 secuencias COI de *C. chamissoi*. El AMOVA muestra que la variación genética interpoblacional explica solo el 19.70 % de la variación genética total (Cuadro 10). Este resultado apoya la premisa del elevado flujo génico entre las poblaciones de *C. chamissoi*, inferido a partir de los análisis previos.

Cuadro 10: Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) para el marcador COI evaluando una estructuración genética a nivel interpoblacional e intrapoblacional. Va: varianza explicada por la estructuración genética a nivel interpoblacional, Vb: varianza explicada por la estructuración genética a nivel intrapoblacional y *p*: probabilidad según la fuente de variación (significativo para $p < 0.05$).

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación	<i>p</i>
Estructuración genética entre las poblaciones (interpoblacional)	6	3.555	0.03501 Va	19.70	< 0.00001
Estructuración genética dentro de las poblaciones (intrapoblacional)	83	11.845	0.14271 Vb	80.30	< 0.00001
Total	89	15.400	0.17773		

Los resultados del presente estudio son bastante distintos a los AMOVA reportados para las algas rojas *Mazzaella laminarioides* y *Gelidium lingulatum*, y para el alga parda *Lessonia nigrescens*. A partir del análisis de secuencias COI de *M. laminarioides*, el 89.84 % de la variación genética total es explicado al poner a prueba una estructuración entre haplogrupos (linajes norte, centro y sur) (Montecinos *et al.* 2012). Así mismo, mediante el análisis de secuencias COI de *G. lingulatum*, el 58.59 % de la variación

genética es explicado al evaluar una estructuración genética entre poblaciones (Fierro 2014). Finalmente, mediante el análisis de secuencias atp8/trnS de *L. nigrescens*, el 88.86 % de la variación genética total es explicado al evaluar una estructuración genética entre grupos (clados norte, Z30 e IA) (Tellier *et al.* 2009). La razón de la diferencia del AMOVA de *M. laminarioides* y *L. nigrescens* con el del presente estudio se basa en que esas algas presentan tres y dos especies crípticas respectivamente a nivel intraespecífico (Tellier *et al.* 2009, Montecinos *et al.* 2012). Por su parte, la diferencia del caso de *G. linguatum* con este estudio ocurre debido a que *G. linguatum* presenta altos niveles de diferenciación entre sus poblaciones, en donde los haplotipos aparecen y desaparecen a lo largo del rango latitudinal de 29°S a 42°S (Fierro 2014).

Un factor importante que debe ser considerado en la no estructuración de *C. chamissoi* es la distribución batimétrica de su hábitat. Se ha sugerido, de manera general, que la batimetría del hábitat de algas e invertebrados puede influenciar su estructuración genética, donde las especies que habitan el intermareal medio o alto tendrían una estructuración genética más marcada que las que habitan el intermareal bajo o submareal (Kelly y Palumbi 2010). Este supuesto se asume debido a la menor parchosidad y mayor tamaño poblacional efectivo (homogeneidad) que generalmente poseen los organismos que viven en el intermareal bajo o submareal con respecto a los que habitan el intermareal medio o alto, lo que reduce la acción de la presión selectiva y deriva génica, y por ende, el grado de estructuración genética (Kelly y Palumbi 2010). En el presente estudio, *C. chamissoi* se ha colectado mayormente del intermareal bajo y presenta una estructuración genética nula, características que están en concordancia con el supuesto anteriormente señalado. Un caso que ilustra este supuesto se observa en *Laminaria hyperborea*, alga parda que habita el submareal somero y cuya estructuración genética es menos marcada que *L. digitata*, alga parda que habita el intermareal bajo y además es hermana y está co-distribuida con *L. hyperborea* (Robuchon *et al.* 2014). Otro caso es el propuesto para *Mazzaella laminarioides*, alga roja cuyo hábitat es el intermareal alto y que presenta una estructuración genética muy marcada (tres especies crípticas) en comparación con *Gelidium linguatum*, alga roja que crece en el intermareal medio y está co-distribuida con *M. laminarioides* (Montecinos *et al.* 2012, López *et al.* 2017). El hábitat intermareal o submareal de *C. chamissoi* es un factor que podría estar asociado a su ausencia de estructuración genética marcada y debe ser tomado en cuenta al momento de explicar las posibles causas de la homogeneidad genético-poblacional observada para este recurso.

La filogeografía es una herramienta importante en la biología de la conservación. La idea de proponer políticas de conservación en unidades por debajo del nivel de especie (intraespecífico) usando datos moleculares cobró importancia significativa cuando se acuñó el concepto de Unidades Evolutivas Significativas (ESU) (Ryder 1986). La idea de conservación a nivel intraespecífico pretende identificar unidades de manejo que reflejen la importancia evolutiva de los linajes génicos dentro de las especies para así poder crear programas efectivos para la conservación de especies (Avice y Hamrick 1996). En ese sentido, el presente estudio realizado en base a datos moleculares de tipo secuencias de ADN deberá poner de manifiesto la importancia del único linaje génico encontrado en *C. chamissoi* en la costa peruana para las futuras políticas públicas de manejo de este recurso.

La genética de la conservación busca asentar las bases para conservar las unidades evolutivas dentro de las especies, con lo que es posible preservar los procesos evolutivos que son indispensables para su permanencia a largo plazo (Pertoldi *et al.* 2007). No obstante, existen polémicas en relación a la identificación de los “grupos operativos” para la conservación. Se han acuñado diversas definiciones para nombrar estos “grupos operativos”, dentro de las cuales la más usada en estudios filogeográficos es el mencionado ESU (Ryder 1986). Una ESU se define como un grupo de individuos o poblaciones que presentan monofilia recíproca para marcadores mitocondriales (Moritz 2002). Este concepto de ESU es acorde con los resultados del presente estudio ya que todos los individuos de *C. chamissoi* desde Punta Petro (6°S) hasta Morro Sama (18°S) que fueron analizados filogenéticamente con COI (marcador mitocondrial) presentan monofilia recíproca. Existen muchos ejemplos donde se ha utilizado este concepto de ESU para políticas de conservación. Por ejemplo, para las tortugas gigantes de las Islas Galápagos (*Geochelone nigra*) se ha propuesto cuatro ESU: dos en Santa Cruz, una en Pinzón y una en San Cristóbal (Beheregaray *et al.* 2003). Así mismo, para el elefante asiático (*Elephans maximus*) se ha detectado linajes basales en Indonesia y Malasia por lo que se les confiere estatus de ESU (Fleischer *et al.* 2001). Por consiguiente, teniendo en cuenta que existen antecedentes en políticas de manejo en base al concepto de ESU, se podría mencionar la presencia de un solo ESU de *Chondracanthus chamissoi* en la costa peruana. Sin embargo, se debe tener mucha cautela en cuanto a la información genético-poblacional generada para *C. chamissoi* en el presente estudio, ya que esta información debe ser complementada con un análisis de genética de poblaciones con marcadores microsatélites, los cuales otorgan mayor de resolución y reflejan escenarios evolutivos más recientes.

El uso de marcadores moleculares altamente variables en la conservación de especies y su uso en planes de manejo ha llevado a la implementación de nuevos conceptos en la biología de la conservación, por ejemplo las Unidades de Manejo (MU) (Moritz 2002). Estas unidades intentan integrar la diversidad genética y la demografía de distintas poblaciones, las cuales tienen que ser manejadas de manera independiente para asegurar la viabilidad de una ESU (Moritz 2002). Por otro lado, uno de los métodos más recientes que se han desarrollado dentro de la genética de la conservación es la integración de análisis filogeográficos, la genética del paisaje y las aproximaciones estadísticas, que en conjunto permiten definir la estructura poblacional, identificando las poblaciones que deben ser conservadas junto con su distribución geográfica (Manel *et al.* 2003). En la presente investigación, se han integrado los análisis filogeográficos, la historia demográfica y algunas aproximaciones estadísticas, lo que ha conllevado a definir la estructura poblacional de *C. chamissoi* como una gran unidad genética a lo largo de su distribución peruana (6°S-18°S). Los resultados de este estudio muestran que no existe una población con una importante mayor diversidad genética que las demás, por lo que toda la población peruana de *C. chamissoi* debería ser considerada como una Unidad de Manejo.

Es importante mencionar que el uso exclusivo de datos moleculares para definir las estrategias de conservación dentro de una especie puede ser altamente riesgoso. Los datos moleculares deben ser cuidadosamente evaluados junto con datos ecológicos, morfológicos, económicos e históricos, con la finalidad de obtener una perspectiva más acertada y realista (Crandall *et al.* 2000). Además, recientemente se han incorporado otras fuentes de información a la identificación de grupos operacionales para conservación, como lo es la distribución espacial de la diversidad genética, datos taxonómicos y fenotípicos, servicios ecológicos y ambientales, datos biogeográficos, aspectos socioeconómicos y datos etológicos (Green 2005). Por tal motivo, los datos moleculares generados en esta investigación constituye solo una parte de la información requerida para la formulación integral de planes de manejo del recurso *Chondracanthus chamissoi* en el Perú. Es de suma importancia que la información producida en la presente tesis sea considerada en las políticas públicas de manejo de *C. chamissoi*, ya que este recurso tiene mucha importancia comercial a nivel de exportaciones al mercado asiático y en la industria de los ficocoloides, y además es el alga de mayor consumo humano directo del país.

V. CONCLUSIONES

1. Los análisis filogenéticos con los marcadores moleculares COI y *rbcL* muestran que los individuos identificados como *C. chamissoi* de este estudio conforman un único linaje génico, sugiriendo que existe una sola especie filogenética de *C. chamissoi* en Perú.
2. La distribución geográfica de los haplotipos COI y *rbcL* de *C. chamissoi* permite inferir la ausencia de quiebres filogeográficos en la costa peruana.
3. A nivel poblacional y total, los índices de diversidad genética de *C. chamissoi* son muy bajos ($h = 5$, $S = 6$, $Hd = 0.246$ y $\pi = 0.058$ %).
4. Las pruebas de historia demográfica y las redes de haplotipos COI y *rbcL* en forma de estrella sugieren que la población analizada de *C. chamissoi* ha experimentado un evento demográfico de expansión poblacional reciente.
5. Los índices de diferenciación genética φ_{ST} revelan que la mayoría de poblaciones analizadas de *C. chamissoi* son genéticamente similares. Igualmente, el AMOVA indica que la estructuración genética a nivel interpoblacional explica solo el 19.70 % de la variación genética total.

VI. RECOMENDACIONES

1. Generar más secuencias COI y *rbcL* de *C. chamissoi* provenientes de Chile, Japón, Corea del Sur y Francia e incluirlas conjuntamente con las secuencias de Perú en los análisis filogenéticos y filogeográficos, de tal manera que se cubra toda la distribución del recurso. Igualmente, realizar los análisis con otro marcador de alta variabilidad intraespecífica con el objetivo de corroborar y fortalecer los resultados obtenidos con COI y *rbcL*.
2. Complementar este estudio filogeográfico considerando poblaciones chilenas de *C. chamissoi* con el fin de abarcar su distribución sudamericana (5°S-42°S) de manera íntegra, disponiendo de mínimo 20 secuencias COI de *C. chamissoi* por localidad para tener más representatividad poblacional y mayor confiabilidad en las pruebas estadísticas. De esta manera, se podrá analizar detalladamente la distribución de la diversidad genética a lo largo del Pacífico Sureste.
3. Realizar un estudio filogeográfico con individuos de *C. chamissoi* adheridos a cabos y boyas de embarcaciones pesqueras artesanales, cuyos resultados permitan ratificar la premisa de alta dispersión a grandes distancias propuesta en este estudio. Así mismo, realizar otro estudio genético-poblacional de *C. chamissoi* en épocas donde sus praderas no estén afectadas por El Niño Costero, de esta manera se podrá realizar comparaciones e inferir el grado de la influencia del ENSO en los resultados del presente trabajo.
4. Teniendo en cuenta que la información genético-poblacional de *C. chamissoi* de este estudio se ha generado en base a secuencias de ADN, cuyo poder resolutivo es limitado, se recomienda evaluar la necesidad de formular medidas de manejo destinadas al conjunto de praderas de *C. chamissoi* de todo el Perú ya que conforman un único linaje génico, no poseen quiebres filogeográficos y presentan alta conectividad genética.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acleto, CO. 1986. Algunos aspectos biológicos de *Gigartina chamissoi* (C. Ag.) J. Agardh (Rhodophyta, Gigartinales). *Revista de Ciencias UNMSM* 74(1):38-47.
- Agardh, CA. 1820. *Icones Algarum Ineditae*. Lund, Sweden, Ex Officina Berlingiana. v.1, 22 p.
- Agardh, JG. 1842. *Algae Maris Mediterranei et Adriatici, Observationes in Diagnosin Specierum et Dispositionem Generum*. Parisiis, Gallia, Apud Fortin, Masson et Cie. 164 p.
- Akaike, H. 1973. Information Theory and an Extension of the Maximum Likelihood Principle. In Petrov, B; Caski, F (eds.). *Proceeding of the Second International Symposium on Information Theory*. Budapest, Hungary, Akademia Kiado. p. 267-281.
- Altschul, SF; Gish, W; Miller, W; Myers, EW; Lipman, DJ. 1990. Basic Local Alignment Search Tool. *Journal of Molecular Biology* 215(3):403-410.
- Avise, JC. 1998. The history and purview of phylogeography: a personal reflection. *Molecular Ecology* 7:371-379.
- Avise, JC. 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. United States of America, Harvard University Press. 447 p.
- Avise, JC. 2009. Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography* 36: 3-15.
- Avise, JC; Hamrick, JL. 1996. *Conservation genetics: case histories from nature*. New York, United States of America, Chapman & Hall. 512 p.
- Avise, JC; Arnold, J; Ball, RM; Bermingham, E; Lamb, T; Neigel, JE; Reeb, CA; Saunders, NC. 1987. Intraspecific Phylogeography: The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:489-522.
- Bandelt, HJ; Forster, P; Sykes, BC; Richards, MB. 1995. Mitochondrial Portraits of Human Populations Using Median Networks. *Genetics* 141(2):743-753.
- Bandelt, HJ; Forster, P; Rohl, A. 1999. Median-Joining networks for Inferring Intraspecific Phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16(1):37-48.
- Barahona, S. 2017. *Patrones filogeográficos de dos moluscos intermareales a lo largo de un gradiente biogeográfico en la costa norte del Perú*. Tesis Mg. Sc. Lima, Perú, UPCH. 143 p.
- Barrientos, E; Otaíza, RD. 2014. Juveniles generados a partir de esporas no asentadas de *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) presentan capacidad de adhesión al sustrato. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 49(1):135-140.
- Beheregaray, LB. Ciofi, C; Caccone, A; Gibbs, JP; Powell, JR. 2003. Genetic divergence, phylogeography and conservation units of giant tortoises from Santa Cruz and Pinzon, Galapagos Islands. *Conservation Genetics* 4:31-46.
- Billard, E; Reyes, J; Mansilla, A; Faugeron, S; Guillemain, ML. 2015. Deep genetic divergence between austral populations of the red alga *Gigartina skottsbergii* reveals a cryptic species endemic to the Antarctic continent. *Polar Biology* 38(12):2021-2034.

- Bulboa, CR; Macchiavello, JE. 2001. The Effects of Light and Temperature on Different Phases of the Life Cycle in the Carrageenan Producing Alga *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales). *Botanica Marina* 44:371-374.
- Bulboa, C; Macchiavello, JE. 2006. Cultivation of cystocarpic, tetrasporic and vegetative fronds of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) on ropes at two localities in northern Chile. *Investigaciones Marinas* 34(1):109-112.
- Bulboa, CR; Macchiavello, JE; Oliveira, EC; Fonck, E. 2005. First attempt to cultivate the carrageenan-producing seaweed *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützing (Rhodophyta; Gigartinales) in Northern Chile. *Aquaculture Research* 36:1069-1074.
- Bulboa, C; Véliz, K; Sáez, F; Sepúlveda, C; Vega, L; Macchiavello, JE. 2013. A new method for cultivation of the carragenophyte and edible red seaweed *Chondracanthus chamissoi* based on secondary attachment disc: Development in outdoor tanks. *Aquaculture* 410-411:86-94.
- Calderón, M; Ramírez, ME; Bustamante, D. 2010. Notas sobre tres especies de Gigartinaceae (Rhodophyta) del litoral peruano. *Revista Peruana de Biología* 17(1): 115-121.
- Camus, PA. 2001. Biogeografía marina de Chile continental. *Revista Chilena de Historia Natural* 74:587-617.
- Carbajal, W; de la Cruz, J; Gálán, J. 2005a. Prospección del recurso *Chondracanthus chamissoi* "cochayuyo" en la Caleta de Chérrepe (Lambayeque), Julio 2005. Santa Rosa, Perú, IMARPE. 7 p.
- Carbajal, W; Galán, J; de la Cruz, J. 2005b. Prospección del recurso *Chondracanthus chamissoi* "cochayuyo" en la playa de Huanchaco (Trujillo), Junio-Julio 2005. Santa Rosa, Perú, IMARPE. 10 p.
- Cárdenas, L; Castilla, JC; Viard, F. 2009. A phylogeographical analysis across three biogeographical provinces of the south-eastern Pacific: the case of the marine gastropod *Concholepas concholepas*. *Journal of Biogeography* 36:969-981.
- Carlton, JT. 1987. Patterns of transoceanic marine biological invasions in the Pacific Ocean. *Bulletin of Marine Science* 41:452-465.
- Carlton, JT; Hodder, J. 1995. Biogeography and dispersal of coastal marine organisms: experimental studies on a replica of a 16th-century sailing vessel. *Marine Biology* 121:721-730.
- Chakraborty, R. 1993. Analysis of Genetic Structure of Populations: Meaning, Methods and Implications. In Majumder, PP (ed.). *Human Population Genetics*. New York, United States of America, Springer. p. 189-206.
- Codon Code Corporation. 2017. *CodonCode Aligner User Manual*. United States of America. 333 p.
- Crandall, KA; Bininda-Emonds, ORP; Mace, GM; Wayne, RK. 2000. Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution* 15:290-295.
- Darriba, D; Taboada, GL; Doallo, R; Posada, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9(8):772.

- Dawson, M. 2005. Incipient speciation of *Catostylus mosaicus* (Scyphozoa, Rhizostomeae, Catostylidae), comparative phylogeography and biogeography in south-east Australia. *Journal of Biogeography* 2005:515-533.
- Dawson, YE; Acleto, C; Foldvik, N. 1964. The Seaweeds of Peru. Winheim, Germany, Schweizerbart. 111 p.
- Domínguez-Domínguez, O; Vázquez-Domínguez, E. 2009. Filogeografía : aplicaciones en taxonomía y conservación. *Animal Biodiversity and Conservation* 32(1):59-70.
- Dulvy, NK; Sadovy, Y; Reynolds, JD. 2003. Extinction vulnerability in marine populations. *Fish Fisheries* 4:25-64.
- Edgar, RC. 2004. MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 32(5):1792-1797.
- Excoffier, L; Lischer, HEL. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10:564-567.
- Excoffier, L; Smouse, PE; Quattro, JM. 1992. Analysis of Molecular Variance Inferred From Metric Distances Among DNA Haplotypes: Application to Human Mitochondrial DNA Restriction Data. *Genetics* 131:479-491.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39(4):783-791.
- Ferreri, M; Weijie, Q; Bo, H. 2011. Phylogenetic networks: A tool to display character conflict and demographic history. *African Journal of Biotechnology* 10(60):12799-12803.
- Ferro, I; Morrone, JJ. 2014. Biogeographical transition zones: A search for conceptual synthesis. *Biological Journal of the Linnean Society* 113(1):479-491.
- Fierro, AO. 2014. Estudio filogeográfico del alga roja *Gelidium lingulatum* (Kützinger 1868) (Rhodophyta: Gelidiales) en la costa del Pacífico Sur-Este. Tesis Blgo. Concepción, Chile, UCSC. 64 p.
- Fleischer, RC. Perry, EA; Muralidharan, K; Stevens, EE. Wemmer, CM. 2001. Phylogeography of the Asian elephant (*Elephas maximus*) based on mitochondrial DNA. *Evolution* 55:1882-1892.
- Flores, D; Zavala, J; Donayre, S; Guardia, A; Sarmiento, H. 2015. Evaluación poblacional de *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh, 1820) en las bahías de Pisco y Paracas, otoño 2010. Informe Instituto del Mar del Perú 42(4):504-509.
- Fonck, E; Martínez, R; Vásquez, J; Bulboa, C. 2008. Factors that affect the re-attachment of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) thalli. *Journal of Applied Phycology* 20:311-314.
- Fraser, CI. 2016. Change in Southern Hemisphere Intertidal Communities Through Climate Cycles: The role of Dispersing Algae. *Seaweed Phylogeography: Adaptation and Evolution of Seaweeds under Environmental Change*. Dordrecht, Netherlands, Springer. p. 131-143.
- Fraser, CI; Thiel, M; Spencer, HG; Waters, JM. 2010. Contemporary habitat discontinuity and historic glacial ice drive genetic divergence in Chilean kelp. *BMC Evolutionary Biology* 10:203.

- Freshwater, DW; Fredericq, S; Butler, BS; Hommersand, MH; Chase, MW. 1994. A gene phylogeny of the red algae (Rhodophyta) based on plastid *rbcL*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91:7281-7285.
- Fu, YX. 1997. Statistical Tests of Neutrality of Mutations Against Population Growth, Hitchhiking and Background Selection. *Genetics* 147:915-925.
- Galleguillos, R; Troncoso, L; Oyarzun, C; Astorga, M; Penaloza, M. 2000. Genetic differentiation in Chilean hake *Merluccius gayi gayi* (Pisces; Merlucciidae). *Hidrobiologia* 420:49-54.
- Gaston, KJ. 2009. Geographic range limits: achieving synthesis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 276:1395-1406.
- Gielly, L; Taberlet, P. 1994. The Use of Chloroplast DNA to Resolve Plant Phylogenies: Noncoding versus *rbcL* Sequences. *Molecular Biology and Evolution* 11(5):769-777.
- Gómez-Uchida, D; Weetman, D; Hauser, I; Galleguillos, R; Retamal, M. 2003. Allozyme and AFLP analyses of genetic population structure in the hairy edible crab *Cancer setosus* from the Chilean coast. *Journal of Crustacean Biology* 23:486-494.
- González, A; Beltrán, J; Hiriart-Bertrand, L; Flores, V; de Reviers, B; Correa, JA; Santelices, B. 2012. Identification of cryptic species in the *Lessonia nigrescens* complex (Phaeophyceae, Laminariales). *Journal of Phycology* 48(5):1153-1165.
- González, J; Meneses, I. 1996. Differences in the early stages of development of gametophytes and tetrasporophytes of *Chondracanthus chamissoi* (C.Ag.) Kützing from Puerto Aldea, northern Chile. *Aquaculture* 143:91-107.
- González, J; Meneses, I; Vásquez, J. 1997. Field studies in *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützing: seasonal and spatial variations in life cycle phases. *Biología Pesquera* 26:3-12.
- Graur, D; Li, WH. 1971. *Fundamentals of Molecular Evolution*. 2 ed. Sunderland, United States of America, Sinauer. 541 p.
- Green, DM. 2005. Designable units for status assessment of endangered species. *Conservation Biology* 19:1813-1820.
- Grosberg, R; Cunningham, CW. 2001. Genetic Structure in the Sea: From populations to communities. In Bertness, MD; Gaines, SD; Hay, ME (eds.). *Marine Community Ecology*. Sunderland, United States of America, Sinauer. p. 61-84.
- Guillemin, ML; Faugeron, S; Destombe, C; Viard, F; Correa, JA; Valero, M. 2008. Genetic variation in wild and cultivated populations of the haploid- diploid red alga *Gracilaria chilensis*: How farming practices favor asexual reproduction and heterozygosity. *Evolution* 62(6):1500-1519.
- Guillemin, ML; Valero, M; Faugeron, S; Nelson, W; Destombe, C. 2014. Tracing the Trans-Pacific Evolutionary History of a Domesticated Seaweed (*Gracilaria chilensis*) with Archaeological and Genetic Data. *PLOS ONE* 9(12):e114039.
- Guillemin, ML; Valero, M; Tellier, F; Macaya, EC; Destombe, C; Faugeron, S. 2016. Phylogeography of Seaweeds in the South East Pacific: Complex Evolutionary Processes Along a Latitudinal Gradient. *Seaweed Phylogeography*. Dordrecht, Netherlands, Springer. p. 251-277.
- Harpending, HC. 1994. Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology* 66(4):591-600.

- Hebert, PDN; Cywinska, A; Ball, SL; de Waard, JR. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270: 313-321.
- Hellberg, ME; Burton, RS; Neigel, JE; Palumbi, SR. 2002. Genetic assesment of connectivity among marine populations. *Bulletin of Marine Science* 70(1):273-290.
- Henriques, R; Potts, WM; Santos, CV; Sauer, WHH; Shaw, PW. 2014. Population connectivity and phylogeography of a coastal fish, *Atractoscion aequidens* (Sciaenidae), across the Benguela Current region: Evidence of an ancient vicariant event. *PLOS ONE* 9(2):e87907.
- Hoffmann, AJ. 1987. The Arrival of Seaweed Propagules at the Shore : A Review. *Botanica Marina* 30: 151-165.
- Hoffmann, AJ; Santelices, B. 1997. *Flora Marina de Chile Central*. Santiago, Chile, UCC. 424 p.
- Holder, M; Lewis, PO. 2003. Phylogeny estimation: traditional and bayesian approaches. *Nature Reviews Genetics* 4:275-284.
- Hommersand, MH; Guiry, MD; Fredericq, S; Leister, GL. 1993. New perspectives in the taxonomy of the Gigartinaceae (Gigartinales, Rhodophyta). *Hydrobiologia* 260-261: 105-120.
- Hommersand, MH; Fredericq, S; Freshwater, DW. 1994. Phylogenetic Systematics and Biogeography of the Gigartinaceae (Gigartiales, Rhodophyta) Based on Sequence Analysis of *rbcL*. *Botanica Marina* 37(3):193-203.
- Hommersand, MH; Fredericq, S; Freshwater, DW; Hughey, J. 1999. Recent developments in the systematics of the Gigartinaceae (Gigartinales, Rhodophyta) based on *rbcL* sequence analysis and morphological evidence. *Phycological Research* 47:139-151.
- Howe, MA. 1914. *The Marine Algae of Peru*. New York, United States of America, Press of the new era printing company. 185 p.
- Hu, ZM; Fraser, C. 2016. *Seaweed Phylogeography: Adaptation and Evolution of Seaweeds under Environmental Change*. Dordrecht, Netherlands, Springer. 398 p.
- Hughey, JR; Hommersand, MH. 2008. Morphological and molecular systematic study of *Chondracanthus* (Gigartinaceae, Rhodophyta) from Pacific North America. *Phycologia* 47(2):124-155.
- Ibáñez, B. 2016. Zonación biogeográfica del macrobentos del intermareal rocoso del norte y centro del Perú (3.5-13.5°S). Tesis Mg. Sc. Lima, Perú, UPCH. 119 p.
- IMARPE (Instituto del Mar del Perú). 2009. Estudio de línea base en el ámbito marino del área sur de Bahía El Ferrol. Chimbote, Perú. Informe Interno. 78 p.
- IMARPE (Instituto del Mar del Perú). 2017. El Niño Costero 2017. Callao, Perú. Informe Técnico Extraordinario N°001-2017/ENFEN. 31 p.
- Janouškovec, J; Liu, SL; Martone, PT; Carré, W; Leblanc, C; Collén, J; Keeling, PJ. 2013. Evolution of Red Algal Plastid Genomes: Ancient Architectures, Introns, Horizontal Gene Transfer, and Taxonomic Utility of Plastid Markers. *PLOS ONE* 8(3):e59001.
- Jukes, T; Cantor, C. 1969. Evolution of Protein Molecules. *In* Munro, HN (ed.). *Mammalian Protein Metabolism*. New York, United States of America, Academic Press. v. 3, 21-132.

- Kelly, RP; Palumbi, SR. 2010. Genetic structure among 50 species of the Northeastern Pacific rocky intertidal community. *PLOS ONE* 5:13.
- Kimura, M. 1980. A Simple Method for Estimating Evolutionary Rates of Base Substitutions Through Comparative Studies of Nucleotide Sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16:111-120.
- Kradolfer, PF. 2007. Obtención de semirrefinado de carragenano a partir de la macroalga *Chondracanthus chamissoi* a diferentes condiciones de tratamiento alcalino. Tesis Ing. Lima, Perú, UNALM. 95 p.
- Kützing, FT. 1843. *Phycologia Generalis oder Anatomie, Physiologie und Systemkunde der Tange*. Leipzig, Deutschland, Brockhaus. 458 p.
- Lanteri, AA; Confalonieri, VA. 2003. Filogeografía: Objetivos, métodos y ejemplos. *In* Llorente, J; Morrone, JJ (eds.). Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía. México, UNAM. p. 185-193.
- Le Gall, L; Saunders, GW. 2010. DNA barcoding is a powerful tool to uncover algal diversity: A case study of the Phylloporaceae (Gigartinales, Rhodophyta) in the canadian flora. *Journal of Phycology* 46:374-389.
- Lemey, P; Salemi, M; Vandamme, AM. 2009. *The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypothesis Testing*. 2 ed. New York, United States of America, Cambridge University Press. 723 p.
- López, BA; Tellier, F; Retamal-Alarcón, JC; Pérez-Araneda, K; Fierro, AO; Macaya, EC; Tala, F; Thiel, M. 2017. Phylogeography of two intertidal seaweeds, *Gelidium linguulatum* and *G. rex* (Rhodophyta: Gelidiales), along the South East Pacific: patterns explained by rafting dispersal? *Marine Biology* 164:188.
- Lourie, SA; Vincent, AC. 2004. Using biogeography to help set priorities in marine conservation. *Conservation Biology* 18(4):1004-1020.
- Macaya, EC; Zuccarello, GC. 2010. Genetic structure of the giant kelp *Macrocystis pyrifera* along the southeastern Pacific. *Marine Ecology Progress Series* 420:103-112.
- Macchiavello, JE; Bulboa, CR; Edding, M. 2003. Vegetative propagation and spore-based recruitment in the carrageenophyte *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales, Rhodophyta) in northern Chile. *Phycological Research* 51:45-50.
- Macchiavello, JE; Bulboa, C; Sepúlveda, C; Véliz, K; Sáez, F; Vega, L; Véliz, R. 2012a. Manual de Cultivo de *Chondracanthus chamissoi* (Chicorea de Mar): Alternativas tecnológicas para el cultivo de *C. chamissoi* en la zona norte de Chile a partir de discos de fijación secundaria. Coquimbo, Chile, UCN. 24 p.
- Macchiavello, JE; Sepúlveda, C; Sáez, F; Mendiz, N. 2012b. Manual de Cultivo de *Chondracanthus chamissoi* (Chicorea de Mar). Acuicultura en áreas de manejo: Una innovación para mejorar su desempeño mediante el cultivo suspendido de chicorea de mar (*Chondracanthus chamissoi*) en la Región de Antofagasta. Coquimbo, Chile, UCN, 32 p.
- Manel, S; Schwartz, MK; Luikart, G; Taberlet, P. 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology and Evolution* 18:189-197.
- Martínez, EA; Cárdenas, L; Pinto, R. 2003. Recovery and genetic diversity of the intertidal kelp *Lessonia nigrescens* (Phaeophyceae) 20 years after El Niño 1982/83. *Journal of Phycology* 39:504-508.

- Mineur, F; Le Roux, A; Stegenga, H; Verlaque, M; Maggs, CA. 2012. Four new exotic red seaweeds on European shores. *Biological Invasions* 14:1635-1641.
- Montecinos, A; Broitman, BR; Faugeron, S; Haye, PA; Tellier, F; Guillemain, ML. 2012. Species replacement along a linear coastal habitat: phylogeography and speciation in the red alga *Mazzaella laminarioides* along the south east pacific. *BMC Evolutionary Biology* 12: 97.
- Moritz, C. 2002. Strategies to protect biological diversity and the evolutionary processes that sustain it. *Systematic Biology* 51:238-254.
- Morón, O. 2000. Características del ambiente marino frente a la costa peruana. *Boletín del Instituto del Mar del Peru* 19(1-2):179-204.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York, United States of America, Columbia University Press. 512 p.
- Nei, M; Li, WH. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 76(10):5269-5273.
- Nelson, WA; Broom, JES. 2008. New Zealand Gigartinaceae (Rhodophyta): Resurrecting *Gigartina grandifida* endemic to the Chatham Islands. *New Zealand Journal of Botany* 46(2):177-187.
- Otaíza, RD; Fonseca, FG. 2011. Effect of dissolved calcium on the formation of secondary attachment structures in different types of branches of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales). *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 46(2):263-268.
- Otaíza, R; Cáceres, JH. 2015. Manual de una técnica para el repoblamiento de la chicoria de mar, *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützing (Rhodophyta, Gigartinales), en praderas naturales, Región del Biobío. Concepción, Chile, UCSC, 40 p.
- Palmer, JD. 1985. Evolution of chloroplast and mitochondrial DNA in plants and algae. *In* Nei, M. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York, United States of America, Plenum. p. 131-240.
- Palumbi, SR. 1994. Genetic Divergence, Reproductive Isolation, and Marine Speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 25:547-572.
- Pariona, E; Gil-Kodaka, P. 2011. Colonización de *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) sobre sustratos calcáreos en Playa Mendieta, Reserva Nacional de Paracas. *Anales Científicos* 72(1):19-26.
- Peña, C. 2011. Métodos de inferencia filogenética. *Revista Peruana de Biología* 18(2):265-267.
- Pertoldi, C; Bijlsma, R; Loeschcke, V. 2007. Conservation genetics in a globally changing environment: present problems, paradoxes and future challenges. *Biodiversity and Conservation* 16:4147-4163.
- Pinochet, J; Leclerc, JC; Brante, A; Daguin-Thiébaud, C; Díaz, C; Tellier, F; Viard, F. 2017. Presence of the tunicate *Asterocarpa humilis* on ship hulls and aquaculture facilities in the coast of the Biobío Region, south central Chile. *PeerJ* 5:e3672.
- Posada, D; Crandall, K. 2001. Intraspecific gene genealogies: Trees grafting into networks. *Trends in Ecology and Evolution* 16(1):37-45.

- PRODUCE (Ministerio de la Producción). 2017. Anuario Estadístico Pesquero y Acuícola 2016. Lima, Perú. 206 p.
- Provan, J; Bennett, KD. 2008. Phylogeographic insights into cryptic glacial refugia. *Trends in Ecology and Evolution* 23:564-571.
- Ramírez, ME; Santelices, B. 1991. Catálogo de las algas marinas bentónicas de la costa temperada del Pacífico de Sudamérica. Santiago, Chile, PUCC. 437 p.
- Ramírez, R; Paredes, C; Arenas, J. 2003. Moluscos del Perú. *Revista de Biología Tropical* 51(3):225-284.
- Ray, N; Currat, M; Excoffier, L. 2003. Intra-deme molecular diversity in spatially expanding populations. *Molecular Biology and Evolution* 20:76-86.
- Rice, WR. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43(1):223-225.
- Robba, L; Russell, SJ; Barker, GL; Brodie, J. 2006. Assessing the use of the mitochondrial *cox1* marker for use in DNA barcoding of red algae (Rhodophyta). *American Journal of Botany* 93(8):1101-1108.
- Robuchon, M; Le Gall, L; Manger, S; Valero, M. 2014. Contrasting genetic diversity patterns in two sister kelp species co-distributed along the coast of Brittany, France. *Molecular Ecology* 23:2669-2685.
- Rodríguez, CY; Otaíza, RD. 2018. Factors affecting morphological transformation and secondary attachment of apices of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales). *Journal of Applied Phycology* 30(2):1157-1166.
- Rogers, AR; Harpending, H. 1992. Population Growth Makes Waves in the Distribution of Pairwise Genetic Differences. *Molecular Biology and Evolution* 9(3):552-569.
- Rosenberg, NA; Nordborg, M. 2002. Genealogical trees, coalescent theory and the analysis of genetic polymorphisms. *Nature Reviews Genetics* 3:380-390.
- Rozas, J; Ferrer-Mata, A; Sánchez-DelBarrio, JC; Guirao-Rico, S; Librado, P; Ramos-Onsins, SE; Sánchez-Gracia, A. 2017. DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Data Sets. *Molecular Biology and Evolution* 2017:1-4.
- Ryder, OA. 1986. Species conservation and systematic: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution* 1:9-10.
- Sáez, F; Macchiavello, J; Fonck, E; Bulboa, C. 2008. The role of the secondary attachment disc in the vegetative propagation of *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales; Rhodophyta). *Aquatic Botany* 89:63-65.
- Santelices, B; Varela, D. 1994. Abiotic control of reattachment in *Gelidium chilense* (Montagne) Santelices & Montalva (Gelidiales; Rhodophyta). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 177(2):145-155.
- Saunders, GW. 2005. Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 360:1879-1888.
- Saunders, GW; Kucera, H. 2010. An evaluation of *rbcL*, *tufA*, *UPA*, *LSU* and *ITS* as DNA barcode markers for the marine green macroalgae. *Cryptogamie Algologie* 31(4):487-528.
- Schneider, CW; Lane, CE. 2005. Notes on the marine algae of the Bermudas. 7. Additions to the flora including *Chondracanthus saundersii* sp. nov. (Rhodophyta, Gigartinales) based on *rbcL* sequence analysis. *Phycologia* 44:72-83.

- Schneider, CW; Chengsupanimit, T; Saunders, GW. 2011. A new genus and species from the North Atlantic, *Archestenogramma profundum* (Phyllophoraceae, rhodophyta), with taxonomic resolution of the orphaned *Leptofauchea brasiliensis*. *European Journal of Phycology* 46(4):442-452.
- Silva, PC; Basson, PW; Moe, RL. 1996. Catalogue of the benthic marine algae of the Indian Ocean. United States of America, University of California Publications in Botany. 1259 p.
- Slatkin, M; Hudson, RR. 1991. Pairwise comparison of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics* 129:555-562.
- Spalding, MD; Fox, HE; Allen, GR; Davidson, N; Ferdaña, ZA; Finlayson, M; Halpern, BS; Jorge, MA; Lombana, A; Lourie, SA; Martin, KD; McManus, E; Molnar, J; Recchia, CA; Robertson, J. 2007. Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas. *BioScience* 57(7):573.
- Strub, P; Mesías, J; Montecino, V; Rutlant, J; Salinas, S. 1998. Coastal ocean circulation off western South America. *In* Robinson, AR; Brink, KH (eds.). *The sea*. United States of America, Harvard University. v. 11, p. 273-314.
- Tajima, F. 1989. Statistical Method for Testing the Neutral Mutation Hypothesis by DNA Polymorphism. *Genetics* 123:585-595.
- Tamura, K; Nei, M. 1993. Estimation of the Number of Nucleotide Substitutions in the Control Region of Mitochondrial DNA in Humans and Chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10(3):512-526.
- Tarazona, J; Indacochea, A; Valle, S; Córdova, C; Ochoa, N; Serrano, W; Peña, T. 1999. Impacto de "El Niño 1997-98" sobre el ecosistema marino somero de la costa central del Perú. *Revista Peruana de Biología* 1999:18-31.
- Tavaré, S. 1986. Some probabilistic and statistical problems in the analysis of DNA sequences. *Lectures on mathematics in the life sciences* 17:57-86.
- Tellier, F. 2009. Etude des processus de spéciation associés à une zone de transition biogéographique: exemple de l'algue brune *Lessonia nigrescens*. Thèse de doctoract. Paris, France, Université Pierre et Marie Curie y Pontificia Universidad Católica de Chile. 310 p.
- Tellier, F; Meynard, AP; Correa, JA; Faugeron, S; Valero, M. 2009. Phylogeographic analyses of the 30°s south-east Pacific biogeographic transition zone establish the occurrence of a sharp genetic discontinuity in the kelp *Lessonia nigrescens*: Vicariance or parapatry? *Molecular Phylogenetics and Evolution* 53:679-693.
- Tellier, F; Tapia, J; Faugeron, S; Destombe, C; Valero, M. 2011. The *Lessonia nigrescens* species complex (laminariales, phaeophyceae) shows strict parapatry and complete reproductive isolation in a secondary contact zone. *Journal of Phycology* 47(4):894-903.
- Thiel, M; Gutow, L. 2005. The ecology of rafting in the marine environment. II. The rafting organisms and community. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* 43:281-420.

- Thiel, M; Macaya, EC; Acuña, E; Arntz, WE; Bastias, H; Brokordt, K; Camus, PA; Castilla, JC; Castro, LR; Cortés, M; Dumont, CP; Escribano, R; Fernández, M; Gajardo, JA; Gaymer, CF; Iván, G; González, AE; González, HE; Haye, PA; Illanes, J-E; Iriarte, JL; Lancellotti, DA; Luna-Jorquera, G; Luxoro, C; Manríquez, PH; Marín, V; Muñoz, P; Navarrete, SA; Pérez, E; Poulin, E; Sellanes, J; Sepúlveda, HH; Stotz, W; Tala, F; Thomas, CA; Vázquez, JA; Alonso Vega, JM. 2007. The Humboldt Current System of Northern and Central Chile. *In* Gibson, RN; Atkinson, RJA; Gordon, JDM (eds.). *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*. Florida, United States of America, CRC Press. v. 45, p. 195-344.
- Thomsen, MS; Wernberg, T. 2005. Miniview: What affects the forces required to break or dislodge macroalgae? *European Journal of Phycology* 40(2):139-148.
- Trifinopoulos, J; Nguyen, LT; von Haeseler, A; Minh, BQ. 2016. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic Acids Research* 44: W232-W235.
- Toro, JE; Castro, GC; Ojeda, JA; Vergara, AM. 2006. Allozymic variation and differentiation in the Chilean blue mussel, *Mytilus chilensis*, along its natural distribution. *Genetics and Molecular Biology* 29:174-179.
- Valcárcel, V; Draper, I; Aguado, T. 2016. Manual para análisis filogenéticos moleculares. España, UAM. 79 p.
- Valero, M; Engel, C; Billot, C; Kloareg, B; Destombe, C. 2001. Concepts and issues of population genetics in seaweeds. *Cahiers de Biologie Marine* 42:53-62.
- Vásquez, JA; Vega, JM. 2001. *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) in northern Chile: ecological aspects for management of wild populations. *Journal of Applied Phycology* 13:267-277.
- Véliz, K; Chandía, N; Karsten, U; Lara, C; Thiel, M. 2018. Geographic variation in biochemical and physiological traits of the red seaweeds *Chondracanthus chamissoi* and *Gelidium lingulatum* from the south east Pacific coast. *Journal of Applied Phycology* jun. 2018.
- Vidal, L; O’Ryan, C. 2015. Chicorea de mar (*Chondracanthus chamissoi*): Situación y perspectivas. Chile, CIHDE. 70 p.
- Wilson, AC; Cann, RL; Carr, SM; George, M; Gyllenstenis, ULFB; Helm-Bychowski, KM; Higuchi, RG; Palumbi, SR; Prager, EM; Sage, RD.; Stoneking, M. 1985. Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of the Linnean Society* 26:375-400.
- Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian Populations. *Genetics* 16:97-159.
- Wu, L; Li, F; Deng, C; Xu, D; Jiang, S; Xiong, Y. 2009. A method for obtaining DNA from compost. *Applied Microbiology and Biotechnology* 84:389-395.
- Yang, MY; Kim, MS. 2016. Molecular Phylogeny of the Genus *Chondracanthus* (Rhodophyta), Focusing on the Resurrection of *C. okamurae* and the Description of *C. cincinnus* sp. nov. *Ocean Science Journal* 51(3):517-529.
- Yang, MY; Macaya, EC; Kim, MS. 2015. Molecular evidence for verifying the distribution of *Chondracanthus chamissoi* and *C. teedei* (Gigartinales, Rhodophyta). *Botanica Marina* 58(2):103-113.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Fórmulas de los índices de diversidad haplotípica (Hd) y nucleotídica (π).

1. Diversidad haplotípica (Hd , Nei 1987):

$$Hd = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum p_i^2 \right)$$

Donde:

n = número total de secuencias

p_i = frecuencia de cada haplotipo

2. Diversidad nucleotídica (π , Nei y Li 1979):

$$\pi = \sum_{ij} x_i x_j d_{ij}$$

Donde:

x_i = frecuencia del haplotipo i

x_j = frecuencia del haplotipo j

d_{ij} = proporción de nucleótidos diferentes entre los haplotipos i y j