



**subelab**  
subtidal ecology laboratory



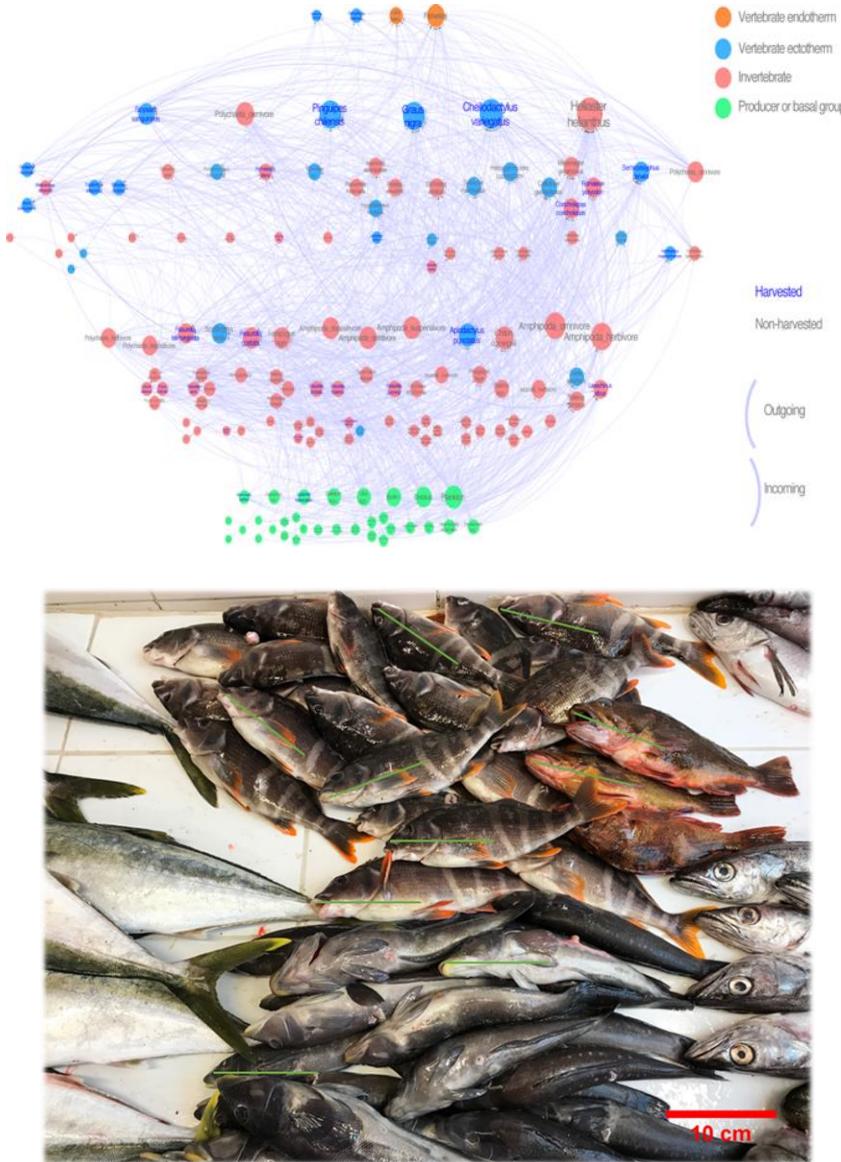
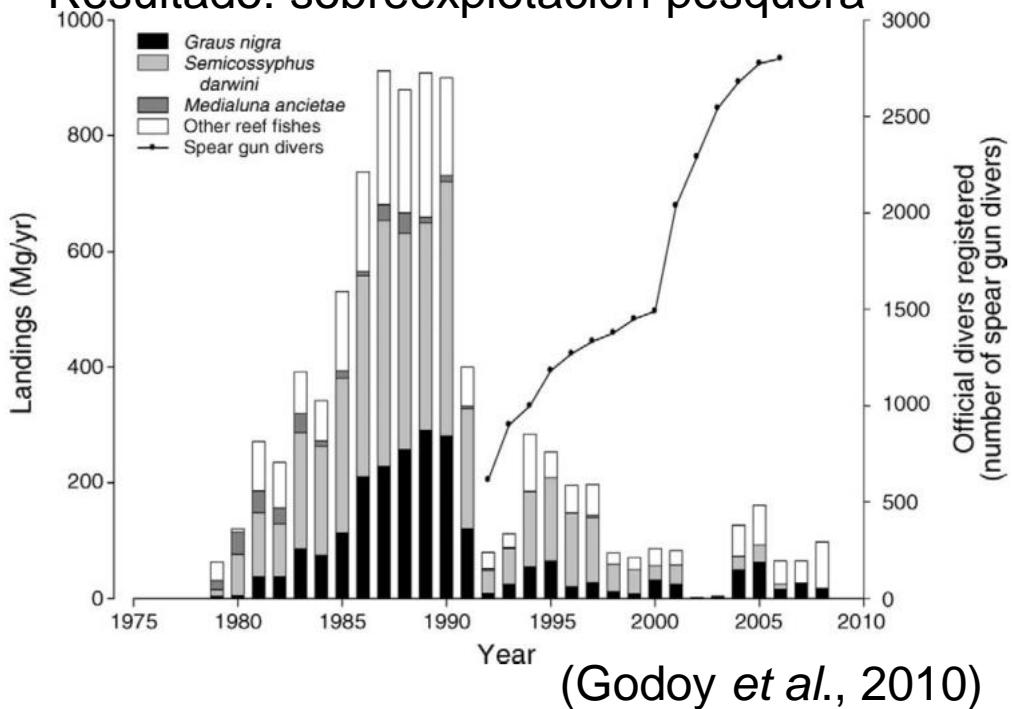
# Explorando herramientas moleculares para la conservación de una especie fuertemente capturada en Chile: el caso del pejeperro (*Semicossyphus darwini*)

Italo Fernández, Eric García, Giacomo Bernardi, Alejandro Pérez Matus

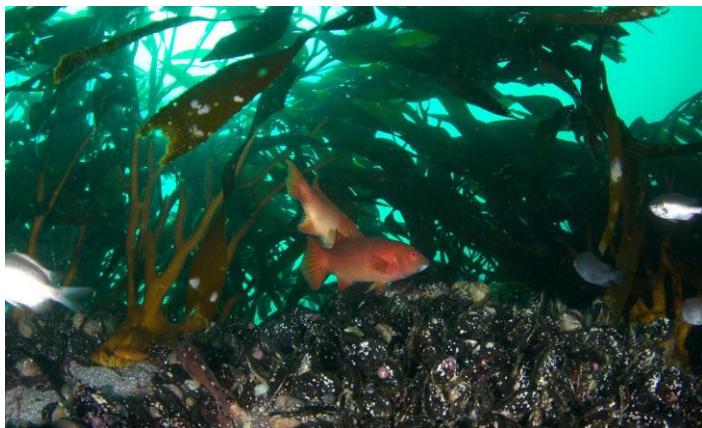
# Introducción

## Peces submareal rocoso

- Componentes importantes de los sistemas litorales de Chile
- Inexistente regulación pesquera. Pesca selectiva hacia grandes individuos. (e.g. *G. nigra*, *S. darwini*)
- Resultado: sobreexplotación pesquera



# *Semicossyphus darwini* (Jenyns, 1842)



1. Primeros censos y estudios demuestran abundancias importantes. (Vasquez 1993, Fuentes 1991)

Japanese Journal of Ichthyology  
Vol. 27, No. 4  
1981

魚類学報  
27卷4号  
1981年

Feeding Habit of *Semicossyphus maculatus* (Labridae) in  
Coastal Waters of Iquique in Northern Chile

Héctor R. Fuentes

(Received February 13, 1980)

2. Estudios recientes demuestran un deterioro en las abundancias de las poblaciones de *S. darwini*.



3. Consecuencias importantes para la ecología. (Rol ecológico).



Vol. 567: 1–16, 2017  
<https://doi.org/10.3354/meps12057>

MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES  
Mar Ecol Prog Ser

Published March 13



FEATURE ARTICLE

## Temperate rocky subtidal reef community reveals human impacts across the entire food web

Exploring the effects of fishing pressure and upwelling intensity over subtidal kelp forest communities in Central Chile

ALEJANDRO PÉREZ-MATOS,<sup>1,2,†</sup> SERGIO A. CARRASCO,<sup>1,2</sup> STEFAN GELCICH,<sup>2,3,4</sup>  
MIRIAM FERNANDEZ,<sup>2,3</sup> AND EVIE A. WIETERS<sup>2</sup>

- Poca información biológica , ecológica y pesquera para un manejo sustentable de estas poblaciones
- Como podemos conocer el real impacto de la situación ??...

# Introducción

## Importancia de la ecología molecular en la conservación

- Filogenia entre especies hermanas-> Historia de vida
- Flujo genético -> Cuantas poblaciones existen.
- Diversidad genética -> Como se encuentra una población?.
- Conocer posible tamaño efectivo de la población ( $N_e$ ).

# Introducción



*Semicossyphus darwini* (Jenyns, 1842)



*Semicossyphus pulcher* (Ayres, 1854)

- *Semicossyphus pulcher*, especie hermana.
- Importantes estudios ecológico y pesqueros.
- Listado en the State's Nearshore Fishery Management Plan y regulado por “the California Fish and Game Commission.”
- **Ambas especies fueron sujetas a similares presiones de pesca pero en ambientes diferentes.**

# Objetivos

- **Historia de divergencia (Filogenia):** Evaluar un posible flujo genético entre *S. darwini* y *S. pulcher*.
- **Estudiar la estructura genética poblacional de *S. darwini* a lo largo de la costa del norte y centro-norte de Chile.**
- **Estudiar la diversidad genética y posible población efectiva ( $N_e$ ) de *S. darwini* en las costas del norte y centro-norte de Chile.**

# Muestreo y Metodología

## Distribución *S. darwini*

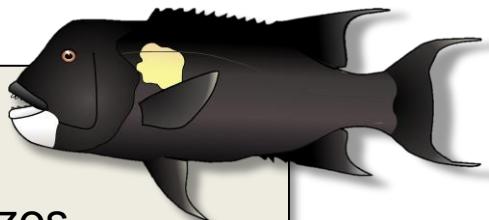
- Costas de Ecuador, Islas Galápagos, Perú y Chile.
- En Chile desde Arica ( $18^{\circ}27' S$   $70^{\circ}19'W$ ) a la región de Valparaíso.



# Muestreo y Metodología

## Muestras:

- Caletas y Buzos recreativos
- Músculo y branquias
- Alcohol 97%
- Total de 62 muestras.
- Todas mayores a 30 cm



**“Mejor calidad muestras cuando fueron obtenidas por buzos recreativos”**

18°30' S

Localidad N

Pisagua 2

Iquique 2

Argentina

Cobija 7

Mejillones 3

Los Metales 3

Chile

Taltal 4

Chañaral 7

Caldera 14

Carrizal 7

Caleta angosta 2

Chañaral de Aceituno 3

Isla Chungungo 4

Coquimbo 2

Tongoy 2

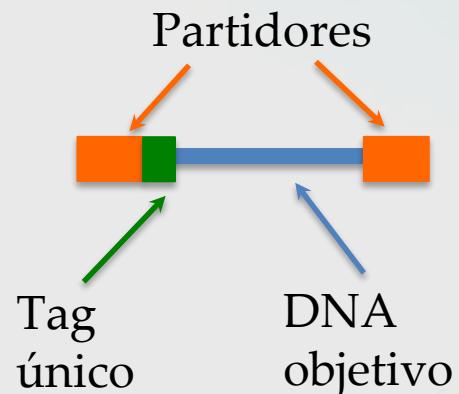
31°57' S

# Next-Gen: Sitio de restricción asociado al AND (RADSeq)

## 1. Amplificación

Digestión de genoma por enzima Sbf1

Ligado de partidores y tag código



## 2. Secuenciación:

Next Generation, high throughput *illumina* sequencing

## 3. Análisis

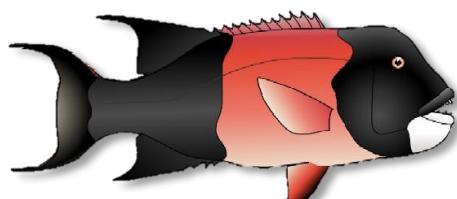
Stacks → Identificación loci, filtro de secuencias

Structure → Estructura poblacional (Loci neutrales y bajo selección).

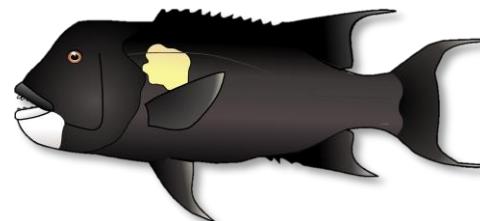
Arlequin → Índices poblacionales y diversidad (Fst, % Polimorfismo)



# 1. *S. pulcher* & *S. darwini*: Historia de divergencia

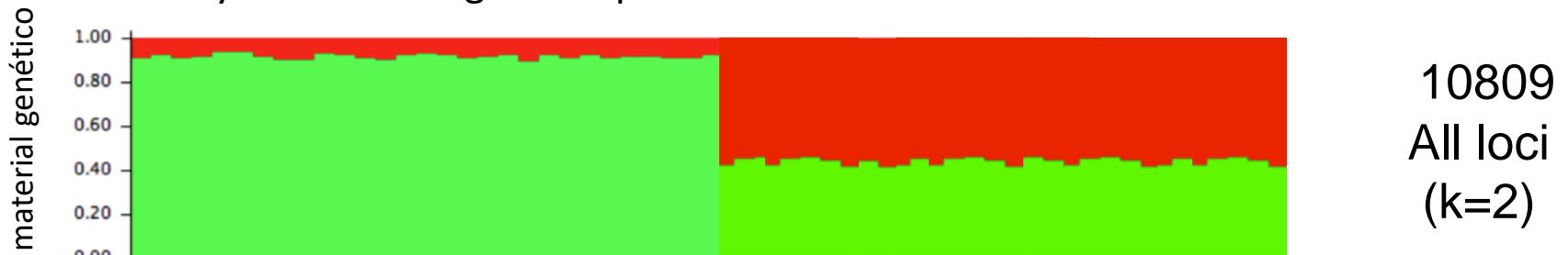


California sheephead



Darwin's sheephead

Test bayesiano de asignación poblacional

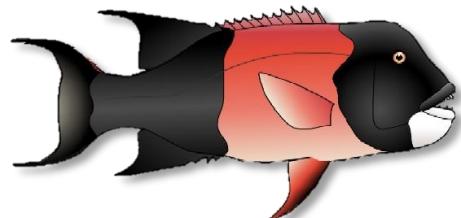


Fst (Arlequin)	P
0.282	<0.001

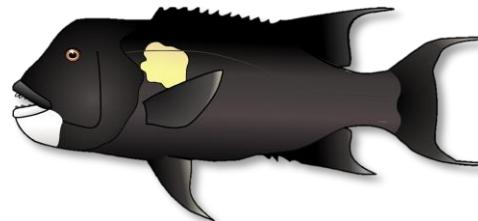
Se observa un flujo genético entre ambas especies.

Cerca de un 40% del material genético es compartido entre especies

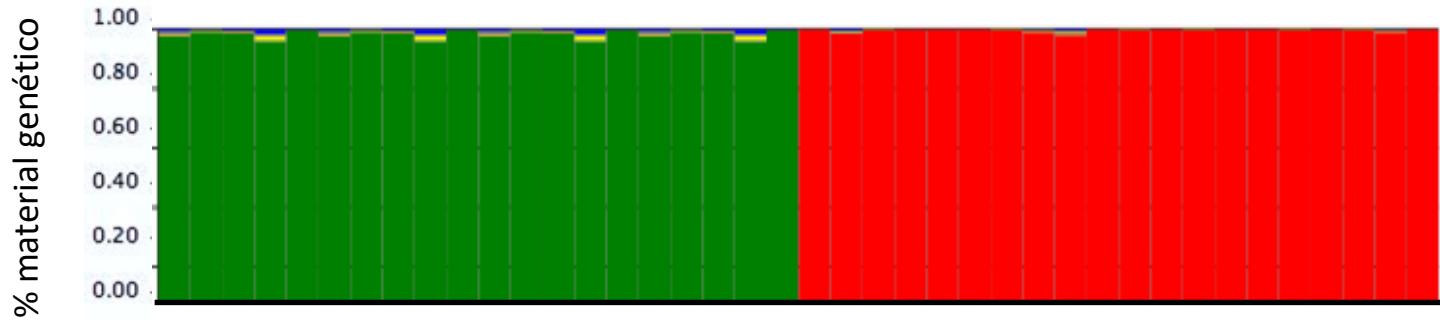
# 1. *S. pulcher* & *S. darwini*: Historia de divergencia



California sheephead



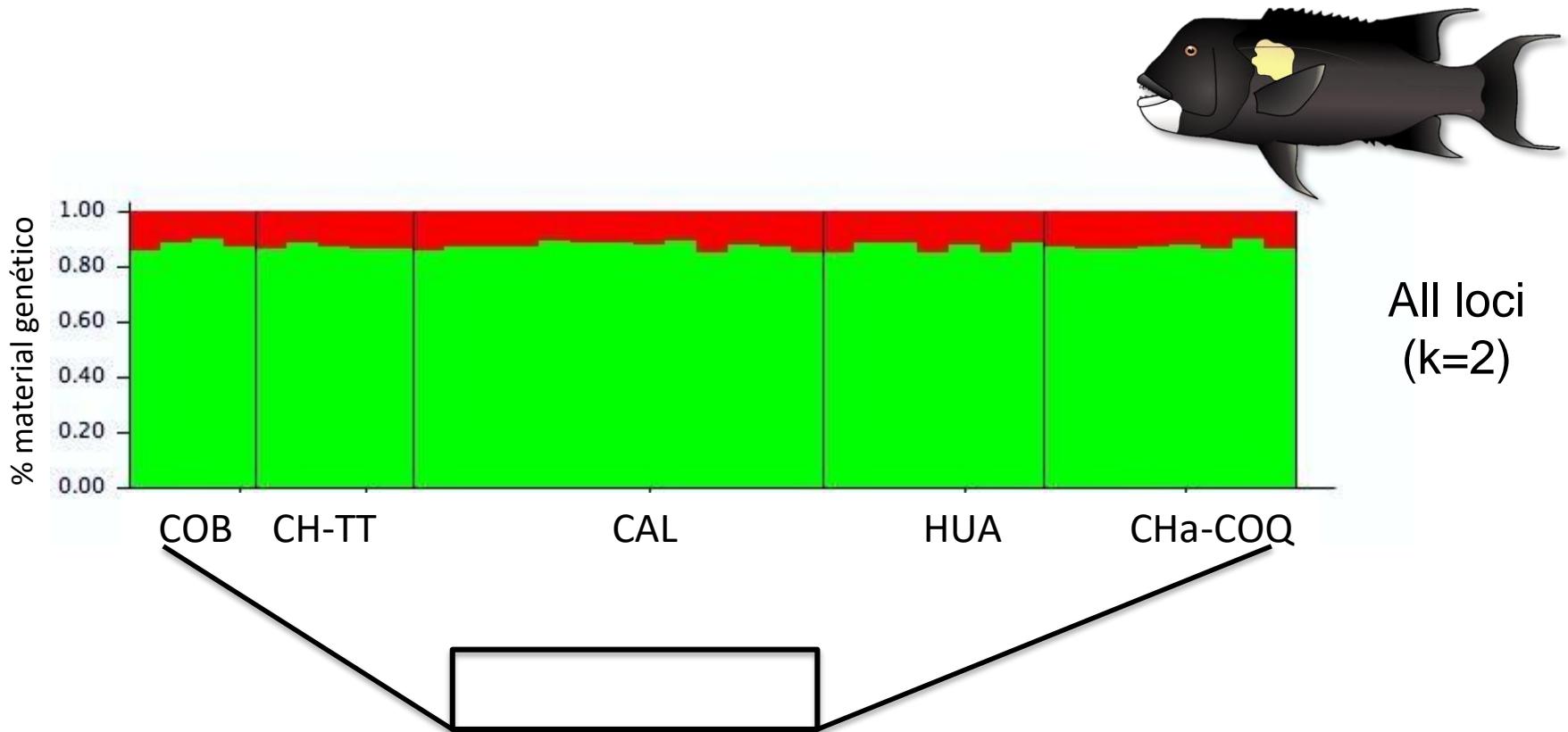
Darwin's sheephead



Fst (Arlequin)	P
0.904	<0.001

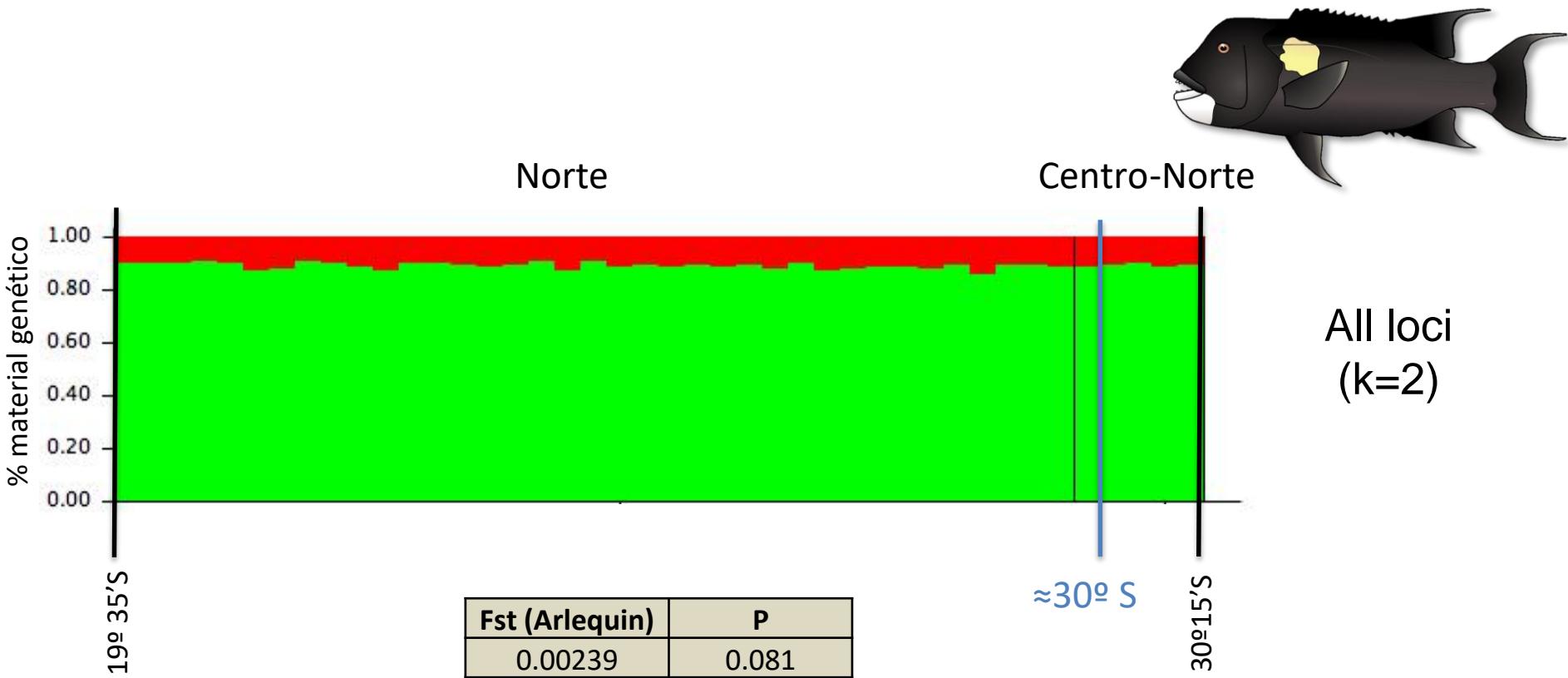
El medio ambiente ejerce distintas presiones selectivas en locis asociados a genes.

## 2. Flujo Génico de *S. darwini* Rad seq



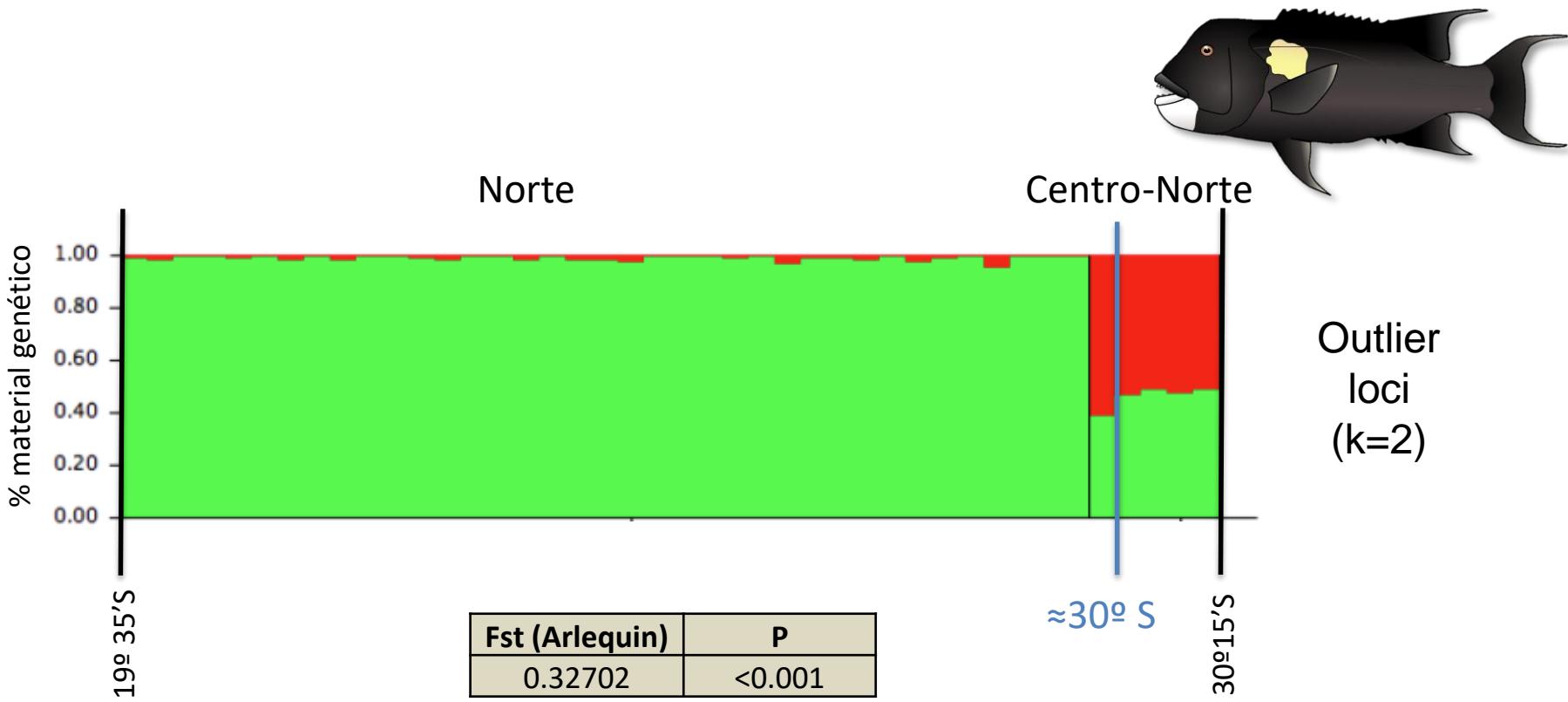
No se observa una estructura poblacional, flujo génico a lo largo de toda la costa

## 2. Flujo Génico de *S. darwini* Rad seq



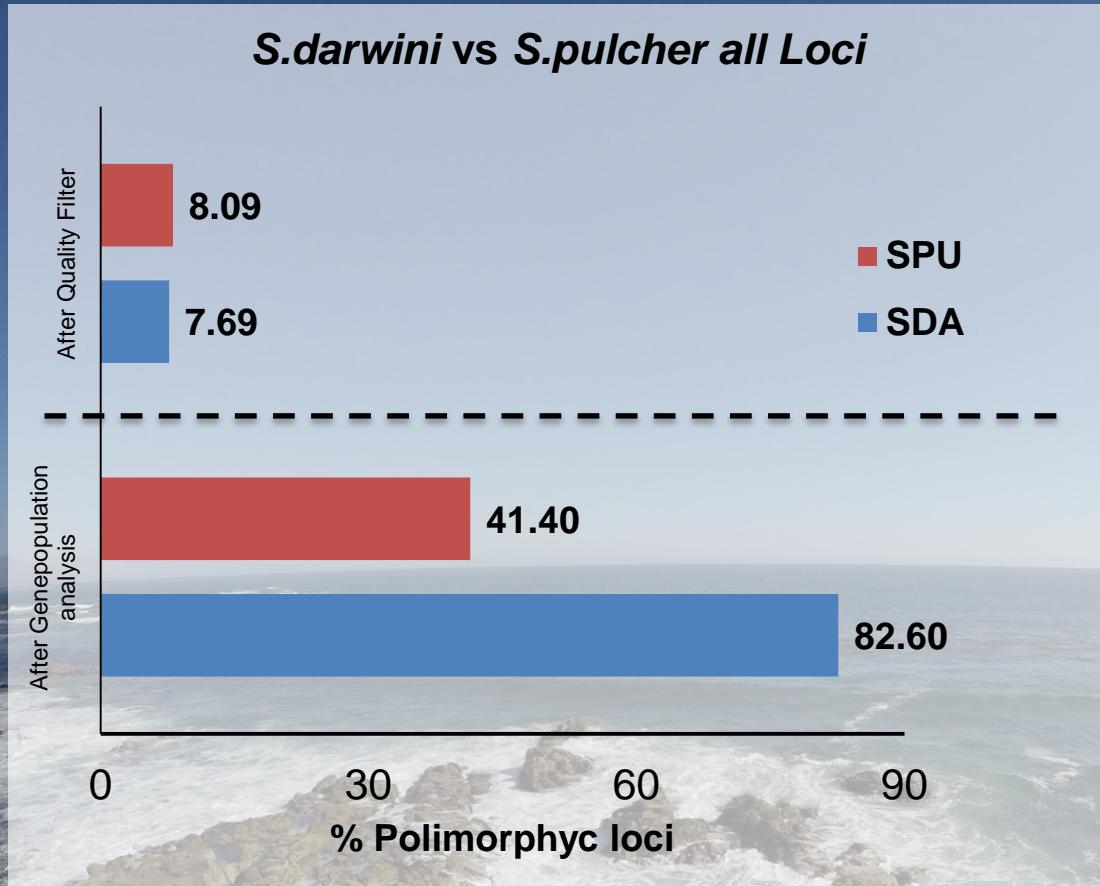
Flujo génico presente, no pareciera existir una barrera geográfica que impida el flujo en el quiebre biogeográfico

## 2. Flujo Génico de *S. darwini* Rad seq



Importante estructura poblacional en base a los genes en selección:  
diferentes presiones selectivas estarian seleccionando locis asociados a  
genes

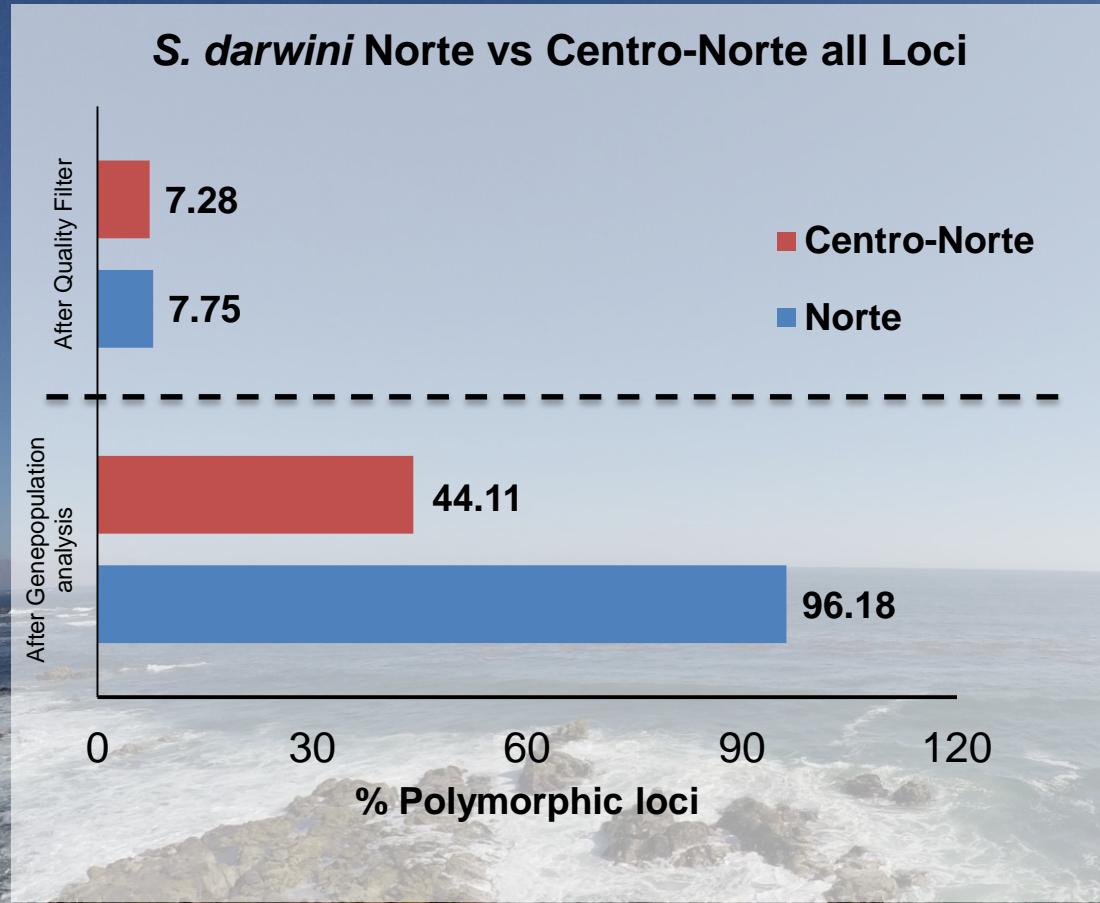
### 3. Diversidad Genética del complejo *Semicossyphus*



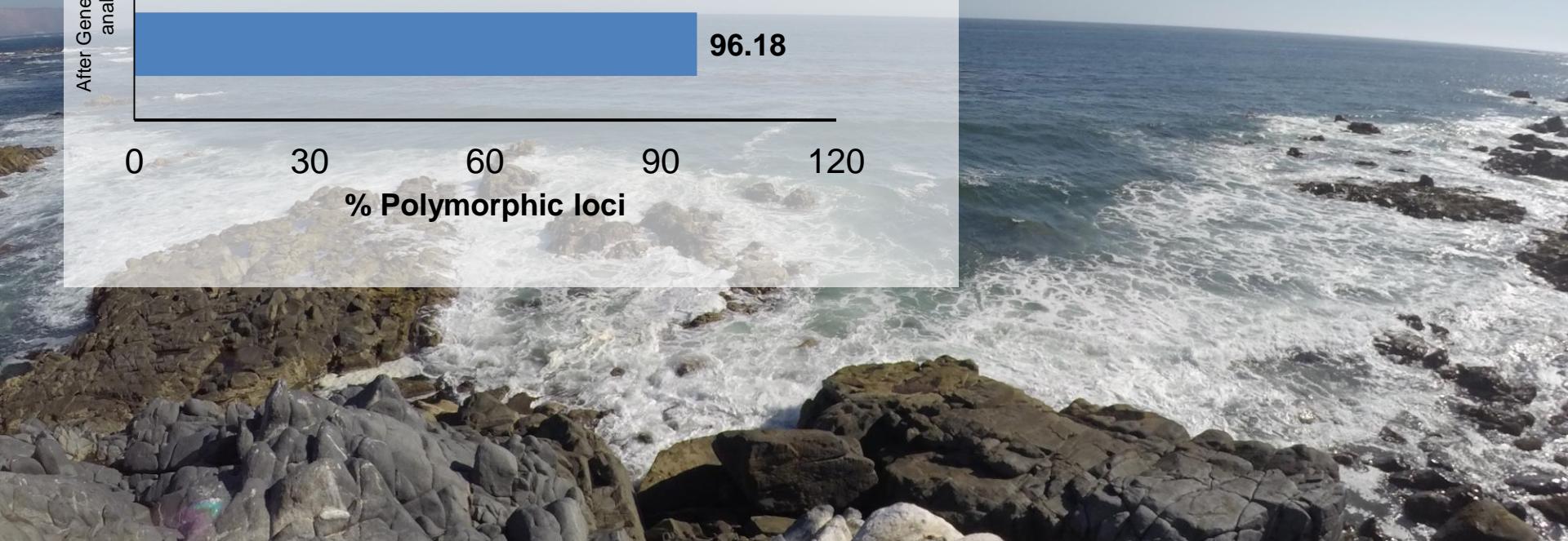
Mayor  
diversidad de  
locis en  
*Semicossyphu*  
*pulcher...*

*Recuperación?*

### 3. Diversidad Genética de *Semicossyphus* en Chile

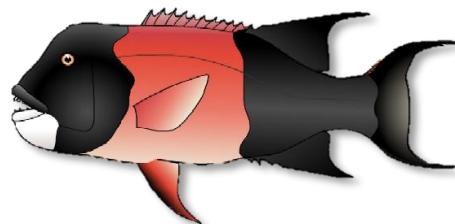


Baja diversidad genética en *S. darwini*

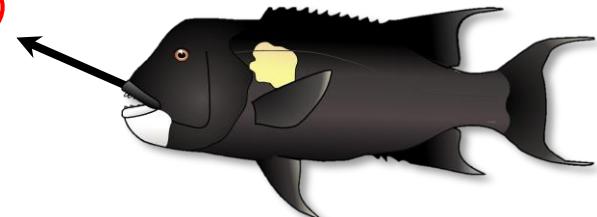
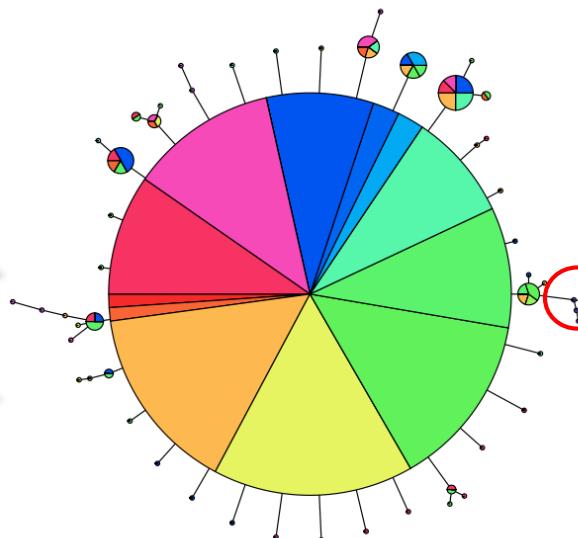


# Discusión y conclusiones

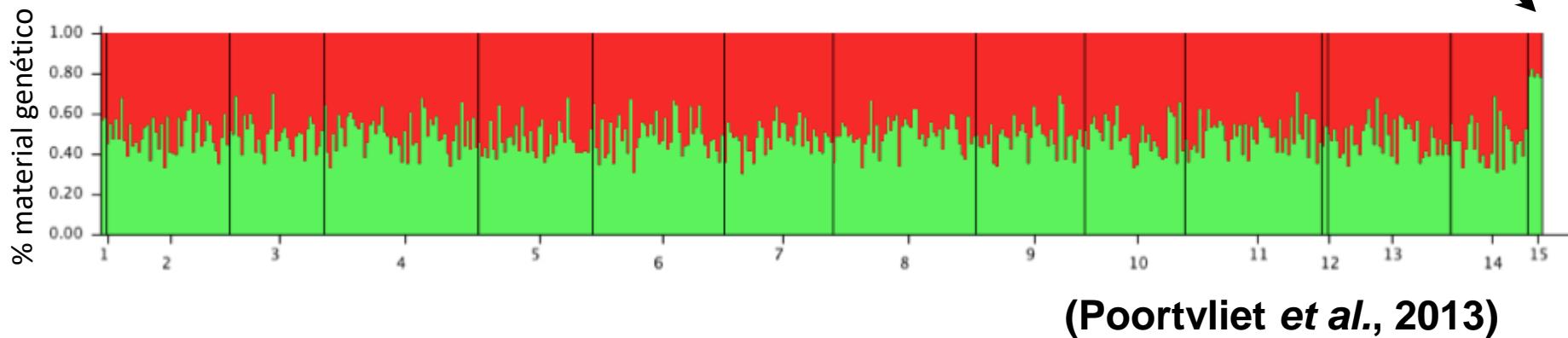
## *S. pulcher & S. darwini*: Historia de divergencia



California sheephead



Darwin's sheephead



(Poortvliet et al., 2013)

# Discusión y conclusiones

- **Modelo “stepping stone”, condiciones ideales para una conexión antitropical (aguas frías profundas).**
- **Arrecifes rocosos profundos.**
- **Observación de *S. darwini* en islas Galapagos a profundidades > 40 mts.**
- **Captura de *S.pulcher* a grandes profundidades al sur de Baja California**

Big Sur, California, USA

# Discusión y conclusiones

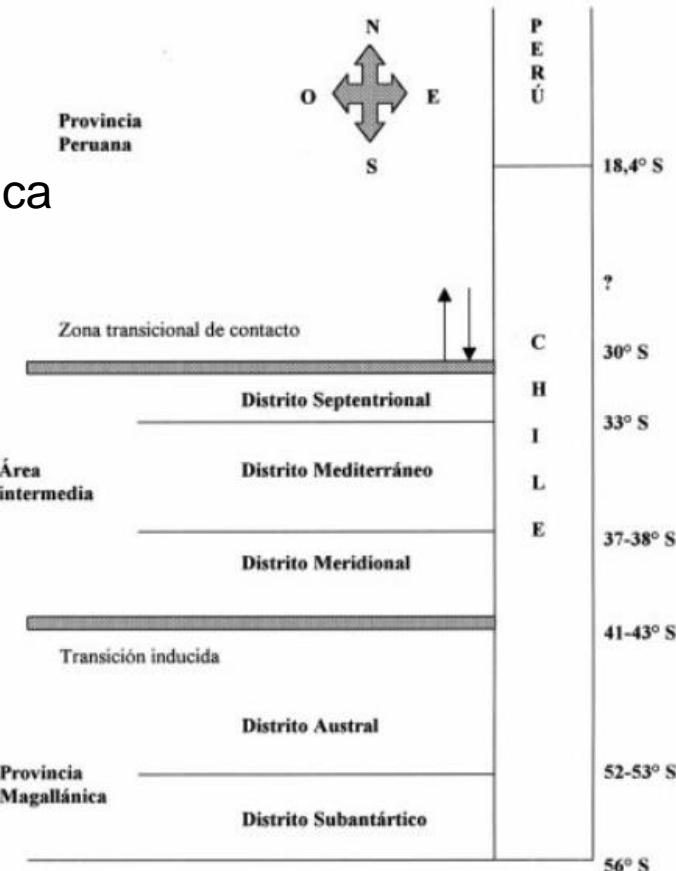
## Flujo génico y estructura poblacional de *S. darwini*

All loci:

- Flujo génico esperable, larga vida de etapa pelágica y amplio home range

Loci bajo selección (outlier):

- Quiebre en 30° en otras especies (invertebrados).  
No estudiado en peces.
- Distintas condiciones ambientales?



(Camus, 2001)

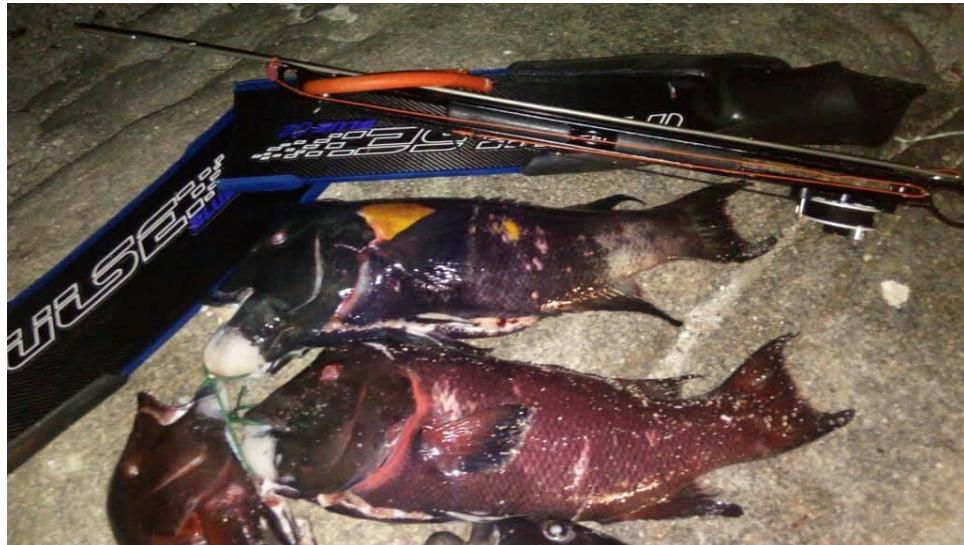
# Discusión y conclusiones

## Problemas en la casería de especies Hermafroditas.

- Captura sesgada a machos de gran tamaño. “Presión sexual selectiva”
- Disminuye la proporción machos : hembras aún más-> Reducción drástica de tamaño efectivo ( $N_e$ ).



Diversidad genética baja vs amplia distribución ->  
bajo tamaño poblacional efectivo



**La especie está disminuyendo drásticamente su población y su baja diversidad genética podría estar siendo influenciada por su sobreexplotación.**



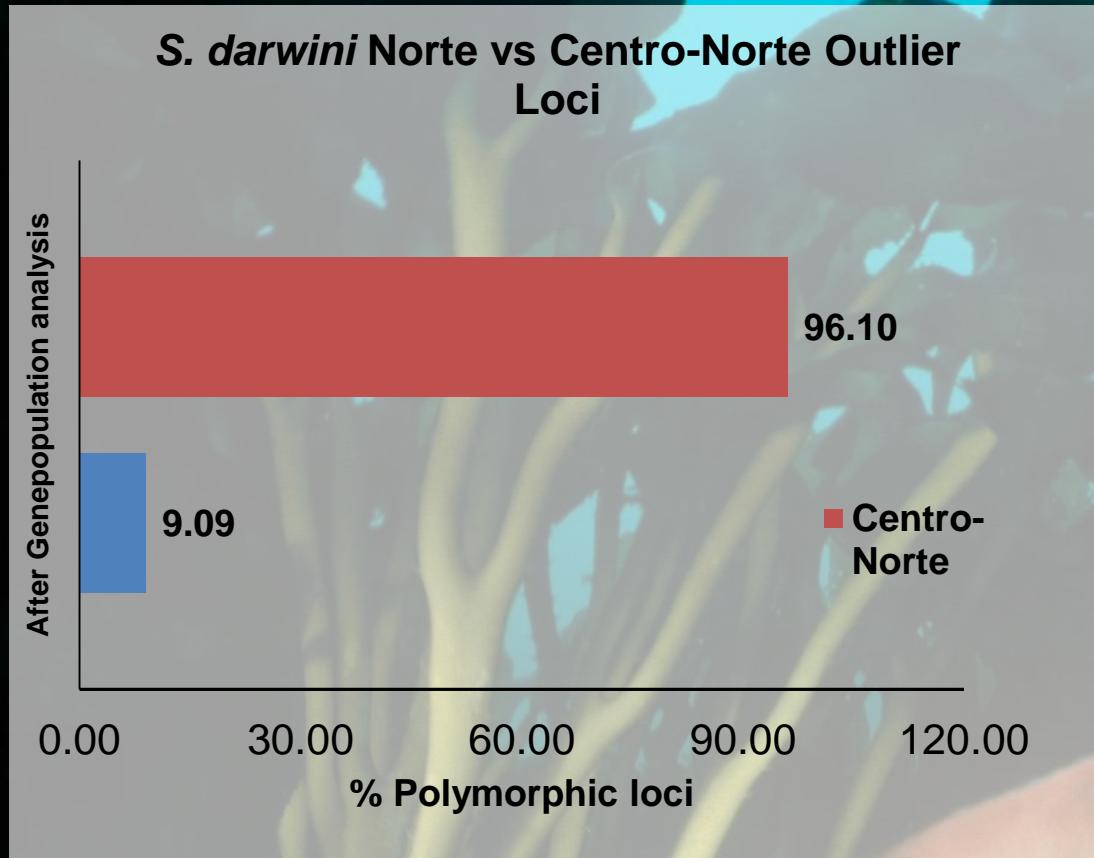
**Sobreexplotación de machos  
de gran tamaño ya es  
observable en ciertas zonas del  
país!!...**



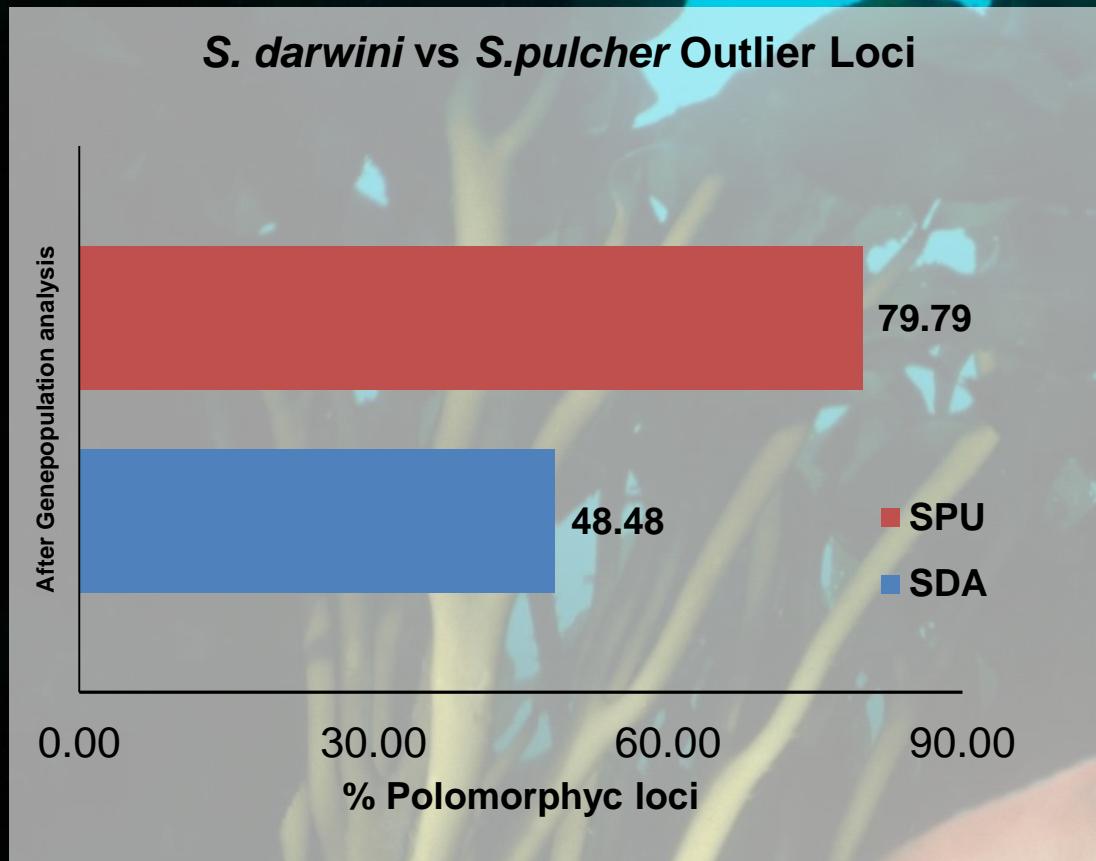




# *S. darwini* connectivity Rad seq

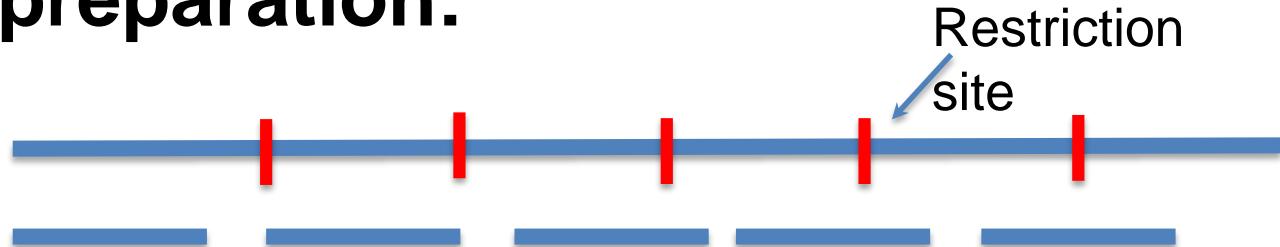


# *S. pulcher* & *S. darwini* connectivity Rad seq

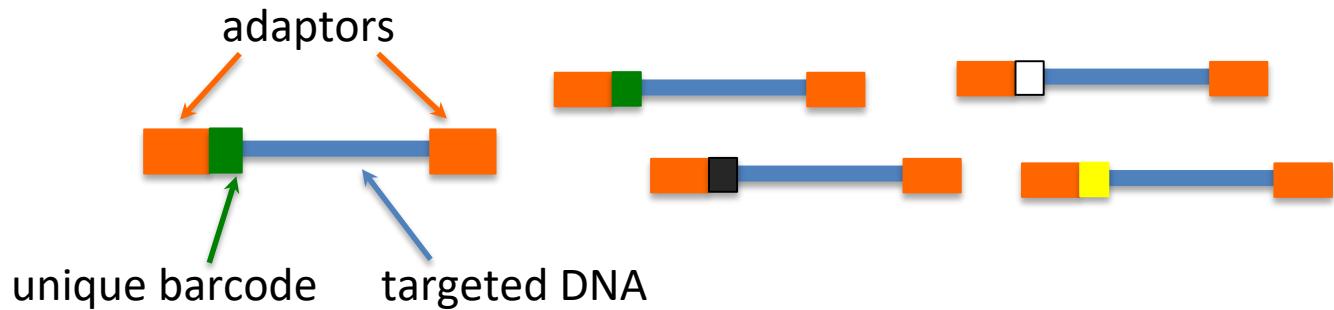


# RAD library preparation:

Sbf1 genome  
digestion



Ligation of  
Adaptors  
and unique  
barcode



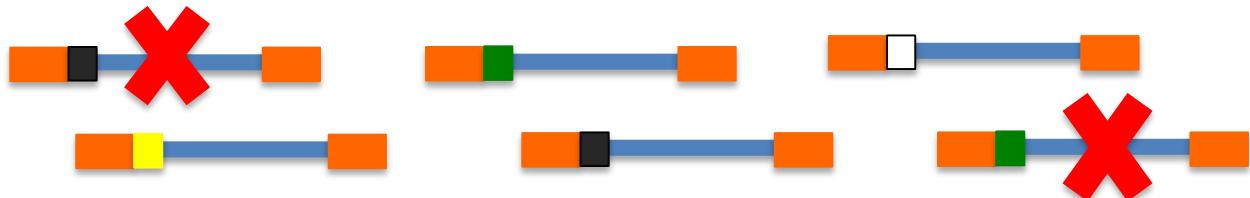
Sequencing

Next Generation, high throughput *illumina* sequencing

# Bioinformatics: data processing

## Quality Filter

99.7% bp  
confidence



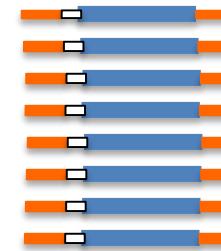
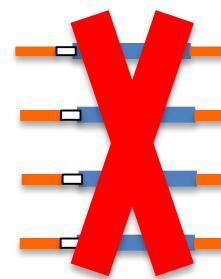
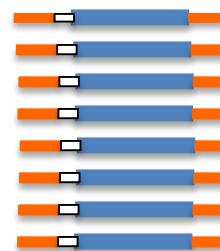
## Demultiplex

Separate by  
barcode



## De novo map

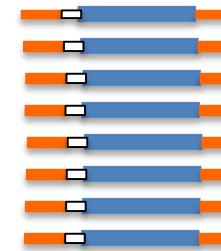
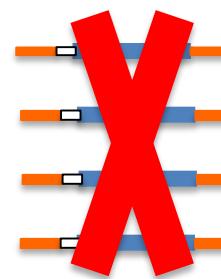
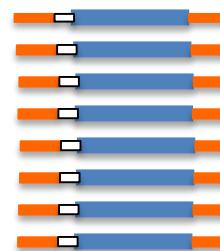
identify unique  
loci



## Population Filter

$r=0.8$ ,  $m=8$

max. missing 0.05



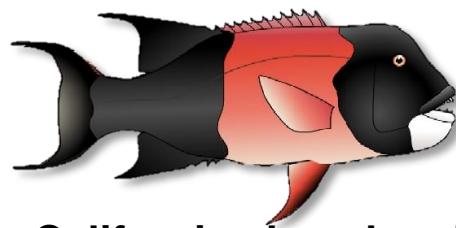
	Noth	South	COB	CH-TT	CALD	CAR	CHA-COQ
After Quality Filter							
ave unique loci	63149.71429	59920.4	62061	64853.4	65997.61538	58149.71429	61328.375
ave polymorphic loci	4948.257143	4389.6	4282.25	5267.6	5463.307692	4142.285714	4611.25
ave % of poly loci	7.745000634	7.281204621	6.883923754	8.041787953	8.200874177	7.07583358	7.45306907
ave SNPs	6812.742857	6078.8	5928.25	7218.6	7482	5776.285714	6366.375
After Genepopulation analysis							
No. of gene copies	74	10	8	10	26	14	16
No. of loci	8825	8825	1739	1739	1739	1739	1739
No. of usable loci	550	5368	1702	1274	815	762	960
No. of polymorphic loci	529	2368	664	557	511	417	520
% of poly loci	96.18181818	44.11326379	39.01292597	43.72056515	62.6993865	54.72440945	54.16666667

Outlier		
No. of gene copies	74	10
No. of loci	244	244
No. of usable loci	22	77
No. of polymorphic loci	2	74
% of poly loci	9.09	96.10

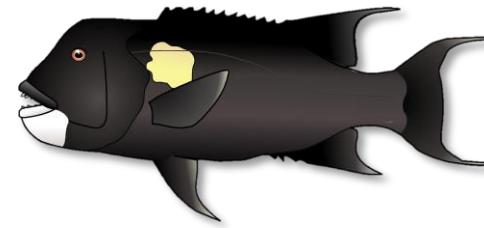
	SDA	SPU		SDA	SPU
<b>After Quality Filter</b>					
ave unique loci	62746.05	60716.366667			
ave polymorphic loci	4878.425	5163.466667			
ave % of poly loci	7.69	8.09			
ave SNPs	6721	7075.1			
<b>After Genepopulation analysis</b>					
No. of gene copies	84	10		84	10
No. of loci	11024	11024		215	215
No. of usable loci	1310	10378		33	193
No. of polymorphic loci	1082	4296		16	154
% of poly loci	82.60	41.40		48.48	79.79

	n	unique stacks	polymorphic loci	SNPs	ratio 1/2
<i>Stegastes baldwini</i>	24	35137.42	1247.21	1899.83	3.55
<i>Holacanthus limbaughi</i>	34	47211.86	3144.80	4126.09	6.66
<i>Embiotoca jacksoni</i>		3987141.00	200531.00	280654.00	5.03
<i>Abudefduf septemfasciatum</i>	8	56747.13	3807.38	4916.13	6.71
<i>Holacanthus passer_short</i>	22	46178.14	4701.71	6160.29	10.18
<i>Holacanthus passer_long</i>	28	46582.39	4754.72	6214.50	10.21
<i>Fistularia commersonii</i>	34	44753.71	4574.06	5899.74	10.22
<i>Pomacentrus pavo</i>	9	80536.11	8764.89	14984.67	10.88
<i>Stegastes nigricans</i>	12	61833.15	7860.78	11492.24	12.71
<i>Pomachromis fuscidorsalis</i>	9	87462.44	12416.11	19043.22	14.20
<i>Dascyllus aruanus</i>	7	64275.14	9273.71	16721.57	14.43
<i>Chrysiptera brownriggii</i>	12	75381.89	10899.89	16090.89	14.46
<i>Chromis margaritifer</i>	6	64586.83	9824.67	17914.00	15.21
<i>Plectroglyphidodon lacrymatus</i>	10	68275.90	11065.30	17247.90	16.21
<i>Chromis iomelas</i>	10	76572.80	14705.90	26607.90	19.21
<i>Amphiprion chrysopterus</i>	27	1438200.00	77950.00	116180.00	5.42
<i>Holacanthus passer</i>	19	44427.68	3994.42	5199.68	8.99

# *S. pulcher & S. darwini*: Historia de divergencia



California sheephead



Darwin's sheephead

