



**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
Y OCEANOGRÁFICAS**



**EXPLORANDO LA BIODIVERSIDAD DE ANFÍPODOS
(CRUSTACEA: PERACARIDA) EN LOS ARRECIFES DE LA ISLA
ROBINSON CRUSOE, ARCHIPIÉLAGO DE JUAN FERNÁNDEZ**

Paula Soledad Díaz Carrasco

Seminario de Título presentado al
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFÍA
DE LA UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN

Para optar al título de
BIÓLOGA MARINA

Concepción – Chile

2025

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFÍA

Este Seminario de Título ha sido realizado en el Departamento de Oceanografía de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas.

Profesor(a) Guía

Dr. Sergio Carrasco

Ha sido aprobada por la Siguiete Comisión Evaluadora

Dra. Andrea Varela

Dr. Erasmo Macaya

Jefe de Carrera

Dr. Ariel Valenzuela

Derecho de autor

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

A mi familia

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a mi profesor guía, el Dr. Sergio Carrasco, quien me dio su completo apoyo en el desarrollo de esta investigación. Me abrió las puertas de su laboratorio, siempre dispuesto a orientar y asesorar cada una de mis dudas e inquietudes, a su vez brindándome de su guía y confianza a lo largo del proceso.

El financiamiento de esta investigación fue posible gracias a los proyectos FONDECYT 11170617 y 1241836 del Dr. Sergio Carrasco. Asimismo, agradezco al Departamento de Oceanografía de la Universidad de Concepción por concederme la Beca Profesora María Teresa López, que me permitió asistir al XLIV Congreso de Ciencias del Mar, celebrado en la ciudad de Viña del Mar, donde pude presentar parte de mi investigación en formato poster.

Quiero mencionar a Darío Navarrete y María Belén de la Puente, técnicos del laboratorio de Dr. Carrasco, quienes, al igual que el profesor, me apoyaron incondicionalmente en todas las etapas de investigación, enseñándome y aclarando mis dudas con paciencia y dedicación.

Gracias a la Dra. Andrea Varela y al Dr. Erasmo Macaya por aceptar ser parte de la comisión evaluadora, y su ayuda en el proceso. Asimismo, gracias al Dr. Jorge Pérez-Schultheiss del Museo Nacional de Historia Natural, quien ayudó a aclarar mis dudas en aspectos de morfología de anfípodos.

Extiendo mi gratitud a los estudiantes de pregrado de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas Camila Aravena, David Calderón, Lorenzo Sanhueza y Sofía Díaz, quienes me ayudaron a desarrollar los datos de abundancia.

Finalmente quiero agradecer profundamente a mi familia y amigos, los cuales me dieron su apoyo incondicional en cada uno de mis pasos por pregrado. Sin ellos, mi vida universitaria no hubiese sido la misma.

TABLA DE CONTENIDO

1. RESUMEN	XI
2. ABSTRACT.....	XIV
3. INTRODUCCIÓN	1
4. HIPÓTESIS DE TRABAJO	7
5. OBJETIVOS	8
5.1 Objetivo general	8
5.1.1 Objetivos específicos	8
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
6.1 Análisis de literatura y colecciones biológicas	9
6.2 Identificación morfológica	9
6.3 Abundancia e índices de diversidad	13
6.4 Extracción de ADN, amplificación y secuenciación	15
6.5 ADN Barcoding	17
7. RESULTADOS	19
7.1 Revisión histórica de la fauna de anfípodos del Archipiélago de Juan Fernández.....	19
7.2 Identificación Morfológica.....	21
7.3 Abundancia e Índices de Biodiversidad.....	31
7.4 Extracción de ADN, amplificación y ADN barcoding.	42
8. DISCUSIÓN	47

8.1	Identificación taxonómica por medio de análisis morfológico y posibles nuevos registros para AJF	47
8.2	Índices de abundancia.....	48
8.3	Análisis molecular	49
9.	CONCLUSIÓN	54
10.	REFERENCIAS	57
11.	ANEXO	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Recopilación de especies descritas para el Archipiélago de Juan Fernández desde 1888 a 2016.....	20
Tabla 2.	Abundancia (n° de individuos) en muestreos realizados en 2017.	34
Tabla 3.	Abundancia (n° de individuos) en muestreos realizados en 2018.	35
Tabla 4.	Índices de diversidad alfa para muestreos (A) 2017 y (B) 2018. ..	36
Tabla 5.	Índices de diversidad beta de muestreo de (A) 2017 y (B) 2018...	38
Tabla 6.	Resultados de Blastn NCBI. *S/I: Sin información.	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. (A) Localidades de muestreo en Bahía Cumberland, Isla Robinson Crusoe, Archipiélago de Juan Fernández. (B) Trampa de luz utilizada para muestreo de fauna críptica en los arrecifes. Dibujos modificados de Pérez-Schultheiss et al. (2020).....	11
Figura 2. Morfología general de un anfípodo (Pérez-Schultheiss et al. 2022).	13
Figura 3. Familia Ischyroceridae, donde (A) y (B) corresponden a los morfotipos 1 y 2, respectivamente.	22
Figura 4. Familia Aoridae.	23
Figura 5. Familia Podoceridae	24
Figura 6. Familia Dexaminidae. donde (A) y (B) corresponden a los morfotipos 1 y 2, respectivamente.	25
Figura 7. Familia Hyalidae.	27
Figura 8. Familia Pontogeneiidae.	27
Figura 9. Familia Stenothoidae.	29
Figura 10. Familia Corophiidae.	30
Figura 11. Familia Nihotungidae (Familia no determinada).....	31

Figura 12. Abundancia (n° de individuos) por morfotipo en los muestreos de 2017.....	32
Figura 13. Abundancia (n° de individuos) por morfotipo en los muestreos de 2018. Isla Robinson Crusoe..	33
Figura 14. Análisis de Coordenadas Principales y Vectores de morfotipos del muestreo de (A) 2017 y (B) 2018 (Bray-Curtis).....	39
Figura 15. Contribución promedio a disimilitud entre sitios (90% acumulado) en sitios muestreados durante (A) 2017 y (B) 2018.	41
Figura 16. Poster presentado en el XLIV Congreso de Ciencias del Mar, Viña del Mar, 2025	68
Figura 17. Artículo de divulgación científica para revista Moe Varua, Edición Septiembre 2025.....	69

1. RESUMEN

El Archipiélago de Juan Fernández se caracteriza por su alto nivel de endemismo y biodiversidad, sin embargo, la mayoría de los estudios han sido enfocados en megafauna ($> 5\text{cm}$), con escasa información en grupos de menor tamaño que forman parte fundamental de estos arrecifes costeros. Dentro de esta fauna criptica, bacterias, hongos, algas, invertebrados (e.g. estadios tempranos, macrobentos emergente) y vertebrados (i.e. estadios tempranos de peces), juegan un importante rol debido a su elevada abundancia y biodiversidad. Dentro de estos organismos crípticos, la fauna de anfípodos de Chile continental ha sido estudiada desde diferentes perspectivas desde el año 1888, sin embargo, estudios de las especies que habitan en las islas oceánicas chilenas han sido escasos, comenzando desde las primeras expediciones de diversidad en estas islas (1871 a 1966).

En el presente trabajo, se presenta información actualizada sobre la diversidad de familias de anfípodos bentónicos obtenidas desde colectas realizadas por medio de atracción por luz en la Isla Robinson Crusoe en los años 2017 y 2018 en cuatro sitios cercanos a Bahía Cumberland: Sal si

puedes, Adriático, El Faro y Pangal. Por medio de análisis morfológicos se realizaron caracterizaciones al nivel taxonómico lo más bajo posible, para luego validar la información por medio de ADN barcoding. El objetivo de este trabajo fue generar una actualización de información de biodiversidad de anfipodos bentónicos del archipiélago de Juan Fernández.

Por medio de análisis morfológicos se logró identificar un total de 12 morfotipos pertenecientes a 9 familias: Ischyroceridae, Dexaminidae, Hyalidae, Podoceridae, Stenotoidae, Pontogeneiidae, Corophiidae, Aoridae y Nihotungidae, siendo Aoridae, Dexaminidae y Podoceridae las más abundantes. Nihotungidae resultó ser la más rara de estas. Del total de morfotipos, ocho pudieron ser evaluados por medio de ADN barcoding, resultando en 3 coincidencias a nivel de familia (Ischyroceridae, Aoridae y Corophiidae) y sólo una a nivel de especie (Familia Corophiidae; *Monocorophium acherusium*). En general dos de estas familias ya habían sido registradas para el AJF (Ischyroceridae, Aoridae), mientras que una familia (Corophiidae) corresponde a un nuevo registro para el área de estudio. Todas estas familias también presentan registros en Chile Continental, Perú y Pacífico Sudeste.

Los resultados de este estudio contribuyen a generar una actualización

de la fauna de anfípodos bentónicos presentes en la isla Robinson Crusoe, lo cual es relevante para una mejor comprensión de patrones de biodiversidad y endemismo de especies presentes en esta reserva de la biosfera.

Palabras Clave: Amphipoda, especies crípticas, fauna bentónica, morfología, ADN barcoding, diversidad, Archipiélago de Juan Fernández

2. ABSTRACT

The Juan Fernández Archipelago is known by its high level of endemism and biodiversity. However, most studies have primarily focused on megafauna (> 5 cm), leaving a gap in knowledge about smaller groups that are essential to coastal reefs. Within this cryptic fauna, bacteria, fungi, algae, invertebrates (i.e. early life stages, emerging macrobenthos) and invertebrates (i.e. early stages of fish) play an important role due to their high abundance and biodiversity.

Among these cryptic organisms, the amphipod fauna of continental Chile has been studied from different perspectives since 1888. However, studies of the species inhabiting the Chilean oceanic islands have been scarce since the first diversity expeditions to these islands (1871 to 1966) (Robazcylo & Castilla, 1987).

This work presents updated information on the diversity of benthic amphipod families obtained from light trap collections on Robinson Crusoe Island (2017 and 2018) at four sites near Cumberland Bay: Sal si puedes, Adriático, El Faro, and Pangal.

Morphological analyses were used to identify specimens to the lowest possible taxonomic level, and the data was subsequently validated using DNA barcoding. The aim of this research is to enhance our understanding of the biodiversity of benthic amphipods in the Juan Fernández Archipelago.

Through morphological analysis, a total of 12 morphotypes from 9 families were identified: Ischyroceridae, Dexaminidae, Hyalidae, Podoceridae, Stenotoidae, Pontogeneiidae, Corophiidae, Aoridae, and Nihotungidae. Among these, Aoridae, Dexaminidae, and Podoceridae were the most abundant, while Nihotungidae was the rarest. Out of the identified morphotypes, 8 were suitable for evaluation using DNA barcoding. This process yielded 3 matches at the family level (Ischyroceridae, Aoridae, and Corophiidae) and only 1 match at the species level (Family Corophiidae; *Monocorophium acherusium*). Notably, two of the identified families (Ischyroceridae, Aoridae) had already been recorded for the AJF, while the family Corophiidae represents a new record for the study area. All these families also have documented occurrences in mainland Chile, Peru, and the Southeast Pacific.

These results of this study contribute to updating the fauna of benthic amphipods present on Robinson Crusoe Island, which is relevant for a better understanding of biodiversity patterns and species endemism in this biosphere reserve.

Keywords: Amphipoda, Cryptic Species, Benthic Fauna, Morphology, DNA barcoding, Diversity, Juan Fernández Archipelago

3. INTRODUCCIÓN

El Archipiélago de Juan Fernández (AJF; 33°40'S,79°00'W) se ubica aproximadamente a 650 kilómetros de Chile central, en la región de Valparaíso. Se compone de 3 islas, Robinson Crusoe, Santa Clara y Alejandro Selkirk (Castilla & Oliva, 1987; Ramírez & Osorio, 2000). Sus complejos ecosistemas, además de su abundante flora y fauna, se caracterizan por un alto nivel de endemismo, lo que ha conllevado un interés histórico en investigaciones biogeográficas y filogenéticas de la biodiversidad de estas islas oceánicas (Palma 1985; Hahn *et al.* 2009; Pardo-Gandarillas *et al.* 2024).

Las islas que componen el AJF se caracterizan por una mezcla de especies tropicales, subtropicales y templadas, evidenciando la gran particularidad de estos ecosistemas marinos y su diversidad hábitats. Aunque estas islas están relativamente cercanas a Chile continental, las aguas frías y ricas en nutrientes de la corriente de Humboldt actúan como barrera natural, separando la vida marina de las islas con aquella de la costa sudamericana. Por esto, los niveles extremadamente altos de endemismo observados en el

AJF son solamente igualados por otras provincias biogeográficas aisladas, como el Pacífico Oriental Tropical y la Antártida (Friedlander *et al.* 2016).

En relación con la biodiversidad marina del AJF, el hábitat submareal está caracterizado por ambientes de arrecifes rocosos y cantos rodados, lo que facilita el asentamiento de una gran diversidad de algas, invertebrados y peces (Eddy *et al.* 2008; Ramírez & Osorio, 2000; Pérez-Matus *et al.* 2014). Específicamente, Vargas *et al.* (2014) mencionan que existe alrededor de un 18,4% de endemismo en la biodiversidad marina, donde los grupos más representativos corresponden a poliquetos (90%) y moluscos (62%). De manera similar, Rodríguez-Ruiz *et al.* (2014) reportaron 25% de endemismo en moluscos, 33% en crustáceos y 80% en equinodermos. Pérez-Matus *et al.* (2014) documentaron 26 especies de peces en el Archipiélago, 12% correspondiendo a especies endémicas. Sin embargo, la mayoría de los estudios han sido enfocados en la composición y distribución de megafauna (> 5cm), con escasa información en grupos de menor tamaño, los cuales son parte fundamental de los arrecifes costeros. Por esto, el explorar aquellos grupos con menor investigación podría significar un cambio en el nivel de endemismo descrito para el Archipiélago.

En este contexto, la evaluación de líneas base actualizadas de biodiversidad es fundamental para comprender no sólo la riqueza de especies en el ambiente marino, sino también el valor económico de la biodiversidad y las consecuencias de alteraciones en los servicios ecosistémicos debido a cambios en las estructuras comunitarias durante el Antropoceno. Sin embargo, evaluaciones exhaustivas de biodiversidad en arrecifes costeros se ven limitados por los protocolos derivados de los censos visuales, los cuales se centran mayoritariamente en hábitats bentónicos expuestos (Pearman *et al.* 2016). Existe una desventaja considerable en el conocimiento de la biodiversidad de especies crípticas que habitan en la matriz de los arrecifes, ya que muchas especies aún no han sido bien clasificadas debido a la falta de muestreos adecuados y a la dificultad en su identificación (Pearman *et al.* 2018). La evaluación de especies que habitan en sustratos de mayor complejidad podría duplicar la biodiversidad de las especies, ampliando los límites de los censos visuales en sustratos bentónicos expuestos (Pearman *et al.* 2016). Esta fauna críptica representa una gran proporción de la diversidad de los arrecifes y, por lo tanto, para conservar mejor la biodiversidad de los arrecifes en todas las escalas espaciales, es crucial comprender cómo responde la fauna críptica a los cambios ambientales (Pearman *et al.* 2018).

En este sentido, organismos crípticos que habitan en los espacios tridimensionales de los arrecifes (e.g. cavidades, cuevas, fisuras, hendiduras, poros, túneles, etc.), podrían tener un rol relevante para explicar la diversidad local, y con esto proveer información valiosa para el manejo y conservación de estos hábitats costeros (Kobluk, 1988).

Dentro de la fauna críptica, un componente fundamental corresponde al orden Amphipoda (superorden Peracarida), crustáceos de pequeño tamaño que en general oscilan desde 1 a 3 mm de largo, con la excepción de especies que pueden alcanzar hasta los 340 mm (i.e. el anfípodo de profundidad *Alicella gigantea*) (Barnard & Ingram, 1986). Estos organismos habitan en diversos ambientes marinos, desde el intermareal hasta el océano profundo; son herbívoros, detritívoros, micropredadores, carroñeros y ectoparásitos, lo que los convierte en un componente de alta importancia en los ecosistemas acuáticos (Horton *et al.* 2020). Los peracáridos tienen por característica la incubación de sus huevos en el marsupio que poseen las hembras. Además, tienen un desarrollo directo, es decir, no tienen larvas planctónicas, eclosionando como juveniles. Poseen un cuidado parental extenso, lo que incrementa la supervivencia de la progenie. Por esta razón su dispersión es

limitada, sin embargo, por medio de rafting podrían alcanzar distancias mayores (Haüssermann & Försterra, 2009; Thiel & Gutow, 2005).

Desde 1758 hasta 2016 se encuentran descritas 9980 especies, 1664 géneros, 444 subfamilias y 212 familias de anfípodos a nivel global. Un 20% de esas especies se han descubierto en la última década, siendo las especies pelágicas, en comparación a las bentónicas, aquellas que tienen mayores registros. Se estima que aún quedan 2/3 de los anfípodos por descubrir (Arfianti *et al.* 2018).

En el caso particular del AJF, diversos investigadores como Stebbing (1888), Rozbaczylo & Castilla (1987) y Pérez-Schultheiss *et al.* (2016) han registrado observaciones históricas de anfípodos en estas islas. Sin embargo, la información descrita aún es escasa, contrastando con la gran diversidad de fauna descrita para otros grupos taxonómicos presentes en el Archipiélago.

Como ocurre en una gran variedad de especies bentónicas, la taxonomía por medio de la identificación de caracteres morfológicos es compleja, ya que requiere de gran experiencia práctica para una inspección detallada de caracteres que, en muchas ocasiones, presentan una variación considerable (Costa *et al.*, 2009). Por esto, Hebert *et al.* (2003) establecieron

el análisis molecular en base al gen mitocondrial citocromo c oxidasa 1 (COI) por medio de la implementación de herramientas como la técnica de ADN barcoding, la cual contribuye a una identificación taxonómica aún más efectiva.

Por medio del uso de la metodología de ADN barcoding, en conjunto con la identificación de caracteres morfológicos definidos, el presente trabajo busca explorar en mayor detalle las identidades de las especies de anfípodos presentes en la isla Robinson Crusoe, permitiendo generar una actualización de la fauna críptica del archipiélago y con esto una mayor comprensión de patrones de biodiversidad y endemismo de especies prácticamente desconocidas en esta reserva de la biosfera.

4. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Considerando el limitado potencial de dispersión que caracteriza al orden Amphipoda (e.g. desarrollo directo y cuidado parental extendido) y altos niveles de endemismo reportados en el Archipiélago de Juan Fernández, se hipotetiza que se detectarán familias (o géneros) de anfípodos endémicos en la isla Robinson Crusoe.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Identificar las especies de anfípodos bentónicos presentes la isla Robinson Crusoe, Archipiélago de Juan Fernández, para generar una base de datos actualizada sobre una fracción importante de la biodiversidad de especies crípticas de estos arrecifes.

5.1.1 Objetivos específicos

- Realizar una revisión histórica de la fauna de anfípodos bentónicos descritos para el Archipiélago de Juan Fernández.
- Identificar morfológicamente hasta el nivel taxonómico más bajo posible las muestras de anfípodos recolectadas en la isla Robinson Crusoe.
- Estimar abundancias e índices de biodiversidad para los principales morfotipos recolectados.
- Evaluar por medio de análisis moleculares (i.e. ADN barcoding) las identidades genéticas de los morfotipos de anfípodos bentónicos recolectados en la isla Robinson Crusoe.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Análisis de literatura y colecciones biológicas

Para realizar una revisión de las especies de anfípodos presentes en el Archipiélago de Juan Fernández, se llevó a cabo una búsqueda de literatura de registros históricos del Orden Amphipoda del AJF a nivel de familia, género y/o especie en bases de datos como Google Scholar, Web Of Science, ResearchGate, Scielo, SpringerLink, WileyOnline Library, ElSevier, PubMed. Además, se utilizó la base de datos digitales del Sistema Global de Información sobre Biodiversidad (GBIF por sus siglas en inglés).

Para revisar las colecciones biológicas del Orden Amphipoda con localidad de colecta en AJF en museos de historia natural (i.e Museo Nacional de Historia Natural, Santiago; Museo de Zoología-UdeC, Concepción), se contactó directamente a los curadores de las secciones correspondientes para solicitar revisiones de los especímenes almacenados.

6.2 Identificación morfológica

Durante diciembre de 2017 (primavera) y abril de 2018 (otoño) se recolectaron muestras en Bahía Cumberland, Isla Robinson Crusoe,

centrándose en cuatro localidades al interior de la bahía: Sal si Puedes, Pangal, Adriático y El Faro (Fig. 1A). El muestreo fue realizado por medio de trampas de luz instaladas entre 12-15 m de profundidad y a 1,5 m del sustrato en hábitats bentónicos caracterizados por arrecifes rocosos (Fig. 1B). Las trampas muestrearon por una noche (i.e. la luz de las trampas atrae efectivamente entre 21:00 a 09:00 hrs.). Una vez retiradas, las trampas fueron lavadas con agua de mar y las muestras almacenadas en etanol al 97% (ver metodología en Carrasco *et. al.* 2020).

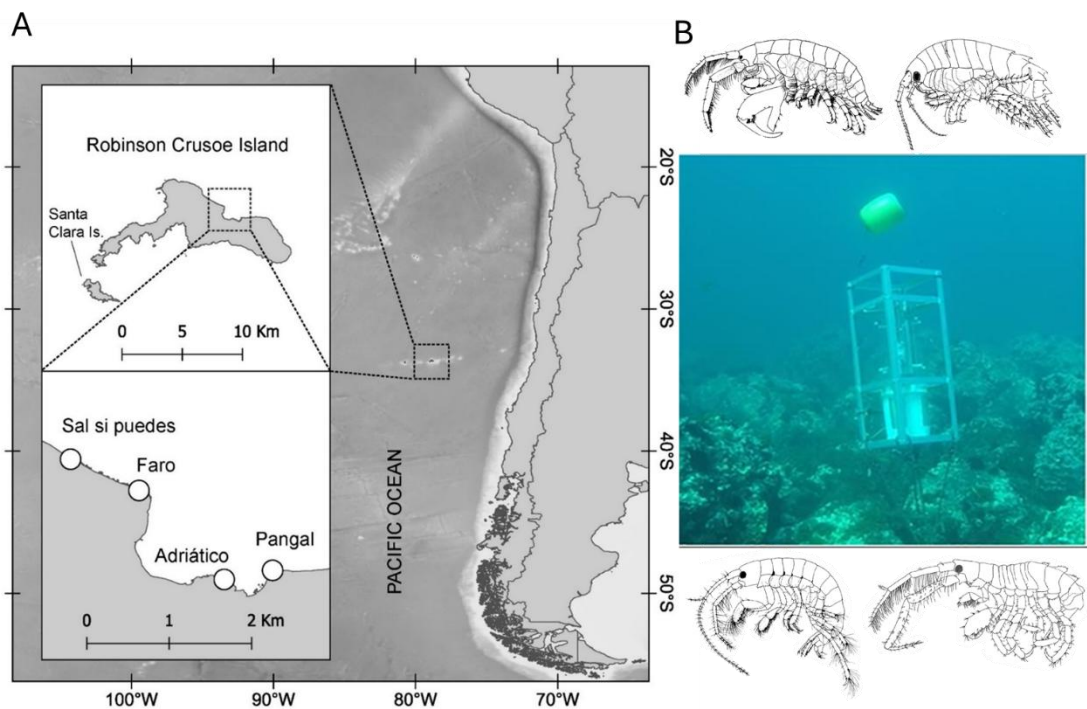


Figura 1. (A) Localidades de muestreo en Bahía Cumberland, Isla Robinson Crusoe, Archipiélago de Juan Fernández. (B) Trampa de luz utilizada para muestreo de fauna críptica en los arrecifes. Dibujos modificados de Pérez-Schultheiss *et al.* (2020).

Los muestreos realizados por medio de atracción por luz lograron capturar un total aproximado de 28,400 individuos durante 2017 y 655 individuos en 2018, con un rango de entre 10 a 23 grupos taxonómicos entre los que destacaron: Cnidaria, Platyhelminthes, Annelida, Mollusca,

Crustacea, Chordata (Carrasco *et al.* 2020). Considerando la importante representación del orden Amphipoda en ambos años, este grupo fue considerado como modelo de estudio.

La cuantificación e identificación morfológica de los individuos se realizó en el laboratorio por medio de una lupa estereoscópica (Zeiss Stemi 508) y una cámara digital (Axiocam 208 color). Cada individuo fue identificado morfológicamente al nivel taxonómico más bajo posible por medio de comparaciones con descripciones disponibles en la literatura sobre fauna continental e insular, y usando caracteres morfológicos estandarizados, tales como: largo y segmentación de antenas, tamaño y forma de gnatópodos, pleópodos, presencia de quetas en el pleón, presencia disposición, y largo de setas, tamaño de dactylus en pleópodos y gnátopodos, formas de coxas, tamaños y pigmentación de ojos, presencia y patrones de cromatóforos (Fig. 2) (Pérez-Schultheiss *et al.* 2022; Häussermann & Försterra, 2009). Para cada morfotipo identificado, se seleccionaron ejemplares tipo que fueron fotografiados y preservados en alcohol 95% para posteriores análisis moleculares.

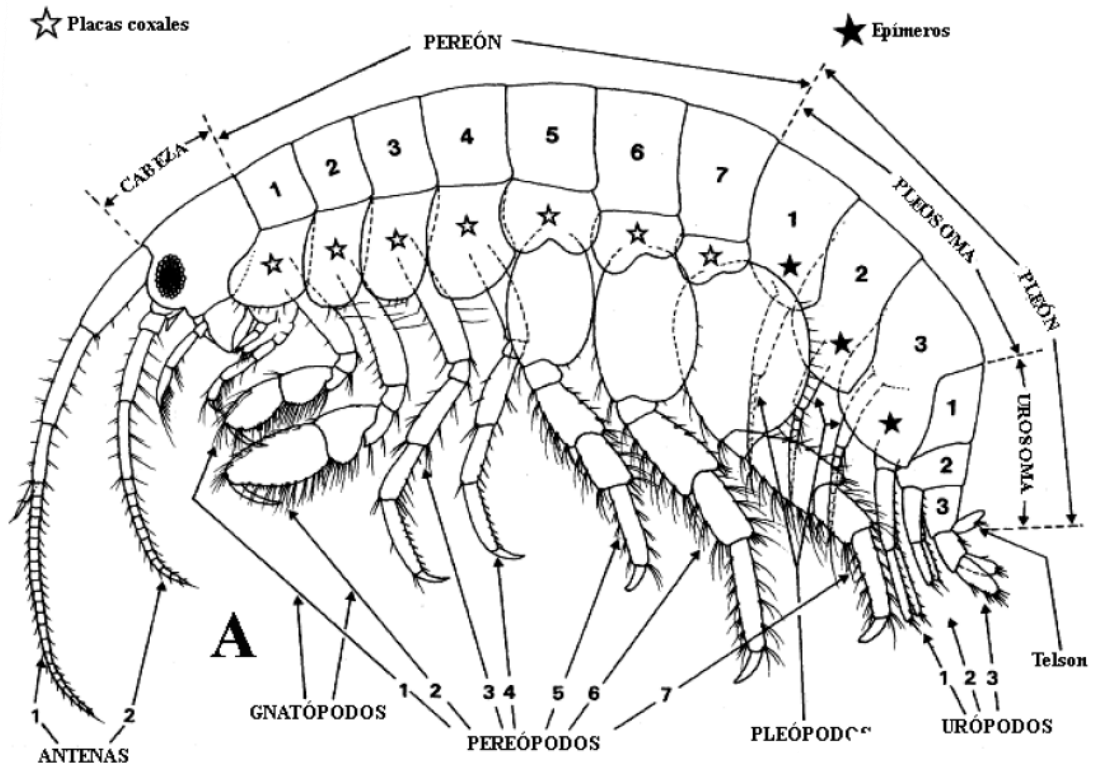


Figura 2. Morfología general de un anfípodo (Pérez-Schultheiss *et al.* 2022).

6.3 Abundancia e índices de diversidad

En cada uno de los sitios muestreados (Sal si Puedes, Pangal, Adriático y El Faro; Fig. 1), se estimó la abundancia de cada morfotipo seleccionado para luego analizar índices de diversidad alfa y beta. La diversidad alfa es la diversidad de especies a nivel local, la cual nos ayudará a comprender las

abundancias y riquezas de cada una de las familias y sus morfotipos. La diversidad beta es la relación entre la diversidad de especies a nivel local y a nivel regional. Por lo que analizar la diversidad beta nos brindará información comparativa de las localidades de estudio de la bahía Cumberland (Whittaker, 1960; Baselga & Gómez-Rodríguez, 2019).

Para analizar índices de diversidad alfa, se aplicaron los índices de (1) Shannon H' , (2) Simpson D y (3) Pielou J' , donde:

$$(1) H' = - \sum_{i=1}^S p_i \ln (p_i)$$

$$(2) D = \sum_{i=1}^S p_i^2$$

$$(3) J' = \frac{H'}{\ln(S)}$$

Donde “ p_i ” corresponde a una proporción de una especie (i) con respecto al total.

Para la diversidad beta se aplicó el índice de Bray-Curtis en conjunto con un Análisis de Coordenadas Principales. Finalmente se calculó la contribución promedio a disimilitud entre sitios (90% acumulado), donde se consideró la abundancia de cada morfotipo en ambos sitios comparados, mostrando solo aquellos que acumularon hasta el 90% de las diferencias.

Todos los análisis, gráficos y visualización de los índices de diversidad se realizaron en el programa R versión 4.4.1 (R Core Team, 2024), usando los paquetes, “VennDiagram”, “popbio”, “vegan”, “ape” y “ggplot2”.

6.4 Extracción de ADN, amplificación y secuenciación

Los individuos seleccionados para los análisis genéticos se eligieron considerando los morfotipos identificados en cada familia, procurando además contar con representantes de estos morfotipos en las tres localidades evaluadas.

La extracción de ADN total se realizó a partir del individuo completo utilizando el kit DNeasy Blood and Tissue (Qiagen), siguiendo las instrucciones del fabricante obteniendo un volumen final de 100 µl de ADN. La integridad del ADN extraído se evaluó mediante electroforesis y la calidad y cuantificación se determinó con un espectrofotómetro Nanodrop (ND-1000, ThermoFisher).

Se amplificó una secuencia parcial del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa Subunidad I (COI) para cada morfotipo. Para ello se emplearon los primers universales LCO1490: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-

3' y HC02198: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3' (Folmer *et al.* 1994). Así como su versión modificada LCO1490-JJ: 5'-CHACWAAYCATAAAGATATYGG-3' y HCO2198-JJ: 5'AWACTTCVGGRTGVCCAAARAATCA3' (Astrin & Stüben, 2008).

Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 25 µl. Para las amplificaciones con los primers de Folmer, el mix de PCR contenía los siguientes reactivos: Thermopol Reaction Buffer (1x), Mg (1,5-2,0 mM), dNTPs (0,2 mM), primers Forward y Reverse (0,5 µM), BSA (0,1 mg/ml) y Taq DNA polymerase (1,0-2,5 U/µl) y ADN templado de (20 ng). En el caso de las amplificaciones con primers modificados de Folmer, se empleó SapphireAmp® Fast PCR Master Mix (1X), primers Forward y Reverse (0,2 µM para cada uno), BSA (0,1 mg/ml) y ADN templado de (50 ng).

Los ciclos PCR se llevaron a cabo en un termociclador ThermoPol. Para los primers Folmer las condiciones fueron: desnaturalización inicial de 3 minutos a 94°C seguido de 35 ciclos de 45 segundos a 94°C, 30 segundos a 55-57 °C y 90 segundos a 72°C, con una extensión final de 10 minutos a 72°C.

Para los primers de Folmer modificados, el programa consistió en una desnaturalización inicial de 3 minutos a 94°C, seguida de 35 ciclos de 30 segundos a 94°C, 30 segundos a 51°C y 45 segundos a 72°C, con una extensión final de 5 minutos a 72°C.

Los productos de PCR que mostraron una banda de tamaño esperado según los partidores utilizados en los geles de agarosa luego de la electroforesis fueron enviados al servicio de secuenciación de MacroGen Inc. en Santiago de Chile para obtener las secuencias mitocondriales correspondientes en direcciones Forward y Reverse.

6.5 ADN Barcoding

La edición de las secuencias se realizaron en el software CodonCode Aligner (Versión 12.0.3, 2024) lo que permitió obtener secuencias consenso por individuo. Posteriormente, las secuencias consenso obtenidas se compararon con mediante la herramienta BLAST (Altschul *et al.* 1990) con secuencias disponibles en la base de datos NCBI y Genbank (Witt *et al.* 2006)

para evaluar las identidades de los morfotipos propuestos por medio del análisis morfológico.

Para mejorar la precisión de las coincidencias, se aplicaron filtros que restringieron los resultados únicamente al grupo de estudio, manteniendo el resto de los parámetros del algoritmo en su configuración por defecto. La selección de la mejor coincidencia se basó en los siguientes criterios: e-value, que indica la probabilidad de obtener un alineamiento por azar; porcentaje de identidad (Per. Ident.), que representa la proporción de bases coincidentes entre la secuencia de consulta y la de referencia; y cobertura de la secuencia de consulta (Query cover), que corresponde al porcentaje de la secuencia analizada que se alinea con la secuencia de referencia.

Se calcularon los porcentajes de diferencia restando el porcentaje de identidad (Per. Ident) a un 100%. Todos estos porcentajes resultantes se compararon con literatura.

7. RESULTADOS

7.1 Revisión histórica de la fauna de anfípodos del Archipiélago de Juan Fernández.

Desde 1888 hasta 2016 se han registrado 9 familias y 12 géneros de anfípodos pelágicos (Superorder Hyperiidea) y 9 familias y 10 géneros bentónicos (Superorder Senticaudata y Amphilochidea) para el AJF. De este total, 22 géneros han sido descritos para el Archipiélago (ver Tabla 1).

En el caso de las colecciones biológicas nacionales, fue posible constatar la escasa o casi nula información disponible en los museos consultados. Específicamente, en el MNHN existen alrededor de 5 muestras que contienen unos pocos ejemplares de las familias Aoridae, Hyalidae, e Ischyroceridae, mientras que en MZUC existen 2 muestras de la familia Talitridae.

Tabla 1. Recopilación de especies descritas para el Archipiélago de Juan Fernández desde 1888 a 2016.

Suborden	Familia	Género	Especie	Referencias
Hyperiidea	Vibiliidae	<i>Vibilia</i>	<i>Vibilia stebbingi</i>	Palma, 1985; González <i>et al.</i> 2008; Vinogradoc, 1990; Pérez-Schultheiss <i>et al.</i> 2016
	Hyperidae	<i>Hyperia</i>	<i>Hyperia gaudichaudii</i>	González <i>et al.</i> 2008
		<i>Laxohyperia</i>	<i>Laxohyperia vespuliformis</i>	Pérez-Schultheiss <i>et al.</i> 2016 ; Véliz, 2021
		<i>Themisto</i>	<i>Themisto gaudichaudii</i>	Costanzo & Crescenti, 1997; Pérez-Schultheiss <i>et al.</i> 2016
	Phrosinidae	<i>Primno</i>	<i>Primno macropa</i>	Guérin-Méneville, 1836; Palma, 1985; González <i>et al.</i> 2008; Pérez-Schultheiss <i>et al.</i> 2016
	Eupronoidea	<i>Eupronoe</i>	<i>Eupronoe maculata</i>	Palma, 1985; González <i>et al.</i> 2008
	Platyscelidae	<i>Tetrathyrus</i>	<i>Tetrathyrus forcipatus</i>	Pérez-Schultheiss <i>et al.</i> 2016; Véliz <i>et al.</i> 2021
	Lestrigonidae	<i>Hyperietta</i>	<i>Hyperietta stephensi</i>	Palma, 1985; González <i>et al.</i> 2008
		<i>Lestrigonus</i>	<i>Lestrigonus crucipes</i>	Meruane, 1980; Palma, 1985; González <i>et al.</i> 2008; Pérez-Schultheiss <i>et al.</i> 2016
			<i>Lestrigonus schizogeneios</i>	Palma, 1985; González <i>et al.</i> 2008
	Tryphanidae	<i>Trypana</i>	<i>Trypana malmii</i>	Palma, 1985; González <i>et al.</i> 2008
	Phronimidae	<i>Phronimella</i>	<i>Phronimella elongata</i>	Palma, 1985; González <i>et al.</i> 2008
	Lycaeopsidae	<i>Lycaeopsis</i>	<i>Lycaeopsis sp.</i>	Palma, 1985
Senticaudata	Ceinaidae	<i>Ceina</i>	<i>Ceina platei</i>	Schellenberg, 1935; Rozbaczylo & Castilla, 1987; González <i>et al.</i> 2008; Pérez-Schultheiss <i>et al.</i> 2016
	Hyalidae	<i>Protohyale</i>	<i>Protohyale maurobrae</i>	González <i>et al.</i> 2008
			<i>Protohyale rubra</i>	González <i>et al.</i> 2008
	Talitridae	<i>Defeo</i>	<i>Defeo selkirki</i>	Rozbaczylo & Castilla, 1987; González <i>et al.</i> 2008
		<i>Transorchestia</i>	<i>Transorchestia gracilis</i>	Milne-Edwards, 1840; Rozbaczylo & Castilla, 1987; Pérez-Schultheiss <i>et al.</i> 2016;
			<i>Transorchestia chiliensis</i>	Chilton, 1921; González <i>et al.</i> 2008; Pérez-Schultheiss <i>et al.</i> 2016
	Aoridae	<i>Aora</i>	<i>Aora anomala</i>	González <i>et al.</i> 2008; Pérez-Schultheiss <i>et al.</i> 2016;
			<i>Aora typica</i>	Rozbaczylo & Castilla, 1987; González <i>et al.</i> 2008; Pérez-Schultheiss <i>et al.</i> 2016
	Amphithoidea	<i>Sunamphitoe</i>	<i>Sunamphitoe femorata</i>	Rozbaczylo & Castilla, 1987; González <i>et al.</i> 2008; Pérez-Schultheiss <i>et al.</i> 2016
	Ischyroceridae	<i>Jassa</i>	<i>Jassa falcata</i>	Rozbaczylo & Castilla, 1987
Caprellidae	<i>Caprella</i>	<i>Caprella scaura</i>	Rozbaczylo & Castilla, 1987	
Amphilochidea	Eusiridae	<i>Cleonardo</i>	<i>Cleonardo longipes</i>	Stebbing, 1888; Pérez-Schultheiss <i>et al.</i> 2016
	Leucothoidea	<i>Leucothoe</i>	<i>Leucothoe spinicarpa</i>	González <i>et al.</i> 2008

7.2 Identificación Morfológica

Para las muestras de 2017 y 2018 se determinaron 12 y 11 morfotipos de anfípodos bentónicos, respectivamente, pertenecientes a 9 familias, incluyendo: Ischyroceridae, Dexaminidae, Hyalidae, Podoceridae, Stenothoidae, Pontogeneiidae, Corophiidae, Aoridae, y posiblemente Nihotungidae (Milne-Edwards, 1840 Stebbing, 1888; Chilton, 1921; Schellenberg, 1935; Guérin-Méneville, 1936; Meruane, 1980; Palma, 1985; Robaczyclo & Castilla, 1987; Vinogradoc, 1990; Costanzo & Crescenti, 1997; González *et al.* 2008; Pérez-Schultheiss *et al.* 2016; Véliz *et al.* , 2021).

7.2.1. Diagnósis de morfotipos

Familia Ischyroceridae Stebbing, 1899

Localidades: Pangal, Sal si Puedes, Adriático, El Faro

Descripción:

CUERPO: Cromatóforos con patrones agrupados en distintas partes del cuerpo (incluido gnatópodo 2 y antenas), a menudo formando manchas por la agrupación de muchos de ellos (Figs. 3 A, B).

APÉNDICES DE LA CABEZA: Ojos pequeños. Antenas 1 y 2 con setas abundantes, distribuidas de forma uniforme o de peine, siendo aquellas del lado ventral más largas que las del lado dorsal.

PEREÓN: Dactylus pequeños en gnatópodos de hembras. Gnatópodos grandes en machos con dactylus de gran tamaño. Gnatópodo 2 y dactilus 2 de mayor tamaño que el resto.

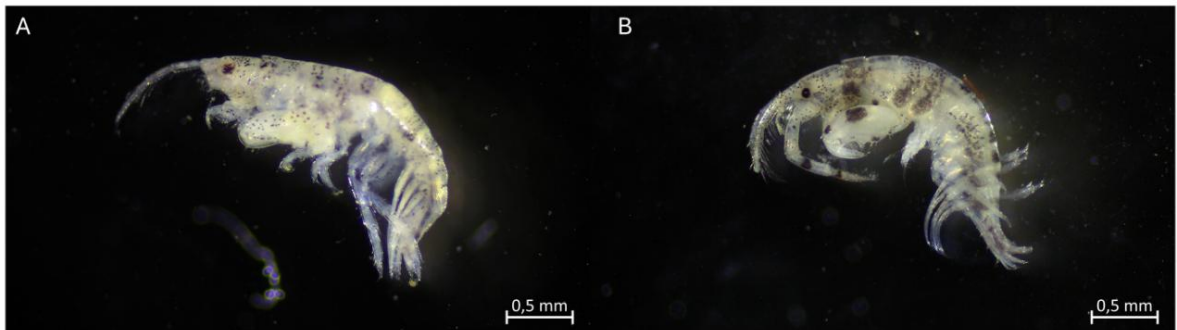


Figura 3. Familia Ischyroceridae, donde (A) y (B) corresponden a los morfotipos 1 y 2, respectivamente.

Familia: Aoridae Stebbing, 1899

Localidades: Pangal, Adriático, El Faro

Descripción:

CUERPO: Cromatóforos distribuidos en grupos en distintas partes del cuerpo (Fig. 4)

APÉNDICES DE LA CABEZA: Ojos pequeños. Antenas 1 más largas y delgadas que antenas 2. Flagelo accesorio en antenas 1. Setas largas y abundantes en antenas 2.

PEREON: Dactylus pequeños en pereópodos. Gnatópodos 1-2 con setas no ordenadas en peine filtrados, gnatópodo 1 mayor que el gnatópodo 2.



Figura 4. Familia Aoridae.

Familia: Podoceridae Leach, 1814

Localidades: Pangal, Adriático, El Faro

Descripción:

CUERPO: Segmentaciones de placas del cuerpo robustas. Presencia de cromatóforos repartidos por el cuerpo en tonalidades rojizas (Fig. 5).

APÉNDICES DE LA CABEZA: Ojos pequeños. Antenas 1 y 2 robustas, con setas largas y abundantes.

PEREÓN: Dactylus grandes y largos en pereópodos.



Figura 5. Familia Podoceridae

Familia: Dexaminidae Leach, 1814

Localidades: Pangal, Sal si puedes, Adriático, El Faro

Descripción:

CUERPO: Segmentaciones de placas en el pereón de menor tamaño en comparación a las del pleón.

APÉNDICES DE LA CABEZA: Ojos de gran tamaño. Antenas largas y delgadas. Tercera división de ambas antenas con múltiples subdivisiones, con presencias de setas en cada intersección de estas (Figs. 6 A, B).

PEREÓN: Dactylus de pereópodos delgados. Pereópodos simples.

PLEÓN: Presencia de carinas.

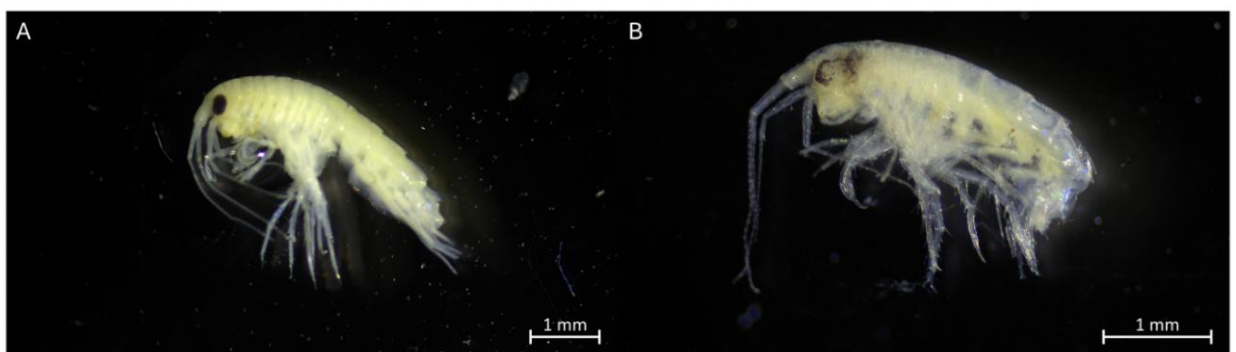


Figura 6. Familia Dexaminidae. donde (A) y (B) corresponden a los morfotipos 1 y 2, respectivamente.

Familia: Hyalidae Bulyčeva, 1957

Localidades: Pangal, Sal si puedes, Adriático, El Faro

Descripción:

CUERPO: Segmentaciones de placas del cuerpo del mismo tamaño.

APÉNDICES DE LA CABEZA: Ojos grandes. Antenas 1 más pequeñas y robustas que antenas 3, sin embargo, en comparación a otras familias, ambas antenas se consideran pequeñas. Piezas bucales prominentes (Fig. 7).

PEREÓN: Gnatópodos de forma “triangular”.

PLEÓN: Presencia de carinas.



Figura 7. Familia Hyalidae.

Familia: Pontogeneiidae Stebbing, 1906

Localidades: Pangal, Adriático

Descripción:

CUERPO: Segmentaciones de igual tamaño.

APÉNDICES DE LA CABEZA: Ojos grandes. Antenas 1 y 2 cortas, y delgadas, con múltiples segmentaciones. Piezas bucales pequeños (Fig. 8).

PEREÓN: Gnatópodos 1 y 2 pequeños. Dactylus en pereópodos pequeños.



Figura 8. Familia Pontogeneiidae.

Familia: Stenothoidae Boeck, 1871

Localidades: Pangal, Sal si puedes, Adriático

Descripción:

CUERPO: Coxa 3 más grande que el resto, Coxa 4 sin excavación posterodorsal, Coxa 1 reducida (Fig. 9).

APÉNDICES DE LA CABEZA: Ojos sin pigmentación. Antenas 1 y 2 largas y delgadas.

PEREÓN: Gnatópodos 2 grandes, con dactylus prominentes. Dactylus en pereópodos pequeños.



Figura 9. Familia Stenothoidae.

Familia: Corophiidae Leach, 1814

Localidades: Pangal, Sal si puedes

Descripción:

CUERPO: Cuerpo delgado.

APÉNDICES DE LA CABEZA: Antenas robustas, sin embargo, antena 1 es mucho más delgada que antena 2. Pedúnculo 1 de ambas antenas notablemente más robustos que los otros. Ojos pequeños en la parte anterior de la cabeza, con escasa separación (Fig. 10).

PEREÓN: Setas en gnatópodos largas y abundantes. Gnatópodos 1-2 con peines de setas largas formando canasta filtradora. Gnátopodo 1 menos que el gnatópodo 2.



Figura 10. Familia Corophiidae.

Familia: Probable Nihotungidae J.L. Barnard, 1972 (Familia no determinada)

Localidades: Sal si puedes

Descripción:

CUERPO: Coxa 2 más grande que el resto, tapando a las demás. Manchas agrupadas por todo el cuerpo.

APÉNDICES DE LA CABEZA: Antenas extremadamente cortas. Piezas bucales prominentes (Fig. 11).

PEREÓN: Gnatópodos pequeños.



Figura 11. Familia Nihotungidae (Familia no determinada)

7.3 Abundancia e Índices de Biodiversidad

El número total de individuos en cada año de muestreo fue de 14,957 y 196 para 2017 y 2018, respectivamente. Debido a estas diferencias en abundancia, las comparaciones inter-anales fueron obviadas; sin embargo, las comparaciones entre sitios son presentadas en detalle para cada año. En los muestreos realizados en 2017, Aoridae fue la familia con mayor abundancia en las localidades de Pangal y Sal si puedes, con 42.1% y 75.2%, respectivamente. Podoceridae, fue la familia más abundante en Adriático (28.3%), e Ischyroceridae en El Faro (69,1%) (Fig.12; Tabla 2).

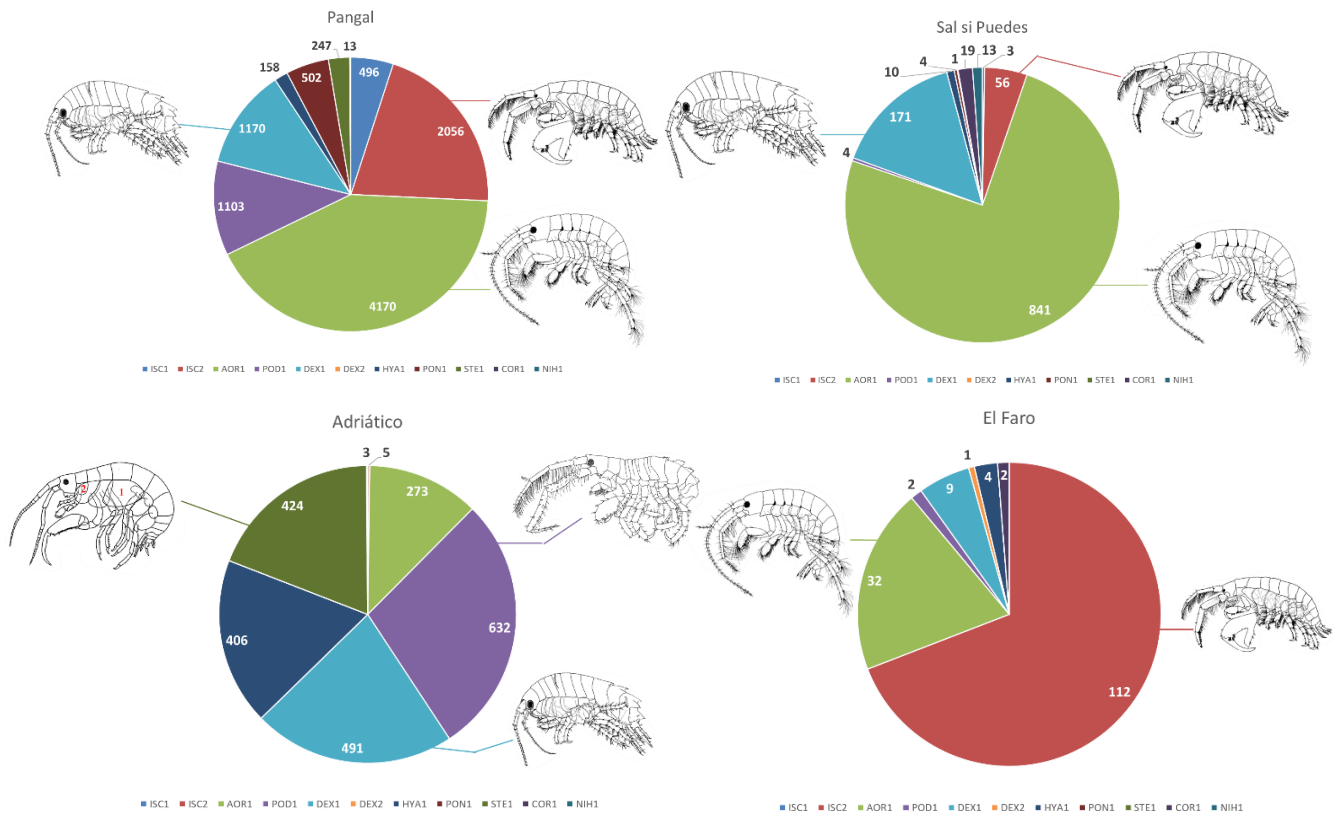


Figura 12. Abundancia (n° de individuos) por morfotipo en los muestreos de 2017. Isla Robinson Crusoe. Ilustraciones modificadas de Pérez- Schultheiss et al. (2022). Las siglas poseen las tres primeras letras de las familias y el número de cada morfotipo.

En los muestreos realizados en 2018, Aoridae nuevamente fue la familia con más abundancia en la localidad de Pangal con un 57.1%.

Pontogeneiidae fue la familia más abundante de Sal si Puedes con 33.3%. Y en Adriático, Dexaminidae con un 29.3% (Fig. 13; Tabla 3).

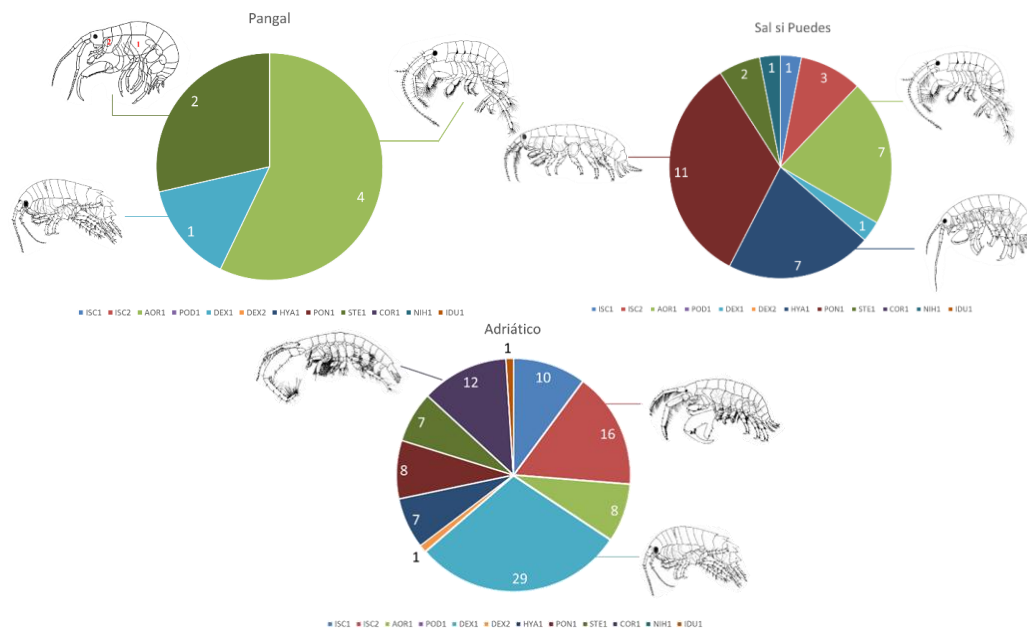


Figura 13. Abundancia (n° de individuos) por morfotipo en los muestreos de 2018. Isla Robinson Crusoe. Ilustraciones modificadas de Pérez- Schultheiss et al. (2022). Las siglas poseen las tres primeras letras de las familias y el número de cada morfotipo.

Tabla 2. Abundancia (n° de individuos) en muestreos realizados en 2017.

Morfotipo	Familia	Abundancia por localidad			
		Pangal	Sal si Puedes	Adriático	El Faro
ISC1	Ischyroceridae	496	3	-	-
ISC2	Ischyroceridae	2056	56	5	112
AOR1	Aoridae	4170	841	273	32
POD1	Podoceridae	1103	4	632	2
DEX1	Dexaminidae	1170	171	491	9
DEX2	Dexaminidae	-	-	-	1
HYA1	Hyalidae	158	10	406	4
PON1	Pontogeneiidae	502	4	-	-
STE1	Stenothoidae	247	1	424	-
COR1	Corophiidae	13	19	3	2
NIH1	Nihotungidae?	-	13	-	-
	Total	9915	1122	2234	162

Tabla 3. Abundancia (n° de individuos) en muestreos realizados en 2018.

Morfotipo	Familia	Abundancias por localidad		
		Pangal	Sal si Puedes	Adriático
ISC1	Ischyroceridae	-	1	10
ISC2	Ischyroceridae	-	3	16
AOR1	Aoridae	4	7	8
POD1	Podoceridae	-	-	-
DEX1	Dexaminidae	1	1	29
DEX2	Dexaminidae	-	-	1
HYA1	Hyalidae	-	7	7
PON1	Pontogeneiidae	-	11	8
STE1	Stenothoidae	2	2	7
COR1	Corophiidae	-	-	12
NIH1	Nihotungidae	-	1	-
IDU1	Idunellidae	-	-	-
	Total	7	33	98

Para 2017, se evidenció que, de las 4 localidades, Pangal fue la más diversa. En contraste, Sal si puedes fue el sitio menos diverso. Adriático fue la más equitativa en términos de morfotipos repartidos en su abundancia (Tabla 4 A). En 2018, Adriático evidenció la mayor diversidad, mientras que Pangal fue la menos diversa (Tabla 4 B).

Tabla 4. Índices de diversidad alfa para muestreos (A) 2017 y (B) 2018 (Shannon sensible a spp. raras. Simpson sensible a spp. comunes).

A)

Localidad	Riqueza	Shannon	Simpson_1_D	Pielou
Pangal	9	1.655	0.252	0.753
Sal Si Puedes	10	0.877	0.588	0.381
Adriático	7	1.595	0.212	0.820
El Faro	7	0.967	0.521	0.820

B)

Localidad	Riqueza	Shannon	Simpson_1_D	Pielou
Pangal	3	0.956	0.429	0.870
Sal Si Puedes	8	1.730	0.216	0.832
Adriático	11	2.084	0.155	0.869

Respecto a similitudes entre localidades, Sal si puedes y Adriático fueron las más similares, mientras que Pangal y El Faro fueron las más distintas, siendo esta última localidad la que más difiere del resto (Tabla 5A). El morfotipo que más aportó a esta diferenciación fue Dexaminidae 2, ya que fue solamente identificado en El Faro (Tabla 5A; Figura 14A).

Al igual que en 2017, Sal Si Puedes y Adriático fueron las localidades más similares en 2018. Sin embargo, todas las localidades evidenciaron composiciones de morfotipos distintas. Pangal fue la localidad más distinta, pudiendo explicarse por su baja riqueza de morfotipos (Tabla 5B; Figura 14B).

Tabla 5. Índices de diversidad beta de muestreo de (A) 2017 y (B) 2018.

A)

Bray-Curtis	Pangal	Sal Si Puedes	Adriático
Sal Si Puedes	0.8001268	-	-
Adriático	0.7021977	0.7216925	-
El Faro	0.9680460	0.8364486	0.9549249

B)

Bray-Curtis	Pangal	Sal Si Puedes
Sal Si Puedes	0.6500000	-
Adriático	0.8679245	0.5606061

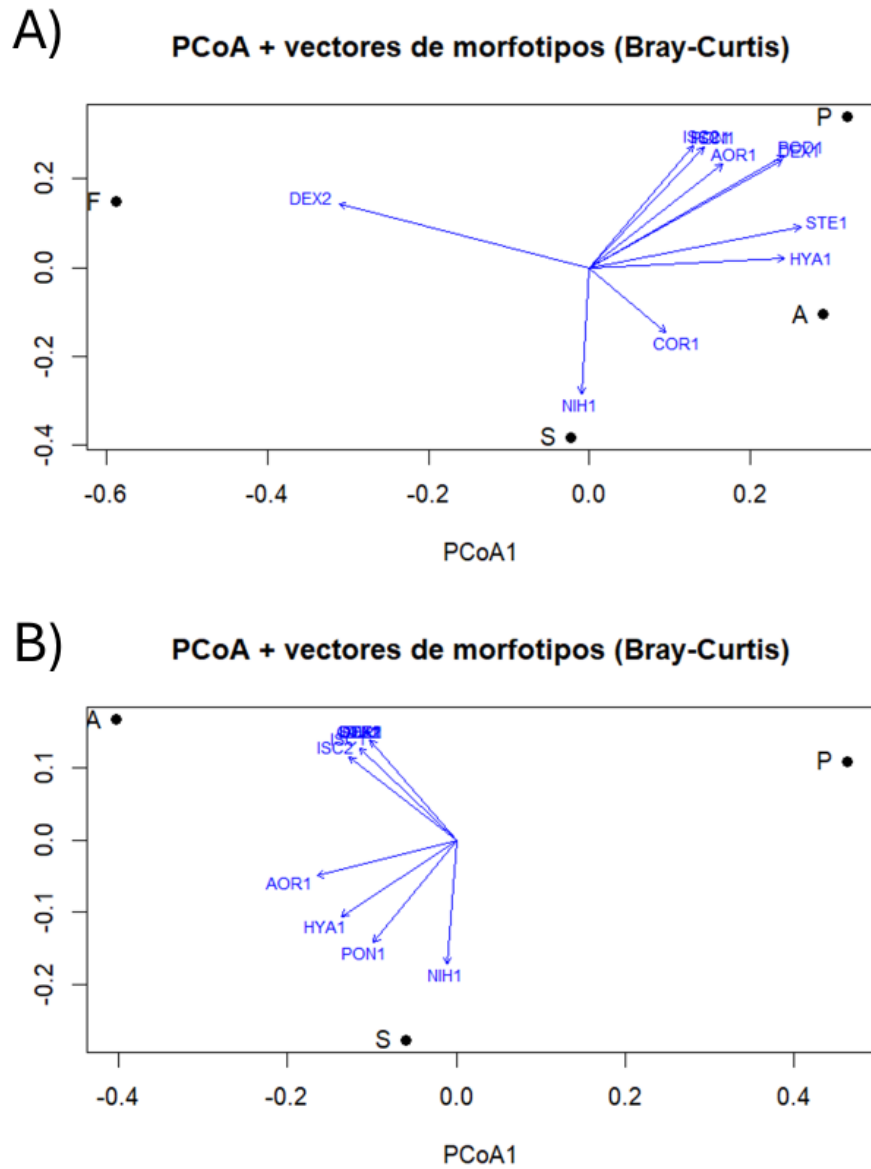


Figura 14. Análisis de Coordenadas Principales y Vectores de morfotipos del muestreo de: (A) 2017 y (B) 2018 (Bray-Curtis).

Por otro lado, en los gráficos de Contribución promedio a la disimilitud entre sitios, la familia que más aportó a la diferenciación entre localidades de 2017 fue Aoridae 1, seguida en la mayoría de los casos por Ischyroceridae 2. En la mayoría de las comparaciones, más de una familia contribuyó a la disimilitud, sin embargo, en Sal si puedes vs El Faro, solo un morfotipo contribuyó a esta diferencia (Fig. 14). A diferencia de otras comparaciones, en Sal si puedes vs Adriático, Podoceridae 1 fue quien encabezó la contribución a la disimilitud. A pesar de ello, las demás familias del gráfico aportan sin una diferencia marcada entre ellas (Fig. 15).

Para 2018 Pontogeneiidae 1 fue la familia que aportó en mayor proporción a la diferenciación entre Pangal y Sal si Puedes. Dexaminidae 1 fue el morfotipo que contribuyó más a la disimilitud entre Pangal y Adriático, y Sal si Puedes y Adriático. El resto de morfotipos aportaron también a la disimilitud, pero con menor impacto (Fig. 15).

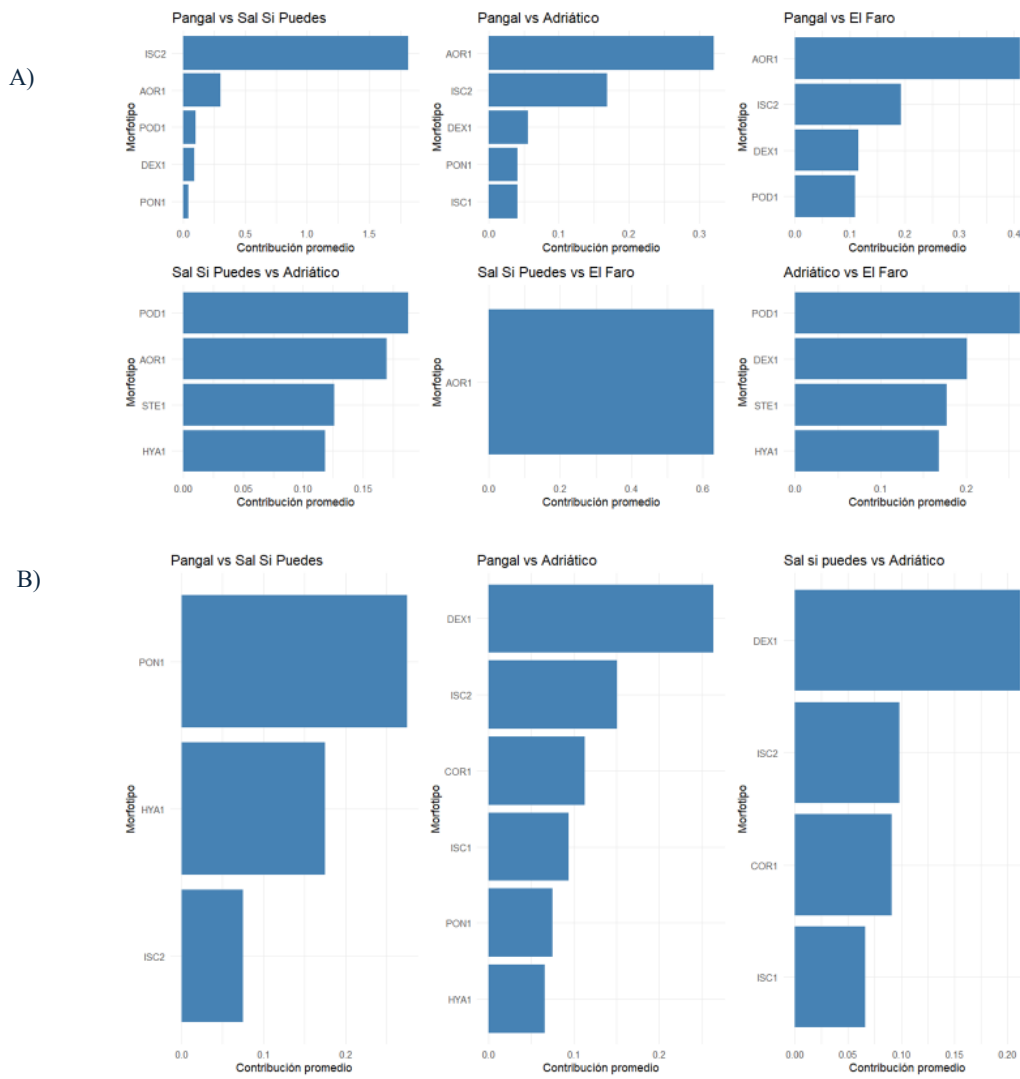


Figura 15. Contribución promedio a disimilitud entre sitios (90% acumulado) en sitios muestreados durante (A) 2017 y (B) 2018.

7.4 Extracción de ADN, amplificación y ADN barcoding.

Se logró amplificar exitosamente una secuencia parcial del gen COI de 8 de los 12 morfotipos propuestos. Se obtuvieron secuencias de alrededor de 600 a 680 pb en la mayoría de morfotipos. Solo una de las secuencias obtuvo 381 pb.

Ocho de las 17 pruebas de Blastn entregaron similitudes (entre 80 y 99%) con aquellas especies de las familias inicialmente propuestas. Solo dos secuencias correspondientes a la familia Corophiidae coincidieron significativamente con secuencias de la base de datos, presentando altos porcentajes de identificación (94 y 100%) y cobertura (99%), permitiendo identificar el morfotipo 1 como *Monocorophium acherusium*.

Sólo en una de las secuencias del morfotipo 1 de la familia Dexaminidae se obtuvo un resultado cercano a la familia esperada. La mejor coincidencia entregada por Blastn corresponde a la Familia Pardaliscidae, que, si bien no es la misma familia propuesta, comparte la Superfamilia Dexaminoidea con la familia Dexaminidae. En el caso de la secuencia de Dexaminidae 1, esta evidenció coincidencia con la secuencia de la especie *Ampelisca*

brachycladus, que no es de la misma familia que la secuencia objetivo. Taxonómicamente comparten el Infraorden Lysianassida.

Algo similar ocurrió en la secuencia objetivo de Stenothoidae 1, que coincidió con *Paralicella tenuipes*, pero en este caso taxonómicamente coinciden en el Suborden Amphilochidea.

Ambas secuencias objetivo del morfotipo 1 de Aoridae tuvieron como mejor coincidencia *Aora gracilis*, pero su porcentaje de identificación (83-84%) no es lo suficiente alto para considerar que sea la misma especie, sin embargo, el porcentaje de query cover, y el e-value relativamente pequeño sugiere que podría coincidir a nivel de género o familia.

Coincidencias genéticas específicas son proporcionadas a continuación:

Familia Ischyroceridae Stebbing, 1899. Los resultados de secuenciación del gen mitocondrial COI para los dos morfotipos caracterizados (Fig. 3 A, B) evidenciaron cerca de un 83% de similitud con otras especies del género *Jassa*, incluyendo *J. slatteryi*, *J. staudei* y *J. monoi* (Tabla 6).

Familia Aoridae Stebbing, 1899. Los resultados de secuenciación del gen mitocondrial COI para este morfotipo (Figura 4) evidenciaron cerca de un 84% de similitud con la especie *Aora gracilis* (Tabla 6).

Familia Podoceridae Leach, 1814. Los resultados de secuenciación del gen mitocondrial COI para este espécimen (Figura 5) no fueron exitosos (Tabla 6).

Familia Dexaminidae Leach, 1814. Los resultados de secuenciación del gen mitocondrial COI para estos morfotipos (Figura 6) evidenciaron cerca de un 81% de similitud con la especie *Amphelisca brachycladus* y miembros de la familia Pardaliscidae, y en menor proporción con la especie *Awacaris yecoensis* (80 a 81%) (Tabla 6).

Familia Hyalidae Bulyčeva, 1957. Los resultados de secuenciación del gen mitocondrial COI para este espécimen (Figura 7) no fueron exitosos (Tabla 6).

Familia Pontogeneiidae Stebbing, 1906. Los resultados de secuenciación del gen mitocondrial COI para estos morfotipos (Figura 8) evidenciaron cerca de un 86% de similitud con miembros de la familia Hyalidae (Tabla 6).

Familia Stenothoidae Boeck, 1871. Los resultados de secuenciación del gen mitocondrial COI para este morfotipo (Figura 9) evidenciaron cerca de un 84% de similitud con la especie *Apherusa bispinosa* (familia Calliopiidae) (Tabla 6).

Familia Corophiidae Leach, 1814. Los resultados de secuenciación del gen mitocondrial COI para este morfotipo (Figura 10) evidenciaron un 99% de similitud con la especie *Monocorophium acherusicum* (Tabla 6).

Familia Probable Nihotungidae J.L. Barnard, 1972.- Los resultados de secuenciación del gen mitocondrial COI para este espécimen (Figura 11) no fueron exitosos (Tabla 6).

Para el resto de las secuencias no mencionadas, si bien tuvieron coincidencias con secuencias de genbank, las especies no coinciden a niveles taxonómicos menores que el Orden Amphipoda.

Tabla 6. Resultados de Blastn NCBI. *S/I: Sin información.

Morfotipo	Familia	Localidad	Longitud de fragmento (pb)	HIT	Query cover	E value	Per. Ident	Divergencia	Acc. Len	Accession
ISC2	Ischyroceridae	El Faro	687	<i>Jassa slatteryi</i>	85%	2,00E-141	82.76%	17.24%	618	EU243809.1
ISC1	Ischyroceridae	Pangal	619	<i>Jassa slatteryi</i>	95%	2,00E-142	82.68%	17.32%	657	MT517960.1
ISC1	Ischyroceridae	Pangal	611	<i>Jassa staudei</i>	95%	2,00E-126	81.13%	18.87%	648	MG318022.1
ISC2	Ischyroceridae	Pangal	381	<i>Jassa morinói</i>	98%	3,00E-92	83.60%	16.4%	650	MG312115.1
AOR1	Aoridae	Pangal	597	<i>Aora gracilis</i>	96%	3,00E-149	83.62%	16.86%	658	KT208534.1
AOR1	Aoridae	Pangal	628	<i>Aora gracilis</i>	91%	2,00E-157	84.62%	15.38%	622	PQ608813.1
DEX1	Dexaminidae	El Faro	684	<i>Awacaris yezoensis</i>	96%	3,00E-145	81.33%	18.67%	658	LC146831.1
DEX1	Dexaminidae	Pangal	623	Pardaliscidae sp.	89%	4,00E-123	81.65%	18.35%	657	MN346460.1
				<i>Awacaris yezoensis</i>	98%	2,00E-126	80.61%	19.39%	658	LC146844.1
DEX1	Dexaminidae	Pangal	626	<i>Ampelisca brachycladus</i>	97%	4,00E-133	81.28%	18.72%	650	HQ941722.1
DEX2	Dexaminidae	El Faro	681	<i>Awacaris yezoensis</i>	97%	3,00E-145	81.33%	18.67%	658	LC146831.1
PON1	Pontogeneiidae	Pangal	626	Hyalidae sp.	87%	2,00E-161	86.03%	13.7%	606	OQ512687.1
STE1	Stenothoidae	Adriático	621	<i>Apherusa bispinosa</i>	96%	4,00E-163	84.33%	15.67%	658	MG935128.1
COR1	Corophiidae	Sal si puedes	592	<i>Monocorophium acherusicum</i>	100%	0.0	99.83%	0.17%	658	KP254467.1
COR1	Corophiidae	Sal si puedes	651	<i>Monocorophium acherusicum</i>	94%	0.0	99.67%	0.33%	658	KP254467.1
POD 1	Podoceridae		S/I	S/I	S/I	S/I	S/I	S/I	S/I	S/I
HYA 1	Hyalidae		S/I	S/I	S/I	S/I	S/I	S/I	S/I	S/I
NIH 1 (?)	Nihotungidae		S/I	S/I	S/I	S/I	S/I	S/I	S/I	S/I

8. DISCUSIÓN

8.1 Identificación taxonómica por medio de análisis morfológico y posibles nuevos registros para AJF

La fauna de anfípodos en aguas chilenas ha sido poco estudiada taxonómicamente, con gran parte del conocimiento basado en material obtenido por unas pocas expediciones extranjeras (Pérez-Schultheiss *et al.* 2016). Los primeros registros sobre las especies de anfípodos que habitan las costas del AJF proviene de los trabajos realizados por Stebbing (1888), Chilton (1921), Schellenberg (1935) (Rozbaczylo & Castilla, 1987). En general, González *et al.* (2008) sugiere que hay 21 familias y 178 especies de anfípodos para Chile (Pérez-Schultheiss *et al.* 2016).

De las 9 familias de anfípodos bentónicos descritos para el AJF, sólo se encontraron Hyalidae, Aoridae e Ischyroceridae en las muestras. Sin embargo, seis de las familias propuestas para los morfotipos del presente estudio, Dexaminidae, Pontogeneiidae, Stenothoidae, Podoceridae, Nihotungidae y Corophiidae, corresponden a nuevos registros. Estas familias

han sido descritas con anterioridad para diversas áreas biogeográficas como la provincia biogeográfica Magallánica, área de transición, Pacífico Sureste y la provincia biogeográfica peruana (Pérez-Schultheiss *et al.* 2016). Por medio de análisis genéticos solo se pudieron confirmar 3 familias propuestas para nuestros morfotipos (Corophiidae, Ischyroceridae y Aoridae). Si bien ninguna de estas familias es endémica del área de estudio, Corophiidae correspondería a un nuevo registro para el AJF.

8.2 Índices de abundancia

Aoridae, Ischyroceridae, Dexaminidae, Podoceridae, Pontogeneiidae fueron las familias con mayores abundancias registradas para el AJF. En este sentido, si revisamos literatura de anfípodos, ya sea trabajos de taxonomía, moleculares, o ecológicos, también se puede evidenciar que, dadas las mayores abundancias de estos grupos, existe una recurrencia a estudiar un grupo reducido de géneros y familias como *Jassa*, *Aora*, *Gammarus*, *Caprella*, *Corophium*, *Hyallega* (Barnard & Ingram, 1986; Baird *et al.* 2011; Costa *et al.* 2007; Costa *et al.* 2009; Hebert *et al.* 2003; Knox *et al.* 2020;

Lobo *et al.* 2017; Prasannakumar *et al.* 2020; Pérez-Schultheiss, 2016; Pilgrim & Darling, 2010; Radulovici *et al.* 2009; Raupach *et al.* 2015; Véliz *et al.* 2021; Witt *et al.* 2006).

De las familias con mayores abundancias para el AJF, Ischyroceridae y Aoridae, estas se encuentran ampliamente estudiadas en otras zonas geográficas que poseen climas fríos a templados (i.e Mediterráneo, Costa Portuguesa, Costa neozelandesa, Mar Negro, Atlántico Norte), con altos registros.

8.3 Análisis molecular

La distancia promedio inter-especies (individuos de una misma especie) del orden Decapoda tienen un promedio de 0.46%, mientras que las distancias en especies de un mismo género es de un promedio 17.16%, variando de un 4.92% en el género de cangrejos *Chionoecetes*, hasta un 31.39% en el género *Gammarus* (familia Gammaridae), perteneciente a Amphipoda. Las divergencias fueron inferiores en 1% en el 75% de las comparaciones del género *Gammarus*, mientras que en el resto de las

comparaciones dentro de las especies de géneros de decápodos fue del 86% (Costa *et al.* 2007). Por otro lado, Lobo *et al.* (2016) consideran que una coincidencia de 2 secuencias a nivel de especie debe tener <2% de distancia genética, por lo que, en base a esto podemos confirmar que las secuencias objetivo pertenecientes a Corophiidae (disimilitud de 0.17% y 0.33%) corresponden a *Monocorophium acherusicum*.

Las distancias promedio dentro y entre especies (0,6% y 24,9%, respectivamente) también estuvieron dentro del rango reportado para anfípodos (Costa *et al.* 2007, 2009; Radulovici *et al.* 2009; Raupach *et al.* 2015; Borges *et al.* 2016; Lobo *et al.* 2016).

En géneros como *Ampelisca*, *Caprella*, *Corophium*, *Gammarus*, *Jassa*, y *Melita*, se reportan distancias promedio entre congéneres de 24.9%. Mientras que en familias Aoridae, Caprellidae, Gammaridae, Maeridae y Melitidae existen distancias confamiliares de 25% (Lobo *et al.* 2016). Se puede inferir que las secuencias objetivo de la familia Aoridae al obtener divergencias de 16.86% y 15.38% para el único morfotipo, se puede afirmar que pertenecen a la respectiva familia.

Para el género *Jassa*, se reportan divergencias inter-específicas de 14.6% y 16.0% (Pilgrim & Darling, 2010). Por otro lado, Lobo *et al.* (2016) reportan que *Jassa* tiene divergencias inter-género cercanas a 24%. Cada uno de los Blastn de la familia Ischyroceridae presentaron disimilitudes de 16.4% a 18.87% con especies del género *Jassa*, superando a la divergencia intra-específica de literatura por poco (~16%), pero, sin sobrepasar la divergencia congénico (~24%).

El Blast morfotipo de Dexaminidae, entregó como mejor coincidencia una secuencia de *Ampelisca brachycladus*, de la familia Ampeliscidae. El género *Ampelisca* tiene una divergencia intraespecífica de 0-2.5% (Lobo *et al.* 2016). La divergencia de la secuencia objetivo es de ~18%, superando la divergencia intraespecífica reportada por la literatura, por lo que se puede inferir que la mejor coincidencia con las secuencias de Genbank no fue la esperada, ya que morfológicamente las familias Dexaminidae y Ampeliscidae son distintas a primera vista, sugiriendo que las secuencias que se encuentran en Genbank pueden contener identidades erróneas.

Los morfotipos de la familia Pontogeneiidae y Stenothoidae tuvieron coincidencias con especies de otras familias, Hyalidae y Alicellidae

respectivamente, con disimilitudes de alrededor de un 15%. Si seguimos el criterio sugerido por Lobo *et al.* (2016) de distancias confamiliares (25%), las especies entregadas por Blast, deberían corresponder a las correspondientes familias. Sin embargo, las características morfológicas no coinciden con las familias de los morfotipos propuestos, pudiendo esto explicarse en que dos situaciones. Primero es posible que representen individuos que aún no posean las suficientes secuencias en la base de datos. En un segundo caso, podrían corresponder a especies endémicas no reportadas anteriormente, por lo que se esperaría que estas secuencias no se encuentren en Genbank.

La región del código de barras de COI tiene un potencial considerable como base para un sistema de identificación de ADN para crustáceos (Costa *et al.* 2007; Prassannakumar *et al.* 2020). Un perfil de COI basado en representantes individuales de 150 familias de crustáceos resultó ser un 95% efectivo para asignar especies recién encontradas en el orden correcto (Costa *et al.* 2007; Prassannakumar *et al.* 2020). Sin embargo, cada familia de anfípodos tiene convergencias intraespecíficas diferentes, ya que mucha de la variabilidad genética entre anfípodos depende de rasgos como hábitat e historia geológica (Knox *et al.* 2020; Howell *et al.* 2004; Roques *et al.* 2002).

Además, las estructuras genéticas pueden ser bastante distintas incluso entre especies de anfípodos estrechamente relacionadas (Knox *et al.* 2020; Baird *et al.* 2011; Baird *et al.* 2020; Prassannakumar *et al.* 2020). Por lo tanto, es necesario definir umbrales diferenciales específicos de la familia para delinear las especies de anfípodos.

La calidad de datos de secuencias en NCBI se ha cuestionado, e incluso se ha demostrado que las secuencias subidas a la plataforma muchas veces no han sido correctamente editadas, presentan contaminaciones, identificaciones taxonómicas erróneas (Harris, 2003; Valentini *et al.* 2009; Stover *et al.* 2017). Dependiendo del grupo de estudio, puede existir una representación limitada de secuencias de las especies a consultar por lo que se sugiere ser cauteloso con los resultados de coincidencias que entrega Blast. Es importante aplicar filtros, revisar el origen de las secuencias, y complementar todo con otro tipo de análisis, como lo son el cálculo de divergencias y la comparación basada en morfología.

9. CONCLUSIÓN

La diversidad de anfípodos del Archipiélago de Juan Fernández aún se encuentra poco estudiada en comparación a otros grupos taxonómicos con los que comparten hábitat (e.g megafauna), así como anfípodos de otras regiones geográficas (e.g. Australia, Europa) (Arfianti *et al.* 2018).

Por medio de identificación morfológica, se proponen 5 nuevas familias para el Archipiélago, siendo estas Dexaminidae, Podoceridae, Stenothoidae, Pontogeneiidae, Corophiidae.

La integración de técnicas morfológicas y moleculares permitió confirmar la presencia de 3 familias en AJF (Corophiidae, Ischyroceridae y Aoridae), de las cuales, el individuo de la familia Corophiidae correspondería a una nueva especie para el Archipiélago (*Monocorophium acherusicum*). Si bien ninguna de estas resultó aportar a los porcentajes de endemismo de la isla, no se descarta que, con otros tipos de muestreo, amplificando otras regiones del ADN u otros análisis genéticos más robustos (SNPs) se puedan encontrar especies propias de este ecosistema. Por otro lado, tampoco se puede descartar la posibilidad de que no exista ninguna especie de anfípodos endémica.

Amphipoda es un grupo con gran discusión taxonómica debido a sus intrincadas características morfológicas, lo que denota la importancia en la implementación de técnicas morfológicas y moleculares en conjunto para lograr adecuadas discusiones en relación con divergencias genéticas inter e intraespecíficas.

En este sentido, no fue posible confirmar la hipótesis de trabajo por completo, ya que, si bien encontraron nuevos registros para AJF, ninguna de estas familias fue endémica. Sin embargo, la escasa información disponible para estos sistemas insulares también podría sugerir que aquellas secuencias objetivo en las cuales no se obtuvieron coincidencias exitosas podrían corresponder a nuevas especies; no obstante, aún se necesita profundizar en aspectos morfológicos y moleculares para tener mayor certeza en esta afirmación.

En este sentido, Arfianti *et al.* 2018 sugieren que la fauna de anfípodos a escala global aún necesita mayores estudios, ya que 2/3 de las especies aún no son descritas, lo cual sería el doble de la proporción esperada para otros grupos marinos y terrestres. En las últimas décadas, la aparición de nuevos taxónomos ha aumentado la cantidad de descripciones, sin embargo, para

potenciar aún más el descubrimiento de anfípodos se recomienda estudiar áreas poco muestreadas con microhábitats bentónicos.

Desde una perspectiva ecológica, y considerando la importancia de las áreas marinas coteras protegidas del AJF, el conocimiento de la fauna críptica que habita en los arrecifes del Archipiélago se torna fundamental para la implementación de planes de manejo y conservación de estos delicados ecosistemas.

10. REFERENCIAS

- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman D.J (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3):403-10.
- Arfianti, T., Wilson, S., & Costello, M. J. (2018). Progress in the discovery of amphipod crustaceans. *PeerJ*, 6, e5187.
- Astrin, J. J. & Stüben, P.E. (2008) Phylogeny in cryptic weevils: Molecules, morphology and new genera of western Palaearctic Cryptorhynchinae (Coleoptera: Curculionidae). *Invertebrate. Systematics*, 22(5):503–522.
- Baselga, A., & Rodríguez, C. G. (2019). Diversidad alfa, beta y gamma:¿cómo medimos diferencias entre comunidades biológicas?. *Nova Acta Científica Compostelana (Biología)*, 26: 39-45
- Barnard, J. L., & Ingram, C. L. (1986). The supergiant *amphipod Alicella gigantea* Chevreux from the North Pacific gyre. *Journal of Crustacean Biology*, 6(4), 825-839.

- Baird, H.P., Miller, K.J., & Stark, J.S. (2011). Evidence of hidden biodiversity, ongoing speciation and diverse patterns of genetic structure in giant Antarctic amphipods. *Molecular Ecology* 20(16), 3439-3454.
- Borges L.M.S., Hollatz, C., Lobo, J., Cunha, A.M., Vilela A.P., Calado, G., Coelho, R., Costa A.C., Ferreira, M.S.G., Costa, M.H., & Costa, F.O. (2016). With a little help from DNA barcoding: investigating the diversity of Gastropoda from the Portuguese coast. *Scientific Reports*, 6(1), 20226.
- Carrasco, S.A., Bravo, M., Avilés, E., Ruíz, P., Yori, A., & Hinojosa, I.A. (2020). Exploring overlooked components of remote South-east Pacific oceanic islands: Larval and macrobenthic assemblages in reef habitats with distinct underwater soundscapes. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystem*. 31:273–289.
- Carrasco, S.A., Vandecasteele, L., Rivadeneira, M.M., Fernández, M., & Pérez-Matus, A. (2017). Spatial and short-term variability of larval, post-larval and macrobenthic assemblages associated with subtidal kelp forest ecosystems in Central Chile. *Marine Biology Research*, 13(10), 1041-1058.
- Castilla, J. & Oliva, D. (1987). Islas oceánicas chilenas: aspectos descriptivos y potencialidades. En J. C. Castilla (Ed.) *Islas oceánicas chilenas:*

conocimiento científico y necesidades de investigaciones, pp 169-189.

Ediciones Universidad Católica de Chile.

Chilton, C. (1921). A small collection of Amphipoda from Juan Fernandez. In: Skottsberg C. (Ed.). *The Natural History of Juan Fernandez and Easter Island*. (Vol. III. Zoology, part I. pp. 81-92) Almqvist y Wiksells Boktryckeri, Uppsala.

Costa, F.O., deWaard, J.R., Boutillier, J., Ratnasingham, S., Dooh, R.T., Hajibabaei, M., & Hebert, P.D.N. (2007). Biological identifications through DNA barcodes: the case of the Crustacea. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 64(2): 272–295.

Costa, F.O., Henzler, C.M., Lunt, D.H., Whiteley, N.M., & Rock, J. (2009). Probing marine Gammarus (Amphipoda) taxonomy with DNA barcodes. *Systematics and Biodiversity*, 7(4), 365–379.

Costanzo, G. & Crescenti, N. (1997). Amphipods. In: L. Guglielmo and A. Ianora (Eds.) *Atlas of Marine Zooplankton, Straits of Magellan: Amphipods, Euphausiids, Mysids, Ostracods, and Chaetognaths*. 275 pp. Springer Verlag Berlin Heidelberg,

- Conlan, K.E. (1990). Revision of the crustacean amphipod genus *Jassa* Leach (Corophioidea: Ischyroceridae). *Canadian Journal of Zoology*, 68(10), 2031–2075.
- Friedlander, A.M., Ballesteros, E., Caselle, J.E., Gaymer, C.F., Palma, A.T., Petit, I., Varas, E., Muñoz- Wilson, A., & Sala, E. (2016) Marine Biodiversity in Juan Fernández and Desventuradas Islands, Chile: Global Endemism Hotspots. *PLoS ONE* 11(1): e0145059.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology.*, 3: 294-299.
- Gonzalez, E. (1991). Actual state of gammaridean amphipoda taxonomy and catalogue of species from Chile. *Hydrobiologia*, 223, 47-68.
- González, E., Haye, P., Balanda, M., & Thiel, M. (2008). Lista sistemática de especies de peracáridos de Chile (Crustacea, Eumalacostraca). *Gayana* (Concepción), 72(2), 157-177.

- Hahn, I., Römer, U., Vergara, P. & Walter, H. (2009). Biogeography, diversity, and conservation of the birds of the Juan Fernández Islands, Chile. *Vertebrate Zoology*, 59, 103-114.
- Haüssermann, V., & Försterra, G. (Eds.) (2009). *Marine benthic fauna of Chilean Patagonia*. Nature in Focus.
- Harris, D. J. (2003). Can you bank on GenBank?. *Trends in ecology & evolution*, 18(7), 317-319.
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., & deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313-321.
- Horton, T., De Broyer, C., Bellan-Santini, D., Coleman, C. O., Copilaş-Ciocianu, D., Corbari, L., Daneliya, M.E., Dauvin, J.C., Decock, W., Fanini L., Fiser, C., Gasca, R., Grabowski, M., Guerra-García, J.M., Hendrycks, E.A., Hughes, L.E., Jauma, D., Kim, Y.H., King, R.A., ... Zeidler, W. (2023). The World Amphipoda Database: history and progress. *Records of the Australian Museum*, 75(4):329-342.

- Howell, K.L., Rogers, A.D., Tyler, P.A., Billett, D.S.M. (2004). Reproductive isolation among morphotypes of the Atlantic seastar species *Zoroaster fulgens* (Asteroidea : Echinodermata). *Marine Biology* 144(5), 977–984.
- Knox, M. A., Hogg, I. D., Pilditch, C. A., Garcia-R, J. C., Hebert, P. D., & Steinke, D. (2020). Contrasting patterns of genetic differentiation for deep-sea amphipod taxa along New Zealand's continental margins. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 162, 103323.
- Kobluk, D. (1988). Cryptic faunas in reefs: ecology and geologic importance. *Palaios*, 379-390.
- Lobo, J., Ferreira, M. S., Antunes, I. C., Teixeira, M. A., Borges, L. M., Sousa, R., Gomes, P.A., Costa, M.H., Cunha, M.R., & Costa, F.O. (2017). Contrasting morphological and DNA barcode-suggested species boundaries among shallow-water amphipod fauna from the southern European Atlantic coast. *Genome*, 60(2), 147-157.
- Palma S. 1985. Plancton marino de las aguas circundantes al archipiélago de Juan Fernández. En: Arana P. (ed), *Investigaciones marinas en el Archipiélago de Juan Fernández* (pp. 59-70). Editorial Universitaria.

- Pardo-Gandarillas, M.C., Carrasco, S.A., Varela, A.I., & Ibáñez, C.M. (2024). Systematic and biogeography of two sympatric octopuses from the remote Juan Fernández Archipelago, South Pacific Ocean. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 34, 1685–1706.
- Prasannakumar, C., Manikantan, G., Vijaylaxmi, J., Gunalan, B., Manokaran, S., & Pugazhvendan, S. R. (2020). Strengthening of marine amphipod DNA barcode libraries for environmental monitoring. *bioRxiv*, 2020-08.
- Pearman, J. K., Anlauf, H., Irigoien, X., & Carvalho, S. (2016). Please mind the gap—Visual census and cryptic biodiversity assessment at central Red Sea coral reefs. *Marine Environmental Research*, 118, 20-30.
- Pearman, J. K., Leray, M., Villalobos, R., Machida, R. J., Berumen, M. L., Knowlton, N., & Carvalho, S. (2018). Cross-shelf investigation of coral reef cryptic benthic organisms reveals diversity patterns of the hidden majority. *Scientific Reports*, 8(1), 8090.
- Pérez-Matus, A., Ramirez, F., Eddy, T. D., & Cole, R. (2014). Subtidal reef fish and macrobenthic community structure at the temperate Juan Fernández Archipelago, Chile. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 42(4), 814-826.

- Pearman, J. K., Leray, M., Villalobos, R., Machida, R. J., Berumen, M. L., Knowlton, N., & Carvalho, S. (2018). Cross-shelf investigation of coral reef cryptic benthic organisms reveals diversity patterns of the hidden majority. *Scientific Reports*, 8(1), 8090.
- Pérez-Schultheiss, J. (2016). Sinopsis de la superfamilia Lysianassoidea (Amphipoda: Gammaridea) en Chile. *Boletín Museo Nacional de Historia Natural*, 65, 193-246.
- Pérez-Schultheiss, J., Merino-Yunnissi, C. & Gutiérrez, D. (2022) Claves para la identificación de las familias del orden Amphipoda (sensu lato) (Crustacea: Pericarida) presentes en Chile, con una lista actualizada de las especies. *Publicación Ocasional del Museo Nacional de Historia Natural*, Santiago, Chile. 73: 5-69.
- Pilgrim, E. M., & Darling, J. A. (2010). Genetic diversity in two introduced biofouling amphipods (*Ampithoe valida* & *Jassa marmorata*) along the Pacific North American coast: investigation into molecular identification and cryptic diversity. *Diversity & Distributions*, 16(5).
- R Core Team (2024). *_R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

- Radulovici, A.E., Sainte-Marie, B., and Dufresne, F. (2009). DNA barcoding of marine crustaceans from the Estuary and Gulf of St Lawrence: a regional-scale approach. *Molecular Ecology Resources*, 9(s1): 181–187.
- Ramírez, M., & Osorio, C. (2000). Patrones de distribución de macroalgas y macroinvertebrados intermareales de la isla Robinson Crusoe, Archipiélago de Juan Fernández, Chile. *Investigaciones Marinas*, 28, 1-13.
- Raupach, M.J., Barco, A., Steinke, D., Beermann, J., Laakmann, S., Mohrbeck, I., Neumann, H., Kihara, T.C., Pointner, K., Radulovici, A., Segelken-Voigt, A., Wesse, C., & Knebelsberger, T. (2015). The application of DNA barcodes for the identification of marine crustaceans from the North Sea and adjacent regions. *PLoS One*, 10(9): e0139421.
- Rodríguez-Ruiz, M. C., Andreu-Cazenave, M., Ruz, C. S., Ruano-Chamorro, C., Ramírez, F., González, C., Carrasco, S.A., Pérez- Matus, A. & Fernández, M. (2014). Initial assessment of coastal benthic communities in the Marine Parks at Robinson Crusoe Island. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 42(4), 918-936.

- Roques, S., Sevigny, J.M., Bernatchez, L. (2002). Genetic structure of deep-water redfish, *Sebastes mentella*, populations across the North Atlantic. *Marine Biology* 140 (2), 297–307
- Rozbaczylo, N. & Castilla, J. C. 1987. Invertebrados marinos del Archipiélago de Juan Fernández. En: Castilla, J.C. (Ed.). Islas oceánicas chilenas: conocimiento científico y necesidades de investigaciones (pp. 167-189). Santiago: Ediciones Universidad Católica de Chile.
- Schellenberg, A. (1935). Amphipoden von Chile und Juan Fernandez, gesammelt von Prof. W. Goetsch. *Zoologische Jahrbucher*, 67(4): 225-234.
- Thiel, M., & Gutow, L. (2005) The Ecology of Rafting in the Marine Environment. I. the Floating Substrata. *Oceanography and Marine Biology*, 42:181-264
- Valentini, A., Pompanon, F., & Taberlet, P. (2009). DNA barcoding for ecologists. *Trends in ecology & evolution*, 24(2), 110-117.
- Vargas, R., Smith-Ramírez, C., González, C., & Fernández, M. (2014). Reserva de la Biosfera Archipiélago Juan Fernández: endemismo para conservar. En: Moreira-Muñoz, A., & Brosdorf, A (Eds.) *Reservas de la Biosfera de Chile: Laboratorios para la Sustentabilidad* (pp.126-143). Academia de Ciencias

Austriaca, Pontificia Universidad Católica de Chile, Instituto de Geografía, Santiago, serie Geolibros.

Véliz, C., Mujica, A., & Nava, M. (2021) Hyperiid amphipods distribution between the central coast and oceanic islands off Chile, southeastern Pacific. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 49(1): 169-181.

Vinogradov, G.M. (1990) Pelagic amphipods (Amphipoda, Crustacea) from the South-Eastern Pacific. *Trudy Instituta Okeanologii AN SSSR* [Trans. P.P. Shirshov Inst. of Oceanology Ac. Sci. USSR], 124: 27-104.

Witt, J. D., Threlhoff, D. L., & Hebert, P. D. (2006). DNA barcoding reveals extraordinary cryptic diversity in an amphipod genus: implications for desert spring conservation. *Molecular Ecology*, 15(10), 3073-3082.

Whittaker, R.H. (1960). Vegetation of the Siskiyou Mountains, Oregon and California. *Ecological Monographs*, 30: 280-338.

11.ANEXO

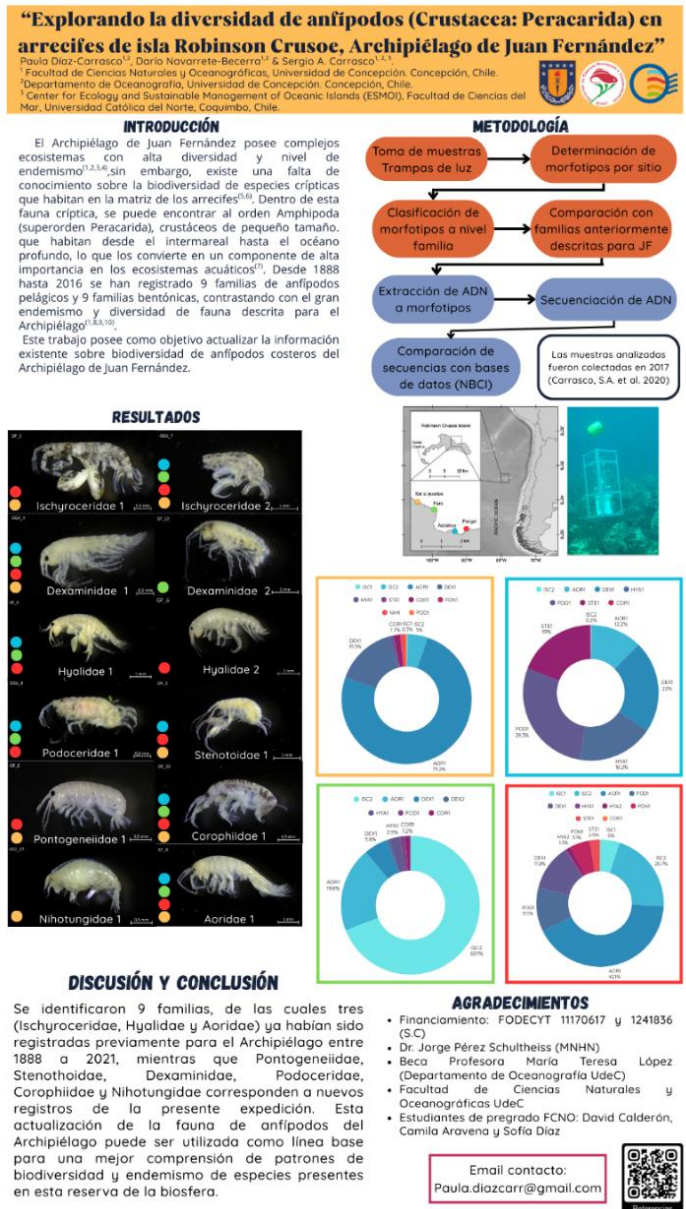
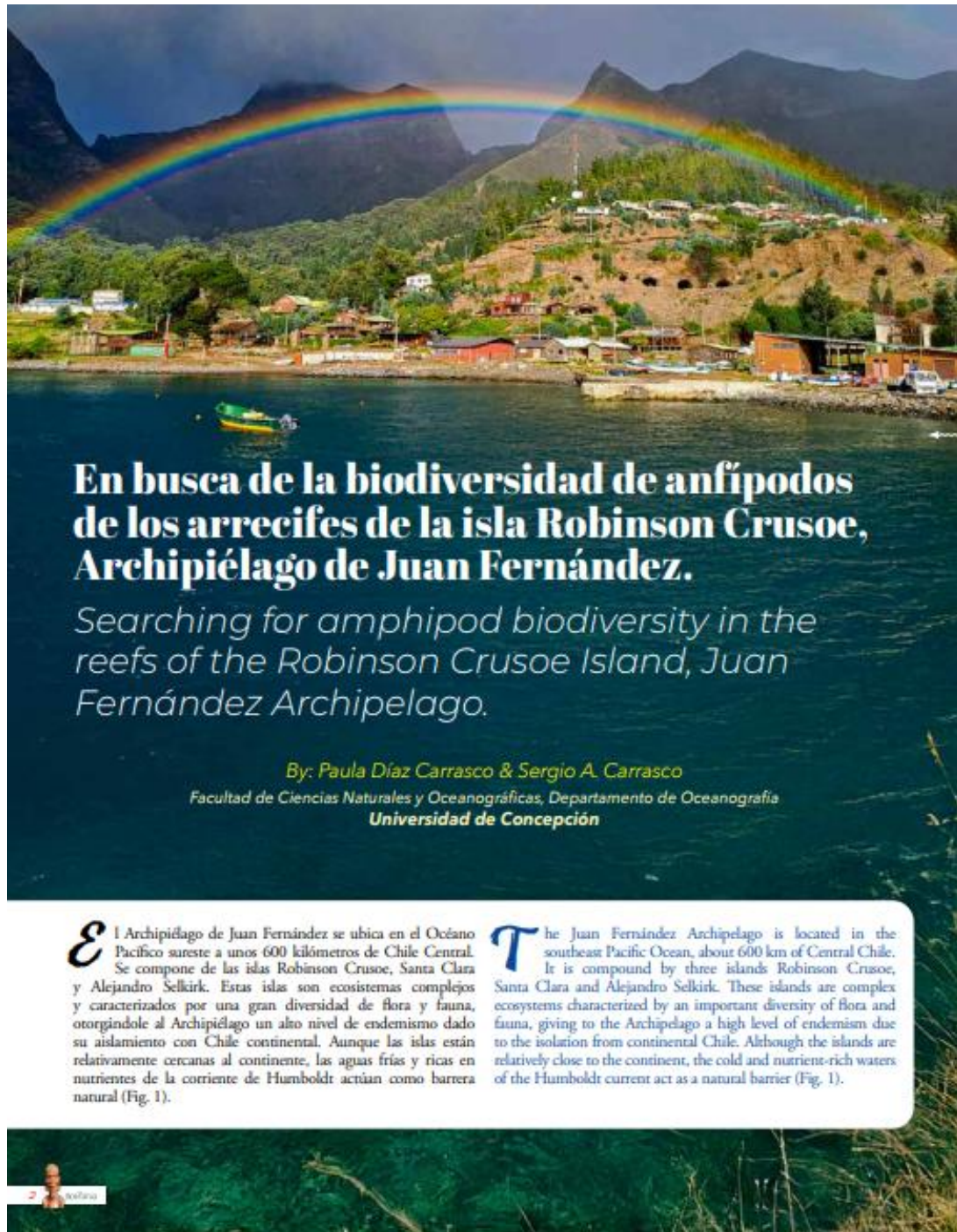


Figura 16. Poster presentado en el XLIV Congreso de Ciencias del Mar, Viña del Mar, 2025



En busca de la biodiversidad de anfípodos de los arrecifes de la isla Robinson Crusoe, Archipiélago de Juan Fernández.

Searching for amphipod biodiversity in the reefs of the Robinson Crusoe Island, Juan Fernández Archipelago.

By: Paula Díaz Carrasco & Sergio A. Carrasco
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Departamento de Oceanografía
Universidad de Concepción

El Archipiélago de Juan Fernández se ubica en el Océano Pacífico sureste a unos 600 kilómetros de Chile Central. Se compone de las islas Robinson Crusoe, Santa Clara y Alejandro Selkirk. Estas islas son ecosistemas complejos y caracterizados por una gran diversidad de flora y fauna, otorgándole al Archipiélago un alto nivel de endemismo dado su aislamiento con Chile continental. Aunque las islas están relativamente cercanas al continente, las aguas frías y ricas en nutrientes de la corriente de Humboldt actúan como barrera natural (Fig. 1).

The Juan Fernández Archipelago is located in the southeast Pacific Ocean, about 600 km of Central Chile. It is composed by three islands Robinson Crusoe, Santa Clara and Alejandro Selkirk. These islands are complex ecosystems characterized by an important diversity of flora and fauna, giving to the Archipelago a high level of endemism due to the isolation from continental Chile. Although the islands are relatively close to the continent, the cold and nutrient-rich waters of the Humboldt current act as a natural barrier (Fig. 1).

Figura 17. Artículo de divulgación científica para revista Moe Varua, Edición Septiembre 2025.



AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Quien suscribe, Paula Soledad Díaz Carrasco, 21.040.815-0, alumna de la carrera de Biología Marina, de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, declara ser autor de “Explorando la biodiversidad de anfípodos (Crustacea: Peracarida) en los arrecifes de la Isla Robinson Crusoe, Archipiélago de Juan Fernández” y conceder derecho de publicación, comunicación al público y reproducción de esa obra, en forma total o parcial en cualquier medio y bajo cualquier forma del mismo, a la Universidad de Concepción, Chile, para formar parte de la colección material o digital de cualquiera de las bibliotecas de la Universidad de Concepción y del Repositorio UDEC. Esta autorización es de forma libre y gratuita, y considera la reproducción de la obra con fines académicos y de difusión tanto nacional como internacionalmente.

Asimismo, quien suscribe declara que dicha obra no infringe derechos de autor de terceros.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Paula Soledad Díaz Carrasco", positioned above a horizontal line.