



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**Divergencia genómica y morfométrica de *Stenoplax limaciformis* en
un gradiente latitudinal**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

JESSICA RAQUEL HERNÁNDEZ PÉREZ

TUTOR PRINCIPAL: **DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU**
INSTITUTO DE ECOLOGÍA

COMITÉ TUTOR: **DRA. CLAUDIA PATRICIA ORNELAS GARCÍA**
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
DR. ALEJANDRO EMMANUEL GONZÁLEZ VOYER
INSTITUTO DE ECOLOGÍA

MÉXICO, CD. MX. MARZO, 2025



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**PROTESTA UNIVERSITARIA DE INTEGRIDAD Y
HONESTIDAD ACADÉMICA Y PROFESIONAL**

(Graduación con trabajo escrito)

De conformidad con lo dispuesto en los artículos 87, fracción V, del Estatuto General, 68, primer párrafo, del Reglamento General de Estudios Universitarios y 26, fracción I, y 35 del Reglamento General de Exámenes, me comprometo en todo tiempo a honrar a la institución y a cumplir con los principios establecidos en el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente con los de integridad y honestidad académica.

De acuerdo a lo anterior, manifiesto que el trabajo escrito titulado:

Divergencia genómica y morfométrica de *Stenoplax limaciformis* en un gradiente latitudinal

Que presenté para obtener el grado de DOCTOR(A) EN CIENCIAS, es original, de mí autoría y lo realicé con rigor metodológico exigido por el Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas, citando las fuentes de ideas, textos, imágenes, gráficos u otro tipo de obras empleadas para su desarrollo.

En consecuencia, acepto que la falta de cumplimiento de las disposiciones reglamentarias y normativas de la Universidad, en particular las ya referenciadas en el Código de Ética, llevará a la nulidad de los actos de carácter académico administrativo del proceso de obtención de mi grado académico.

Atentamente



HERNANDEZ PEREZ JESSICA RAQUEL
No. de cuenta UNAM: 307164821

(Nombre, firma y número de cuenta del estudiante)



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**Divergencia genómica y morfométrica de *Stenoplax limaciformis* en
un gradiente latitudinal**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

JESSICA RAQUEL HERNÁNDEZ PÉREZ

TUTOR PRINCIPAL: **DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU**
INSTITUTO DE ECOLOGÍA

COMITÉ TUTOR: **DRA. CLAUDIA PATRICIA ORNELAS GARCÍA**
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
DR. ALEJANDRO EMMANUEL GONZÁLEZ VOYER
INSTITUTO DE ECOLOGÍA

MÉXICO, CD. MX. MARZO, 2025

COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO
COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
ENTIDAD INSTITUTO DE ECOLOGÍA
OFICIO: CGEP/CPCB/IE/0209/2025
ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente


Me permito informar a usted que, en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **27 de enero de 2025** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** de la estudiante **HERNÁNDEZ PÉREZ JESSICA RAQUEL** con número de cuenta **307164821** con la tesis "**DIVERGENCIA GENÓMICA Y MORFOMÉTRICA DE *Stenoplax limaciformis* EN UN GRADIENTE LATITUDINAL**", bajo la dirección del **DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU**, quedando integrado de la siguiente manera:

PRESIDENTE:	DRA. ELLA GLORIA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ
VOCAL:	DRA. GUILLERMINA ALCARAZ ZUBELDIA
VOCAL:	DRA. MARÍA ADELA MONREAL GÓMEZ
VOCAL:	DR. GERARDO RIVAS LECHUGA
SECRETARIO:	DR. ALEJANDRO EMMANUEL GONZÁLEZ VOYER

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 11 de marzo de 2025

COORDINADOR DEL PROGRAMA


DR. ARTURO CARLOS II BECERRA BRACHO



c. c. p. Expediente del alumno

ACBB/ERR/EARR/err

Agradecimientos institucionales

Al Posgrado en Ciencias Biológicas y su programa de doctorado, así como al Instituto de Ecología.

Agradezco el apoyo económico brindado a través de la beca no 750384, CV 631430 otorgada por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT), que ha pasado a ser la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI).

Gracias al financiamiento obtenido por el Presupuesto operativo del Instituto de Ecología otorgado al Dr. Daniel Piñero entre 2019 y 2022.

Agradezco a los miembros de mi comité tutor, al Dr. Daniel Ignacio Piñero Dalmau, a la Dra. Claudia Patricia Ornelas García y al Dr. Alejandro Emmanuel González Voyer por su asesoría durante mis estudios de doctorado.

Agradecimientos personales

Daniel Piñero siempre estaré infinitamente agradecida contigo, por haberme recibido con mis quitones, por haberme guiado en el camino de la genética, por haberme resuelto mil dudas y por enseñarme a resolver sola otras tantas. Gracias por alentarme a hacer cosas que creía no podía hacer, por el apoyo económico en muchas actividades, por todas las pláticas y consejos que me diste en los momentos más oportunos. Gracias por acompañarme a campo, aunque ni la zoología ni el mar sean lo tuyo, fue una gran aventura donde conocimos a nuestras amigas las g... jaja. Gracias por aceptarme por segunda vez, eres un gran tutor y una gran persona, me siento muy afortunada y agradecida de que hayas sido mi Maestro durante todos estos años.

Quiero agradecer a los miembros del jurado: Dra. Ella Vázquez, Dra. Guillermina Alcaráz, Dra. Adela Monreal, Dr. Alejandro González Voyer y al Dr. Gerardo Rivas, por aceptar ser parte de él y por enriquecer mi trabajo con sus comentarios.

Agradezco a la Dra. Nancy Gálvez por su asesoría en el laboratorio de Genética y Ecología, y por su apoyo en las salidas a campo. Así como a la Odontóloga Anabel Domínguez por su apoyo técnico en el mismo laboratorio.

Al Ing. Ernesto Campos “El Grillo” por su asesoría, mantenimiento, y soporte informático para el uso del clúster CONABIO, esencial en la realización de los análisis genómicos. Así como al Ing. César Rentería Ortega por reconectarme al mismo clúster.

Al Ing. Miguel Baltazar por su apoyo en el mantenimiento del equipo de cómputo utilizado para realizar esta tesis.

A la Lic. Erika Rodríguez por su guía y apoyo con todos los trámites realizados durante todos los años como alumna del posgrado.

Gracias a todas las personas que me acompañaron y apoyaron volteando rocas en busca de quitones, a Atzimba Toledano, Azalea Guerra, Nancy Gálvez, Daniel Piñero, Lupita Martínez, Erik Rodríguez, Omar Ojeda, Brian Urbano y Adonis Minguër. Sin ustedes no habría sido posible hacer un muestreo tan amplio. Gracias por acompañarme a la aventura.

Luis Osorio, recuerdo la plática que tuvimos en el laboratorio, yo estaba confundida con los datos ambientales, tú con toda la experiencia y amabilidad me diste un consejo simple para ti, pero a mí me ayudó a utilizar correctamente los datos ambientales que analicé en esta tesis, Gracias. Contar con tu amistad y la de Rusby ha sido muy grato, su presencia le da un toque muy alegre al laboratorio, ambos me han enseñado mucho.

A Azalea Guerra, mi hermana maíz, gracias por guiarme en el mundo de la genómica, por acompañarme a campo y por alentarme siempre. En la vida hay pláticas difíciles y tú siempre procuras atenuarlas para mí, gracias por eso y por mantenerme cerca.

Gracias a la Dra. Martha Reguero por permitirme consultar bibliografía y participar en los seminarios del Malacolab, y sobre todo por siempre recibirme como parte del grupo. Gracias a mis amigos y compañeros malacólogos: Omar, Xochitl, Deneb, Erik, Pame, Etel, Gabs, Cit, Marbe, Jalil, Lina y Lau, aunque la vida nos ha llevado por distintos caminos, es bueno saber que están ahí. Y por supuesto, gracias a Brian por introducirme en el mundo de los moluscos y acompañarme hasta caminar sola, claro que te hago caso (por ti llegué a los quitones) y me alegra tenerte como malaco guía y amigo.

Gracias a mis amigos del posgrado (y de la vida) Eric y Sharif, aunque nuestros caminos se han vuelto paralelos, saber que seguimos caminando cerca me alienta a no detener el paso. ¡a, tomaste el camino más lejano, pero sé que de alguna forma seguimos cerca, gracias por ir a campo conmigo y por estar dispuesta a aprender de quitones para apoyarme, gracias por todas las pláticas y aventuras en todos estos años. Gracias a los tres por su apoyo, tenerlos a hecho esta aventura mucho más amena, los quiero mucho.

Gracias a mis amigas de la vida Karla y Chan, no importa cuantos años pasen, ustedes siempre son un lugar bonito y seguro. Gracias a Zayra, por darme tu apoyo a través de los años sin importar de que se trate.

Gracias a todas las personas que formaron parte del “Mal del Puerco” por los comentarios y sugerencias que ayudaron a mejorar mi trabajo cuando iba empezando.

Gracias al orfanato y a mis queridas huérfanas: Nancy, Elsa, Gaby y Yannire, el día a día con su compañía ha sido maravilloso, me han ayudado a crecer y aprender en muchos sentidos. Sus palabras me han ayudado en muchas ocasiones y volvieron la vida académica un lugar bonito y seguro. Las sesiones con ustedes también han sido muy gratas y divertidas, Daniel gracias por conseguirme hermanas adoptivas jajaja (aunque sé que no lo hiciste por mí).

Gracias a mis compis de cubo: Jerry, Mapa, Óscar, Amanda, Mariana y Andrés, en muchas ocasiones hicieron el trabajo mucho más ameno. Gracias a todos los miembros del laboratorio de Genética y Ecología con quienes he compartido pláticas, comidas o un café: Gaby, Gerardo, Diego, Nastienka, Mafer, Ella, Mariana Rojas, Anabel, Isa, Pepillo, Meli, Heriberto, Omar, Emiliano, Fer y todas las personas (que seguro olvido) con las que he compartido en ese espacio.

Gracias Hugo Benítez, por toda tu amabilidad y disponibilidad desde el curso en línea, por guiarme para armar el rompecabezas de datos y enseñarme a ver con otros ojos la MG. Sobre todo, gracias por dejarme conocer a tu grandioso y bacan equipo del EMELab, Maca, Amado, Joldan, Isa, Ale, Rocío, Margarita, Ingrid, Juan Sebastián, Thania, Pablo, los que he visto virtualmente y los que me falta conocer. Me han hecho sentir en casa y ahora llevo a Chile en el corazón :D.

También quiero agradecer a todas las personas maravillosas que he conocido en la danza: Brenda, Oralía, Paty, Viri, Ilu, Andy, Meli, Diana, Rox, Carmen, Karen, Martha, Joce, Bel, Marco, Pame, Andy Pandita, Liz, Yare, Nadia y a todos con los que he compartido aula o escenario. También gracias a los maestros que me han guiado para no quedarme en el intento: Susana, Rocío, Funky Maya, Balock y Jorge Luis. Compartir la danza que tanto amo con ustedes me ha llenado de inspiración y alegría, en la vida y en la ciencia. Porque gracias a la danza pude seguir en la vida de doctorado.

Finalmente, quiero extender mis **Agradecimientos y Dedicatoria** a mi familia:

A Tori y Salvador, mis padres, gracias por traerme aquí con su ejemplo de perseverancia y trabajo, por todo su apoyo y cariño incondicional. Gracias a mis hermanas hermosas: Pame, Jaky y Xochitl, tenerlas me llena de orgullo e inspiración, son mi apoyo y mi fuerza. Gracias a mi hermano Chava, me has enseñado un nuevo concepto de perseverancia. Por supuesto a mi sobrino Paolo, gracias porqué me has enseñado la forma de amor más pura y me haces sentir orgullosa cada día. Gracias a Javi, porque te has convertido en otro hermano. Gracias a Daniel y a Tomy, porque siempre han sido parte.

Índice

Resumen	1
Abstract.....	2
Introducción general	4
Adaptaciones morfológicas y su estudio	4
Historia de vida.....	2
Patrones genéticos y el estudio de la adaptación local	2
Capítulo 1	4
De la morfología a la genómica en el estudio de los quitones.....	4
Enfoques morfológicos.....	5
Enfoques genéticos	6
Discusión.....	12
Capítulo 2.....	18
Bergmann's Rule under Rocks: Testing the Influence of Latitude and Temperature on a Chiton from Mexican Marine Ecoregions	18
Capítulo 3.....	19
Historical phylogeography of a chiton under temperature gradient and past environmental changes.....	19
Abstract	19
Introduction.....	20
Materials and Methods.....	22
Results.....	25
Discussion.....	31
Conclusions.....	34
Discusión general.....	38
Conclusiones generales	41
Referencias generales	42
ANEXOS.....	44

Resumen

En los organismos pueden observarse divergencias morfológicas, conductuales, fisiológicas o genéticas, las cuales pueden ser resultado de la variación ambiental. La Regla de Bergmann describe el aumento en la talla de los organismos con la disminución de la temperatura en climas latitudinales o altitudinales. Genéticamente, el resultado de la variación ambiental puede ser la adaptación local, y es posible evaluarla analizando el genoma de los individuos de una población e identificando *loci* sujetos a selección.

En los ambientes marinos, los organismos que habitan la zona intermareal resultan un buen modelo para estudiar con relación a variables espaciales y temporales. Entre los invertebrados marinos, los moluscos de la clase Polyplacophora conocidos como quitones representan un grupo morfológicamente conservado que habita en costas rocosas de todo el mundo. El estudio de este grupo se ha abordado a través de sus caracteres morfológicos. También se han utilizado aproximaciones moleculares, principalmente para resolver relaciones filogenéticas, o bien para determinar nuevas especies cuando los caracteres morfológicos son insuficientes.

En esta tesis se presenta el estudio de 15 poblaciones de *Stenoplax limaciformis*, un quitón que habita en las costas del noreste del Pacífico, distribuido desde México hasta Perú. Estas poblaciones pertenecen a tres ecorregiones marinas ubicadas en la porción mexicana de su distribución, en las cuales se eligieron localidades en un gradiente latitudinal, donde se recolectaron de 2-15 individuos, además se obtuvieron datos satelitales de variables ambientales como son temperatura y concentración de clorofila-a para cada sitio, descargados de la NOAA.

Se realizó un análisis de la morfología de los quitones de las 15 localidades mencionadas con relación a la temperatura en el gradiente latitudinal, para lo cual se utilizó morfometría geométrica. Se eligieron 125 individuos adultos, se evaluó la talla y la forma en vista ventral a través de 16 landmarks y 18 semilandmarks. Los individuos de las poblaciones de latitudes altas fueron animales más grandes, esto es inverso en latitudes bajas y coincide con lo descrito para organismos endotermos. Se sugiere que en las poblaciones de *S. limaciformis* las tallas grandes son resultado de adaptación a dichas condiciones ambientales, ya que las condiciones en el intermareal del golfo de California son muy cambiantes, por lo que, los quitones de tallas grandes podrían adherirse mejor y así mantener la humedad constante durante la marea baja.

El análisis genético se realizó utilizando 5,814 SNP de 125 quitones de las tres ecorregiones marinas. Se realizaron análisis de ancestría y diversidades genéticas, correlaciones ambientales e historia demográfica. Los resultados mostraron una estructura genética coincidente con la división geográfica de las ecorregiones, donde la del sur tiene una mayor diversidad, y mayor endogamia, mientras que la del norte tiene menor diversidad y fue la más alejada genéticamente de las otras dos. Se identificaron *loci* candidatos sujetos a selección y relacionados con los valores máximos de temperatura y mínimos de clorofila a. La historia demográfica sugiere expansión poblacional hacia el norte, y flujo genético entre ecorregiones, posterior a su división. Los procesos históricos y actuales entre las poblaciones de *S. limaciformis*, coinciden con la ubicación y dirección de las corrientes marinas. Los resultados indican que los procesos geológicos han moldeado la distribución de esta especie, mientras que los factores ambientales ejercen presiones de selección que han moldeado la diversidad genética de estos moluscos.

Abstract

The environment can cause morphological, behavioral, physiological, or genetic divergences in organisms. Bergmann's Rule describes the morphological effect and temperature, which considers an increase in organisms' size with the decrease in temperature in latitudinal clines. Genetically, the environment can induce local adaptation, which can be evaluated through certain *loci* within the genome.

Intertidal organisms are an adequate model for studying the relationship between spatial and temporal variables in marine environments. Among marine invertebrates, mollusks of the class Polyplacophora, known as chitons, represent a morphologically conserved group. Chitons inhabit rocky shores worldwide and most studies have been conducted using morphological traits. Molecular approaches have also been used to resolve phylogenetic relationships or to determine new species when morphological traits are insufficient.

This work enters a population study of *Stenoplax limaciformis*, a polyplacophoran distributed along shorelines from the Eastern North Pacific to Peru. These populations belong to three marine ecoregions in the Mexican portion, where we sampled 2-25 individuals along a latitudinal gradient. Additionally, satellite data of environmental factors such as temperature and chlorophyll-a per site were downloaded from NOAA and included.

We made a morphological analysis of chitons from the 15 localities and their relationship with temperature using a geometric morphometric approach. We chose 125 adult chitons, so size and shape variation were evaluated through 16 landmarks and 18 semilandmarks. Diverse shapes and sizes were identified in each ecoregion; longer chitons were observed at higher latitudes, in contrast to those found at lower latitudes. This pattern also correlates with sea surface temperatures and aligns with Bergmann's rule observed in endothermic organisms. The results suggest that longer *S. limaciformis* adapted to environmental conditions because the Gulf of California intertidal has changed significantly, so chitons enhance adhesion to substrates and facilitate moisture retention during low tidal time.

The genetic analysis was carried out using 5,814 SNPs and 125 chitons from three marine ecoregions. Genetic diversity, demographic history, ancestry, and environmental relationship analyses were executed. Genetic structure coincides with the geographical location of ecoregions, the southern has a higher diversity and inbreeding, while the northern is more genetically distant than the other two. Results proposed *loci* under selection and their relationship to higher temperature and lower a-chlorophyll values. Demographic history suggests a population expansion to the north and a gene flow event posteriorly to the ecoregion split. Ancient and recent processes among populations of *S. limaciformis* tie in with the site and direction of ocean currents. Results indicate that geological processes have shaped the distribution of this species, while environmental factors produce selection pressures that mold the genetic diversity of these mollusks.

Introducción general

Los organismos cuentan con adaptaciones genéticas, morfológicas, fisiológicas y conductuales que les confieren sobrevivir en el ambiente que habitan (Carabias et al., 2009). A su vez, el ambiente repercute en los organismos, ya que su variación heterogénea y espacial puede provocar adaptación local, así como divergencias adaptativas (Kawecki & Ebert, 2004). De hecho, los gradientes ambientales persistentes dados por la altitud o latitud pueden promover selección divergente, resultando en diferencias en morfología, fisiología, conductuales o historias de vida de las poblaciones (Sanford & Kelly, 2011). En el mar, estos gradientes pueden darse por su gran extensión tanto superficial como submarina, la energía que recibe genera corrientes de agua cálida, las cuales fluyen hacia los polos distribuyendo calor en latitudes altas. Mientras tanto, las corrientes de agua fría viajan desde los polos hacia el Ecuador donde se calientan nuevamente. Esta circulación también es afectada por la acción del viento y el movimiento de rotación de la Tierra, de tal manera que se vuelve más dinámica y compleja (Aguirre-Gómez, 2001). Por lo tanto, el océano es un sistema heterogéneo debido a la marcada variación espacial de factores bióticos y abióticos (Sanford & Kelly, 2011), en el cual los organismos tienen distintos ambientes para desarrollarse: en la columna de agua o asociados a los fondos marinos, tanto en el sustrato como en otros seres vivos (Barnes & Hughes, 1999).

Adaptaciones morfológicas y su estudio

Las clinas latitudinales repercuten en la productividad primaria, por lo que pueden dar como resultado clinas en el tamaño corporal de los organismos (Meiri & Dayan, 2003). La regla de Bergmann describe una tendencia de los organismos a ser más grandes en latitudes altas y temperaturas bajas; mientras que los organismos relativamente más pequeños se encontrarán en latitudes bajas donde las temperaturas son altas, en términos del rango de distribución de las especies (Vinarski, 2014). Esta regla fue descrita para animales endotermos; mientras que en ectotermos la relación talla-clina altitudinal o latitudinal no es clara, por lo que se ha

considerado como una consecuencia del efecto de la temperatura sobre el desarrollo celular (Partridge & Coyne, 1997).

En endotermos se ha probado la regla de Bergmann con base en el tamaño corporal de ciertos caracteres o la talla total del cuerpo y que pueden estar relacionados a los niveles de temperatura, p. ej. las orejas en mamíferos o las alas en las aves. Sin embargo, las tallas pueden estar influenciadas por la competencia, la fluctuaciones estacionales o estados reproductivos (Meiri & Dayan, 2003). La talla total del cuerpo por sí sola no siempre es informativa, por lo que agregar el análisis de la forma es un buen complemento. En la morfometría geométrica, la forma está matemáticamente definida por sus características geométricas sin considerar talla, posición y orientación. En este método, la representación de las formas biológicas se realiza por medio de puntos homólogos conocidos como *landmarks* (Klingenberg, 2010). El centro geométrico de estos puntos permite medir la talla asociada a la forma, lo cual se conoce como tamaño del centroide. Mientras que, la alometría es la variación de la forma debido a la talla; es decir, que organismos de tallas diferentes también tienen formas distintas; y esto puede ser evaluado utilizando métodos multivariados (Klingenberg, 2016).

En ciertos invertebrados marinos, como los moluscos, la morfología de la concha con frecuencia está correlacionada con la historia de vida y el hábitat. Sin embargo, no siempre es el caso, por lo que formas similares en la concha no necesariamente indican hábitats similares (Ponder et al., 2019). No obstante, la concha de los moluscos es una estructura sólida fácil de preservar sin que se deformen, por lo que son ideales en los estudios en los que se emplea morfometría geométrica.

Historia de vida. Una de las principales adaptaciones en la historia de vida de los invertebrados marinos es el tipo de larvas que presentan. Se pueden mencionar dos tipos con base al tipo de alimentación: las larvas planctotróficas son aquellas que pueden alimentarse del fitoplancton, lo cual les permite permanecer en la columna de agua periodos prolongados, facilitando la dispersión a grandes distancias ya que tienen un crecimiento lento; y las larvas lecitotróficas que se alimentan del vitelo del huevo del que provienen, su potencial de dispersión es limitado, y comúnmente presentan reclutamiento cercano a su hábitat natal. De manera que el tipo de larva de los invertebrados se asocia con su capacidad de dispersión (Sanford & Kelly, 2011).

Patrones genéticos y el estudio de la adaptación local. El flujo génico ocurre entre poblaciones con el intercambio de gametos fertilizados o individuos que se reproducen en la población a la que llegan; es determinante para mantener la conectividad genética entre poblaciones (Slatkin, 1994). Mientras que, el reclutamiento local es la retención de los gametos o individuos cerca del área parental, por lo que puede promover la diferenciación genética entre

poblaciones (Strathmann et al., 2002). En los ambientes marinos, el reclutamiento es afectado principalmente por la temperatura, ya que determina el tiempo de vida del estadio larvario (Grosberg & Cunningham, 2001; Reitzel et al., 2004).

Genéticamente, la adecuación de los organismos surge como resultado de presiones de selección a lo largo de la distribución de las especies. Bajo ciertas condiciones ambientales, la selección natural puede dar como resultados fenotipos óptimos, facilitando la adaptación local (Blanquart et al., 2012). La adaptación local es consecuencia de distintas presiones selectivas ocurriendo en distintos lugares de la distribución de las especies, provocando que los organismos estén mejor adaptados a sus condiciones locales. Es posible evaluarla ya que deja huella en ciertos sitios del genoma; y su estudio implica comparar poblaciones en las que ocurra selección natural o haya ocurrido recientemente, y que además se encuentren bajo distintas condiciones ambientales (Kawecki & Ebert, 2004). La adaptación local puede reforzarse si surgen fenotipos mejor adaptados a las condiciones locales; puede atenuarse si los fenotipos generalistas se extienden o si la diferenciación se diluye con el flujo de genes. De manera que, es un proceso dinámico y gradual en el que los fenotipos mejor adaptados aumentan su frecuencia. Esto puede traducirse en procesos como la evolución del nicho, la evolución de alguna especialización, hasta la especiación ecológica (Lenormand, 2012; Reznick & Ghalambor, 2001).

El objetivo de este trabajo es describir la variación de las poblaciones de *Stenoplax limaciformis* (G. B. Sowerby I, 1832), un quitón que habita en la zona intermareal de las costas rocosas en el noreste del Pacífico, distribuido desde México hasta Perú. Se espera observar diferencias en la variación dado el gradiente latitudinal, con una mayor conectividad genética en latitudes altas donde la temperatura es más baja y una relación inversa en latitudes bajas. La descripción se realizará desde un punto de vista evolutivo, con un enfoque morfológico y uno genético, a lo largo de un gradiente latitudinal en el que los factores ambientales varían, principalmente la temperatura. El análisis morfológico se abordará utilizando morfometría geométrica, ya que permite evaluar la forma y la talla de los organismos, tal enfoque se presentará en el capítulo dos de este trabajo. Mientras que, la descripción de la variación genética se realizará con un enfoque de genética de poblaciones utilizando SNPs obtenidos mediante secuenciación Illumina, esto se presentará en el capítulo tres. Adicionalmente, se presenta una descripción de qué caracteres morfológicos se han utilizado en el estudio de estos moluscos, así como una revisión del uso de marcadores genéticos con los quitones como objeto de estudio, lo cual se aborda en el capítulo uno de esta tesis.

Capítulo 1

De la morfología a la genómica en el estudio de los quitones

Los quitones pertenecen a Mollusca, el segundo phylum más diverso del reino Animalia. Forman la clase Polyplacophora con cerca de 920 especies vivas (Ponder et al., 2019; Sigwart et al., 2021). Son moluscos exclusivamente marinos, caracterizados por presentar un cuerpo aplanado dorsoventralmente y una concha de aragonita dividida en ocho valvas rodeadas por un cinturón (Kaas & Van Belle, 1985; García-Ríos, 2003; Eernisse, 2007). Los quitones se distribuyen en todas las costas del mundo, en su etapa bentónica la mayoría se encuentra asociada a sustratos duros como costas rocosas, arrecifes de coral e inclusive maderas cerca de muelles. Estos moluscos tienen una larva planctónica de tipo trocófora que se encuentra en la columna de agua antes de encontrar un sustrato para comenzar su vida adulta (García-Ríos, 2003; Lieb & Todt, 2008). La larva trocófora es de tipo lecitotrófica (García-Ríos et al., 2014), es decir el vitelo proveniente del huevo es la única fuente de alimento para la larva. Por ello, este tipo de larvas cuentan con un tiempo corto (de horas a pocos días) para la dispersión, lo que impacta sobre todo el flujo entre poblaciones ya que durante esta etapa es que ocurre la dispersión (Todd et al., 1998; Wares et al., 2001). Se sabe, por ejemplo, que el tiempo de vida larvaria de *Stenoplax heathiana* va de 15 min. a 3 h; las hembras desovan en una masa viscosa donde las larvas eclosionan, de manera que la etapa larvaria se acorta y los nuevos individuos pueden pasar a su etapa bentónica en poco tiempo (Heath, 1899 en Bullock 1985). La mayoría de los quitones tienen la mayor actividad durante la noche, cuando pueden desplazarse entre pequeños parches rocosos; sin embargo, la dispersión es prácticamente nula (Chelazzi et al., 1983; Liversage & Benkendorff, 2017).

Los quitones conforman un grupo de invertebrados poco carismático, sin interés comercial ni médico. Sin embargo, son un grupo bien representado en todo el mundo, que conforma una pieza clave para entender las relaciones filogenéticas entre las clases dentro de

los moluscos. Debido a esto, su estudio se vuelve esencial en la descripción de la diversidad, así como en el conocimiento de procesos ecológicos y evolutivos. Si bien los estudios de quitones con enfoques moleculares han aumentado, en general siguen siendo escasos (Sigwart et al., 2021). En este capítulo se presenta una descripción de los enfoques morfológicos con los que se han estudiado, también se incluye una revisión de los marcadores moleculares que se han empleado en el estudio de estos invertebrados, realizada luego de una revisión bibliográfica en los principales repositorios disponibles *online*. Esta revisión busca identificar las características de los quitones que han aportado más información en su estudio y cuáles en combinación con marcadores moleculares podrían ayudar en los estudios futuros.

Enfoques morfológicos

La descripción de las especies de quitones se ha basado en caracteres morfológicos, principalmente en la ornamentación de las valvas, del cinturón, o el número y forma de los dientes en la rádula (Kaas & Van Belle, 1985; Brusca et al., 2016). Sin embargo, la variación fenotípica dada por el ambiente provoca que algunos caracteres útiles en la identificación de algunas especies se vuelvan poco informativos para otras. Adicionalmente, los quitones son un grupo de invertebrados con una forma corporal conservada dentro del grupo (Sigwart et al., 2015). La mayoría de los quitones tienen una concha con forma más o menos oval, formada de ocho valvas rodeadas por un cinturón, sin embargo, la forma dada por la relación de las valvas con el cinturón puede variar ampliamente (Schwabe, 2010). Existen aquellos que se consideran vermiformes (con forma de gusano), estos quitones tienen valvas muy estrechas y separadas, mientras que el pie suele estar reducido; este es el caso de *Cryptoplax*, el cual habita en cavidades estrechas y pequeños agujeros. En el caso de *Cryptochiton sterelli* la concha está completamente cubierta por el cinturón. En algunos grupos como *Placiphorella* y *Craspedochiton* el cinturón presenta una extensión anterior más allá del perímetro oval. Algunos géneros como *Stenoplax* tienen un cuerpo característicamente alargado (Kaas & Van Belle, 1987; Schwabe, 2010).

En los ambientes rocosos en que viven, los quitones se adhieren al sustrato gracias a su pie musculoso, de forma que la parte dorsal cubierta por las valvas sirve como protección ante depredadores y disturbios; si llegan a despegarse de la superficie, son capaces de enrollarse cubriendo la parte blanda de su cuerpo. Los quitones pueden alcanzar esta posición debido a la morfología de la concha formada por las valvas interconectadas; sin embargo, carecen de movilidad durante dicha posición enrollada (Connors et al., 2012; Sigwart et al., 2019).

Los métodos multivariados en los que se basa la morfometría geométrica permiten evaluar la forma de los organismos en relación con las variables ambientales en que habitan las poblaciones. Se sabe que existe una correlación entre la energía de las olas con el grosor y ancho de las conchas de los quitones (Sigwart et al 2015). Se ha empleado morfometría geométrica en algunas especies de quitones para explorar temas particulares. Por ejemplo, *Chiton articulatus* es una especie intermareal expuesta al embate de las olas. Estas zonas de alto estrés dadas por el oleaje intenso pueden provocar asimetría fluctuante en el cuerpo de estos quitones, provocando desviaciones entre el lado derecho e izquierdo. Sin embargo, estos niveles de asimetría no afectan la estabilidad en su desarrollo (Ramirez-Santana et al., 2023). En el quitón *Rhyzoplax olivacea* la correlación con otros factores tienen respuesta en distintos caracteres, la profundidad y la temperatura tienen correlación positiva con el grosor de las valvas; mientras que, la profundidad, la temperatura mínima y la salinidad promedio tienen influencia en la composición elemental de la rádula (Voulgaris et al., 2024).

Enfoques genéticos

La clase Polyplacophora data de finales del Precámbrico a inicios del Cámbrico (Stöger et al., 2013) y se sabe que están en todos los mares del mundo; sin embargo, dentro de las especies no se conocen aspectos de su genética poblacional. Esta área es crucial para entender procesos evolutivos básicos, como el cambio en las frecuencias alélicas, genotipos y fenotipos dentro de las poblaciones, así como dentro y entre las especies (Ponder et al., 2019).

El flujo genético entre poblaciones de especies bentónicas constituye un tema importante en biología marina, su estudio se vuelve complejo ya que en la mayoría de los invertebrados la fecundación es externa y la etapa larvaria ocurre en la columna de agua, por lo que el monitoreo del curso de las larvas es complicado (Sotka, 2005). Además, se sabe que no existe una relación entre el nivel de diferenciación genética y la capacidad de dispersión, ya que algunas especies con larva plantotróficas presentan alta diferenciación a nivel local (Todd et al., 1998). Tampoco existe una relación taxonómica con el tipo de larva que presentan algunos invertebrados, ya que se conocen pares de especies cercanas con distintos niveles de diferenciación genética, donde una de ellas presenta una larva planctotrófica y la otra larva lecitotrófica (Todd et al., 1998). De igual forma, el ambiente repercute; en el quitón *Sypharochiton sinclairi* la dispersión puede ocurrir a través de semillas de kelp, por lo que sus poblaciones se mantienen más conectadas genéticamente, esto contrasta con las poblaciones de *S. pelliserpentis* que se asocia únicamente a sustratos rocosos (Nikula et al., 2011).

Genes y taxonomía. La taxonomía ha sido el enfoque más abordado en el uso de genes en estudios de quitones, esclareciendo algunas de las relaciones entre las especies, quizá la más importante es la confirmación de Polyplacophora como un grupo monofilético (Okusu et al., 2003; Wilson et al., 2010). Tanto en la descripción y delimitación de especies, así como en los estudios filogenéticos predominan los genes: COI (Citocromo Oxidasa I), 16S rRNA, 18S rRNA, algunos otros incluyen 28S rRNA, Histona H3, y solo en algunos casos 12S rRNA e ITS (Internal Transcribed Spacer) (Tabla 1). En la mayoría de las especies de quitones, estos genes miden unos cientos de pares de bases (pb), COI y 16S miden entre 550-670 pb, mientras que 18S mide cerca de los 2,000 pb. Usando algunos de estos marcadores, la filogenia más completa a la fecha es la de Okusu et al. (2003), quienes utilizaron varias especies de quitones, así como de otras clases de moluscos, con lo que resolvieron la definición de tres grupos: *Callochiton*, Lepidopleuridae y Chitonida. Sin embargo, las relaciones dentro de estos grupos no se han esclarecido completamente (Sigwart et al., 2013; Ponder et al., 2020).

Se han definido especies con amplia variación morfológica con base en el uso de marcadores moleculares, ejemplo de esto son *Tonicia* (Ibáñez et al., 2019) y *Chiton* (Ibáñez et al., 2020) en el sur del este del Pacífico. Con el uso de COI (Tabla 1), se obtuvo información de que *Tonicia* se originó en el Eoceno (Ibáñez et al., 2019); también se lograron identificar individuos de *Leptochiton* de mar profundo del que se tenían pocas muestras (Sirenko & Schwabe, 2019). En el caso de especies hermanas de *Stenoplax* y *Acanthochitona* separadas por el Istmo de Panamá, se utilizó este gen se utilizó para estimar la tasa de divergencia entre cada par de especies, el cual se estimó entre 1.3-1.7% por millón de años (García-Ríos et al., 2014).

Los datos moleculares han permitido observar una relación de mayor diferenciación genética en poblaciones donde la temperatura del mar es más alta, que a su vez exhibe una relación con la latitud a la que se distribuyen las especies. Los resultados de los estudios de Kelly & Eernisse (2007) indican que las poblaciones ubicadas en latitudes altas donde la temperatura superficial del mar o SST por sus siglas en inglés es menor, los valores de diferenciación genética son bajos, mientras que las poblaciones de las especies que se distribuyen en latitudes más bajas donde la temperatura es más alta cuentan con una mayor diferenciación genética. El análisis de SST también ha permitido observar patrones similares entre zonas donde las corrientes marinas convergen (Ni et al., 2020), así como la diferenciación de poblaciones de distintas zonas geográficas (Xu et al., 2020). Incluso a nivel macroevolutivo se ha observado mayor riqueza específica en latitudes medias del sureste del Pacífico (Navarrete et al., 2020).

Tabla 1. Estudios en grupos de quitones en los que se han incluido análisis moleculares, utilizando genes. COI- indica que en trabajo original el gen es llamado *cox1*.

	TAXA	GENES	ENFOQUE	REFERENCIA
1	28 especies de Polyplacophora	COI, 16S, 18S, 28S, H3	Filogenético	(Okusu et al., 2003)
2	<i>Mopalia</i>	COI	Barcoding	(Kelly et al., 2007)
3	28 especies de Polyplacophora	COI	Flujo de genes	(Kelly & Eernisse, 2007)
4	<i>Mopalia</i>	COI, 16S, 18S, 28S	Filogeográfico	(Kelly & Eernisse, 2008)
5	Lepidopleuridae	COI, 16S, 18S	Filogenético	(Sigwart et al., 2010)
6	<i>Acanthochitona</i>	COI, 12S, ITS1	Sistemático	(Bonfitto et al., 2011)
7	<i>Ischnochiton australis</i> e <i>I. lentiginosus</i>	COI	Ecológico	(Palmer, 2012)
8	9 especies	COI	Filogenético	(Chen & Sun, 2013)
9	<i>Chorioplax grayi</i> <i>Hemiarthrum setulosum</i>	COI, 16S, 18S, 28S	Taxonómico	(Sigwart et al., 2013)
10	<i>Stenoplax</i> y <i>Acanthochitona</i>	COI	Reloj molecular	(García-Ríos et al., 2014)
11	Acanthochitonina	rrnL, <u>COI</u> , cob, 18S, 28S	Filogenético	(Irisarri et al., 2014)
12	<i>Lepidochitona pseudoliozonis</i>	COI	Nueva especie	(García-Ríos, 2015)
13	<i>Acanthochitona</i>	COI, 16S	Ecológico	(Eernisse et al., 2018)
14	<i>Ischnochiton</i>	COI, 16S, 18S, 28S	Filogenia y nueva especie	(Owada, 2018)
15	Lepidopleuridae	COI	Filogeográfico y sistemático	(Sigwart & Chen, 2018)
16	<i>Leptochiton</i>	COI, 28S	Taxonómico	(Wang et al., 2018)
17	<i>Tonicia</i>	COI, 16S, 18S	Filogeográfico y taxonómico	(Ibáñez et al., 2019)
18	<i>Leptochiton</i>	COI	Sistemática	(Sirenko & Schwabe, 2019)
19	<i>Chiton</i>	COI, 16S, 18S	Filogenético y sistemática	(Ibáñez et al., 2020)
20	35 especies de Polyplacophora	COI, 16S	Filogeográfico	(Navarrete et al., 2020)
21	<i>Acanthochitona</i> cf <i>rubrolineata</i>	COI, 16S	Filogeográfico	(Ni et al., 2020)
22	<i>Acanthochiton rubrolineatus</i>	COI, 16S, 28S	Filogenética	(Xu et al., 2020)
23	<i>Lepidochitona</i> y <i>Chiton</i>	<u>COI</u>	Sistemática y barcoding	(Reyes-Gómez et al., 2022)
24	<i>Stenoplax</i> y <i>Callistochiton</i>	COI	Sistemática y barcoding	Reyes-Gómez et al. 2023

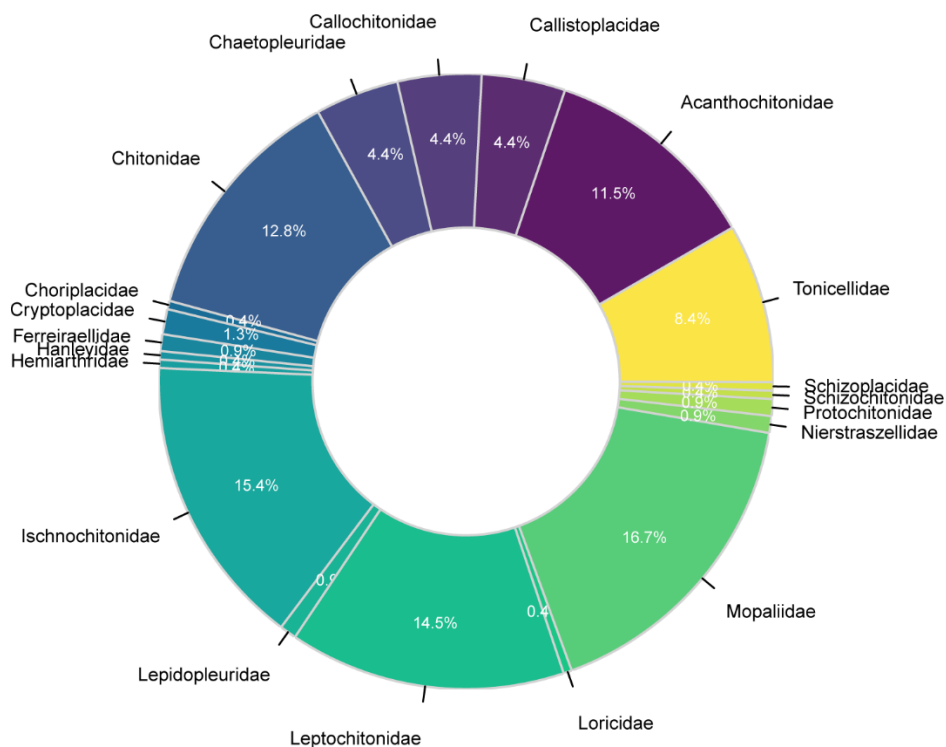


Figura 1. Familias de Polyplacophora y el porcentaje (según el número de especies) en que han sido objeto de estudio en trabajos donde se han empleado genes.

Según los trabajos revisados sobre quitones en los que se han empleado genes y secuenciación Sanger, a la fecha se han estudiado 227 especies de 20 familias, entre las cuales las más estudiadas han sido: Mopaliidae (16.7%), Ischnochitonidae (15.4%), Leptochitonidae (14.5%), Chitonidae (12.8%) y Acanthochitonidae (11.5%), es decir, el 70% de los trabajos en que se han utilizado genes se han enfocado en cinco familias de quitones (Fig. 1).

Análisis de mitogenomas. En los últimos años, las filogenias han tenido mayor resolución gracias a la secuenciación de las mitocondrias completas o mitogenoma (Tabla 2). Si bien Boore & Brown (1994) describieron el primer mitogenoma de un quitón, *Katharina tunicata*, se realizó por , éste fue un trabajo meramente descriptivo. El mitogenoma se obtuvo con secuenciación Sanger por medio de bacteriófagos de *E. coli*, y se pudieron reconocer los 37 genes característicos en los metazoos, formado de 15,532 pb; además se reconoció que la arquitectura del mitogenoma en estos organismos es más antigua que la de otros moluscos. Más tarde se secuenciaron *Cryptochiton stelleri*, *Cyanoplax cf. caverna* y *Nuttalina californica* (Irisarri et al., 2014), trabajo en el que se confirmó la monofilia de Chitonida. Posteriormente se sumaron *Sypharochiton peliserpentis*, *S. sinclairi* (Veale et al., 2016) y *Chaetopleura apiculata* (Guerra et al., 2018). Un año después se publicaron mitogenomas de 13 especies más (Irisarri et al., 2020), con las que los autores construyeron una filogenia más completa,

incluyeron la anotación de los genes y obtuvieron datos de re-arreglos como duplicación, inversión y traslocación de algunos genes entre las especies incluidas. Adicionalmente, este mitogenoma permitió calcular el tiempo de divergencia de algunos grupos o especies de quitones, por ejemplo, la divergencia dentro de Chitonina en el Jurásico y la de algunas familias, como Chitonidae y Loricidae, en el Cretácico. Más tarde, el análisis de transcriptomas de genes mitocondriales de siete especies de quitones intermareales ayudó a reconocer sitios bajo selección diversificadora relacionados en la cadena respiratoria. Estos sitios polimórficos indican una modificación funcional en proteínas esenciales y posiblemente relacionadas con la adaptación de los quitones a ambientes intermareales (Dhar et al., 2021).

Tabla 2. Estudios en grupos de quitones en los que se han incluido secuenciación de mitogenomas, y genomas completos.

Nivel	Especies	Longitud del marcador	Referencia
Mitogenomas	<i>Katharina tunicata</i>	15,532 pb	(Boore & Brown, 1994)
	<i>Cryptochiton sterelli</i>	15,082 pb	(Irisarri et al., 2014)
	<i>Cyanoplax cf. caverna</i>	15,141 pb	
	<i>Nuttallina californica</i>	15,604 pb	
	<i>Sypharochiton pelliserpentis</i>	15,048 pb	(Veale et al., 2016)
	<i>S. sinclairi</i>	15,028 pb	
	<i>Chaetopleura apiculata</i>	15,108 pb	(Guerra et al., 2018)
	<i>Dendrochiton gothicus</i>	14,987 pb	(Irisarri et al., 2020)
	<i>Nuttallochiton mirandus</i>	12,511 pb	
	<i>Plaxiphora albida</i>	12,564 pb	
	<i>Acanthopleura echinata</i>	14,848 pb	
	<i>Chiton albolineatus</i>	14,934 pb	
	<i>Tonicia forbesii</i>	14,569 pb	
	<i>Acanthochitona avicula</i>	15,202 pb	
	<i>Callochiton steinenii</i>	11,923 pb	
	<i>Hemiarthrum setulosum</i>	16,043 pb	
	<i>Tonicina zschau</i>	12,914 pb	
	<i>Leptochiton nexus</i>	15,488 pb	
	<i>Nierstraszella lineata</i>	15,765 pb	
	<i>Hanleyella oldroydi</i>	15,690 pb	
<i>Acantopleura granulata</i>	15,665 pb	(Varney et al., 2021)	
<i>Lepidozona coreanica</i>	16,572 pb	(Sun et al., 2023)	
<i>Schizochiton incisus</i>	15,491 pb	(Liu et al., 2023)	
<i>Acanthopleura vaillantii</i>	15,271 pb	(Alnashiri et al., 2024)	
<i>Acanthochitona defilippii</i>	14,999 pb	(Kim et al., 2024)	
Genomas	<i>Acanthopleura granulata</i>	606.537 Mb (87 scaffolds)	(Varney et al., 2021)

La secuenciación del mitogenoma de *Schizochiton incisus* donde se realizó la filogenia basada en genes codificadores de proteínas se reconoció a Schizochitonidae como grupo hermano de Chitonidae y además se propuso como el grupo más antiguo en que aparecieron los “ojos” en la concha de las especies de Chitonidae (Liu et al., 2023).

Secuenciación de alto rendimiento (High-throughput sequencing, HTS). Dentro del phylum Mollusca, los trabajos con secuenciación de nueva generación son escasos, considerando que se trata de un grupo con más de 100,000 especies vivas y que se encuentran en todos los ambientes y con una gran diversidad de formas corporales, por lo que sus mecanismos genómicos son de gran interés en la biología evolutiva (Sigwart et al., 2021).

En un estudio enfocado al análisis de transcriptomas y los genes relacionados con la locomoción y adhesión de los quitones, secuenciaron el transcriptoma de *Ischnochiton hakodadensis*; adicionalmente, se identificaron algunos otros relacionados con funciones moleculares y celulares, así como otros involucrados en procesos como crecimiento y reproducción (Dou et al., 2018). También se ha incluido a los quitones en comparaciones de transcriptomas entre distintos grupos de invertebrados (Riesgo et al., 2012) entre las clases de Mollusca para conocer la conservación de los genes Hox (De Oliveira et al., 2016), e inclusive cuestiones específicas como buscar genes en Lophotrocozoa, relacionados con la inmunidad ante bacterias (Halanych & Kocot, 2014).

La secuenciación de alto rendimiento o HTS por sus siglas en inglés, ha permitido obtener información genómica, cada vez a más bajo costos, aún en organismos de los que se tiene poca o ninguna información genética (Lopez et al., 2019). Uno de estos métodos es la secuenciación RADseq o secuenciación asociada a sitios de restricción, la cual consiste en secuenciar tramos del genoma asociados a endonucleasas de restricción, de esta manera se obtienen múltiples copias de una fracción del genoma. Posteriormente, a partir de trabajo bioinformático se pueden reconocer polimorfismos de un solo nucleótido o SNP por sus siglas en inglés (Andrews et al., 2016; Mardis, 2008). La secuenciación llamada RADseq se ha utilizado en el estudio de genómica ecológica y evolutiva de organismos no modelo (Andrews et al., 2016) y se tiene la ventaja de que, en estudios con enfoques filogeográficos, filogenéticos o de genética de poblaciones no se requiere un genoma completo, sino una dispersión de *loci* a lo largo del genoma (Toonen et al., 2013).

Mediante una combinación de lecturas cortas obtenidas de secuenciación Illumina y lecturas largas obtenidas con Nanopore, se secuenció el primer genoma de un quitón, *Acanthopleura granulata* (Varney et al., 2021). El genoma de esta especie consta de 606.9 Mb

y se pudo ensamblar en 87 scaffolds. Además, se realizó la anotación del 85% de las lecturas obtenidas, con lo que se pudieron encontrar genes relacionados a la biomineralización del hierro utilizados en la construcción de la concha, escleritas (estructuras que recubren el cinturón de los quitones) y dientes. También se identificaron genes homólogos presentes en moluscos conchíferos. A la fecha, en genbank se encuentran disponibles genomas de otras diez especies de quitones, de las cuales dos están anotados y ensamblados a nivel de genomas, sin embargo, los trabajos esperan a ser publicados.

Discusión

Los quitones son un grupo muy diverso; sin embargo, su estudio no es homogéneo entre las especies ni entre las áreas geográficas. Algunas de estas cuestiones están relacionadas con la capacidad de dispersión de los quitones y los patrones de distribución de las especies, en este sentido se requiere abordar su estudio con herramientas nuevas. Por ejemplo, los SNPs en permitieron determinar que los niveles de temperatura están relacionados a la tasa de mortalidad de algunos moluscos bivalvos (Wyngaarden et al., 2018) y utilizarlos en quitones contribuiría al conocimiento de los procesos evolutivos por los que han pasado. Es decir, sumar datos genómicos que permitan tener un mayor número de *loci* en los análisis, ayudaría a entender los eventos que han ocurrido en las poblaciones de estos invertebrados marinos. No obstante, se requieren estudios donde se analicen los procesos oceanográficos que permiten el reclutamiento local (Largier, 2003), de igual forma, dilucidar variaciones intraespecíficas que tienen lugar a lo largo de las distribuciones y que se encuentran asociadas con la geografía y oceanografía local (Ibáñez et al., 2019; Ni et al., 2020). Por su parte, los métodos coalescentes pueden dar pruebas de la diferenciación de las poblaciones en términos de tiempos de divergencia, así como en cambios de sus tamaños poblacionales históricos (Hart & Marko, 2010).

En los enfoques taxonómicos se ha utilizado mucho a COI; no obstante, en aquellos en que se emplean genes nucleares se han obtenido resoluciones mayores entre los grupos de quitones, por lo que la combinación de genes mitocondriales y nucleares es ideal en estos casos. Cabe mencionar que la morfología tradicional ha sido una herramienta útil y que no debe ser descartada, en particular el uso y descripción de la escultura de las valvas, así como la rádula ya que han demostrado ser caracteres informativos en la descripción de las especies. Por otro lado, la resolución de los grandes grupos de quitones parece requerir más información, la cual puede ser obtenida con marcadores moleculares obtenidos en todo el genoma o bien en

subrepresentaciones de este, ejemplo de estos pueden ser los elementos ultraconservados o UCE por sus siglas en inglés y por supuesto, secuenciación de genomas completos.

También se requiere elegir especies de quitones con rangos de distribución amplios, su uso en conjunto con marcadores genómicos podría proveer herramientas más potentes para resolver temas básicos de cómo se comportan las poblaciones dentro de las especies. De la misma manera en que la inclusión de genes y mitogenomas a los estudios, ha ayudado a resolver cuestiones que no eran claras cuando solo se utilizaban caracteres morfológicos, el aumentar el número de *loci* en los análisis genéticos ayudará a resolver preguntas que a la fecha siguen sobre la mesa. Los quitones, en particular son un grupo que por su mecanismo de dispersión y por su forma de vida bentónica limitada a sustratos rocosos, se vuelven clave en el entendimiento de los efectos de procesos oceánicos y evolutivos, los cuales en el futuro pueden volverse objeto para el entendimiento de cuestiones aplicadas como el calentamiento global. Finalmente, debemos recordar que los quitones han vivido mucho tiempo sobre la Tierra, y analizar las marcas que han quedado en su genoma, podría ayudar a entender otros procesos que han ocurrido sobre el planeta.

Referencias citadas

- Alnashiri, H., Thomas, L., Philip, S., Thaikkottathil, M., Sureshkumar, S., & Kutty, R. (2024). Complete Mitochondrial Genome and Phylogenetic Relationships of the Red Sea Chiton *Acanthopleura vaillantii* Rochebrune, 1882 (Polyplacophora: Chitonida). *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*, 40(1), 51–58. <https://doi.org/10.1007/s41208-023-00648-0>
- Andrews, K. R., Good, J. M., Miller, M. R., Luikart, G., & Hohenlohe, P. A. (2016). Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *Nature Reviews Genetics*, 17(2), 81–92. <https://doi.org/10.1038/nrg.2015.28>
- Bonfitto, A., Dell'Angelo, B., Evangelisti, F., & Sabelli, B. (2011). El género *Acanthochitona* (Mollusca: Polyplacophora) en el mar Mediterráneo: Datos morfológicos y moleculares. *Scientia Marina*, 75(1), 171–180. <https://doi.org/10.3989/scimar.2011.75n1171>
- Boore, J. L., & Brown, W. M. (1994). Complete DNA sequence of the mitochondrial genome of the black chiton, *Katharina tunicata*. *Genetics*, 138(2), 423–443. <https://doi.org/10.1093/genetics/138.2.423>
- Brusca, R., Lindberg, D. R., & Ponder, W. (2016). Phylum Mollusca. In R. Brusca, W. Moore, & S. M. Shuster (Eds.), *Invertebrates* (3rd ed., pp. 451–530).
- Chelazzi, G., Focardi, S., & Deneubourg, J. L. (1983). A comparative study on the movement patterns of two sympatric tropical chitons (Mollusca: Polyplacophora). *Marine Biology*, 74(2), 115–125. <https://doi.org/10.1007/BF00413914>
- Chen, D., & Sun, S. (2013). Analysis of diversity of COI gene and system generation of nine species of chitons. *Wuhan University Journal of Natural Sciences*, 18(2), 171–177. <https://doi.org/10.1007/s11859-013-0910-3>
- Connors, M. J., Ehrlich, H., Hog, M., Godeffroy, C., Araya, S., Kallai, I., Gazit, D., Boyce, M., & Ortiz, C. (2012). Three-dimensional structure of the shell plate assembly of the chiton *Tonicella marmorea* and its biomechanical consequences. *Journal of Structural Biology*, 177(2), 314–328. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2011.12.019>
- De Oliveira, A. L., Wollesen, T., Kristof, A., Scherholz, M., Redl, E., Todt, C., Bleidorn, C., & Wanninger, A. (2016). Comparative transcriptomics enlarges the toolkit of known developmental

- genes in mollusks. *BMC Genomics*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3080-9>
- Dhar, Di., Dey, D., Basu, S., & Fortunato, H. (2021). Insight into the adaptive evolution of mitochondrial genomes in intertidal chitons. *Journal of Molluscan Studies*, 87(2). <https://doi.org/10.1093/mollus/eyab018>
- Dou, H., Miao, Y., Li, Y., Li, Y., Dai, X., Zhang, X., Liang, P., Liu, W., Wang, S., & Bao, Z. (2018). Characterization of chiton *Ischnochiton hakodadensis* foot based on transcriptome sequencing. *Journal of Ocean University of China*, 17(3), 632–640. <https://doi.org/10.1007/s11802-018-3525-7>
- Eernisse, D. J. (2007). Chitons. In M. Denny & S. Gaines (Eds.), *Encyclopedia of Tidepools and Rocky Shores* (pp. 127–133). University of California Press. <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Douglas+j.+eernisse#0>
- Eernisse, D. J., Draeger, A., & Pilgrim, E. M. (2018). Chitons (Mollusca: Polyplacophora) rafted on tsunami debris from Japan to the shores of Washington, Oregon, and Hawai‘i. *Aquatic Invasions*, 13(1), 71–86. <https://doi.org/10.3391/ai.2018.13.1.06>
- García-Ríos, C. I. (2003). *Los quitones de Puerto Rico*. Isla Negra.
- García-Ríos, C. I. (2015). *Lepidochitona pseudoliozonis*, a new species of chiton (Polyplacophora: Ischnochitonidae) from the north of the caribbean. *Revista de Biología Tropical*, 63(2), 369–384. <https://doi.org/10.15517/rbt.v63i2.14862>
- García-Ríos, C. I., Pérez-Pérez, N. M., Fernández-López, J., & Fuentes, F. A. (2014). Calibrando un reloj molecular para quitones (Mollusca: Polyplacophora) utilizando el gen mitocondrial que codifica para el citocromo oxidasa I. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(2), 193–207. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572014000200003>
- Guerra, D., Bouvet, K., & Breton, S. (2018). Mitochondrial gene order evolution in Mollusca: Inference of the ancestral state from the mtDNA of *Chaetopleura apiculata* (Polyplacophora, Chaetopleuridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 120(May 2017), 233–239. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.12.013>
- Halanych, K. M., & Kocot, K. M. (2014). Repurposed transcriptomic data facilitate discovery of innate immunity toll-like receptor (TLR) genes across lophotrochozoa. *Biological Bulletin*, 227(2), 201–209. <https://doi.org/10.1086/BBLv227n2p201>
- Hart, M. W., & Marko, P. B. (2010). It’s about time: Divergence, demography, and the evolution of developmental modes in marine invertebrates. *Integrative and Comparative Biology*, 50(4), 643–661. <https://doi.org/10.1093/icb/icq068>
- Ibáñez, C. M., Eernisse, D. J., Méndez, M. A., Valladares, M., Sellanes, J., Sirenko, B. I., & Pardo-Gandarillas, M. C. (2019). Phylogeny, divergence times and species delimitation of *Tonicia* (Polyplacophora: Chitonidae) from the eastern Pacific Ocean. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 186(4), 915–933. <https://doi.org/10.1093/zoolinnean/zlz006>
- Ibáñez, C. M., Pardo-Gandarillas, M. C., Méndez, M. A., Sellanes, J., Sigwart, J. D., & Sirenko, B. (2020). Phylogenetic position and morphological descriptions of *Chiton* species from the south-eastern Pacific. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 191(3), 695–719. <https://doi.org/10.1093/zoolinnean/zlaa067>
- Irisarri, I., Eernisse, D. J., & Zardoya, R. (2014). Molecular phylogeny of Acanthochitonina (Mollusca: Polyplacophora: Chitonida): three new mitochondrial genomes, rearranged gene orders and systematics. *Journal of Natural History*, 48(45–48), 2825–2853. <https://doi.org/10.1080/00222933.2014.963721>
- Irisarri, I., Uribe, J. E., Eernisse, D. J., & Zardoya, R. (2020). A mitogenomic phylogeny of chitons (Mollusca: Polyplacophora). *BMC Evolutionary Biology*, 20(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12862-019-1573-2>
- Kaas, P., & Van Belle, R. (1985). *Monograph of living Chitons (Mollusca: Polyplacophora) Vol. 1 Order Neoloricata: Lepidopleurina* (Vol. 1). EJ Brill. Leiden.
- Kaas, P., & Van Belle, R. A. (1987). *Monograph of Living Chitons (Mollusca: Polyplacophora) Vol. 3*.
- Kelly, R. P., & Eernisse, D. J. (2007). Southern hospitality: A latitudinal gradient in gene flow in the marine environment. *Evolution*, 61(3), 700–707. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2007.00055.x>
- Kelly, R. P., & Eernisse, D. J. (2008). Reconstructing a radiation: The chiton genus *Mopalia* in the north Pacific. *Invertebrate Systematics*, 22(1), 17–28. <https://doi.org/10.1071/IS06021>

- Kelly, R. P., Sarkar, I. N., Eernisse, D. J., & DeSalle, R. (2007). DNA barcoding using chitons (genus *Mopalia*): Barcoding. *Molecular Ecology Notes*, 7(2), 177–183. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01641.x>
- Kim, I. H., Shin, C. R., Kim, G., Park, B., Kim, K. B., Choi, E. H., & Hwang, U. W. (2024). Complete mitochondrial genome of *Acanthochitona defilippii* (Polyplacophora: Chitonida) from South Korea. *Mitochondrial DNA Part B: Resources*, 9(8), 1029–1033. <https://doi.org/10.1080/23802359.2024.2386403>
- Largier, J. L. (2003). Considerations in estimating larval dispersal distances from oceanographic data. *Ecological Applications*, 13(1), 71–89.
- Lieb, B., & Todt, C. (2008). Hemocyanin in mollusks-A molecular survey and new data on hemocyanin genes in Solenogastres and Caudofoveata. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49(1), 382–385. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.06.005>
- Liu, X., Sigwart, J. D., & Sun, J. (2023). Phylogenomic analyses shed light on the relationships of chiton superfamilies and shell-eye evolution. *Marine Life Science and Technology*, 5(4), 525–537. <https://doi.org/10.1007/s42995-023-00207-9>
- Liversage, K., & Benkendorff, K. (2017). The first observations of *Ischnochiton* (Mollusca, Polyplacophora) movement behaviour, with comparison between habitats differing in complexity. *PeerJ*, 2017(12), 1–13. <https://doi.org/10.7717/peerj.4180>
- Lopez, J. V., Kamel, B., Medina, M., Collins, T., & Baums, I. B. (2019). Multiple facets of marine invertebrate conservation genomics. *Annual Review of Animal Biosciences*, 7, 473–497. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-020518-115034>
- Mardis, E. R. (2008). The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends in Genetics*, 24(3), 133–141. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2007.12.007>
- Navarrete, A. H., Sellanes, J., Pardo-Gandarillas, M. C., Sirenko, B., Eernisse, D. J., Camus, P. A., Ojeda, F. P., & Ibáñez, C. M. (2020). Latitudinal distribution of polyplacophorans along the South-eastern Pacific coast: unravelling biases in geographical diversity patterns. *Marine Biodiversity*, 50(4), 0–12. <https://doi.org/10.1007/s12526-020-01060-0>
- Ni, G., Kim, T., Shin, Y., Park, J., Lee, Y., Kil, H. J., & Park, J. K. (2020). Life-history features and oceanography drive phylogeographic patterns of the chiton *Acanthochitona* cf. *rubrolineata* (Lischke, 1873) in the northwestern Pacific. *PeerJ*, 2020(4). <https://doi.org/10.7717/peerj.8794>
- Nikula, R., Spencer, H. G., & Waters, J. M. (2011). Evolutionary consequences of microhabitat: Population-genetic structuring in kelp- vs. rock-associated chitons. *Molecular Ecology*, 20(23), 4915–4924. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05332.x>
- Okusu, A., Schwabe, E., Eernisse, D. J., & Giribet, G. (2003). Towards a phylogeny of chitons (Mollusca, Polyplacophora) based on combined analysis of five molecular *loci*. *Organisms Diversity and Evolution*, 3(4), 281–302. <https://doi.org/10.1078/1439-6092-00085>
- Owada, M. (2018). Phylogenetic relationships among Japanese species of the genus *Ischnochiton* (Polyplacophora: Ischnochitonidae), including a new species. *Zoological Science*, 35(3), 281–291. <https://doi.org/10.2108/zs170106>
- Palmer, A. N. S. (2012). Spatial and genetic investigation of aggregation in *Ischnochiton* (Polyplacophora; Neoloricata; Ischnochitonina; Ischnochitonidae; Ischnochitoninae) species with different larval development. *Austral Ecology*, 37(1), 110–124. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2011.02250.x>
- Ponder, W. F., Lindberg, D. R., & Ponder, J. M. (2019). *Biology and Evolution of the Mollusca, Volume One*. Taylor & Francis Group.
- Ponder, W. F., Lindberg, D. R., & Ponder, J. M. (2020). *Biology and Evolution of the Mollusca, Volume Two*. Taylor & Francis Group.
- Ramirez-Santana, B. P., Ospina-Garcés, S. M., Ramirez-Perez, J. S., & Avila-Poveda, O. H. (2023). A landmark-based geometric morphometric approach to quantify deviations from bilateral symmetry in polyplacophorans. *Zoologischer Anzeiger*, 306(July), 37–50. <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2023.06.008>
- Reyes-Gómez, A., Flores-Garza, R., Galeana-Rebolledo, L., Hernández-Vera, G., Galván-Villa, C. M., Torreblanca-Ramírez, C., Flores-Rodríguez, P., García-Ibañez, S., & Ríos-Jara, E. (2022). Intertidal chitons (Mollusca: Polyplacophora) from the rocky coastline of Guerrero, Mexico, with the description of a new species. *Zootaxa*, 5155(4), 451–492.

<https://doi.org/10.11646/zootaxa.5155.4.1>

- Riesgo, A., Andrade, S. C. S., Sharma, P. P., Novo, M., Pérez-Porro, A. R., Vahtera, V., González, V. L., Kawauchi, G. Y., & Giribet, G. (2012). Comparative description of ten transcriptomes of newly sequenced invertebrates and efficiency estimation of genomic sampling in non-model taxa. *Frontiers in Zoology*, *9*, 1–24. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-9-33>
- Schwabe, E. (2010). Illustrated summary of chiton terminology (Mollusca, Polyplacophora). *Spixiana*, *33*(2), 171–194.
- Sigwart, J. D., & Chen, C. (2018). Life history, patchy distribution, and patchy taxonomy in a shallow-water invertebrate (Mollusca: Polyplacophora: Lepidopleurida). *Marine Biodiversity*, *48*(4), 1867–1877. <https://doi.org/10.1007/s12526-017-0688-1>
- Sigwart, J. D., Green, P. A., & Crofts, S. B. (2015). Functional morphology in chitons (Mollusca, Polyplacophora): influences of environment and ocean acidification. *Marine Biology*, *162*(11), 2257–2264. <https://doi.org/10.1007/s00227-015-2761-2>
- Sigwart, J. D., Lindberg, D. R., Chen, C., & Sun, J. (2021). Molluscan phylogenomics requires strategically selected genomes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, *376*(1825), 20200161. <https://doi.org/10.1098/rstb.2020.0161>
- Sigwart, J. D., Schwabe, E., Saito, H., Samadi, S., & Giribet, G. (2010). Evolution in the deep sea: A combined analysis of the earliest diverging living chitons (Mollusca: Polyplacophora: Lepidopleurida). *Invertebrate Systematics*, *24*(6), 560–572. <https://doi.org/10.1071/IS10028>
- Sigwart, J. D., Stoeger, I., Knebelberger, T., & Schwabe, E. (2013). Chiton phylogeny (Mollusca: Polyplacophora) and the placement of the enigmatic species *Chorioplax grayi* (H. Adams & Angas). *Invertebrate Systematics*, *27*(6), 603–621. <https://doi.org/10.1071/IS13013>
- Sigwart, J. D., Vermeij, G. J., & Hoyer, P. (2019). Why do chitons curl into a ball? *Biology Letters*, *15*(10). <https://doi.org/10.1098/rsbl.2019.0429>
- Sirenko, B. I., & Schwabe, E. (2019). An abyssal-ultraabyssal chiton (Mollusca: Polyplacophora) with a wide distribution. *Bolletino Malacologico*, *55*, 126–135. <https://doi.org/10.5883/DS-ESLEPTOV>
- Sotka, E. E. (2005). Local adaptation in host use among marine invertebrates. *Ecology Letters*, *8*(4), 448–459. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00719.x>
- Stöger, I., Sigwart, J. D., Kano, Y., Knebelberger, T., Marshall, B. A., Schwabe, E., & Schrödl, M. (2013). The continuing debate on deep molluscan phylogeny: Evidence for serialia (mollusca, monoplacophora + polyplacophora). *BioMed Research International*, *2013*. <https://doi.org/10.1155/2013/407072>
- Sun, D., Lin, Z., Teng, X., Xu, L., Qian, L., Yu, X., Wu, H., Wang, Z., Jin, L., Liu, X., Wang, L., Qu, J., Wang, X., & Xing, Z. (2023). The complete mitochondrial genome and phylogenetic analysis of *Lepidozonia coreanica* (Reeve, 1847). *Mitochondrial DNA Part B: Resources*, *8*(5), 629–633. <https://doi.org/10.1080/23802359.2023.2183723>
- Todd, C. D., Lambert, W. J., & Thorpe, J. P. (1998). The genetic structure of intertidal populations of two species of nudibranch molluscs with planktotrophic and pelagic lecithotrophic larval stages: Are pelagic larvae “for” dispersal? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *228*(1), 1–28. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(98\)00005-7](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(98)00005-7)
- Toonen, R. J., Puritz, J. B., Forsman, Z. H., Whitney, J. L., Fernandez-Silva, I., Andrews, K. R., & Bird, C. E. (2013). ezRAD: A simplified method for genomic genotyping in non-model organisms. *PeerJ*, *2013*(1), 1–15. <https://doi.org/10.7717/peerj.203>
- Varney, R. M., Speiser, D. I., McDougall, C., Degan, B. M., & Kocot, K. M. (2021). The iron-responsive genome of the chiton *Acanthopleura granulata*. *Genome Biology and Evolution*, *13*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1093/gbe/evaa263>
- Veale, A. J., Williams, L., Tsai, P., Thakur, V., & Lavery, S. (2016). The complete mitochondrial genomes of two chiton species (*Sypharochiton pelleris* and *Sypharochiton sinclairi*) obtained using Illumina next generation sequencing. *Mitochondrial DNA*, *27*(1), 537–538. <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.905846>
- Voulgaris, K., Varkoulis, A., Mygdalias, T., Zaoutsos, S., & Vafidis, D. (2024). Elemental composition and morphometry of *Rhyssoplax olivacea* (Polyplacophora): Part II—Intraspecific variation. *Journal of Marine Science and Engineering*, *12*(12), 1–13. <https://doi.org/10.3390/jmse12122230>

- Wang, C., Zhou, Y., Jiang, D., & Han, J. (2018). Report of a chiton in the genus *Leptochiton* (Lepidopleurida: Lepidopleurina: Leptochitonidae) from the Yap Trench in the West Pacific Ocean. *Acta Oceanologica Sinica*, 37(10), 205–208. <https://doi.org/10.1007/s13131-018-1327-9>
- Wares, J. P., Gaines, S. D., & Cunningham, C. W. (2001). A comparative study of asymmetric migration events across a marine biogeographic boundary. *Evolution*, 55(2), 295–306.
- Wilson, N. G., Rouse, G. W., & Giribet, G. (2010). Assessing the molluscan hypothesis Serialia (Monoplacophora + Polyplacophora) using novel molecular data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54(1), 187–193. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.07.028>
- Wyngaarden, M. Van, Snelgrove, P. V. R., Dibacco, C., Hamilton, L. C., Luyao, N. R., Beiko, R. G., & Bradbury, I. R. (2018). Oceanographic variation influences spatial genomic structure in the sea scallop, *Placopecten magellanicus*. *Ecology and Evolution*, 8, 2824–2841. <https://doi.org/10.1002/ece3.3846>
- Xu, H., Chu, Z., Zhang, J., Jing, M., & Huang, L. (2020). Genetic diversity and population structure of *Acanthochiton rubrolineatus* (Polyplacophora) based on mitochondrial and nuclear gene markers. *Diversity*, 12(4). <https://doi.org/10.3390/D12040159>

Capítulo 2

Bergmann's Rule under Rocks: Testing the Influence of Latitude and Temperature on a Chiton from Mexican Marine Ecoregions

Raquel Hernández-P, Hugo A. Benítez, Claudia Patricia Ornelas-García,
Margarita Correa, Manuel J. Suazo y Daniel Piñero

Los quitones son moluscos morfológicamente conservados, constan de ocho valvas imbricadas y cubiertas por un cinturón carnosos; su cuerpo está aplanado dorsoventralmente, lo que les permite adherirse a los sustratos rocosos. Debido a su desplazamiento limitado, están constantemente expuestos a los cambios ambientales. En este trabajo se utilizó morfometría geométrica para medir el cambio en la talla y la forma del cuerpo de *Stenoplax limaciformis* de tres ecorregiones marinas ubicadas en la porción mexicana del océano Pacífico. Se colocaron landmarks y semilandmarks a lo largo del cuerpo de los quitones, para cuantificar la forma. Adicionalmente, se realizó un análisis de alometría para conocer el cambio de la forma debido a la talla en un gradiente latitudinal. Los resultados indican que los quitones más grandes se encuentran en latitudes altas, donde las temperaturas son más bajas y que los quitones pequeños se encuentran en latitudes bajas donde las temperaturas son más elevadas. Este patrón se ajusta a lo descrito en organismos homeotermos, en el caso de los quitones podría estar dado por los niveles de clorofila a, la cual está relacionada a la cantidad de alimento disponible, así como a los altos niveles de humedad, necesarios en latitudes altas durante mareas las mareas bajas.

El trabajo completo fue publicado en la edición especial “Evolution and Ecology of Phenotypes in Nature” de *Biology*, y encuentra disponible aquí [10.3390/biology12060766](https://doi.org/10.3390/biology12060766)

Capítulo 3

Historical phylogeography of a chiton under temperature gradient and past environmental changes

Raquel Hernández-P^{1,2,*}, Azalea Guerra-García³, Daniel Piñero²

¹Posgrado en Ciencias Biológicas, Unidad de Posgrado, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, 04510, México

²Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, 04510, México

³Departamento de Biotecnología y Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, (Cinvestav-IPN), Irapuato, Guanajuato, México, Carretera Irapuato-León, CP 36824

* Corresponding author

Abstract

Genomic tools offer a robust approach for quantifying marine connectivity, particularly in benthic and sessile organisms. Chitons are a class of marine molluscs, they have a pelagic larval stage and live fixed on hard substrates during their adult life. The chiton *Stenoplax limaciformis* is found along rocky shores of the Tropical and Northeastern Pacific, encompassing several marine ecoregions. We analyzed populations from three marine ecoregions with varying oceanographic conditions, to evaluate the potential genetic structure of *S. limaciformis*. DNA from 125 chitons was sequenced using the ddRADseq method and 5,814 SNPs were obtained after filtering. We conducted phylogenetic, genetic diversity and structure, and demographic analyses to evaluate recent and ancient gene flow. Admixture resolved three genetic groups that correspond to the marine ecoregions. The northeastern ecoregions exhibited lower genetic diversity, with $H_E = 0.101$ and $F_{IS} = 0.026$, compared to other ecoregions. A multivariate regression analysis explored the relationship between genetic data and environmental factors, identifying candidate *loci* involved in local adaptation, particularly associated with Chlorophyll-a in areas of lower sea surface temperature. Chitons from three marine ecoregions displayed evidence of northward population expansion; sibling species of *S. limaciformis* are

found in the Caribbean, suggesting that ancient species may have originally dispersed from the southern Pacific. Furthermore, the North Equatorial Current flows northward, potentially facilitating dispersal in that direction. Our results suggest that ocean currents have influenced the intrapopulation genetic structure of marine ecoregions because chiton larval dispersal is dependent on them. Environmental conditions shaped by oceanographic factors have driven local adaptations in this species, reflected in their genome, contributing to large population effective sizes and a currently broad distribution range throughout marine habits.

Keywords: chiton, ecoregion, gene flow, temperature

Introduction

Marine environments are affected by oceanographic features such as sea currents, temperature, and salinity, and ocean conditions alter larval dispersal, resulting in ecological and evolutionary consequences (Bashevkin et al., 2020). Larval dispersal and recruitment of benthic marine invertebrates have been shown to depend on the abundance of larvae in the water column, larval mortality, settlement rate, and oceanographic features such as upwelling, and cold-water plumes (Hunt & Scheibling, 1997). Migration capacity depends on the biology and life cycle of organisms. Most marine invertebrates have benthic or sessile habitats, so their dispersal is limited or null during the adult stage. Consequently, the larval stage is the main dispersal stage that confers colonization potential to most benthic invertebrates. In these species, the period spent in the water column fluctuates and ranges from minutes to months. Metamorphosis is usually delayed until a suitable substrate is found, so the larval stage is considered a major determinant shaping demography and population processes. Pelagic larvae confer important larval dispersal and colonization potential (Hedgecock, 1986; Jenkins et al., 2009). However, some marine species have lecithotrophic larvae (which develop from yolk supplies in the ovum and do not feed), so they must find a substrate and begin the adult stage (Levin et al., 1987). Dispersal limitations could result in isolation by distance patterns, which could be raised by ocean currents, sea floor topology, and oceanographic features providing ample possibilities for isolation and genetic differentiation (Waples, 1998).

Migration is reproductively effective through a successful exchange of gametes or individuals who survive and reproduce in the new population they arrive at (Levins, 1964). Dispersal can contribute significantly to population growth rates, gene flow, and species persistence (Lowe & Allendorf, 2010). Also, genetic diversity, which can arise through

mutation or gene flow, contributes to the ability of a species to respond to environmental changes and reflects the balance between the new and loss of alleles (Ellegren & Galtier, 2016). Gene flow tends to homogenize gene frequencies among populations, while genetic drift and/or natural selection, which act as population diversification forces are opposite processes that produce intermediate outcomes on population structure (Millstein, 2006; Slatkin, 1994). Historical demography reflects such patterns of genetic variation within and among populations. In addition, it facilitates the search for genetic regions that have been targets of non-neutral forces, as well as historical events such as migrations (Gutenkunst et al., 2009). Natural selection impacts demographic inference, and the effects can be interpreted as evidence of population bottlenecks and growth. Different demographic scenarios change the shape and branch lengths of the underlying genealogies, which consequently change the site frequency spectrum (SFS). The SFS refers to the number of single-nucleotide polymorphisms at particular frequencies in a sample of individuals (Schridder et al., 2016; Beichman et al., 2018). Demographic inference helps to find a particular model describing population size changes, population split and mixture events over time (Beichman et al., 2018). From a population genetics perspective, demographic processes determine the strength of genetic drift and natural selection, shaping the genetic variation within and among populations (Wright, 1930; Caballero, 1994). The importance of migrants is low when local density and competition for recruitment are high, and its contribution increases as local density and competition decrease. Also, the outcome of migration depends on species density and related interactions (Lowe & Allendorf, 2010).

Direct observation of larval dispersal between marine populations is nowadays intractable. However, genomic tools provide a powerful means for quantifying marine connectivity, and sequencing methods like ddRADseq have allowed the use of hundreds or thousands of genetic markers throughout the genome in non-model species by sequencing genetic regions close to restriction sites cuts (Willing et al., 2012). Additionally, methods based on the SFS appear to be slightly more robust than other coalescent approaches, as the historical events of populations influence them (Beichman et al., 2018).

Chitons belong to the phylum Mollusca and are distributed in all oceans. Nonetheless, there are few broadly distributed species, which have been suggested to be related to the lifespan of larvae. Lower sea surface temperatures could contribute to longer larval duration among lecithotrophic species, increasing dispersion (Eernisse, 2007; Kelly & Eernisse, 2007).

A distinct latitudinal connectivity gradient has been observed in chiton species distributed at lower latitudes that tend to show genetically isolated populations (Kelly & Eernisse, 2007).

Stenoplax limaciformis (G. B. Sowerby I, 1832) is a chiton species distributed from the Northeastern to Tropical-Eastern Pacific, covering from Mexico to Peru (Reyes-Gómez et al., 2022). These geographic ranges encompass several marine ecoregions where oceanographic factors may serve as barriers for *S. limaciformis*. Earlier works describe *S. purpurascens* as its sibling species distributed in the Caribbean Sea. It has been proposed that *S. limaciformis* and *S. purpurascens* diverged due to the closure of the Isthmus of Panama (García-Ríos et al., 2014). This study aims to evaluate whether populations of *S. limaciformis* exhibit genetic structure related to ecoregions and oceanographic factors that impose selective pressures and environmental barriers. Additionally, we analyzed whether geographic features are linked to the current distribution and genetic structure of *S. limaciformis* by modeling evolutionary scenarios to infer the demographic processes that the species may have gone through. We described the probable scenarios considering divergence and gene flow among chitons from different ecoregions.

Materials and Methods

The sampling was carried out in 15 localities at different latitudes (Supplementary Material Table S1) in the three marine ecoregions located in the Mexican portion of the Pacific Ocean (Reyes-Gómez, 2016): Gulf of California (GC), Southern Gulf of California (SGC) and Mexican Pacific Transition (MPT; Fig. 1). The abundance of *S. limaciformis* is variable along its distribution, so 3-15 individuals were sampled in each site (Details in Hernández-P et al., 2023).

After a morphological corroboration of *S. limaciformis* following Kaas y Van Belle (1987), 125 individuals were included in subsequent analyses. For some analyses, localities were combined to homogenize the number of individuals, then some localities shared ID (Sup. Mat. Table S1). A third part of the muscle from the feet of chitons was cut and used for DNA extraction using the QIAGEN DNeasy Blood and Tissue Kit, following the manufacturer's protocol. The integrity of the DNA was verified with an agarose gel (1%) and concentration was quantified using a Qubit 3.0 Fluorometer from Thermo Scientific, which ranged between 50 and 80 ng/uL. Samples were genotyped at the Biotechnology Center at the University of Wisconsin-Madison. Sequencing libraries were constructed through double digest restriction site-associated DNA with the Nsil and Bfal enzymes, following the Genotype by Sequencing protocol (Elshire et al., 2011).

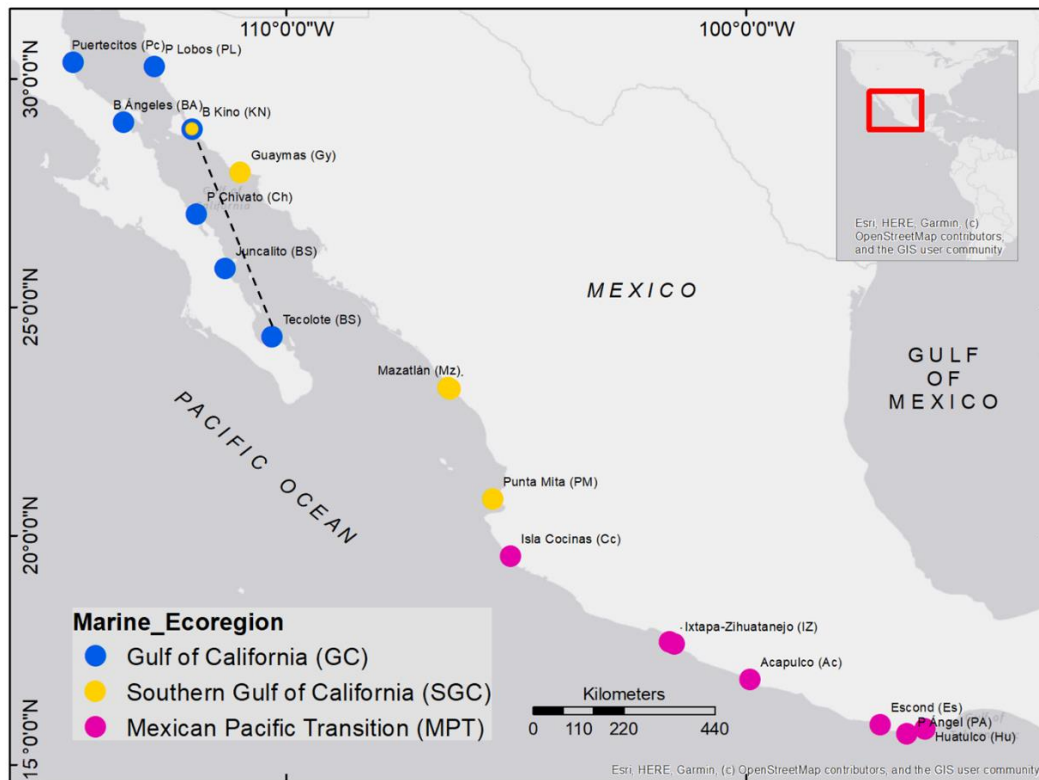


Figure 1. Geographic location of sites where *S. limaciformis* was collected. Marine ecoregions are color-coded, ID for each ecoregion and localities are indicated in parentheses. B. Kino is marked with two colors because it is part of the Gulf of California, but chitons from this location are clustered with individuals from the Southern Gulf of California. The dotted line indicates boundaries between the GC and SGC ecoregions, according to Reyes-Gómez (2016).

Paired-end 150 pb reads were obtained, and ~2.4 million reads per individual. The quality of the reads was verified using FASTQC (Andrews, 2010) and adapters were removed with TRIMMOMATIC (Bolger et al, 2014). Demultiplexing, *de novo* assembly, and SNP (Single Nucleotide Polymorphism) identification were performed using Stacks (Catchen, 2013). After SNP calling, MAF (0.05), missing data per site (<10%), and Hardy Weinberg (0.005) filters were performed with VCFtools v0.1.16 (Danecek et al., 2011) and plink1.9 v1.90b6.22 (Purcell et al., 2007).

Phylogenetic inference. Two samples from each location of *S. limaciformis* were randomly selected to build a phylogenetic tree. As external groups, we included two individuals of *S. purpurascens* (C. B. Adams, 1845), the sibling species of *S. limaciformis*, distributed along the Caribbean Sea, and two samples of *S. circumscissa* S. S. Berry, 1956, which is distributed near *S. limaciformis* and is morphologically similar. An independent SNP filtering of these species was performed according to MAF= 0.02 and removing sites with more than 80% of missing

data. Sequences were aligned with MAFFT v7 (Kato & Standley, 2013). Phylogenetic relationships were recovered from Bayesian Inference (BI), simulating 30,000,000 generations, two independent runs, four chains, and burnin of 25% using MrBayes v.3.2.2 (Ronquist et al., 2012).

Population genetics and environment. Ancestry signature analysis of *S. limaciformis* was implemented with Admixture v1.3.0 (Alexander et al., 2009), burning of 1,000 replicates was used and the ancestry plot was constructed using the most likely K value. A discriminant analysis of principal components (DAPC) was performed to collect further information regarding the clustering of chitons in each marine ecoregion. DAPC transforms data using PCA. The number of retained PCs is specified, and it runs a k-means algorithm (Jombart and Collins, 2015). That was performed using adegenet (Jombart & Ahmed, 2011) in R. Genetic diversity measures also were performed using adegenet (Jombart & Ahmed, 2011), vcfR (Knaus & Grünwald, 2017), hierfstat (Goudet, 2005), and StAMPP (Pembleton et al., 2013) in R. H_o , H_e , and F_{is} were calculated for each marine ecoregion, and F_{st} was calculated by location.

Environmental data was retrieved from ERDDAP by accessing the dataset *Sea Surface Temperature, Coral Reef Watch, CoralTemp, v3.1—Daily, 1985-present*. Dataset ID: CRW_sst_v3_1 (Donlon et al., 2012; Maturi et al., 2017). The environmental information was averaged for 37 years for yearly trimesters were calculated in R (details in Hernández-P et al., 2023). Redundancy analysis (RDA), a genotype-environment association method (Forester et al., 2018), was later implemented to evaluate the relationship between allelic frequencies of *S. limaciformis* and environmental factors. Maximum and minimum values for trimesters of sea surface temperature (SST), chlorophyll a (Chl.a), and photosynthetically available radiation (PAR) were analyzed using regression tests. Correlated predictors were removed (Sup. Mat. Fig. S4), as Dormann et al., (2013) suggested, and four environmental factors were selected. The model “allelic frequency ~ Chl.a_max + Chl.a_min + SST_max + SST_min” was tested using 999 permutations. Candidate *loci* involved in local adaptation and associated with environmental variables were also identified (Sup. Mat. Fig. S6) this analysis was carried out using vegan (Oksanen et al. 2001) and psych (Revelle, 2007) in R.

A Mantel Test was performed to evaluate isolation by distance (IBD), in which genetic differentiation increases with geographic distance (Wright, 1943) (Sup. Mat. Fig. S5). This has been employed to assess spatial genetic patterns in marine systems. In some studies, this analysis has revealed the lack of any spatial genetic correlations, so environmental factors besides spatial distances became important (Nanninga et al., 2014). For the Mantel test, genetic

distance was measured through paired and Euclidean distance between localities was estimated. Isolation by Environment was also tested, evaluating the relationship between SST, Chlorophyll-a and PAR. These tests were carried out using philentropy (Drost, 2018) and ade4 (Dray & Dufour, 2007) in R.

Inferring the demography of Stenoplax limaciformis populations. Exploratory analyses were performed to infer plausible demographic scenarios for testing. Because the tests applied are sensible to low-frequency variants, the MAF filtering was removed and MAC=1 was used to retain all polymorphic sites, keeping the other filtering parameters. The distribution of Tajima's D statistics, and SFS provide information about demographic events that might have occurred. Tajima's D statistics and SFS were estimated with vcfTools 0.1.16 (Danecek et al., 2011). TreeMix 1.13 (Pickrell & Pritchard, 2012) was used to investigate if gene flow between populations has occurred in the past.

Based on the patterns observed in the SFS and the D-Tajima statistic, and the gene flow events suggested by TreeMix, plausible demographic models were constructed based on the phylogenetic relationships of the populations (see results). Specifically, three demographic scenarios were tested: 1) Gene flow from GC to SGC, 2) bidirectional gene flow between GC to SGC, and 3) no gene flow between these two populations. Divergence times and N_e were estimated. The demographic simulations were performed with fastsimcoal2 (Excoffier et al., 2021; Gutenkunst et al., 2009).

Results

Phylogenetic inference. Fifteen locations where *S. limaciformis* is distributed along the Mexican Pacific were sampled. After filtering, 125 individuals and 5,814 SNPs were kept. The phylogenetic tree clustered the *S. limaciformis* samples according to the three marine ecoregions (GC, SGC, and MPT) with high support. The tree showed that *S. limaciformis* is closer phylogenetically to *S. purpurascens*, which is distributed along the Caribbean Sea than to *S. circumscissa*, which is distributed along the Gulf of California (Fig. 2).

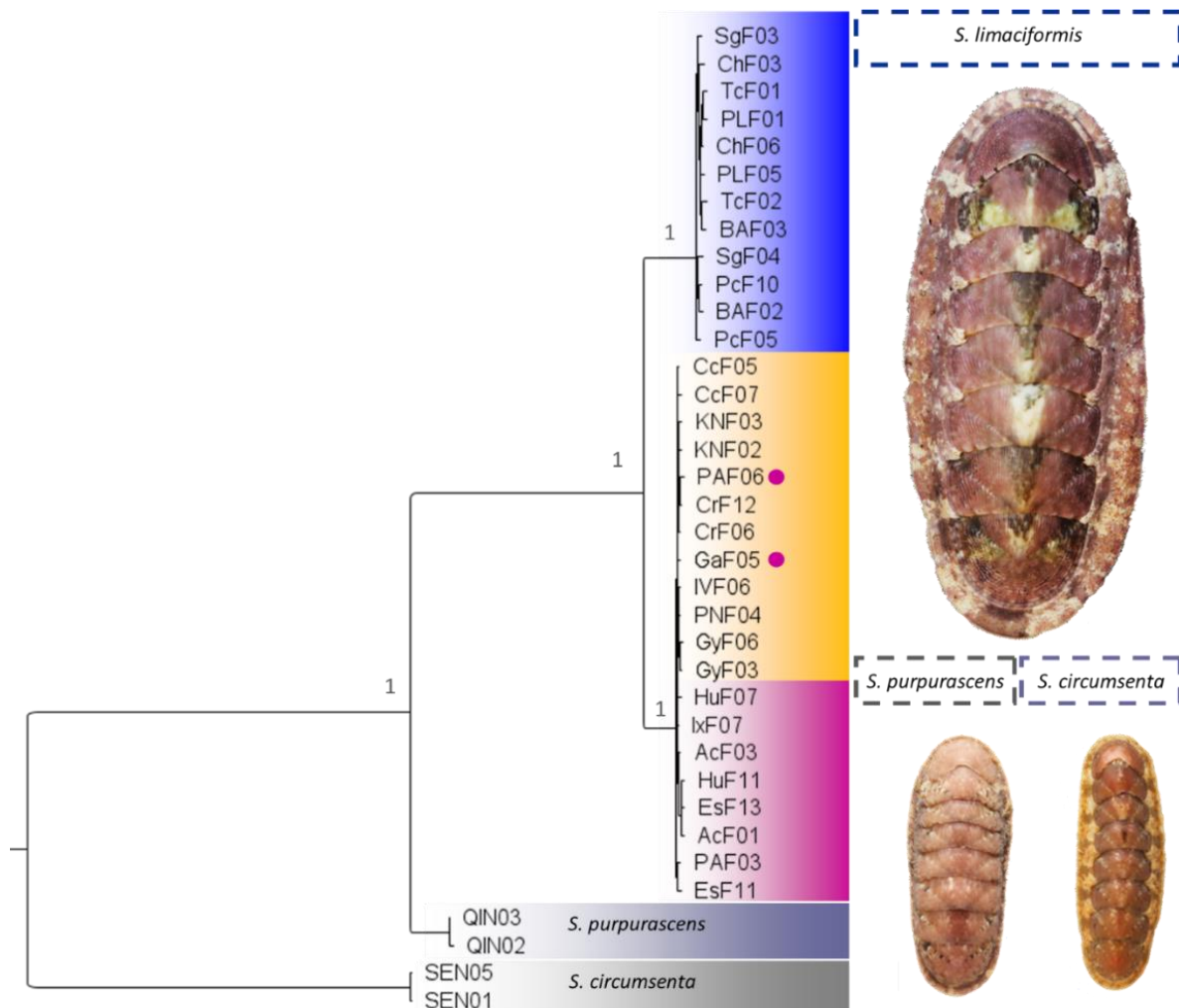


Figure 2. Phylogenetic relationship of *S. limaciformis* recovered from Bayesian Inference. Bayesian Posterior Probabilities are indicated at nodes. *S. limaciformis* is colored by marine ecoregion. *S. purpurascens* (Caribbean) and *S. circumscinta* (Gulf of California) are colored in gray tones. Images of each species are on the right and they are not scaled.

Ancestry assignment performed with Admixture suggested three ($K=3$) genetic groups as the most likely scenario (Sup. Mat. Fig. S1), and the clustering observed in the DAPC is consistent with the marine ecoregion. GC is a well-defined genetic group with no mixed ancestry when $K=3$, meanwhile a gradient of ancestries is observed between the SGC and MPT in the geographically closer locations (Sup. Mat. Fig. S2). Middle populations, around 20° latitude, share ancestry from north and south. PM (the southern locality of SGC) and the northern localities of MPT are a genetic group on their own and share genetic ancestry (light pink in Fig. 3A).

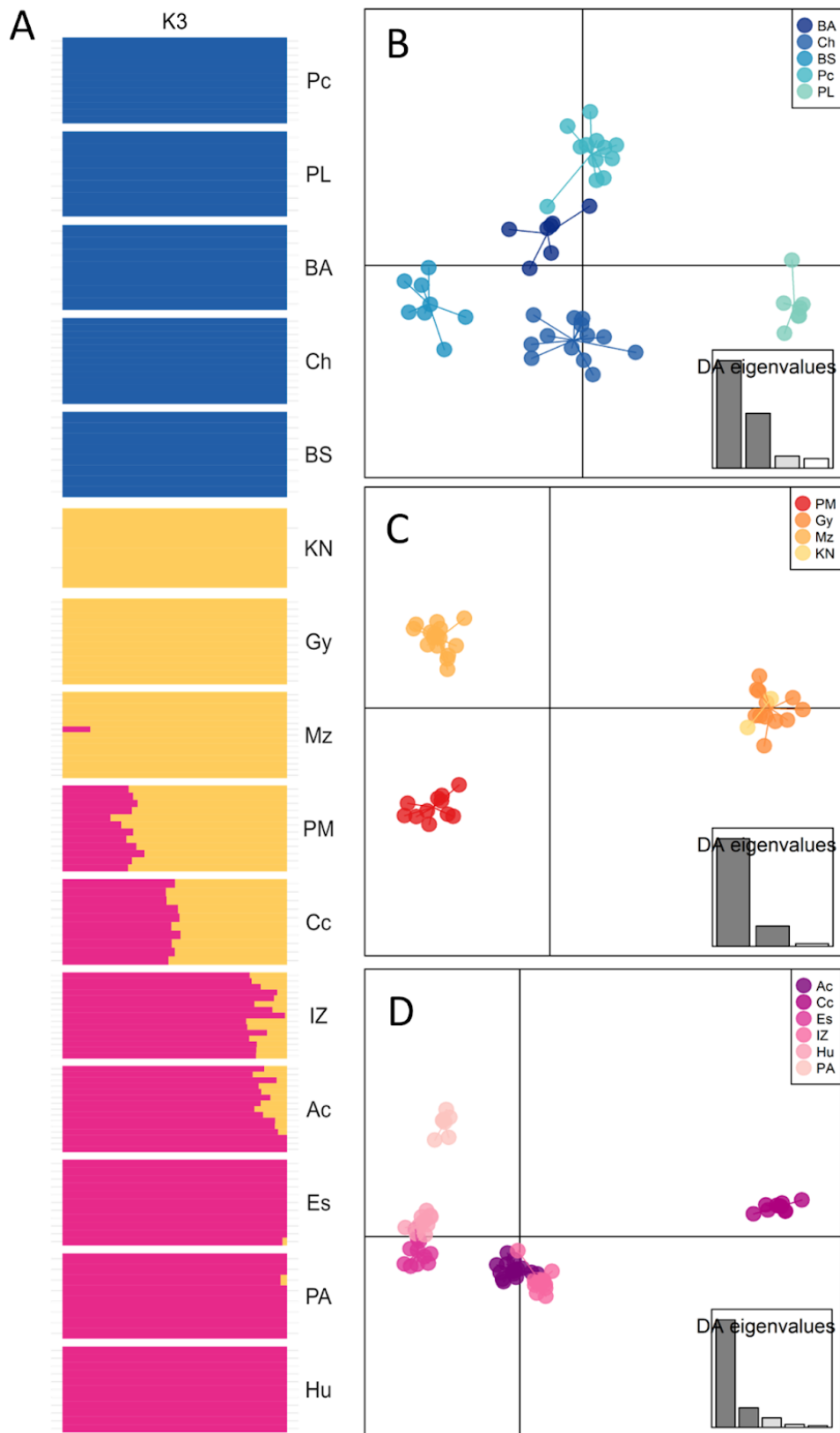


Figure 3- A. Population structure of *S. limaciformis* inferred with Admixture. K3, which had the lowest error, is displayed. Each color bar represents an individual, location is to the right of ancestry plots. Localities are latitudinally ordered from north (top) to south (bottom), and each ecoregion is represented in a color tone. Discriminant Analysis of Principal Components for ecoregion: B. Gulf of California. C. Southern Gulf of California. D. Mexican Pacific Transition.

Population genetics and environment. Because the number of individuals collected per ecoregion was diverse, the number of retained PCs was: 30 for GC, 20 for SGC, and 50 for MPT ecoregion. Locations were grouped by ecoregion (Sup. Mat. Fig. S3). Within regions, DAPC showed that locations from GC are more dispersed, and populations are not well defined (Fig. 3B). Locations from SGC and MPT were grouped into three and four populations, respectively (Fig. 3C-D). Thus, northern populations are more dispersed, and southern ones are more aggregated. Furthermore, their arrangement is consistent with geography. Values of F_{IS} indicate that MPT, the southern ecoregion showed larger structure ($F_{IS} = 0.056$) among localities in comparison with GC ($F_{IS} = 0.026$) and MPT ($F_{IS} = 0.040$). By contrast, H_E was higher in the MPT ($H_E = 0.195$) and in SGC ($H_E = 0.187$) in comparison to the northern ecoregion (Fig. 4). The highest levels of genetic differentiation (F_{ST}) were found among the populations from the GC and the rest of the sampled locations. The differentiation was particularly high between KN location and the populations from GC (Fig. 5A). F_{ST} was low among the locations of SCG and MPT.

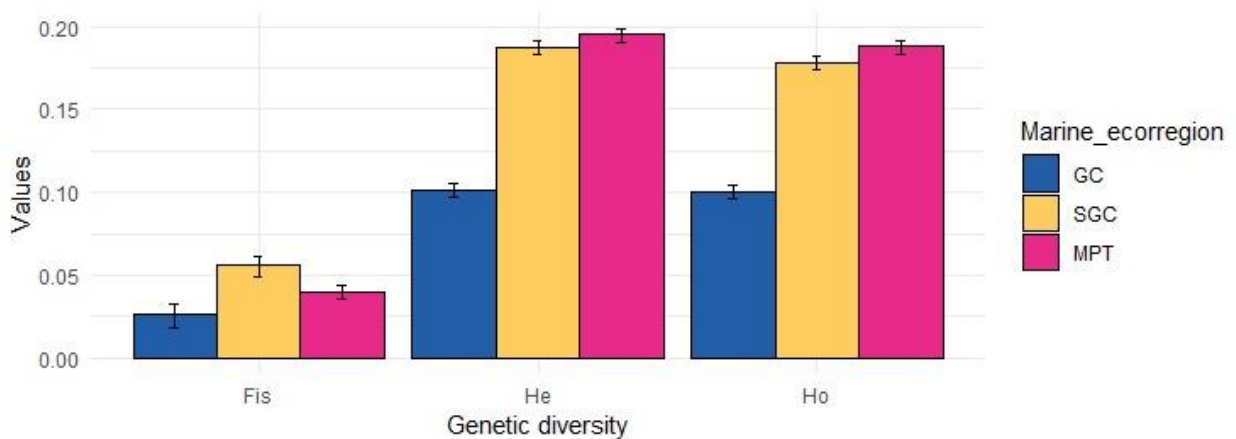


Figure 4. Genetic diversity measures in ecoregions where *S. limaciformis* is located. Expected (H_E) and observed (H_O) heterozygosity, and inbreeding coefficient (F_{IS}), also confidence interval (0.95) is displayed.

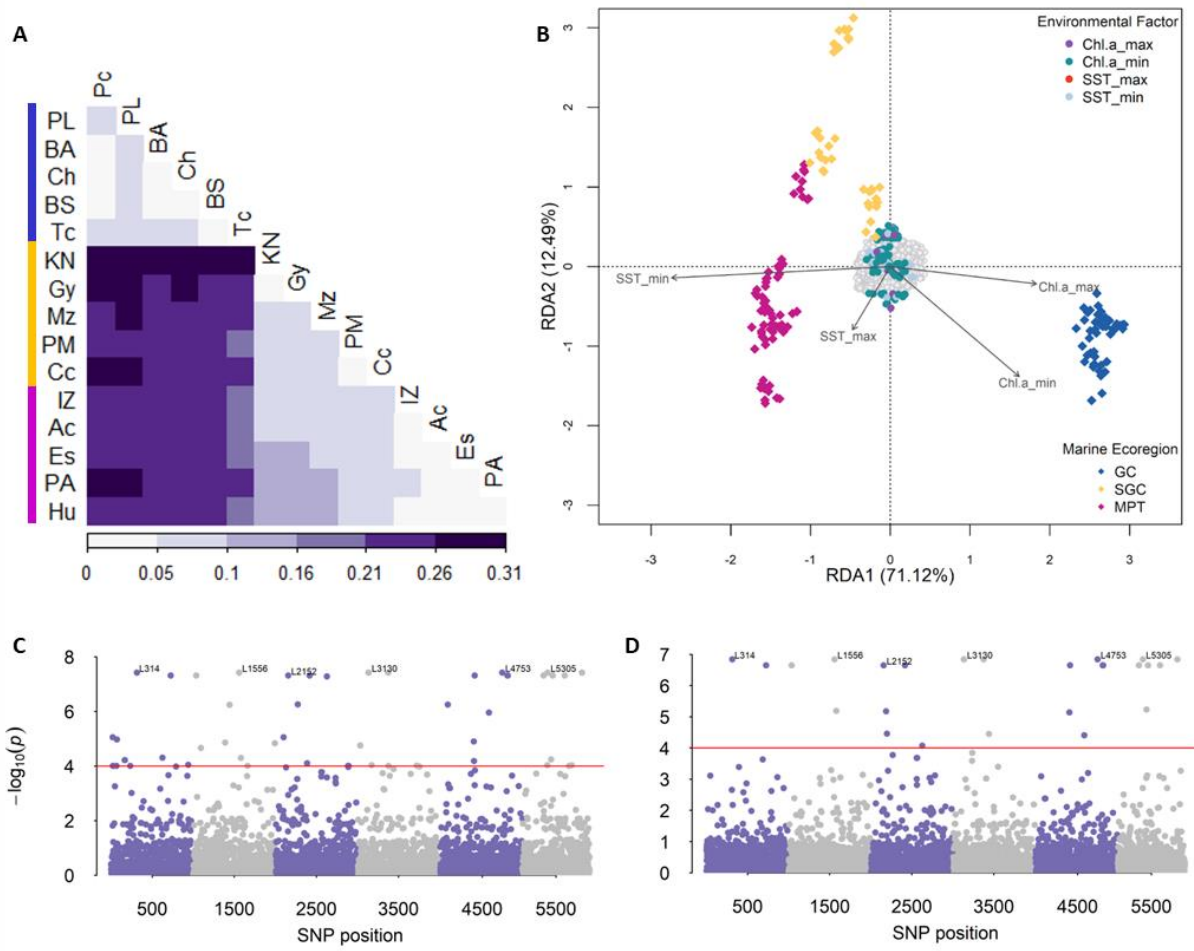


Figure 5. A. Paired genetic distances (F_{ST}) among locations for the three marine ecoregions in *S. limaciformis*. Locations are latitudinally ordered from north (top) to south (bottom), and ecoregions are distinguished by a color bar to the left (blue-GC, yellow-SGC, and pink-MPT). B- Partial RDA analysis on genetic variance, explained by the effects of environmental factors. Allelic frequencies of chitons from marine ecoregions are indicated by rhombuses displaying different colors, and vectors represent environmental factors. SNPs that are not significantly associated with environmental factors are represented in gray circles, and SNP significantly correlated with environmental factors are indicated with color circles. Manhattan plots for: C. maximum Sea Surface Temperature and D. minimum Chlorophyll-a. The SNP position refers to the position of SNP in the novo assembly of the genome; in both, circles over the red line represent candidate *loci* related to selection.

Redundancy Analysis indicated that SST and chlorophyll-a are related to the distribution of chitons in marine ecoregions, where MPT and SGC are closer than GC (Fig. 5B and S4). The first two eigenvalues explain more than 80% of the variance, with a significant p -value = 0.001. Maximum and minimum SST values explained the arrangement of MPT, and maximum and minimum chlorophyll-a values were related to the variance of chitons from GC (Sup. Mat. Fig. S4). The number of candidate *loci* were 101 for Chlorophyll-a min, and 18 for Chlorophyll-a max, and from 34 for SST min to 3 for SST max (Fig 5D).

Inferring the demography of Stenoplax limaciformis populations. To construct plausible demographic scenarios to test with fastsimcoal2, SFS and Tajima's D distribution were estimated according to the genetic groups (ecoregions) and the locations. In the case of Tajima's D statistics, estimations based on locations and genetic groups (ecoregions) were biased to negative values (Sup. Mat. Fig. S7). The SFS, both location and genetic group-based, presented an excess of low-frequency variants (Sup. Mat. Fig. S8). This was particularly conspicuous in the MPT ecoregion when SFS was estimated according to the ecoregions (Sup. Mat. Fig. S8). The patterns observed in both SFS and Tajima's D statistics suggest that populations have gone through demographic expansions.

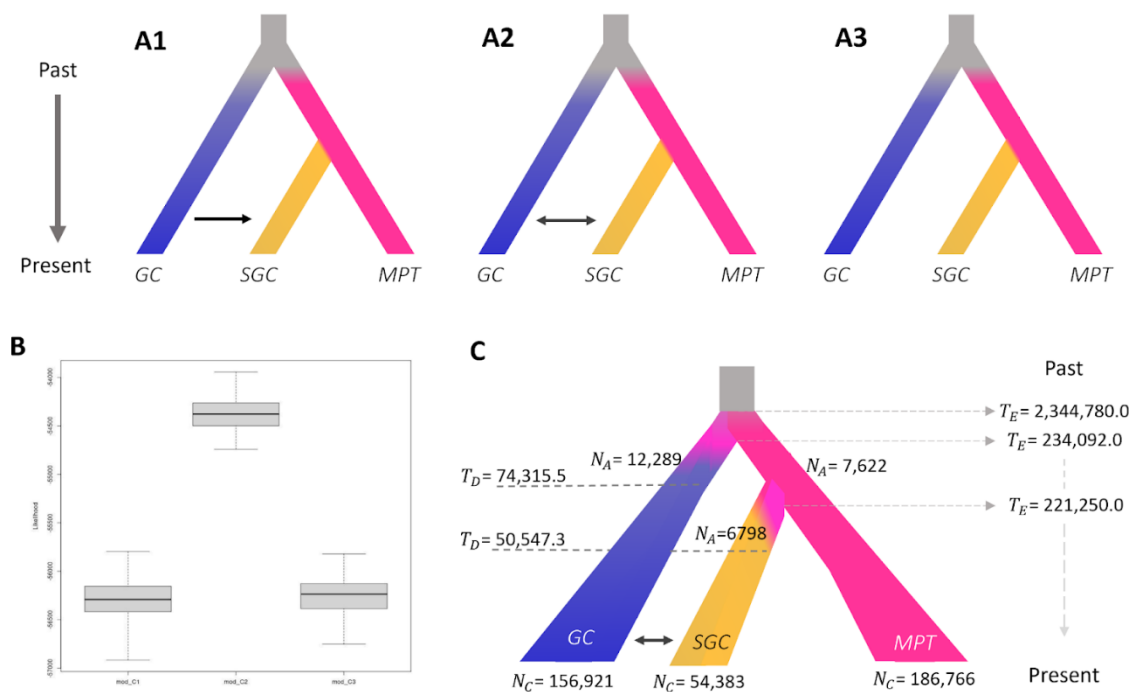


Figure 6. Demographic scenarios were tested for the ecoregions. A1- The first scenario supposes gene flow from GC to SGC. A2- The second scenario supposes bidirectional gene flow among GC and SGC. A3- The third scenario supposes gene flow is lacking. B- Maximum likelihood for demographic scenarios. C- The second scenario, the more likely scenery, where N_A = Ancient population effective size, N_C = Current population effective size, T_D = Divergence Time (years ago), T_E = Expansive Time (years ago).

Regarding gene flow, TreeMix identified unidirectional migration from GC to SGC (Fig. 6). Based on all these results together, three demographic scenarios were tested, all of which include population expansion in the three ecoregions: 1) geneflow from GC to SGC, as suggested by TreeMix; 2) bidirectional gene flow between these two populations; and 3) no gene flow. The demographic scenarios were constructed based on Tajima's D probabilities, which showed negative values, suggesting population expansion for three ecoregions (Sup.

Mat. Fig. S7), as well as the TreeMix method, which also supports gene flow from GC to SGC (Sup. Mat. Fig. S9).

Coalescence analysis and the maximum likelihood results indicate that the scenario with the maximum likelihood was the second one, which supports reciprocal migration between GC and SGC (Fig. 6B). The results also suggest population growth, as the ancient effective sizes were relatively small (GC- 12,289; SGC-6,798; MPT-7,622) and have all increased (GC-156,921; SGC-54,383; MPT-186,766) in recent times. Demographic analyses support a history where, first GC diverged from the rest, and later SGC formed another ecoregion. Results confirm three marine ecoregions with large current effective sizes (Fig. 6C).

Discussion

The genetic diversity of *S. limaciformis* is variable among populations. The larval stage is prolonged at lower temperatures due to delays in embryogenesis (Reizel et al. 2004), so chitons have more time to be dispersed at sites under these temperatures. In this study, populations with lower SST also exhibit lower genetic diversity, which resulted in increased gene flow. In contrast, southern populations with higher SST show greater genetic diversity and are more genetically isolated. This latitudinal relationship has been observed among species (Kelly & Eernisse, 2007), where larger F_{ST} values were observed at lower latitudes which correspond to higher SST values, and this work confirms the same pattern among populations of a single species. Additionally, the relationship between latitude and genetic diversity is correlated with the location of marine ecoregions.

Results indicate higher values of F_{IS} in MPT. However, F values indicate that southern populations with higher genetic diversity also exhibit higher inbreeding, though these two factors are not directly related. This may be linked to the direction and patterns of sea currents, as well as the spatial requirements of chitons, which depend on rocky shores or other hard substrates for their habitat. The coastal distribution of *S. limaciformis* and the trajectory of sea currents in the southern portion of SGC and MPT ecoregions match with stepping-stone model of gene flow, where breeding recruits disperse only short distances from their natal colony (Harkness et al., 2024). Thus, gene flow from a large scale among populations in these ecoregions always occurs in the same direction, north to south or south to north. Therefore, the populations in the central portion of the distribution display shared ancestry. A similar result has been observed in crab species, where the observed pattern is due to the physical oceanographic conditions caused by sea currents, the correlation is not spatial, but it is temporal

and influences larval recruitment, as well as gene flow (Jackson et al., 2018). Life history is also a critical factor, crab species have a prolonged larval stage, while in chitons it is reduced, so they have a shorter dispersal period.

It is important to notice that GC and SGC ecoregions are closer geographically, but the boundaries between them do not correspond to latitudinal change. Ecoregions are related to the water entrance into the Gulf of California, which has an elongated shape. Due to this geographic factor, F_{ST} values obtained among GC and SGC were larger between localities geographically closer because they belong to different marine ecoregions. At the same time, some localities from the same ecoregion are geographically distant but close genetically (Fig. 5A).

Similarly, these findings align with results from DAPC, which show the distribution of genetic variance across and within ecoregions. Also, it is related to latitudinal gradient and environmental factors, particularly SST. Strong differentiation in species with planktonic larvae has usually been attributed to natural selection whereas, genetic homogeneity in species lacking broadly dispersing planktonic larvae could reflect recent population expansion, stabilizing selection, or unexpected dispersal capability (Hart & Marko, 2010). Northern populations from GC are mainly affected by local environmental variables. On the other hand, the Gulf of California is a closed sea, there are atmospheric and oceanic forces, where sea currents and winds have temporal repercussions (Lavín & Marinone, 2003). The California Current flows into the Gulf of California from December to January, moving southward by March. From May to July, the Gulf is influenced by the Costa Rica Current, which is then replaced by the North Equatorial Current in August and September. In November, the Gulf Current exists into the Pacific, Additionally, wind patterns cause variations in the water column over time (de la Lanza-Espino, 2001; Jiménez et al., 2005). Due to the foregoing, in the GC ecoregion, mating could occur between individuals from diverse populations, which also matches with mixed ancestry observed through admixture results. On the other hand, on the coast of the MTP ecoregion occurs the North Equatorial Current, which forms around the Costa Rica Dome and flows northward joining southward flow from the California Current (Lukas, 2001). This pattern results in gene flow among populations, towards north or south but always along the coast, completing the same trajectory just as observed in admixture results.

Coastal environments often show a linear distribution for species, which may be related to the centroid ecological niche. Populations located closer to the core of the fundamental ecological niche are likely to experience greater stability due to optimal conditions. The fundamental niche refers to the range of environmental conditions where a species can maintain

positive population growth rates without immigration (Lira-Noriega & Manthey, 2013). Niche theory suggests that the reproduction and survival of individuals should be higher in localities placed at optimal conditions of their ecological fundamental niche (Peterson et al., 2011). *S. limaciformis* was close to its sibling species, *S. purpurascens* through the southern populations from its current distribution. Therefore, populations of MPT could correspond to more ancient and higher genetic diversity populations, indeed these populations had higher H_0 values. According to species range evolution models, the niche's center contributes to the emergence of novel adaptive alleles, which diffuse towards niche margins and facilitate range expansion through local adaptations (Rolland et al., 2015). Demographic results suggest population expansion; according to niche theory, this expansion would likely be towards the north, which represents the margins of the species niche.

The demographic structure may be stable, with local populations persisting in each area continuously for long times, or unstable, with large demographic changes occurring frequently in the evolutionary history of a species. Demographic instability can result from large-scale expansions in geographic range, as could occur during major climatic changes or after crossing former barriers to dispersal (Slatkin, 1994). In this study, the split of *S. limaciformis* and *S. purpurascens* occurred during the closing of Isthmus of Panama, which began 15.4 Ma causing sea-level changes (Huguet et al., 2022). However, isolation between these two species is estimated 5.1-10 Ma ago, due to rocky shore association. Therefore, *S. limaciformis* was distributed along the Pacific Ocean (García-Ríos et al., 2014). According to our results, the ancient MPT ecoregion expanded toward the north, and after the other ecoregions diverged, which coincided with posterior geological events. First, the MPT expansion could go along by the change of directions of marine currents after the complete development of the Isthmus of Panama 2.9 and 1.9 Ma ago, which finished closed the Central America Seaway, ceasing water exchange between the Pacific Ocean and the Caribbean Sea (Huguet et al., 2022). Consequently, the North Equatorial Current took place, which goes forward to the north to find the California Current, from the zone that corresponds with SGC and MPT ecoregions. Direction changes in the way currents from the Pacific also provoked decreasing temperatures and upwelling intensified over time (Schneider & Schmittner, 2006). Furthermore, divergence time (T_D) matched to Last Interglacial Complex (~84-76 kya); during this period, which suggests a high sea stand and an increased upwelling at coastal zones (Muhs et al., 2006), which may have benefited from extending coastal distribution and increase larval duration, respectively.

Even, current northern populations of chiton display a relationship of *loci* under selection by a-chlorophyll maximum values. Chitons are not photosynthetic organisms but depend on algae used for food. Northern populations are also exposed to the lowest SST, where upwelling occurs. Upwelling and downwelling occur causing a redistribution of the water, as well as, larvae distribution in the water column (Hunt & Scheibling, 1997; Jiménez et al., 2005), which means adequate factors for chiton gene flow.

Conclusions

Populations into marine ecoregions show genetic differences that match geographic locations and a latitudinal gradient. Additionally, oceanographic factors help explain the boundaries between GC and SGC ecoregions. This chiton, which lives in intertidal rock habits and has low mobility, is ideal for revealing historical genetic patterns, which have been affected by ancient and current oceanographic events. These events had left marks on the genome of this chiton, through natural selection, so a genomic approach is an ideal resource for understanding this invertebrate.

References

- Alexander, D. H., Novembre, J., & Lange, K. (2009). Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research*, *19*(9), 1655–1664. <https://doi.org/10.1101/gr.094052.109.vidual>
- Bashevkin, S. M., Dibble, C. D., Dunn, R. P., Hollarsmith, J. A., Ng, G., Satterthwaite, E. V., & Morgan, S. G. (2020). Larval dispersal in a changing ocean with an emphasis on upwelling regions. *Ecosphere*, *11*(1). <https://doi.org/10.1002/ecs2.3015>
- Beichman, A. C., Huerta-Sanchez, E., & Lohmueller, K. E. (2018). Using genomic data to infer historic population dynamics of nonmodel organisms. In *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* (Vol. 49). <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110617-062431>
- Danecek, P., Auton, A., Abecasis, G., Albers, C. A., Banks, E., Depristo, M. A., Handsaker, R. E., Lunter, G., Marth, G. T., Sherry, S. T., Mcvean, G., Durbin, R., Project, G., & Vcf, T. (2011). The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, *27*(15), 2156–2158. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr330>
- de la Lanza-Espino, G. (2001). *Características Físico-Químicas de los mares de México*. Plaza y Valdés.
- Donlon, C. J., Martin, M., Stark, J., Roberts-Jones, J., Fiedler, E., & Wimmer, W. (2012). The Operational Sea Surface Temperature and Sea Ice Analysis (OSTIA) system. *Remote Sensing of Environment*, *116*, 140–158. <https://doi.org/10.1016/J.RSE.2010.10.017>
- Dormann, C. F., Elith, J., Bacher, S., Buchmann, C., Carl, G., Carr, G., Garc, J. R., Gruber, B., Lafourcade, B., Leit, P. J., Tamara, M., McClean, C., Osborne, P. E., Der, B. S., Skidmore, A. K., Zurell, D., & Lautenbach, S. (2013). Collinearity: a review of methods to deal with it and a simulation study evaluating their performance. *Ecography*, *36*, 27–46. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2012.07348.x>
- Dray, S., & Dufour, A.-B. (2007). The ade4 package: Implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of Statistical Software*, *22*(4).
- Eernisse, D. J. (2007). Chitons. In M. Denny & S. Gaines (Eds.), *Encyclopedia of Tidepools and Rocky*

- Shores (pp. 127–133). University of California Press.
<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Douglas+j.+eernisse#0>
- Ellegren, H., & Galtier, N. (2016). Determinants of genetic diversity. *Nature Reviews Genetics*, 17(7), 422–433. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.58>
- Elshire, R. J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J. A., Kawamoto, K., Buckler, E. S., & Mitchell, S. E. (2011). A robust, simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE*, 6(5), e19379. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019379>
- Excoffier, L., Marchi, N., Marques, D. A., Matthey-doret, R., Gouy, A., & Sousa, V. C. (2021). fastsimcoal2: demographic inference under complex evolutionary scenarios. *Bioinformatics*, 37(24), 4882–4885. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btab468>
- Forester, B. R., Lasky, J. R., Wagner, H. H., & Urban, D. L. (2018). Comparing methods for detecting multilocus adaptation with multivariate genotype-environment associations. *Molecular Ecology*, 27(9), 2215–2233. <https://doi.org/10.1111/mec.14584>
- García-Ríos, C. I., Pérez-Pérez, N. M., Fernández-López, J., & Fuentes, F. A. (2014). Calibrando un reloj molecular para quitones (Mollusca: Polyplacophora) utilizando el gen mitocondrial que codifica para el citocromo oxidasa I. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(2), 193–207. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572014000200003>
- Goudet, J. (2005). HIERFSTAT, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular Ecology Notes*, 5(1), 184–186. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8278>
- Gutenkunst, R. N., Hernandez, R. D., Williamson, S. H., & Bustamante, C. D. (2009). Inferring the joint demographic history of multiple populations from multidimensional SNP frequency data. *PLoS Genetics*, 5(10), e1000695. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000695>
- Harkness, B. A. S., Ibaruchi, G., Poland, V. F., & Friesen, V. L. (2024). Historical fragmentation and stepping-stone gene flow led to population genetic differentiation in a coastal seabird. *Ecology and Evolution*, 14, e1120418. <https://doi.org/10.1002/ece3.11204>
- Hart, M. W., & Marko, P. B. (2010). It's about time: Divergence, demography, and the evolution of developmental modes in marine invertebrates. *Integrative and Comparative Biology*, 50(4), 643–661. <https://doi.org/10.1093/icb/icq068>
- Hedgecock, D. (1986). Is gene flow from pelagic larval dispersal important in the adaptation and evolution of marine invertebrates? *Bulletin of Marine Science*, 39(2), 550–564.
- Hernández-P, R., Benítez, H. A., Ornelas-García, C. P., Correa, M., Suazo, M. J., & Piñero, D. (2023). Bergmann's rule under rocks: testing the influence of latitude and temperature on a chiton from Mexican marine ecoregions. *Biology*, 12(6), 766.
- Huguet, C., Jaeschke, A., & Rethemeyer, J. (2022). Paleoclimatic and palaeoceanographic changes coupled to the Panama Isthmus closing (13–4 Ma) using organic proxies. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 601, 111139. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2022.111139>
- Hunt, H. L., & Scheibling, R. E. (1997). Role of early post-settlement mortality in recruitment of benthic marine invertebrates. *Marine Ecology Progress Series*, 155, 269–301. <https://doi.org/10.3354/meps155269>
- Jackson, T. M., Roegner, G. C., & Malley, K. G. O. (2018). Evidence for interannual variation in genetic structure of Dungeness crab (*Cancer magister*) along the California Current System. *Molecular Ecology*, 27, 352–368. <https://doi.org/10.1111/mec.14443>
- Jenkins, S. R., Marshall, D., & Fraschetti, S. (2009). Settlement and recruitment. In *Marine hard bottom communities patterns, dynamics, diversity, and change* (pp. 177–190). <https://doi.org/10.1007/b76710>
- Jiménez, A., Marinone, S. G., & Páres-Sierra, A. (2005). Effect of the spatial and temporal variability of winds on the circulation in the Gulf of California. *Ciencias Marinas*, 31(2), 357–368.
- Jombart, T., & Ahmed, I. (2011). adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*, 27(21), 3070–3071. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr521>
- Katoh, K., & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability article fast track. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4), 772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
- Kelly, R. P., & Eernisse, D. J. (2007). Southern hospitality: A latitudinal gradient in gene flow in the marine environment. *Evolution*, 61(3), 700–707. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2007.00055.x>

- Knaus, B. J., & Grünwald, N. J. (2017). VCFR : a package to manipulate and visualize variant call format data in R. *Molecular Ecology*, *17*(1), 44–53. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12549>
- Lavín, M. F., & Marinone, S. G. (2003). An overview of the physical oceanography of the Gulf of California. In O. U. Velasco Fuentes, J. Sheinbaum, & J. Ochoa (Eds.), *Nonlinear Processes in Geophysical Fluid Dynamics: A tribute to the scientific work of Pedro Ripa* (pp. 173–204). Springer Science+Business Media, B.V.
- Levin, L. A., Caswell, H., DePatra, K. D., & Creed, E. L. (1987). Demographic consequences of larval development mode: planktotrophy vs. lecithotrophy in *Streblospio benedicti*. *Ecology*, *68*(6), 1877–1886.
- Levins, R. (1964). The theory of fitness in a heterogeneous environment. IV. The adaptive significance of gene flow. *Evolution*, 635–638.
- Lira-Noriega, A., & Manthey, J. D. (2013). Relationship of genetic diversity and niche centrality: a survey and analysis. *Evolution*, *68*(4), 1082–1093. <https://doi.org/10.1111/evo.12343>
- Lowe, W. H., & Allendorf, F. W. (2010). What can genetics tell us about population connectivity? *Molecular Ecology*, *19*(15), 3038–3051. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04688.x>
- Lukas, R. (2001). Pacific ocean equatorial currents. In J. H. Steele, S. A. Thorpe, & K. K. Turekian (Eds.), *Ocean Currents* (Second, pp. 2069–2076). Academic Press. <https://doi.org/10.1006/rwos.2001.0354>
- Maturi, E., Harris, A., Mittaz, J., Sapper, J., Wick, G., Zhu, X., Dash, P., & Koner, P. (2017). A new high-resolution sea surface temperature blended analysis. *Bulletin of the American Meteorological Society*, *98*(5), 1015–1026. <https://doi.org/10.1175/BAMS-D-15-00002.1>
- Millstein, R. L. (2006). Natural selection as a population-level causal process. *British Journal for the Philosophy of Science*, *57*(4), 627–653. <https://doi.org/10.1093/bjps/axl025>
- Muhs, D. R., Simmons, K. R., Kennedy, G. L., Ludwig, K. R., & Groves, L. T. (2006). A cool eastern Pacific Ocean at the close of the Last Interglacial complex. *Quaternary Science Reviews*, *25*(3–4), 235–262. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2005.03.014>
- Nanninga, G. B., Saenz-Agudelo, P., Manica, A., & Berumen, M. L. (2014). Environmental gradients predict the genetic structure of a coral reef fish in the Red Sea. *Molecular Ecology*, *23*(3), 591–602. <https://doi.org/10.1111/mec.12623>
- Pembleton, L. W., Cogan, N. O. I., & Forster, J. W. (2013). StAMPP : an R package for calculation of genetic differentiation and structure of mixed-ploidy level populations. *Molecular Ecology*, *13*(5), 946–952. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12129>
- Peterson, A. T., Soberón, J., Pearson, R. G., Anderson, R. P., Martínez-Meyer, E., Nakamura, M., & Araujo, M. B. (2011). *Ecological niches and geographic distributions* (Issue January). Princeton Univ. Press. <https://doi.org/10.1515/9781400840670>
- Pickrell, J. K., & Pritchard, J. K. (2012). Inference of population splits and mixtures from genome-wide allele frequency data. *PLoS Genetics*, *8*(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002967>
- Purcell, S., Neale, B., Todd-brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A. R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., Bakker, P. I. W. De, Daly, M. J., & Sham, P. C. (2007). Report PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American Journal of Human Genetics*, *81*(3), 559–575. <https://doi.org/10.1086/519795>
- Reyes-Gómez, A. (2016). Chitons, The Polyplacophora from the Mexican Pacific. *The Festivus, Supplement, Special Issue*.
- Reyes-Gómez, A., Flores-Garza, R., Galeana-Rebolledo, L., Hernández-Vera, G., Galván-Villa, C. M., Torreblanca-Ramírez, C., Flores-Rodríguez, P., García-Ibañez, S., & Ríos-Jara, E. (2022). Intertidal chitons (Mollusca: Polyplacophora) from the rocky coastline of Guerrero, Mexico, with the description of a new species. *Zootaxa*, *5155*(4), 451–492. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.5155.4.1>
- Rolland, J., Lavergne, S., & Manel, S. (2015). Perspectives in plant ecology, evolution and systematics combining niche modelling and landscape genetics to study local adaptation: A novel approach illustrated using alpine plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, *17*(6), 491–499. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2015.07.005>
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., & Huelsenbeck, J. P. (2012). MrBayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, *61*(3), 539–542.

<https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>

- Schneider, B., & Schmittner, A. (2006). Simulating the impact of the Panamanian seaway closure on ocean circulation, marine productivity and nutrient cycling. *Earth and Planetary Science Letters*, 246, 367–380. <https://doi.org/10.1016/j.epsl.2006.04.028>
- Schrider, D. R., Shanku, A. G., & Kern, A. D. (2016). Effects of linked selective sweeps on demographic inference and model selection. *Genetics*, 204(3), 1207-1223.
- Slatkin, M. (1994). Gene Flow and Population Structure. In L. Real (Ed.), *Ecological Genetics* (pp. 3–17). Princeton.
- Waples, R. S. (1998). Separating the wheat from the chaff: Patterns of genetic differentiation in high gene flow species. *Journal of Heredity*, 89(5), 438–450. <https://doi.org/10.1093/jhered/89.5.438>
- Willing, E.-M., Dreyer, C., & Van Oosterhout, C. (2012). Estimates of genetic differentiation measured by F_{st} do not necessarily require large sample sizes when using many SNP markers. *PLoS ONE*, 7(8), 1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042649>

Discusión general

Los resultados de este trabajo mostraron que entre los organismos de *Stenoplax limaciformis* de las distintas ecorregiones marinas existe variación genética y morfológica. La talla y la forma fueron caracteres fenotípicos que se midieron; sin embargo, no se realizó ninguna asociación con el genotipo. La variación observada fue analizada bajo un contexto ambiental a lo largo de un gradiente latitudinal.

Los resultados obtenidos con morfometría geométrica permitieron identificar dos formas en el cuerpo de los quitones, una amplia y otra estrecha. Sin embargo, estas formas no tuvieron relación con las tallas observadas. Mientras que, la talla tuvo variaciones en relación con el gradiente latitudinal, por lo que se ajustó a la regla de Bergmann descrita para animales endotermos, en tales casos una de las explicaciones es que los organismos que habitan en latitudes altas donde la temperatura es baja, pasan la primera parte de su vida utilizando los recursos para crecer; mientras que, los organismos que viven en latitudes bajas al tener recursos constantemente disponibles se reproducen en edades tempranas en las que las tallas son menores (Salewski & Watt, 2017). Si bien es una explicación posible en el caso de los quitones, se requiere comprobar si la producción de gametos en términos de número y talla, difiere entre quitones de distintas tallas.

Los organismos ectotermos no requieren mantener el calor corporal; no obstante, los organismos que habitan la zona intermareal requieren mantenerse tan sumergidos o húmedos como sea posible durante la marea baja (Atkinson, 1994). Los quitones de tallas más grandes podrían acceder a rocas más grandes y/o sujetarse mejor a ellas, de forma que mantengan la humedad durante ese momento del día. También se ha observado que los organismos de tallas más grandes pueden responder mejor a la disminución de pH en temperaturas más bajas; mientras que, organismos más pequeños tienen una respuesta más agresiva a los factores de estrés (Carey & Sigwart, 2014). Si bien, no se midió la respuesta de los quitones en cada sitio,

se observó un cambio intermareal abrupto en las localidades pertenecientes a la ecorregión del Golfo de California donde también se observaron los quitones de tallas más grandes.

La talla ha sido considerada resultado de la plasticidad fenotípica en respuesta a distintos ambientes (Garland & Kelly, 2006). En el caso de *S. limaciformis* se propone que la talla tiene una respuesta ambiental dada por el gradiente latitudinal; si bien esto puede ser el caso en otras especies, una mayor exposición a un ambiente dado no significa una talla más grande, ya que este carácter también podría tener un componente taxonómico. Además, a nivel macro evolutivo sí se han identificado tallas grandes asociadas a latitudes altas donde las temperaturas son bajas (Navarrete et al., 2020), por lo que se considera que la talla y forma de los quitones son buenos caracteres para mapear en una filogenia de Polyplacophora, y la morfometría geométrica constituye una herramienta adecuada. En los gradientes de profundidad las especies de quitones suelen estar restringidas a ciertos rangos, inclusive las especies cercanas se excluyen entre sí en los espacios dentro de las costas (Eernisse, comunicación personal, 2024), y preguntas relacionadas siguen siendo temas para estudiar. También se podría explorar si existen *loci* candidatos asociados con las tallas y formas, de la misma forma que fueron asociados a las variables ambientales.

Los resultados mostraron que la diferenciación genética de los quitones ocurre entre las poblaciones de las ecorregiones marinas, en las que existen distintas variables oceanográficas, las cuales forman barreras para la dispersión de los organismos marinos (Van Cise et al., 2019). Se identificaron *loci* asociados con la temperatura superficial del mar y la radiación fotosintéticamente disponible, la cual se relaciona con los hábitos tróficos de estos invertebrados. La presencia de ciertas algas (calcáreas incrustantes en su mayoría) determinan el sitio en que los quitones pueden asentarse, ya que, al tener movilidad limitada, los organismos eligen sitios ricos en alimento y a su vez, controlan el crecimiento poblacional de las algas (Mendonça et al., 2015). Los análisis de relación genotipo- ambiente detectaron asociaciones de frecuencias alélicas estadísticamente significativas con valores de gradientes ambientales. Esto además permite reconocer *loci* potencialmente involucrados con la adaptación local, a través de un escaneo en el genoma también es posible identificar en qué regiones se encuentran tales *loci* (Schoville et al., 2012). No obstante, es necesario contar con un genoma de referencia para identificar la ubicación de tales regiones. Este estudio se realizó utilizando un ensamble *de novo*, por lo que no fue posible identificar en qué regiones del genoma de *S. limaciformis* se encuentran esos *loci* candidatos relacionados a la adaptación

local. De igual forma se identificaron *loci* asociados a los niveles de clorofila-a, por lo que el estudio de la relación quitón-alga sigue siendo un tema sobre la mesa interesante de estudiar.

Por otro lado, la estructura genética neutral refleja niveles de flujo de genes o la historia evolutiva de las poblaciones aisladas (Ahrens et al., 2018). En este estudio, tales *loci* permitieron realizar un análisis demográfico, por lo que se pudieron obtener aproximaciones de qué eventos han influido la estructura genética de *S. limaciformis*. Como se ha mostrado en los análisis demográficos, tales variaciones se deben a los procesos geológicos que a su vez han modificado las corrientes marinas, las cuales han influido la dirección y la intensidad en el flujo de genes de estos invertebrados. Los resultados mostraron que estos quitones han pasado por expansiones poblacionales, eventos que han dejado huella en los tamaños poblacionales grandes y altos niveles de diversidad genética de *S. limaciformis*.

Si bien, este trabajo se ha enfocado a analizar el efecto de las variables ambientales a gran escala, sigue habiendo interrogantes sobre los procesos locales y cómo influyen en la variación genética intrapoblacional. Por ejemplo, se sabe que el Golfo de California tiene una fuerte influencia del océano Pacífico, y es la fuerza más importante en la circulación; no obstante, el golfo también es afectado por los vientos sobre la superficie del mar y los flujos de calor sobre la superficie (de la Lanza-Espino, 2001; Jiménez et al., 2005). Adicionalmente, las características de la batimetría y la forma del golfo modifican la circulación a nivel local influenciada por la circulación batimétrica resultado de la topografía. Esta circulación atmosférica genera vorticidad que se transfiere al mar mediante flujos generando turbulencia y giros en la columna de agua (Badan-Dangon et al., 1991; de la Lanza-Espino, 2001). Los eventos históricos y presentes han influenciado en la variación de la especie, en parte debido a la latitud en que se ubican las poblaciones, y también con la temperatura del agua del mar en que se encuentran. Como se ha mencionado, la temperatura afecta el tiempo de vida de las larvas, lo cual guarda relación con la disponibilidad de alimento y por tanto el tiempo que tienen para ser dispersados, lo cual limita los espacios disponibles para diferenciarse en adultos. Aunado a esto la biología de los quitones y el ambiente rocoso que habitan, provocan que monitorear directamente su dispersión sea prácticamente imposible. El haber utilizado marcadores genéticos como los SNPs permitió describir la variación genética que existe dentro y entre poblaciones, y también describir asociaciones que existen con el ambiente.

Los quitones de *S. limaciformis* adoptan el color de las algas de las que se alimentan, también se amoldan a los espacios y recovecos de las rocas que utilizan como hábitat. Es decir,

el ambiente ha moldeado no solo los genes de los quitones sino también su morfología. Por último, este trabajo proporciona una perspectiva en el estudio de la genómica (que representa un campo poco estudiado en la biología de invertebrados marinos), y al mismo tiempo deja sobre la mesa muchas interrogantes acerca de los genes involucrados en procesos reproductivos o fisiológicos, que a la fecha se desconocen y que no han sido abordados en esta tesis, pero que sin duda sumarian en la interpretación de estos resultados.

Conclusiones generales

Las poblaciones de *Stenoplax limaciformis* tuvieron tallas más grandes, así como variación y diferenciación genética más alta en las zonas de latitudes bajas; y una relación inversa en latitudes altas. Dicha relación está dada principalmente por la temperatura en el gradiente latitudinal, el cual también tiene un componente histórico. Estas señales se ven reflejadas principalmente entre los quitones de las diferentes ecorregiones marinas en las que habita esta especie.

Referencias generales

- Aguirre-Gómez, R. (2001). *Los mares mexicanos a través de la percepción remota* (P. y Valdes (ed.)). Instituto de Geografía, UNAM.
- Ahrens, C. W., Rymer, P. D., Stow, A., Bragg, J., Dillon, S., Umbers, K. D. L., & Dudaniec, R. Y. (2018). The search for *loci* under selection: trends, biases and progress. *Molecular Ecology*, 27(6), 1342–1356. <https://doi.org/10.1111/mec.14549>
- Atkinson, D. (1994). Temperature and organism size—A biological law for ectotherms? *Advances in Ecological Research*, 25(C), 1–58. [https://doi.org/10.1016/S0065-2504\(08\)60212-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2504(08)60212-3)
- Badan-Dangon, A., Dorman, C. E., Merrifield, M. A., & Winant, C. D. (1991). The lower atmosphere over the Gulf of California. *Journal of Geophysical Research*, 96(C9), 16,877–16,896. <https://doi.org/10.1029/91JC01433>
- Barnes, R. S. K., & Hughes, R. N. (1999). *An Introduction to Marine Ecology* (Third Edit). Blackwell Publishing.
- Blanquart, F., Gandon, S., & Nuismer, S. L. (2012). The effects of migration and drift on local adaptation to a heterogeneous environment. *Journal of Evolutionary Biology*, 25(7), 1351–1363. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2012.02524.x>
- Carabias, J., Meave, J. A., Valverde, T., & Cano-Santana, Z. (2009). *Ecología y Medio Ambiente en el Siglo XXI* (E. Quintanar (ed.); Primera Ed). Pearson Educación.
- Carey, N., & Sigwart, J. D. (2014). Size matters: Plasticity in metabolic scaling shows body-size may modulate responses to climate change. *Biology Letters*, 10(8). <https://doi.org/10.1098/rsbl.2014.0408>
- de la Lanza-Espino, G. (2001). *Características Físico-Químicas de los mares de México*. Plaza y Valdés.
- Garland, T., & Kelly, S. A. (2006). Phenotypic plasticity and experimental evolution. *Journal of Experimental Biology*, 209(12), 2344–2361. <https://doi.org/10.1242/jeb.02244>
- Grosberg, R., & Cunningham, C. W. (2001). Genetic structure in the sea: from populations to communities. In M. Bertness, S. Gaines, & M. Hay (Eds.), *Marine Community Ecology* (Issue January 2000, pp. 61–84). MA: Sinaue.
- Jiménez, A., Marinone, S. G., & Páres-Sierra, A. (2005). Effect of the spatial and temporal variability of winds on the circulation in the Gulf of California. *Ciencias Marinas*, 31(2), 357–368.
- Kawecki, T. J., & Ebert, D. (2004). Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters*, 7(12), 1225–1241. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00684.x>
- Klingenberg, C. P. (2010). Evolution and development of shape: Integrating quantitative approaches. *Nature Reviews Genetics*, 11(9), 623–635. <https://doi.org/10.1038/nrg2829>
- Klingenberg, C. P. (2016). Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Development Genes and Evolution*, 226(3), 113–137. <https://doi.org/10.1007/s00427-016-0539-2>
- Lenormand, T. (2012). From local adaptation to speciation: Specialization and reinforcement. *International Journal of Ecology*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/508458>
- Meiri, S., & Dayan, T. (2003). On the validity of Bergmann's rule. *Journal of Biogeography*, 30(3), 331–351.
- Mendonça, V., Vinagre, C., Cabral, H., & Silva, A. C. F. (2015). Habitat use of inter-tidal chitons - role of colour polymorphism. *Marine Ecology*, 36(4), 1098–1106. <https://doi.org/10.1111/maec.12205>
- Navarrete, A. H., Sellanes, J., Pardo-Gandarillas, M. C., Sirenko, B., Eernisse, D. J., Camus, P. A., Ojeda, F. P., & Ibáñez, C. M. (2020). Latitudinal distribution of polyplacophorans along the South-eastern Pacific coast: unravelling biases in geographical diversity patterns. *Marine Biodiversity*, 50(4), 0–12. <https://doi.org/10.1007/s12526-020-01060-0>
- Partridge, L., & Coyne, J. A. (1997). Bergmann's Rule in Ectotherms: Is It Adaptive? *Evolution*, 51(2), 632. <https://doi.org/10.2307/2411139>
- Ponder, W. F., Lindberg, D. R., & Ponder, J. M. (2019). *Biology and Evolution of the Mollusca, Volume One*. Taylor & Francis Group.
- Reitzel, A. M., Miner, B. G., & McEdward, L. R. (2004). Relationships between spawning date and larval development time for benthic marine invertebrates: A modeling approach. *Marine Ecology Progress Series*, 280(October), 13–23. <https://doi.org/10.3354/meps280013>
- Reznick, D. N., & Ghalambor, C. K. (2001). The population ecology of contemporary adaptations: What empirical studies reveal about the conditions that promote adaptive evolution. *Genetica*,

- 112–113(1956), 183–198. <https://doi.org/10.1023/A:1013352109042>
- Salewski, V., & Watt, C. (2017). Bergmann's rule: a biophysiological rule examined in birds. *Oikos*, 126, 161–172. <https://doi.org/10.1111/oik.03698>
- Sanford, E., & Kelly, M. W. (2011). Local adaptation in marine invertebrates. *Annual Review of Marine Science*, 3, 509–535. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120709-142756>
- Schoville, S. D., Bonin, A., François, O., Lobreaux, S., Melodelima, C., & Manel, S. (2012). Adaptive genetic variation on the landscape: Methods and cases. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43, 23–43. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110411-160248>
- Slatkin, M. (1994). Gene Flow and Population Structure. In L. Real (Ed.), *Ecological Genetics* (pp. 3–17). Princeton.
- Strathmann, R. R., Hughes, T. P., Kuris, A. M., Lindeman, K. C., Morgan, S. G., Pandolfi, J. M., & Warner, R. R. (2002). Evolution of local recruitment and its consequences for marine populations. *Bulletin of Marine Science*, 70(1 SUPPL.), 377–396.
- Van Cise, A. M., Baird, R. W., Baker, C. S., Cerchio, S., Claridge, D., Fielding, R., Hancock-Hanser, B., Marrero, J., Martien, K. K., Mignucci-Giannoni, A. A., Oleson, E. M., Oremus, M., Poole, M. M., Rosel, P. E., Taylor, B. L., & Morin, P. A. (2019). Oceanographic barriers, divergence, and admixture: Phylogeography and taxonomy of two putative subspecies of short-finned pilot whale. *Molecular Ecology*, 28(11), 2886–2902. <https://doi.org/10.1111/mec.15107>
- Vinarski, M. V. (2014). On the applicability of Bergmann's rule to ectotherms: The state of the art. *Biology Bulletin Reviews*, 4(3), 232–242. <https://doi.org/10.1134/s2079086414030098>

ANEXOS

Capítulo 2. Supplementary Material

Historical phylogeography of a chiton under temperature gradient and past environmental changes

Raquel Hernández-P^{1,2,*}, Azalea Guerra-García³, Daniel Piñero²

Table S1. Information per locality from each marine ecoregion.

Ecoregion	Locality	ID location	Latitude (° N)	<i>n</i> samples	<i>H_E</i>	<i>H_O</i>	<i>F_{IS}</i>
Gulf of California (GC)	Puertecitos	Pc	30.33979	10	0.101	0.101	-0.001
	Puerto Lobos	PL	30.264409	4	0.101	0.111	-0.093
	Bahía de los Ángeles	BA	29.031949	7	0.189	0.197	-0.040
	Punta Chivato	Ch	27.069705	15	0.098	0.099	0.002
	Baja Sur: Juncalito and Tecolote	BS	25.843097	4	0.101	0.095	0.039
Southern Gulf of California (SGC)			24.080406	2			
			Guaymas Gy				
	Kino Nuevo	KN	24.342803	2	0.172	0.164	-0.065
	Mazatlán: Isla Venados and Playa Norte						
	Mz	27.935749	9	0.185	0.186	0.000	
Punta Mita	PM	23.233749	13	0.186	0.176	0.050	
Mexican Pacific Transitional (MPT)	Isla Cocinas	Cc	20.784561	10	0.184	0.187	-0.014
	Iztapa-Zihuatanejo	IZ	19.546819	7	0.194	0.197	-0.005
	Acapulco	Ac	17.676791/ 17.621519	13	0.189	0.181	0.036
	Puerto Escondido	Es	16.844586	12	0.192	0.186	0.027
	Puerto Ángel	PA	15.857662	4	0.189	0.197	-0.040
	Huatulco	Hu	15.660232	13	0.190	0.181	0.039

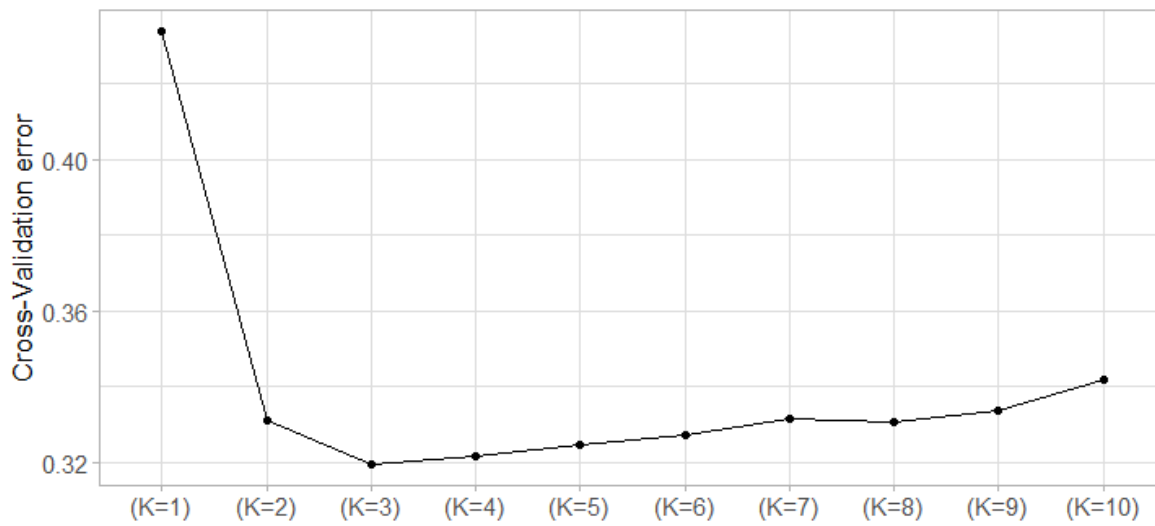


Figure S1. Cross-validation error by K=1-10 for Admixture analysis.

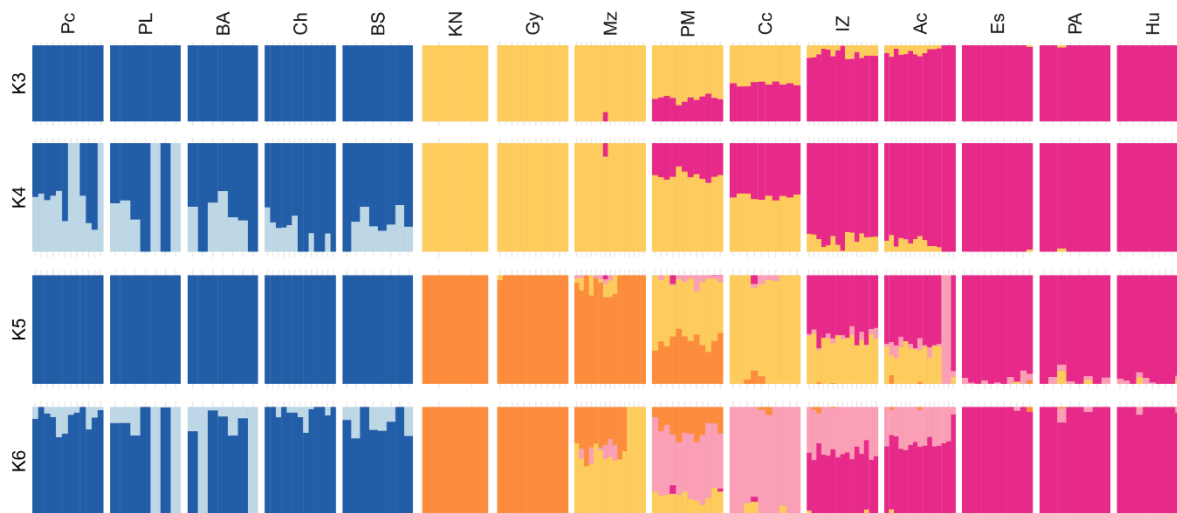


Figure S2. Ancestry signature, K=3-6 for three marine ecoregion.

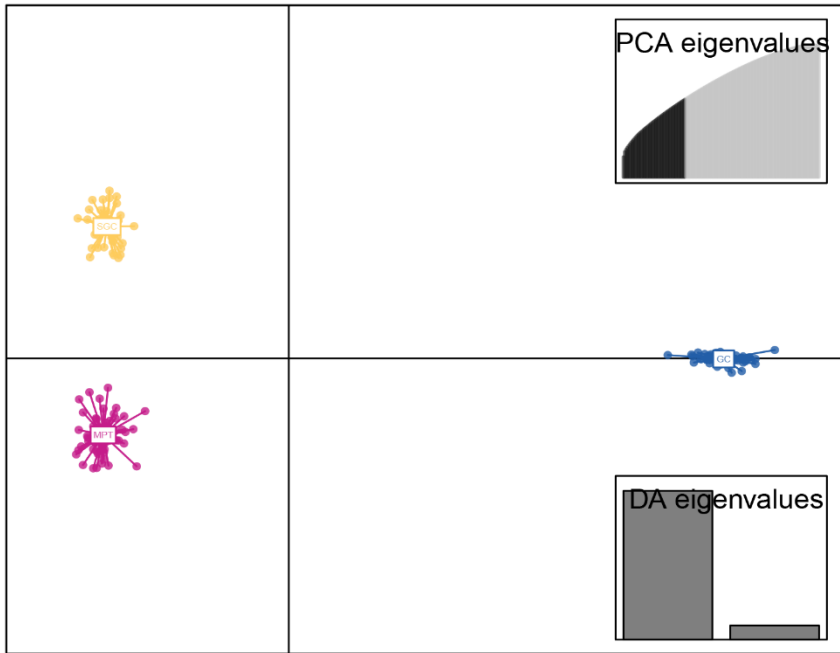


Figure S3. Discriminant Analysis of Principal Components for all ecoregions.

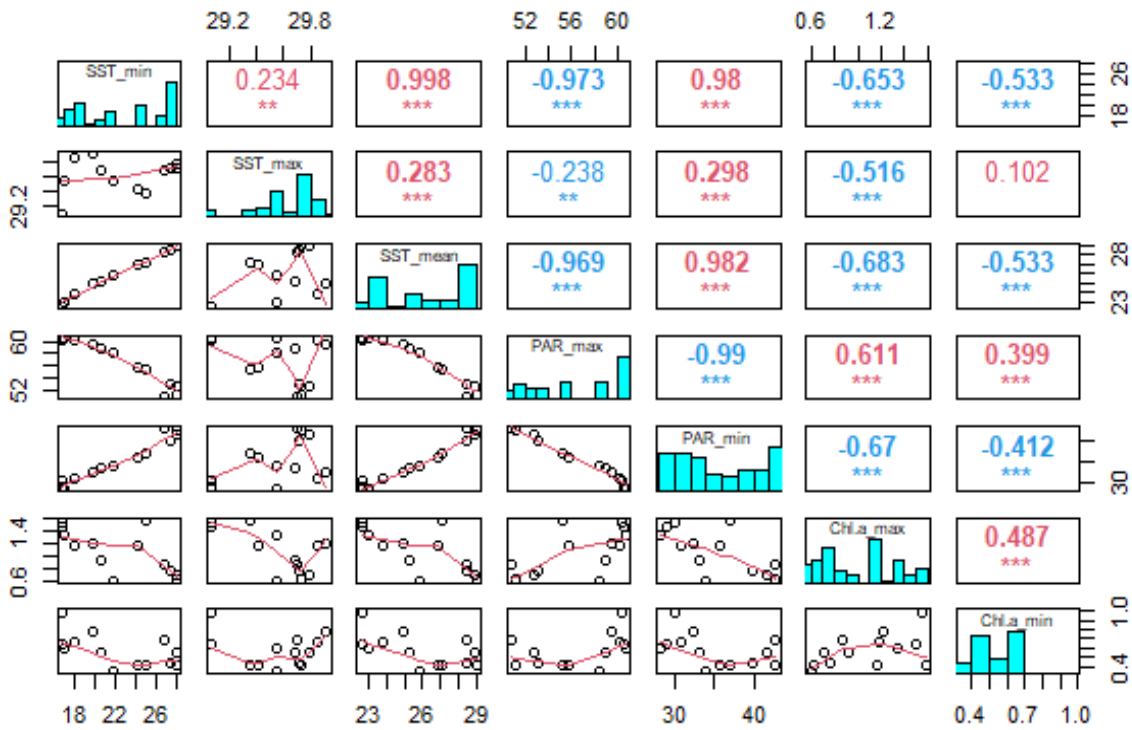


Figure S4. A redundancy analysis (RDA) for all environmental factors, before to remove informative predictors. Sea Surface Temperature minimum (SST_min), Sea Surface Temperature maximum (SST_max), Sea Surface Temperature mean (SST_mean), Photosynthetically Available Radiation maximum (PAR_max), Photosynthetically Available Radiation minimum (PAR_min), Chlorophyll-a maximum (Chl_a max) and Chlorophyll-a minimum (Chl_a min).

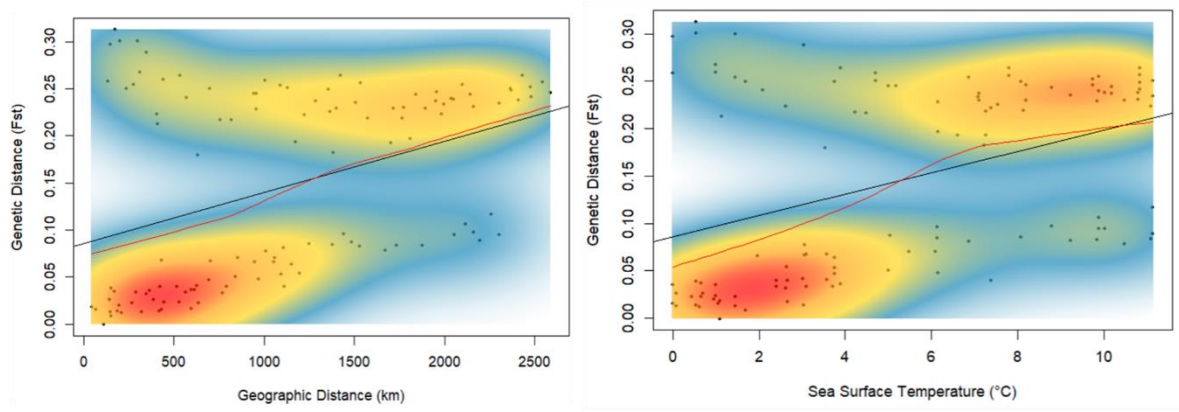


Figure S5. Mantel test: Isolation by distance and Isolation by environmental for Sea Surface Temperature

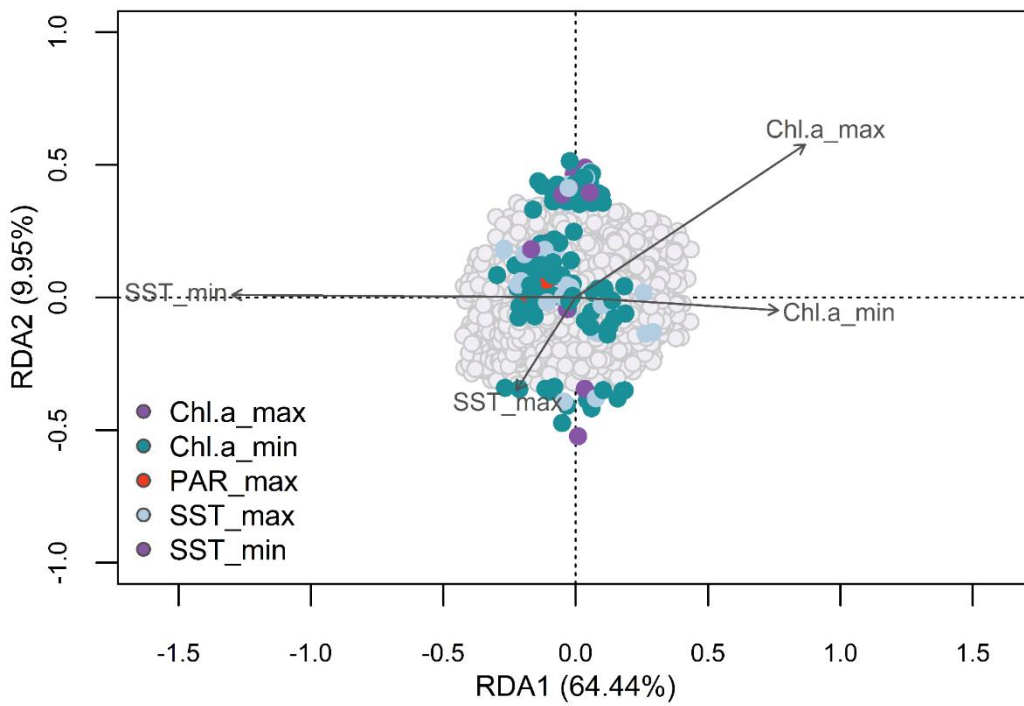


Figure S6. Partial RDA analysis on genetic variance, explained by the effects of environmental factors. SNPs that are not significantly associated with environmental factors are represented in gray circles, and SNP significantly correlated with environmental factors are indicated with color circles in different colors by factor.

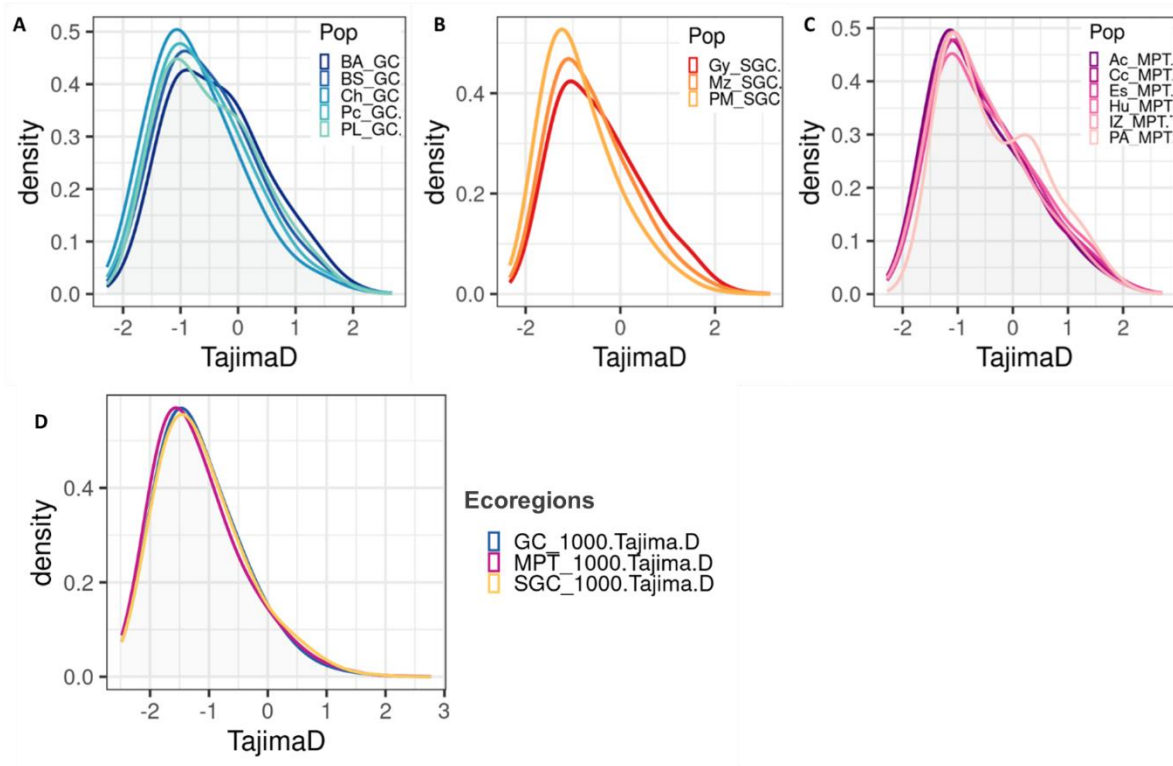
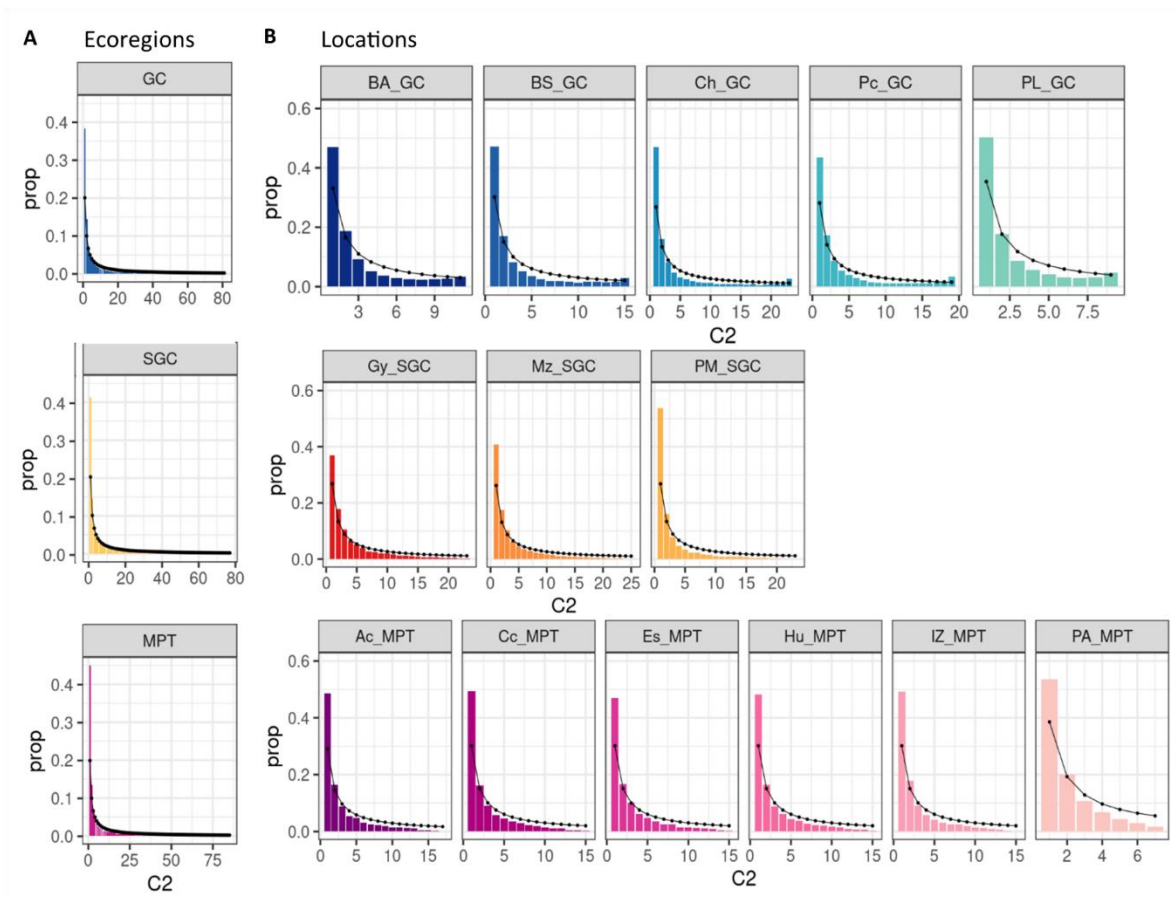


Figure S7. D-Tajima analysis, into each marine ecoregion. A- Gulf of California (GC), B- Southern Gulf of California (SGC), C- Mexican Pacific Transition (MPT) and D- per marine ecoregion.



Figure

S8. Site Frequency Spectrum. A- per genetic group (marine ecoregion). B-for locations, first row shows the locations from GC, second from SGC, third from MPT.

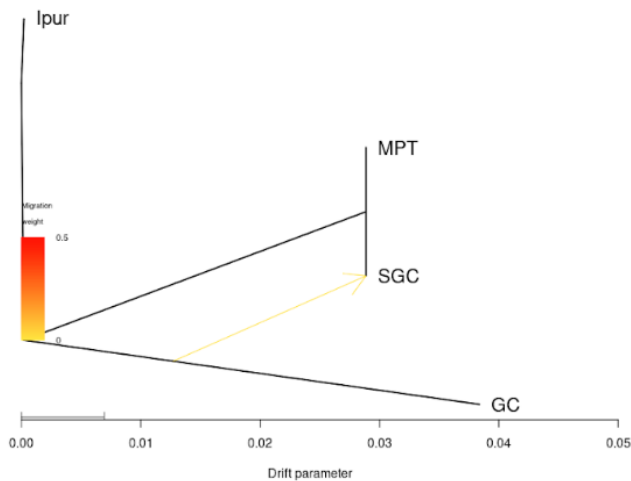


Figure S9. Populations graph inferred by TreeMix. Yellow arrow indicates the direction of gene flow and the color bar indicates the amount of migration. *Stenoplax purpurascens* (sibling species) was used as outgroup.