



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS**



Genética poblacional del mejillón *Mytilus californianus* en Baja  
California, México

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:  
**OCEANÓLOGO**

PRESENTA:  
**ANA PAULINA PÉREZ SALIDO**

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO. FEBRERO DE  
2024.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS  
CAMPUS ENSENADA



**"GENÉTICA POBLACIONAL DEL MEJILLÓN *MYTILUS CALIFORNIANUS* EN BAJA CALIFORNIA,  
MÉXICO"**

TESIS

PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
OCEANÓLOGO  
PRESENTA:

Ana Paulina Pérez Salido  
357835

A quien el Comité de Tesis autoriza el trabajo terminal, después de haber efectuado una revisión minuciosa del mismo y de acuerdo con el Art. 19 del R.G.E.P.E.P, las y los señores profesores emiten los siguientes votos aprobatorios mediante rubrica:

Dra. Alicia Abadía  
Cardoso  
DIRECTOR

Dra. Yolanda Schramm  
Urrutia  
CO-DIRECTOR

M.C. Karina Yaneth Cerda  
Balcazar  
SINODAL

Dr. Rodrigo Beas  
Luna  
SECRETARIO

"Por la Realización Plena del Ser"

Resumen de la tesis de Ana Paulina Pérez Salido presentada como requisito parcial para la obtención de la Licenciatura en Oceanología. Ensenada, Baja California, México. Febrero de 2024.  
*Genética poblacional del mejillón Mytilus californianus en Baja California, México.*

Resumen aprobado: \_\_\_\_\_

Dra. Alicia Abadía Cardoso

DIRECTORA

Resumen aprobado: \_\_\_\_\_

Dra. Yolanda Schramm Urrutia

CO-DIRECTORA

## Resumen

El mejillón *Mytilus californianus* se distribuye en ecosistemas intermareales rocosos, desde el sur de Alaska, EE.UU. hasta Punta Eugenia en Baja California, México. Estudios previos en el norte de la distribución de la especie han concluido que es genéticamente homogénea, debido a su extensa fase larvaria y a su potencial de dispersión. Sin embargo, los cambios en las condiciones climáticas en los últimos 15 años a lo largo de la costa del Pacífico de Baja California, tales como tormentas, hipoxia y ondas de calor, pueden resultar en altas tasas de mortalidad y cambios en la abundancia y distribución de las especies, afectando la adaptación local y reduciendo la variabilidad genética. Estos cambios podrían ser particularmente extremos en los límites de distribución de las especies. En el presente trabajo, exploramos la diversidad genética de *M. californianus* a lo largo de siete sitios en la península de Baja California: Playa Encantada, El Zeppelin, Punta Clara, Punta Baja, Punta San Carlos, Faro San José y Punta Lobos, en el límite sur de su distribución geográfica, utilizando el gen mitocondrial citocromo oxidasa subunidad I (COI). Se recolectó tejido de manto o branquia de un total de 169 individuos y se amplificó un fragmento de 553 pb, utilizando cebadores estándar para invertebrados marinos. Los resultados encontrados en este trabajo confirman que *M. californianus* en Baja California se mantiene genéticamente homogénea a lo largo de su distribución ya que no se encontró estructura entre los sitios analizados según la prueba de AMOVA; además, los valores de  $\Phi_{ST}$  pareados fueron bajos (entre 0.0048 y 0.0280) y no fueron significativos. Los resultados muestran una diversidad haplotípica alta (entre  $Hd=$  0.837 y 0.997) y diversidad nucleotídica baja (entre  $\pi=$  0.003 y 0.008) para todos los sitios. El presente trabajo muestra que la conectividad a lo largo de la distribución de *M. californianus* en Baja California es alta y la diversidad genética aparentemente no se ha visto afectada por los recientes cambios ambientales en la región.

Palabras clave: *Mytilus californianus*, mejillón californiano, genética poblacional, COI, Baja California

*A Ale,  
por su inagotable  
amor al mar y sus  
sobrinos.*

## **Agradecimientos**

A mis papás **Carlos** y **Lourdes**, porque su trabajo y amor como padres en toda mi vida me han llevado aquí. Por su sacrificio a mi educación y apoyo a mis pasiones. Los amo.

A mis hermanos **Sofía**, **Cristina** y **Rodrigo** por siempre apoyarme y mostrarme cariño a su manera.

A mis abuelos **Roberto**, **Bertha**, **Lourdes** y **Ricardo** por siempre estar presentes, dentro y fuera de la vida. Aquí otra prueba de su amor familiar y apoyo incondicional en mi vida.

A mis amigos de la universidad **Leslie**, **Julia**, **Victoria**, **Edson**, **Yessica**, **Kat**, **Alex**, **Andrea**, **Natalye**, **Elisa**, **Saúl**, **Eunice**, **Pavis**, **Troncoso** y **Rubí**, por su ayuda en momentos difíciles y su amor y risas en cada día de la carrera. Gracias por impulsarme a mis logros en muchas formas de amistad.

A mis profesores de la carrera **Paty**, **Karina**, **Canino**, **Rubén**, **Violeta**, **Natalie**, **Jorge**, **Yoli**, **Miguel**, **Beatriz**, **Martín**, **Adriana**, **Mauro** y **Walls**, por enseñarme la pasión y el trabajo al océano en todas sus formas dentro de sus clases, siempre con paciencia y profesionalismo.

A todos en **MEXCAL** por recibirme como familia y tratarme como tal, al igual que todas sus enseñanzas y buenos momentos dentro y fuera de campo. Por ustedes aprendí más sobre mi amor al mar.

A **Alicia** por su atención y apoyo desde el comienzo de mi tesis. Por ser más que una directora en mi proyecto, “Mamá Alicia” siempre pendiente.

A mi novio **Alan** por todo su amor, cariño y devoción en nuestros años, así como su compañía, apoyo y consideración a mi formación profesional en nuestra vida.

A la familia de mi novio por su amor y cuidado a mi persona en todo momento.

A **Eric** y **Vanessa** que estando lejos siempre ayudaron en este proyecto.

A la FCM por sus enseñanzas y demostración de una gran comunidad científica.

## Tabla de contenido

<b>Resumen</b> .....	2
<b>Índice de Figuras</b> .....	6
<b>Índice de Tablas</b> .....	7
<b>Introducción</b> .....	8
1. Generalidades.....	8
2. Ciclo reproductivo.....	8
3. Características del DNA mitocondrial en <i>M. californianus</i> .....	9
4. Genética poblacional del mejillón de California.....	11
<b>Hipótesis</b> .....	11
<b>Objetivos</b> .....	11
<b>Área de estudio</b> .....	12
<b>Metodología</b> .....	13
1. Trabajo en campo.....	13
2. Trabajo de laboratorio.....	14
2.1. Extracción de DNA.....	14
2.2. Amplificación por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	14
<b>3. Secuenciación</b> .....	15
<b>4. Procesamiento de datos</b> .....	15
4.1. Alineamiento.....	15
4.2. Identificación de haplotipos.....	16
4.3. Diversidad haplotípica y nucleotídica.....	16
4.4. Neutralidad.....	17
4.5. Estructura poblacional.....	17
<b>Resultados</b> .....	19
1. Identificación de haplotipos.....	19
2. Índices de diversidad y Neutralidad.....	23
3. Estructura poblacional.....	24
<b>Discusión</b> .....	25
<b>Conclusión</b> .....	32
<b>Literatura citada</b> .....	33
<b>Anexos</b> .....	40

## Índice de Figuras

**Figura 1.** Sitios de muestreo de *Mytilus californianus* en la península de Baja California, México..... 13

**Figura 2.** Red de expansión mínima para las 7 localidades de *M. californianus* en Baja California, México con base en el gen mitocondrial citocromo oxidasa I (COI). Las localidades se representan en los colores morado (FSJ), rojo (PB), amarillo (ZEP), verde claro (PC), negro (PL), azul (PE) y verde oscuro (PSC). Cada círculo representa un haplotipo distinto y el tamaño representa la frecuencia de cada uno. A mayor tamaño, mayor frecuencia de ese haplotipo. Las líneas transversales muestran el número de sitios variables entre cada par de haplotipos..... 23

## Índice de Tablas

<b>Tabla I.</b> Diseño experimental estadístico para AMOVA.....	18
<b>Tabla II.</b> Frecuencias haplotípicas con base en el gen mitocondrial citocromo <i>c</i> oxidasa subunidad I (COI) para cada localidad muestreada: Playa Encantada, El Zeppelin, Punta Clara, Punta Baja, Punta San Carlos, Faro San José y Punta Lobos.....	19
<b>Tabla III.</b> Índices de diversidad genética y neutralidad con base en el gen mitocondrial citocromo <i>c</i> oxidasa subunidad I (COI) para cada una de las localidades de <i>M. californianus</i> de Baja California, México.....	24
<b>Tabla IV.</b> Resultados de AMOVA para las 7 localidades (1000 permutaciones) con base en el gen mitocondrial citocromo <i>c</i> oxidasa subunidad I (COI).....	24
<b>Tabla V.</b> Resultados de $\phi_{ST}$ en comparaciones pareadas entre las 7 localidades (arriba de la diagonal), y sus p-valores (abajo de la diagonal) con base en el gen mitocondrial citocromo <i>c</i> oxidasa subunidad I (COI).....	25

# Introducción

## 1. Generalidades

El mejillón californiano, *Mytilus californianus* (Conrad, 1837) es un molusco bivalvo que habita en el intermareal rocoso, especialmente la zona expuesta, de la costa del Pacífico Nororiental. Su distribución geográfica comprende del sur de Alaska, Estados Unidos hasta la península de Baja California, México (Sagarin & Gaines, 2002). *Mytilus californianus* pertenece al Orden Mytiloida y Familia Mytilidae, de acuerdo a su taxonomía (ITIS, 2023).

El mejillón californiano ocupa un espacio central en la red trófica de la comunidad intermareal al proveer puntos de conexión relevantes en el flujo energético entre productores primarios y consumidores importantes para la comunidad como las estrellas de mar, aves marinas, buccinos (Blanchette & Gaines, 2007) y nutrias de mar. Este filtrador es una importante fuente de alimento para los niveles tróficos superiores, además, es un competidor dominante en la cama rocosa intermareal, conteniendo mayormente con *Mytilus edulis* por espacio (Suchanek, 1981; Seed & Suchanek, 1992; Blanchette & Gaines, 2007). Las camas de mejillón californiano en el intermareal rocoso también hábitat a un conjunto complejo y diverso de más de 300 especies que viven entre las hendiduras y capas de las camas rocosas (Suchanek, 1981; Suchanek, 1992). Los mejillones son organismos modelo en trabajos de investigación fisiológica, bioquímica y genética, por ser semi-sésiles, con ciclos de vida largos y por su amplia distribución por regiones costeras (Bayne *et al.*, 1976; Seed & Suchanek, 1992; Mathiesen *et al.*, 2017). También se consideran biomonitores de la calidad del agua y tienen importancia económica para el consumo humano (Bayne *et al.*, 1976; Seed & Suchanek, 1992; Mathiesen *et al.*, 2017).

El mejillón californiano *M. californianus* es de gran importancia ecológica y económica en México. Indispensable para el ecosistema marino, la presencia y abundancia de esta especie en el intermareal es un indicador crucial de la salud y equilibrio de la comunidad (Peña-Mejía, 2011). Actualmente las comunidades intermareales forman gran parte en la producción de las pesquerías de la región, especialmente en la recolección de las especies clave en estas comunidades, como el mejillón californiano *M. californianus*, el erizo morado *Strongylocentrotus purpuratus*, la langosta roja *Panulirus interruptus* y especies de abulón *Haliotis* (Instituto Nacional de la Pesca (INP), 2006; Peña-Mejía, 2011). Las especies de *Mytilus* han formado parte del consumo humano desde hace miles de años (Téllez, 1987), continuando hoy en día como una fuente importante de alimento y pesquería de gran relevancia. En Baja California, la pesquería del mejillón continúa en crecimiento y prosigue con su desarrollo como una pesquería de aprovechamiento sustentable. *M. californianus* ha sido cosechado en la costa noroccidental de la península desde hace varios años, con registros que

datan de 1962 hasta la actualidad; sin embargo, no existen planes ni estrategias de manejo en marco legal que orienten las pesquerías existentes (INP, 2006).

## **2. Ciclo reproductivo**

Los ciclos reproductivos de *Mytilus* spp. varían latitudinalmente, en el hemisferio norte, con reproducción temprana en aguas más cálidas y sureñas, que en aguas templadas a frías al norte (Seed & Suchanek, 1992). La estrategia de reproducción del mejillón californiano se basa en desovar continuamente pequeñas concentraciones de gametos a lo largo del año (Suchanek, 1981), con picos masivos en las temporadas de primavera y otoño (Schmidt, 1999). Existen diferentes variables ecológicas, como la temperatura y suministro de alimento, que interactúan sinérgicamente en la reproducción, y que su variabilidad a lo largo del año influye en la variación del ciclo reproductivo (Seed & Suchanek, 1992). Sin embargo, Bartlett (1972) reporta que los periodos de desove masivos ocurren cuando la temperatura del agua aumenta o disminuye. Por otro lado, Bayne (1976) menciona una segunda estrategia de reproducción basada en altos niveles de fecundidad.

El número de huevos que una hembra libera anualmente depende de su tamaño, siendo las hembras de mayor tamaño las que producen más gametos (Schmidt, 1999). El tamaño que alcanzará un mejillón depende de diversos factores, pero su posición en el intermareal es uno de los más importantes (Suchanek, 1981), pues determinará la disponibilidad de alimento, depredación, competencia y exposición en los rangos de marea. Asimismo, la altura de marea y disponibilidad de alimento son factores que determinan el crecimiento del mitílido (Coe & Fox, 1942; Suchanek, 1981), así como su esfuerzo reproductivo, es decir, la proporción de la energía total producida por un organismo dirigida a la reproducción (Seed & Suchanek, 1992).

Aún no se encuentran trabajos que describan el ciclo reproductivo y de vida exclusivamente para *Mytilus californianus*; sin embargo, se han observado similitudes con la especie *Mytilus edulis* (Bartlett, 1972; Bayne, 1976; Seed & Suchanek, 1992), presentando ligeras diferencias en el desarrollo de la bisagra en el mejillón californiano (Bartlett, 1972). Schmidt (1999) cita a White (1937), Bayne (1976) y Lutz y Kennish (1992) para la descripción de la historia de vida larval y postlarval de *M. californianus*. El huevo liberado por la hembra se fertiliza por el esperma del macho las primeras 3 a 4 horas del desove. Fuera de este intervalo de tiempo el gameto muere. Un huevo fertilizado se desarrolla en una larva trocófora por las próximas 4 a 24 horas. En 24 a 48 horas la trocófora se convierte en una larva velígera, secretando las primeras dos conchas larvales. La tercera etapa consiste en la larva veliconcha que secreta una segunda concha y crece relativamente rápido. Una vez se haya desarrollado el pie, la larva alcanza la etapa pedivelígera. Es en esta etapa cuando comienza la metamorfosis y las estructuras adultas como branquias, palpos labiales y el órgano bisal se desarrollan, al igual que se secreta la

concha adulta. Al acabar la metamorfosis, el mejillón post larva se fija a un sustrato (plantígrada) al desarrollar hilos bisales y entra en estado sésil. El periodo larval tiene una duración total entre 3 y 5 semanas, sin contar el tiempo de metamorfosis y el asentamiento (Wang & Widdows, 1991; Filgueira *et al.*, 2015).

### **3. Características del DNA mitocondrial en *Mytilus californianus***

El DNA mitocondrial (mtDNA) es un genoma extranuclear en el citoplasma animal y se encuentra localizado en la mitocondria celular. Todos los mtDNA provienen del ovocito, es decir, siguen una línea de herencia estrictamente materna (Doucet-Beaupré *et al.*, 2010). Sin embargo, se ha encontrado que los organismos pertenecientes al orden Mytiloidea no siguen un linaje uniparental de mtDNA (Breton *et al.*, 2007; Passamonti & Ghiselli, 2009), en cambio, cuentan con dos linajes, uno materno y otro paterno. En tejido somático masculino predomina el genoma mitocondrial femenino, mientras que en el tejido gonadal masculino predomina el genoma mitocondrial masculino. En hembras, ambos tejidos somáticos y gonadales contienen únicamente el genoma mitocondrial femenino (Doucet-Beaupré *et al.*, 2010).

Hasta finales del siglo pasado se comenzó a utilizar el mtDNA animal como marcador molecular en biología evolutiva y poblacional (Avice *et al.*, 1987; Harrison, 1989). Utilizar el mtDNA como herramienta molecular ha brindado conocimiento sobre la estructura poblacional, variación geográfica, biogeografía y filogenia (Harrison, 1989) de múltiples especies. Entre las características que particularizan al mtDNA como marcador molecular destacan: genoma pequeño de estructura simple y organizada, es ubicuo en casi todos los animales, presenta una gran cantidad de copias que facilita su aislamiento, es mayormente de herencia materna, tiene ausencia de recombinación, intrones u otras secuencias que no codifican; y presenta regiones con evolución lenta, lo que permite el diseño de primers conservados y dirigir cuestiones filogenéticas a diferentes niveles taxonómicos (Avice *et al.*, 1987; Moritz *et al.*, 1987; Harrison, 1989; Avice, 1991; Simon, 1991; Zhang & Hewitt, 1996). Además, la herencia materna y la ausencia de recombinación convierten al mtDNA como trazador de historia evolutiva reciente, como eventos de colonización, introducción y cuellos de botella poblacionales (Wilson *et al.*, 1985).

Particularmente, el gen citocromo *c* oxidasa subunidad 1 (COI o *cox1*) es uno de los genes codificantes de proteínas mejor conservado en el genoma mitocondrial animal (Brown, 1985; Folmer *et al.*, 1994), permitiendo que para muchas especies y géneros la variación en este locus sea suficiente para el estudio de procesos que suceden en periodos de tiempo relativamente cortos y recientes (Geller *et al.*, 2013). Por otro lado, COI se ha establecido como el gen mitocondrial con mejor señal filogenética (Herbert *et al.*, 2003; Strüder-Kypke & Lynn, 2010; Souza *et al.*, 2016; Rodrigues *et al.*, 2017), al igual que un marcador molecular estándar en la

clasificación de especies (Herbert *et al.*, 2003). COI se compone de aproximadamente 640 nucleótidos (Folmer *et al.*, 1994) y es utilizado como código de identificación de especies, al igual que el descubrimiento de nuevas (Moritz & Cicero, 2004; Souza *et al.*, 2016).

#### **4. Genética poblacional del mejillón de California *Mytilus californianus***

La genética poblacional se refiere al estudio de la composición genética de comunidades biológicas y a la modificación que llegan a presentar a causa de cuatro fuerzas naturales: la mutación, la selección natural, la deriva génica y el flujo genético (migración) (Conner & Hartl, 2004). A partir de ello se generan modelos y estadística que permiten conocer la variabilidad genética que presenta una población con respecto a otra, o bien dentro de ella. Interpretar de manera cuantitativa esta información permite visualizar los cambios genéticos presentes en los individuos y la influencia de los factores externos en las poblaciones.

Diversos estudios genéticos poblacionales se han realizado hacia el norte de la distribución geográfica de *M. californianus* utilizando distintos marcadores moleculares. Los resultados muestran que se trata de una especie con alta variabilidad genética y genéticamente homogénea (Bayne, 1976; Levinton & Suchanek, 1978; Sarver & Foltz, 1993; Addison *et al.*, 2008), es decir, forman una metapoblación en esa región. Estos autores sugieren dos razones para explicar la poca estructura genética del mejillón californiano. En primera instancia, su gran potencial de dispersión por su extensa etapa larvaria en la columna de agua, lo que permite la conectividad entre las poblaciones. La segunda sugiere la falta de un gradiente selectivo en la distribución, lo que explicaría la homogeneidad (Addison *et al.*, 2008). Sin embargo, existen numerosas razones para esperar una menor diversidad genética y una mayor estructura poblacional en el límite de la distribución de cualquier especie, incluidos tamaños de población más pequeños, mayores distancias entre hábitats adecuados y adaptación local. Particularmente, las costas de Baja California han sufrido cambios en las condiciones climáticas en los últimos 15 años, como tormentas, hipoxia y olas de calor, que pueden resultar en altas tasas de mortalidad y cambio en la abundancia y distribución de *M. californianus*.

#### **Hipótesis**

Las poblaciones del mejillón *Mytilus californianus* en Baja California tienen una diversidad genética menor a lo reportado en las poblaciones del norte y presentan estructura genética, demostrado al emplear el marcador molecular de citocromo oxidasa subunidad I (COI).

#### **Objetivos**

- Describir la diversidad genética del mejillón *Mytilus californianus* en siete localidades distintas en Baja California, México.

- Evaluar la estructura genética entre las poblaciones del mejillón *Mytilus californianus* en Baja California, México.

## Área de estudio

La zona de estudio comprendió 7 localidades a lo largo de la distribución de *Mytilus californianus* en Baja California, México. Los sitios muestreados (Figura 1) en dirección norte a sur fueron: Playa Encantada (PE) como zona de distribución geográfica más norteña del mejillón en México; El Zeppelin (ZEP), Punta Clara, Punta Baja (PB), Punta San Carlos (PSC), Faro San José (FSJ) y Punta Lobos (PL).

La localidad de Playa Encantada se encuentra en el punto geográfico 32° 10' 48''N, 116° 54' 36.1''O, aproximadamente 30 km al sur de Rosarito. Adyacente al sitio se encuentran edificaciones y asentamientos humanos, al igual que áreas de cultivo. Es el punto de muestreo más cercano a la zona de distribución geográfica en Estados Unidos. El sitio de El Zeppelin se ubica 31° 41' 60''N, -116° 41' 23.994''O cerca de la ciudad de Ensenada y en una zona de maricultura de atún, por lo que es una de las localidades que reciben mayor impacto antropogénico. El tercer sitio se ubica en 31° 31' 48''N, -116° 39' 36''O, conocido como Punta Clara, aproximadamente a 20 km al sur de El Zeppelin. Punta Clara también cuenta con influencia de actividades humanas de pesca y agricultura. El cuarto sitio es Punta Baja en 29° 56' 60''N, 115° 48' 36''O cerca de la localidad de El Rosario, y es una zona de pesca de erizo morado y langosta por temporadas. La localidad de Punta San Carlos se ubica en 29° 37' 12''N, 115° 28' 48''O, mientras que el sexto sitio es Faro San José en 29° 15' 0''N, 114° 50' 59.9994''O. Por último, se encuentra Punta Lobos (28° 52' 47.9994''N, 114° 25' 48''O) como el sitio de estudio muestreado más sureño de *M. californianus*, próximo a Punta Eugenia.

La zona de muestreo tiene una influencia importante de la Corriente de California (CC). Esta es una corriente superficial que fluye de Alaska, EUA hacia Baja California, México transportando agua fría, nutrientes y CO<sub>2</sub>, con altas concentraciones de oxígeno disuelto (Christian & Ono, 2018). Aunado a lo anterior, la CC influye en la circulación marina en la región noroeste de México, y a su vez permite que nutrientes, fitoplancton, zooplancton y larvas de especies marinas se distribuyan y transporten por las costas de California y Baja California.



**Figura 1.** Sitios de muestreo de *Mytilus californianus* en la península de Baja California, México: Playa Encantada, El Zepelin, Punta Clara, Punta Baja, Punta San Carlos, Faro San José, y Punta Lobos.

## Metodología

### 1. Trabajo en campo

Los muestreos de mejillón californiano se llevaron a cabo en diferentes fechas. La recolección en Faro San José se llevó a cabo el 25 de marzo de 2021 con 32 mejillones adultos, Punta Baja el 29 de abril de 2021 con 30 individuos, El Zepelin el 4 de mayo de 2021 con 25 individuos, y Playa Encantada, Punta Clara, Punta San Carlos y Punta Lobos del 1ro de diciembre al 5 de diciembre, respectivamente, con recolección entre los 30 y 36 individuos. La recolección fue al azar en la cama de mejillones colocando aros de metal para perforar la cama y facilitar la remoción de los bivalvos. Los individuos seleccionados como adultos maduros se almacenaron en bolsas herméticas etiquetadas con el nombre de la localidad, y se conservaron en hielo para su traslado al laboratorio. En total se obtuvieron 221 mejillones adultos maduros, sin preferencia de sexo.

## **2. Trabajo de laboratorio**

### **2.1 Extracción de DNA**

El trabajo de laboratorio comenzó con la disección de los mejillones para extraer manto y/o branquias. Las muestras de tejido se colocaron en tubos Eppendorf de 1.5 mL con etanol al 70% y se almacenaron a una temperatura de -20°C en congelador antes de ser analizadas.

La extracción del DNA de todas las muestras de branquia o manto se llevó a cabo utilizando el kit DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN®) siguiendo los pasos y reactivos proporcionados, sin ninguna modificación. Para ello, se utilizaron 0.020 gr de tejido que fue cortado con navajas de afeitar comunes. Posteriormente, el tejido estuvo en digestión por 5 horas a 56°C, bajo la acción de 20 µL de proteinasa K en 180 µL de solución amortiguadora (buffer). Los reactivos utilizados y los pasos seguidos para la extracción de DNA se realizaron de acuerdo a lo proporcionado e indicado por el fabricante del kit de QIAGEN ®. La integridad de los productos se evaluó por electroforesis en geles de agarosa al 1.5% (5 µL, 25 minutos a 130V), teñidos con Bromuro de Etidio (EtBr, 5 µL). Se utilizó el amortiguador de carga Azul de Bromofenol 6x. La cámara de electroforesis se utilizó con TBE 0.5x. Los resultados fueron examinados en luz UV (onda corta de 254 nm) y verificados con un marcador de peso molecular de 1000 pb (New England BioLabs Inc). No se le realizó extracción a un solo individuo de Punta Baja, por deterioro de tejido y nulo rendimiento.

### **2.2 Amplificación por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)**

Se amplificaron los fragmentos de aproximadamente 600 pares de bases (bp) del gen Citocromo Oxidasa subunidad I (COI) del mtDNA, utilizando los cebadores universales para invertebrados marinos de Geller et al. (2013) (forward jgHCO2198: TAIACYTICIGGRTGICCRAARAAYCA y reverse jgLCO1490: TITCIACIAAYCAYAARGAYATTGG). La reacción de PCR se realizó en un volumen total de 20 µL, que contenía 2.0 µL de Buffer 10X para PCR, 1.6 µL de dNTP's al 2.5 µM, 1.0 µL de primer forward (jgHCO2198) a 10 µM, 1.0 µL de primer reverse (jgLCO1490) a 10 µM, 0.32 µL de Taq polimerasa 5 U/ µL, 13.08 µL de H<sub>2</sub>O y 1.0 µL de DNA (a excepción del control negativo). Para el control positivo se utilizó 1 µL del material genético de una muestra de Faro San José (FSJ 07), por presentar un buen rendimiento analítico y genético. Las condiciones del termociclador (Eppendorf Mastercycler Personal) se usaron con el siguiente perfil: desnaturalización a 94°C por 2 min, seguido de 30 ciclos a 94°C por 1 min, después a 56°C por 1 min, posteriormente a 72°C por 1 min y una extensión final a 12°C para enfriar. Los productos de PCR se examinaron en geles de agarosa al 1.5% (5 µL, 45 minutos a 90 V), teñidos en BrEt (5 µL) y amortiguador de carga Azul de Bromofenol 6x. La cámara de electroforesis se utilizó con TBE 0.5x. Los resultados fueron examinados en luz UV (onda corta

de 254 nm) y verificados con un marcador de peso molecular de 1000 pb (New England BioLabs Inc).

### **3. Secuenciación**

La secuenciación de las muestras se realizó en dos laboratorios especializados en Estados Unidos. El laboratorio “MCLab”, que se localiza en San Francisco (320 Harbor Way, South San Francisco, CA 94080, Estados Unidos), realizó el análisis por fragmentos para las localidades de Faro San José, Punta Baja y El Zeppelin en septiembre de 2021. El laboratorio Eton, que se encuentra en San Diego (10179 Huennekens St, San Diego, CA 92121, Estados Unidos), se encargó de analizar las poblaciones de Punta Clara, Punta San Carlos, Punta Lobos, y Playa Encantada, en noviembre de 2022.

### **4. Procesamiento de datos**

#### **4.1 Alineamiento**

Para depurar y limpiar cada una de las secuencias se hizo uso del software bioinformático Geneious 10 (<https://www.geneious.com>). Primero, se alinearon las secuencias *forward* y *reverse* de cada individuo, revisando que no hubiera ambigüedades y se generó una secuencia consenso para cada uno. Después, todas las secuencias se alinearon por localidad y, por último, todas las localidades juntas. Todas las secuencias se cortaron a una misma longitud de 553 bp, de tal manera que se eliminaron aquellas que no cumplieran con el tamaño. En total se utilizaron 169 secuencias para el análisis genético.

#### **4.2 Identificación de haplotipos**

Con el programa Geneious 10 (<https://www.geneious.com>) se identificaron los sitios variables entre secuencias y se construyó un árbol filogenético con el método del Vecino Más Cercano (Neighbor-Joining o NJ) a partir de las diferencias nucleotídicas entre ellas, para examinar la relación filogenética entre individuos.

Las frecuencias haplotípicas y los haplotipos únicos para cada localidad se calcularon con el software estadístico R v4.1.1 (R Core Team, 2021) y Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010). Con el mismo programa y el software de genética poblacional PopART (Population Analysis with Reticulate Trees; Bendelt *et al.*, 1999) se generó una Red de Expansión Mínima (REM; Red de Haplotipos) para visualizar las relaciones genéticas entre individuos a partir de los haplotipos.

### 4.3 Diversidad haplotípica y nucleotídica

Los valores de diversidad haplotípica y nucleotídica se utilizaron para contrastar y medir la variación genética en las localidades. Estos parámetros se calcularon en R Studio (R Core Team, 2021).

El índice de **diversidad haplotípica (Hd)** mide la probabilidad de que dos haplotipos escogidos al azar en una población sean diferentes en un locus (Nei, 1987; Abadía-Cardoso, 2006), es decir, mide la diversidad genética en una población en un locus específico a partir de la variedad de haplotipos presentes.

$$Hd = 1 - \sum_{i=1}^m x_i^2 \quad (1)$$

donde  $m$  es el número de haplotipos y  $x$  es la frecuencia del haplotipo en la población (Nei, 1987).

La **diversidad nucleotídica ( $\pi$ )** es una medida de la variación genética a partir del promedio de diferencias de nucleótidos por sitio entre dos secuencias de ADN aleatorias. Este índice mide el grado de polimorfismo a nivel nucleotídico y pone en observación la distancia genética entre individuos de una población.

$$\pi = \sum_{ij} x_i x_j \pi_{ij} \quad (2)$$

donde  $x_i$  es la frecuencia del haplotipo en una población, y  $\pi_{ij}$  es el número de diferencias nucleotídicas por sitio entre dos haplotipos (Nei & Li, 1979).

### 4.4 Neutralidad

El estadístico de **D de Tajima** se calculó con el programa Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010) para estimar la hipótesis nula de neutralidad de mutación en el DNA (Tajima, 1989). Este estadístico determina si una secuencia de DNA evoluciona con mutaciones de manera aleatoria (neutral), o bajo selección (no neutral) (Hartl & Clark, 2007). La D de Tajima compara los estimadores del parámetro teta ( $\theta$ ): uno toma como base el número de sitios segregantes analizados, mientras que el otro se basa en el promedio de las diferencias pareadas por sitio de haplotipos. El estadístico de D de Tajima se define como:

$$D = \frac{\hat{\theta}_{\pi} - \hat{\theta}_S}{\sqrt{Var(\hat{\theta}_{\pi} - \hat{\theta}_S)}} \quad (3)$$

donde  $\hat{\theta}_{\pi} = \frac{S}{\sum_{i=0}^{n-1} \left(\frac{1}{i}\right)}$  y  $S$  es el número de sitios segregantes en la muestra.

El valor de  $p$  de la  $D$  observada se calcula bajo la suposición de una distribución beta, limitada por los posibles valores máximos y mínimos de  $D$  (Tajima, 1989; Abadía-Cardoso, 2006).

#### 4.5 Estructura poblacional

Para evaluar la estructura poblacional de *M. californianus* en la península de Baja California entre las localidades, se realizó un análisis multivariado molecular (AMOVA) y comparaciones pareadas del índice de fijación  $\Phi$  ( $\Phi_{ST}$ ). El AMOVA es un análisis jerárquico de variación genética construido directamente de la matriz de distancias al cuadrado entre todos los pares de haplotipos, de modo que produce estimaciones de los componentes de varianza y análogos del estadístico  $F$  (Tabla I). Estas estimaciones reflejan la correlación que existe entre la diversidad haplotípica en diferentes niveles jerárquicos (Excoffier *et al.*, 1992). El nivel de significancia se juzgó en un valor de  $\alpha = 0.05$ , de tal manera que, bajo la hipótesis nula de panmixia, con valores de  $p < 0.05$  se considera que la población presenta estructura genética.

**Tabla I. Diseño experimental estadístico para AMOVA.**

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Componente de varianza	Porcentaje de variación (% var.)
Entre poblaciones	SC(AP)	$n\sigma_a^2 + \sigma_b^2$	$\%V_{ap} = \left(\frac{n\sigma_a^2 + \sigma_b^2}{\sigma_T^2}\right)100$
Dentro poblaciones	SC(WP)	$\sigma_b^2$	$\%V_{wp} = \left(\frac{\sigma_b^2}{\sigma_T^2}\right)100$
<b>Total</b>	SC(T)	$\sigma_T^2$	

SC=suma de cuadrados; AP=entre poblaciones; WP=dentro de las poblaciones; T=total de las desviaciones de la suma de cuadrados (Abadía-Cardoso, 2006).

Donde  $n$  y el índice  $F_{ST}$  se definen como:

$$n = \frac{N - \sum \frac{N_p^2}{N}}{P - 1} \quad (4)$$

$$F_{ST} = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_T^2} \quad (5)$$

El estadístico  $\Phi_{ST}$  es un análogo del estadístico F (índice de fijación) basado en la correlación de haplotipos a partir de distancias genéticas. Su cálculo se apoya en diferencias en las frecuencias haplotípicas entre poblaciones y la diversidad genética dentro de ellas (Excoffier *et al.*, 1992). El resultado se consideró significativo de  $\alpha = 0.005$ , de modo que, si el valor de  $\Phi$  es significativamente diferente de lo esperado bajo la hipótesis nula de panmixia, las poblaciones presentan diferencia genética entre ellas. El estadístico  $\Phi_{ST}$  se define como:

$$\Phi_{ST} = \frac{\sigma_a^2 + \sigma_b^2}{\sigma^2} \quad (6)$$

Los resultados de  $\Phi_{ST}$  y  $F_{ST}$  se evalúan bajo un mismo criterio de interpretación, en un rango de 0 a 1. Un valor de 0 indica nula diferencia genética entre poblaciones, mientras que el valor de 1 indica completa diferencia genética. Es decir, resultados cercanos a 0 sugieren poblaciones idénticas y resultados cercanos a 1 proponen que no se comparte variación genética entre las poblaciones.

## Resultados

### 1. Identificación de haplotipos

Del total de las 221 muestras recolectadas para el estudio, se obtuvieron 169 secuencias consenso individuales del gen mitocondrial COI. Las ambigüedades entre las secuencias complementarias se corrigieron y corroboraron con las demás secuencias. Las secuencias menores a los 553 bp de tamaño fueron eliminadas.

Se encontraron 96 haplotipos con 197 sitios segregantes, además de 83 haplotipos únicos para las 7 localidades en Baja California (Tabla II). Los haplotipos XVI y II fueron los más frecuentes, presentándose en 32 y 17 individuos respectivamente (Tabla II y Figura 2).

**Tabla II. Frecuencias haplotípicas con base en el gen mitocondrial citocromo *c* oxidasa subunidad I (COI) para cada localidad muestreada (de norte a sur): Playa Encantada (PE), El Zeppelin (ZEP), Punta Clara (PC), Punta Baja (PB), Punta San Carlos (PSC), Faro San José (FSJ) y Punta Lobos (PL).**

	PE	ZEP	PC	PB	PSC	FSJ	PL
Haps. u.	18	7	12	10	13	10	13
Haps.	24	13	20	18	16	19	20

								Total
I							1	1
II	1	3	4	1	2		3	16
III							1	1
IV	1		1	1			1	5
V							1	1
VI							1	1
VII							1	1
VIII							1	1
IX		1					1	2
X	1		1	2			1	6
XI		1		1			1	3
XII		2	1	1			1	6
XIII							1	1
XIV							1	1
XV			1				1	2
XVI	2	10	6	6	4		2	32
XVII	1						1	2
XVIII							2	2
XIX							1	1
XX				1				1
XXI				1				1
XXII				1				1
XXIII				1				1
XXIV		1		1				2
XXV				1				1
XXVI				1				1
XXVII				1				1
XXVIII				1				1
XXIX				2				2
XXX				1				1
XXXI				1			1	2
XXXII		1						1
XXXIII		1			1			2
XXXIV		1						1
XXXV		1						1
XXXVI		1						1
XXXVII		1						1
XXXVIII		1						1
XXXIX			1					1
XL			1					1
XLI			1					1
XLII			1					1
XLIII			1					1

XLIV		1		1
XLV	1	1		2
XLVI		1		1
XLVII		1		1
XLVIII		1		1
XLIX		1	1	2
L		1		1
LI		1		1
LII		1		1
LIII			1	1
LIV			1	1
LV			1	1
LVI			1	1
LVII			1	1
LVIII			1	1
LIX			1	1
LX			1	1
LXI			1	1
LXII			1	1
LXIII			1	1
LXIV			1	1
LXV			1	1
LXVI	1			1
LXVII	1			1
LXVIII	1			1
LXIX	1			1
LXX	1			1
LXXI	1			1
LXXII	1			1
LXXIII	1			1
LXXIV	1			1
LXXV	1			1
LXXVI	1			1
LXXVII	1			1
LXXVIII	1			1
LXXIX	1			1
LXXX	1			1
LXXXI	1			1
LXXXII	1			1
LXXXIII	1			1
LXXXIV			1	1
LXXXV			1	1
LXXXVI			1	1
LXXXVII			1	1

LXXXVIII	1	1
LXXXIX	1	1
XC	1	1
XCI	1	1
XCII	1	1
XCIII	1	1
XCIV	1	1
XCV	1	1
XCVI	1	1

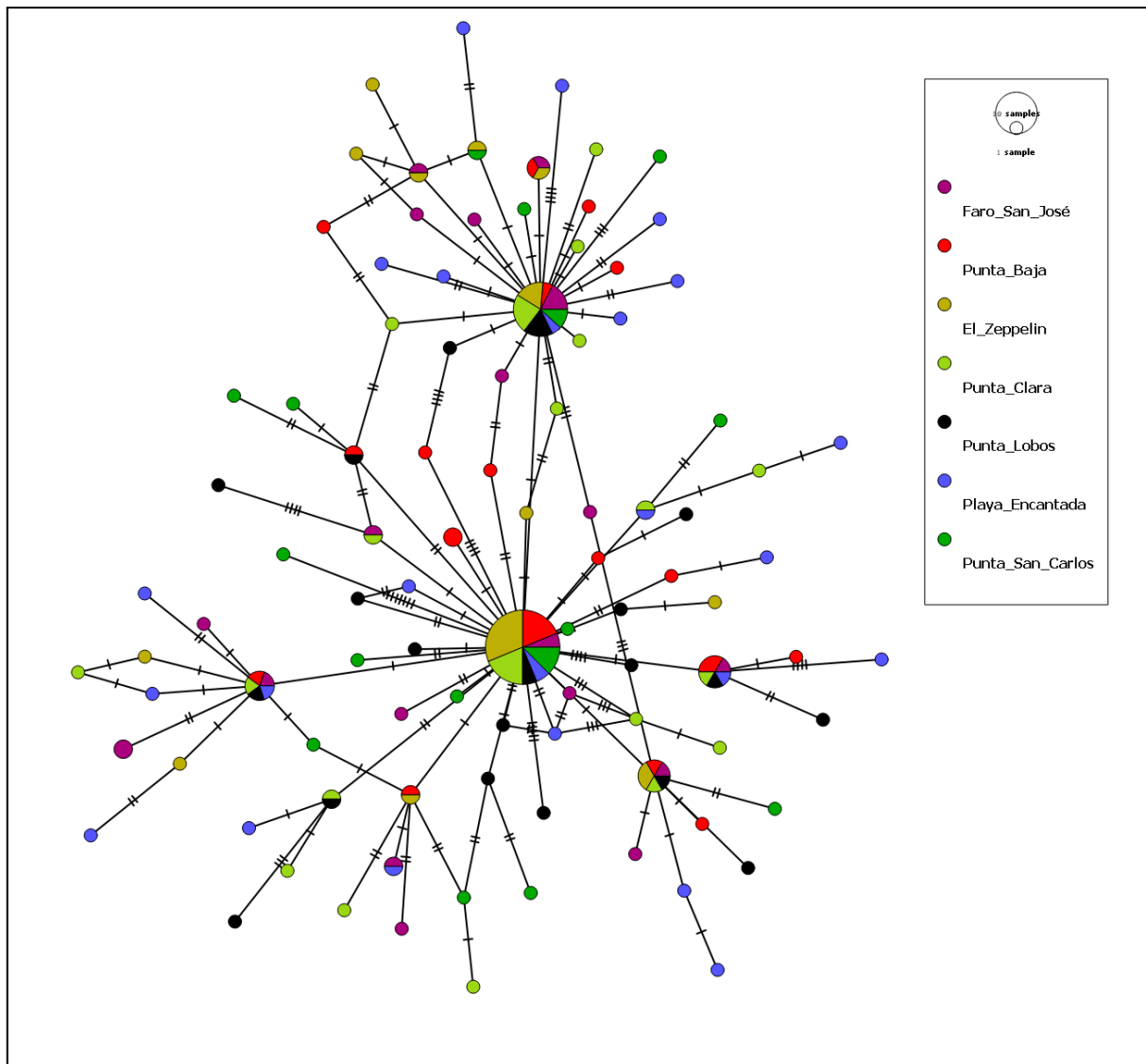
Haps.= Número de haplotipos; Haps.u.= Haplotipos únicos.

El árbol filogenético (Neighbor-Joining Tree) para las 169 secuencias analizadas de *M. californianus* (Anexo I) no mostró evidencias de estructura poblacional entre los siete sitios. La topografía del árbol muestra una clara homogeneidad entre clusters, sin agrupaciones por localidad.

La red de haplotipos para *M. californianus* de las localidades en Baja California (Figura 2) representa las frecuencias de cada haplotipo observado, así como los posibles cambios entre un haplotipo y otro (líneas transversales). En esta red, no observamos agrupamientos de haplotipos por localidad, sino una mezcla entre los 7 sitios. Destaca la presencia de numerosos haplotipos únicos que se originan a partir de dos haplotipos centrales. El haplotipo “XVI” es el más común (representado por el círculo de mayor tamaño) y con una mayor frecuencia en ZEP (31.25%), seguido de PB y PC (18.75% para ambos sitios), PSC (12.5%), por último, PL, PE y FSJ que contaron con la menor frecuencia de individuos (6.25%). Por su lado, el haplotipo “II”, el segundo más frecuente, tuvo mayor presencia en PC (23.53%), e igual proporción para FSJ, PL y ZEP (17.65%), seguidos de PSC (11.76%) y, con menor frecuencia, PE y PB con un solo individuo (5.88%).

Se observa un dominio de haplotipos únicos en cada localidad (Tabla II y Figura 2). El límite de distribución geográfica de *M. californianus* en este trabajo, PL, presentó un 65% de haplotipos únicos de su total de 20 haplotipos. El sitio con mayor porcentaje de haplotipos únicos fue PSC (81.25%), mientras que FSJ y ZEP obtuvieron el menor porcentaje (52.63 y 53.85%, respectivamente) frente a 19 y 13 haplotipos totales, respectivamente.

Con base en la red de haplotipos, observamos que las mutaciones (o sitios variables) entre haplotipos, ya sea compartidos o únicos, se encuentran entre 1 y 5. Un haplotipo único de PSC muestra siete mutaciones con respecto al haplotipo más común (“XVI”).



**Figura 2.** Red de expansión mínima para las 7 localidades de *M. californianus* en Baja California, México con base en el gen mitocondrial citocromo oxidasa I (COI). Los colores representan las diferentes localidades: azul (PE), amarillo (ZEP), rojo (PB), verde claro (PC), verde oscuro (PSC), morado (FSJ) y negro (PL), Cada círculo representa un haplotipo distinto y el tamaño representa la frecuencia de cada uno. A mayor tamaño, mayor frecuencia de ese haplotipo. Las líneas transversales muestran el número de sitios variables entre cada par de haplotipos.

## 2. Índices de diversidad y Neutralidad

La diversidad haplotípica global de *M. californianus* en las localidades de Baja California fue de 0.95 (sd= 0.0012). La diversidad nucleotídica global fue de 0.006 (sd= 0.00001). La localidad más norteña, PE, presentó la diversidad haplotípica y nucleotídica más alta con  $H_d=0.997$  (sd= 0.00001) y  $\pi=0.008$  (sd= 0.00002). El valor más pequeño para ambos índices de diversidad se presentó en ZEP ( $H_d=0.8837$ , sd= 0.0048 y  $\pi=0.003$ , sd=0.0). Los resultados de la D de Tajima para todos los casos fueron significativos ( $p<0.05$ ) (Tabla III).

**Tabla III. Índices de diversidad genética y neutralidad con base en el gen mitocondrial citocromo *c* oxidasa subunidad I (COI) para cada una de las localidades de *M. californianus* de Baja California, México.**

Localidad	N	n	Hd	$\pi$	Tajima's D	
					D	p
PE	25	24	0.997±0.0001	0.008±0.00002	-2.25356	0.001
ZEP	25	13	0.837±0.0048	0.003±0.00000	-1.66985	0.003
PC	28	20	0.944±0.0009	0.005±0.00001	-2.07832	0.002
PB	25	18	0.943±0.0012	0.005±0.00001	-2.14306	0.004
PSC	20	16	0.963±0.0009	0.008±0.00002	-2.20565	0.002
FSJ	23	19	0.980±0.0003	0.006±0.00001	-1.95785	0.009
PL	23	20	0.984±0.0003	0.007±0.00002	-2.26083	0.003
<b>Total</b>			0.950±0.0012	0.006±0.00001	-2.08130	0.003

N= número de muestras; n= número de haplotipos; Hd= diversidad haplotípica;  $\pi$ = diversidad nucleotídica; D= Tajima's D; P= (D simul < D obs); E= Playa Encantada; ZEP= El Zeppelin; PC= Punta Clara; PB= Punta Banda; PSC= Punta San Carlos; FSJ= Faro San José; PL= Punta Lobos.

### 3. Estructura poblacional

Los resultados de AMOVA muestran que no hay diferencias genéticas significativas entre las localidades estudiadas (%var.= -0.08), y la variación genética se encuentra dentro de los sitios (% var.= 100.08)(Tabla IV).

El índice de fijación global indicó nula diferenciación genética entre poblaciones, es decir, no existe estructura genética entre las 7 localidades ( $F_{ST}$ = -0.00084; p= 0.57; Tabla IV).

**Tabla IV. Resultados de AMOVA para las 7 localidades (1000 permutaciones) con base en el gen mitocondrial citocromo *c* oxidasa subunidad I (COI).**

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Componente de varianza	Porcentaje de variación (% var.)
Entre poblaciones	9.51	0	-0.08
Dentro poblaciones	262.08	1.62	100.08
<b>Total</b>	271.59	1.62	

El estimador  $\Phi_{ST}$  pareado mostró valores bajos entre pares de las localidades de *M. californianus* y no se observó estructura genética, ya que no hay diferencias significativas entre los sitios (p<0.005; Tabla V). La comparación entre PL y FSJ presentó el valor más alto ( $\Phi_{ST}$ = 0.009; p= 0.13), mientras que entre PB y ZEP se obtuvo el valor más bajo ( $\Phi_{ST}$ = 0.002; p= 0.40). Un total de 14 de 21 comparaciones pareadas presentaron valores de cero (Tabla V).

**Tabla V. Resultados de  $\Phi_{ST}$  en comparaciones pareadas entre las 7 localidades (arriba de la diagonal) y sus p-valores (abajo de la diagonal) con base en el gen mitocondrial citocromo *c* oxidasa subunidad I (COI).**

	PE	ZEP	PC	PB	PSC	FSJ	PL
PE	-	0	0	0	0	0	0
ZEP	0.73	-	0	0.002	0.006	0	0.007
PC	0.81	0.49	-	0.007	0	0	0
PB	0.42	0.40	0.14	-	0	0.007	0
PSC	0.47	0.24	0.44	0.48	-	0.008	0
FSJ	0.86	0.72	0.55	0.26	0.13	-	0.009
PL	0.58	0.19	0.55	0.80	0.43	0.14	-

PE=Playa Encantada; ZEP= El Zeppelin; PC=Punta Clara; PB= Punta Banda; PSC= Punta San Carlos; FSJ= Faro San José; PL= Punta Lobos

## Discusión

El mejillón californiano *M. californianus* es de gran importancia ecológica y económica en México. El mejillón es característico por formar camas que proporcionan hábitat y refugio para muchas especies en el intermareal rocoso (Suchanek, 1981; Suchanek, 1992). Indispensable para el ecosistema marino, la presencia y abundancia de esta especie en el intermareal es un indicador crucial de la salud y equilibrio de la comunidad (Peña-Mejía, 2011). Actualmente las comunidades intermareales forman gran parte en la producción de las pesquerías de la región, especialmente en la recolección de las especies clave en estas comunidades, como el mejillón californiano *M. californianus*, el erizo morado *Strongylocentrotus purpuratus*, la langosta roja *Panulirus interruptus* y especies de abulón *Haliotis* (Instituto Nacional de la Pesca (INP), 2006; Peña-Mejía, 2011). Las especies de *Mytilus* han formado parte del consumo humano desde hace miles de años (Téllez, 1987), continuando hoy en día como una fuente importante de alimento y pesquería de gran relevancia. En Baja California, la pesquería del mejillón continúa en crecimiento y prosigue con su desarrollo como una pesquería de aprovechamiento sustentable. *M. californianus* ha sido cosechado en la costa noroccidental de la península desde hace varios años, con registros que datan de 1962 hasta la actualidad; sin embargo, no existen planes ni estrategias de manejo en marco legal que orienten las pesquerías existentes (INP, 2006). El estudio de la genética poblacional de *M. californianus* en Baja California brindaría información base para la creación de un plan de manejo adecuado.

Estudios previos han evaluado la estructura genética de *M. californianus* hacia el norte de su distribución (Levinton & Suchanek, 1978; Engel, 2004; Addison *et al.*, 2008); sin embargo, solo uno de ellos (Addison *et al.*, 2008) incluye un sitio de muestreo en Baja California (Punta Baja). Se ha reportado que el límite sur de distribución del mejillón californiano se encuentra cerca de Punta Eugenia, Baja California (Schmidt, 1999). Este estudio es el primer acercamiento a la genética poblacional de *M. californianus* en el territorio mexicano, así como un análisis de mayor cobertura en la región sur de su distribución geográfica.

Un haplotipo refiere a una combinación específica de alelos que se encuentran en un cromosoma. Los sitios polimórficos, o también sitios segregantes, son los sitios en secuencias alineadas en los que sus nucleótidos son distintos (Hartl & Clark, 2007). En este trabajo se analizaron 169 individuos de *M. californianus* en Baja California, obteniendo un total de 96 haplotipos y 83 haplotipos únicos. Esta gran variedad de haplotipos presentados confirma la gran diversidad genética de la especie. En los sitios estudiados, los valores de diversidad haplotípica fue elevada, entre 0.837 a 0.997 ( $H_d$  global= 0.95), es decir, cerca del 100%. Por otro lado, la diversidad nucleotídica se presentó en valores bajos, menores a 0.01 ( $\pi$ = 0.003-0.008). Estos resultados son consistentes con lo reportado previamente en sitios de Estados Unidos ( $H_d$ = 0.997 y  $\pi$ = 0.0045, (Ort & Pogson, 2007);  $H_d$ = 0.979 y  $\pi$ = 0.0060, (Addison *et al.*, 2008);  $H_d$ = 0.981 y  $\pi$ = 0.0062, (Marko *et al.*, 2010), donde remarcan la gran diversidad genética y numerosos haplotipos únicos. Por otro lado, otras especies dentro del género, como *M. trossulus* ( $H_d$ = 0.953; Marko *et al.*, 2010) también presentan valores altos de diversidad haplotípica. Así mismo, *M. chilensis* ( $H_d$ = 0.917; Astorga *et al.*, 2020) y *M. coruscus* ( $H_d$ = 0.818-0.971; Li *et al.*, 2013;  $H_d$ = 0.894; Yi *et al.*, 2021) presentan valores altos, aunque no tanto como *M. californianus* y *M. trossulus*. En comparación con el mitílido del Indo-Pacífico, *Perna viridis* ( $H_d$ = 0.389-0.841; Gilg *et al.*, 2013) y otros invertebrados en la costa oeste norteamericana, como el ostión del Pacífico *Crassostrea gigas* ( $H_d$ = 0.1947-0.6526; Li *et al.*, 2015) y el caracol *Megastrea undosa* ( $H_d$ = 0.2230-0.8777; Haupt *et al.*, 2013), *M. californianus* presenta valores altos de diversidad haplotípica. En valores de diversidad nucleotídica, se observa la misma tendencia hacia valores bajos por género taxonómico, como con *M. coruscus* ( $\pi$ = 0.004-0.007; Li *et al.*, 2013;  $\pi$ = 0.0011-0.0090; Yi *et al.*, 2021) y *M. trossulus* ( $\pi$ = 0.0057; Marko *et al.*, 2010). Aunque las secuencias de *M. californianus* en este estudio presentaron pocas diferencias nucleotídicas, éstas son suficientes para generar diferentes combinaciones que dan pie a la gran diversidad de haplotipos observada. El test de neutralidad, D de Tajima, para cada una de las localidades fue negativo y significativo. Al combinar los valores de D negativos, una alta diversidad haplotípica y baja diversidad nucleotídica se sugiere que la población de *M. californianus* está en crecimiento reciente.

En este trabajo se esperaba encontrar una menor diversidad haplotípica en el límite sur de distribución de la especie; sin embargo, Punta Lobos, el sitio más sureño, presentó altos niveles de diversidad haplotípica, siendo la segunda localidad con el valor más alto ( $Hd= 0.984$ ), después de Playa Encantada. Estos valores de diversidad haplotípica se pueden deber a que Punta Lobos se encuentra en una zona remota con difícil acceso en tierra, al igual que escasas intervenciones de pesca, convirtiéndose en un sitio con menos perturbación en comparación con sus contrapartes del norte. De igual manera, Punta Lobos presentó el valor de  $D$  de Tajima más negativo entre las 7 localidades ( $D= -2.26$ ), indicando que, para este estudio, Punta Lobos es la localidad con el crecimiento demográfico más reciente. Si se consideran los agentes ecológicos en el límite de distribución sur, la barrera biogeográfica con carácter dominante en la zona de estudio sería el cambio de temperatura del agua de mar conforme la CC termina su distribución en el sur de Baja California (PNUD-INECC, 2017) y entra en la zona de transición con la Corriente Norecuatorial (CNE) que sucede en Punta Eugenia. Es en los meses de verano que la CNE alcanza un flujo más intenso hacia el polo (Durazo, 2015), transportando agua más cálida ( $25-28^{\circ}\text{C}$ ) y baja en nutrientes (PNUD-INECC, 2017). En los últimos años el cambio climático ha derivado en múltiples fenómenos ambientales como el aumento de la temperatura del mar, fragmentación de casquetes polares por derretimiento de los polos, intensificación y aumento en frecuencia de fenómenos naturales. Considerando que el mejillón californiano es un organismo estenotermo (Seed & Suchanek, 1992) y su límite de distribución geográfica está estrictamente marcada por su tolerancia térmica, por congelación en el norte y calor en el sur (Schimdt, 1999), el aumento de la temperatura del mar y los olas de calor marinas se han vuelto eventos naturales con gran influencia en la supervivencia de este organismo (Masanja *et al.*, 2023), especialmente en su límite sur. Masanja *et al.* (2023) también demuestra que el impacto del estrés térmico en los bivalvos de interés económico se refleja en dificultades en el crecimiento y desarrollo del organismo, llevando a dificultades en su supervivencia. Mientras que el planeta continúa calentándose con mayor frecuencia e intensidad, las fronteras de distribución geográfica son modificadas ecológicamente y obligan a el desplazamiento de las especies hacia los polos (Smith *et al.*, 2021), por lo que es de esperarse que *M. californianus* presente mayor dificultad de supervivencia en el límite sur de distribución y, por ende, en el futuro, su diversidad genética sea considerablemente menor a lo obtenido.

En la red de expansión mínima de *M. californianus* en Baja California (Figura 2) se encuentran los haplotipos comunes (“XVI” y “II”) que derivan en diversos haplotipos únicos que difieren de 1 a 7 diferencias de pares de bases. Las pocas diferencias observadas entre haplotipos es consistente con los valores bajos de diversidad nucleotídica obtenidos. La estructura de la red de haplotipos presenta una historia demográfica de cuello de botella con expansión súbita sin llegar a estabilidad aún, consistente con los valores negativos del  $D$  de Tajima en este estudio.

Marko *et al.* (2010) indaga la estructura poblacional e historia demográfica de diversas especies de invertebrados del intermareal rocoso en la costa oeste de Norteamérica, tras la influencia del Último Máximo Glacial (LGM, por sus siglas en inglés) en el Pleistoceno, hace aproximadamente 20,000 años. Estudios previos han evidenciado la influencia del LGM en la genética poblacional de diferentes especies en distintas regiones del mundo (Hewitt, 2004). Particularmente, Marko *et al.* (2010) muestran que la expansión demográfica de *M. californianus* comenzó hace aproximadamente 313 mil años, mucho antes del LGM. Del mismo modo, el mejillón californiano no tolera temperaturas bajo cero como *M. edulis* (Seed & Suchanek, 1992) y sugieren que su persistencia a las bajas temperaturas durante el LGM, en lo que ahora es Columbia Británica y sureste de Alaska, se debe a su persistencia en un hábitat submareal, además de la ausencia de la estrella de mar depredadora *Pisaster ochraceus*, también analizada en el estudio (Marko *et al.*, 2010). La ausencia de *P. ochraceus* en la zona intermareal rocosa podría haber sido determinante para la supervivencia de *M. californianus* en el intermareal bajo (Paine, 1976) hace miles de años. Esto habría evitado la presión derivada de prolongados períodos de exposición a temperaturas bajas (Marko *et al.*, 2010) en el intermareal medio, permitiendo así el continuo crecimiento demográfico de la especie.

El mejillón californiano no fue el único invertebrado sin influencias significativas del LGM en su genética poblacional e historia demográfica en la costa rocosa del Pacífico Noroeste (e.g. la estrella de mar *Evasterias troschelii*; Marko *et al.*, 2010); además, investigaciones también muestran evidencia de cambios demográficos antes del LGM en el Pacífico Noroeste en invertebrados del intermareal rocoso (Ni *et al.*, 2014).

La historia demográfica también se encuentra interconectada con la estructura poblacional de la especie. Es a partir de los cambios y efectos en la estructura genética de una especie a lo largo del tiempo, que definen su historia demográfica. En este estudio, la herramienta analítica AMOVA no reveló estructura genética significativa de *M. californianus* entre las 7 localidades de Baja California, indicando homogeneidad genética entre ellas. La alta variabilidad genética (diversidad haplotípica) obtenida se presentó dentro de las localidades (% variación= 100.08) en vez de entre ellas (% variación= -0.08), es decir, los mejillones son diferentes uno del otro en una misma localidad pero son similares a lo largo de los puntos de muestreo. En general, es esperado que en invertebrados marinos con extensas etapas larvales resulten en una mayor dispersión y conectividad entre poblaciones (Burton, 1983; Hedgecock & Hay, 1994; Bohonak, 1999). Esta conectividad define el nivel de estructura poblacional entre sitios, aunque puede ser guiada significativamente por barreras biogeográficas (Avice, 1992; Avice, 2000), limitando el flujo genético entre sitios con la retención larval en una zona.

La diferenciación genética entre poblaciones también puede estar influenciada por corrientes oceánicas, en donde la velocidad, variabilidad y dirección de las corrientes tiene un fuerte

efecto en el movimiento de las larvas, en especial aquellas con comportamiento pasivo en la columna de agua (Etter & Bower, 2015). En Baja California, el Sistema de la Corriente de California es el factor oceanográfico dominante con influencia directa en los procesos biológicos que suceden en la región noroeste de México, específicamente la Corriente de California (CC). Esta corriente se extiende aproximadamente 1000 km desde la costa, con una profundidad cerca de los 200 m, transportando agua fría, baja en salinidad, y rica en nutrientes y oxígeno (Durazo, 2015). La CC desplaza agua a una velocidad promedio de 10 cm/s (Matthews & Emery, 2009; Durazo, 2015), siendo el agente de transporte principal de nutrientes, zooplancton y larvas en la costa oeste de Canadá, Estados Unidos y Baja California, México. Hedgcock & Hay (1994) observan que la fauna con etapa larval planctónica en la CC no escapa la tendencia generalizada de homogeneidad en poblaciones a lo largo de extensas regiones (500 a 2000 km), por ejemplo, los erizos de mar (Palumbi & Wilson, 1990), el cangrejo dungeness (Nelson & Hedgcock, 1980) y el mejillón (Levinton & Suchanek, 1978). A partir de las características de esta región, se pueden resaltar dos factores que contribuyen a la gran dispersión de *M. californianus* en la zona de estudio: 1) la línea de costa de Baja California, que es relativamente recta desde la frontera con Estados Unidos hasta Punta Eugenia (Strub & James, 2000; Matthews & Emery, 2009); y 2) las condiciones oceanográficas físicas como la CC, que son determinantes en el transporte y dispersión larval, al igual que en la producción de alimento para ellas (Botsford, 2001).

La ausencia de estructura poblacional para *M. californianus* también fue evidente en el árbol filogenético y la red de expansión mínima, donde no se formaron clusters ni agrupaciones de individuos por sitio de estudio. Addison *et al.* (2008) concluyen que la clara uniformidad genética presentada por el mejillón californiano puede deberse a su gran flujo genético y por múltiples características de su historia de vida. En primer lugar, presentan una extensa etapa larvaria en la columna de agua, que dura de 3 a 5 semanas (Wang & Widdows, 1991; Filgueira *et al.*, 2015), además de un potencial de dispersión larval que alcanza distancias de 20-50 km, valor confirmado para especies de *Mytilus* spp. (Becker *et al.*, 2007). En segundo lugar, la capacidad de *M. californianus* de desovar continuamente durante el año, a pesar de ser pequeñas concentraciones de gametos (Suchanek, 1981), permite que no exista dispersión limitada. En tercer lugar, el mejillón californiano tiene un periodo de vida longeva que puede ser de más de 50 años (Gosling, 1992), y la constante reproducción a través de ese tiempo debería dificultar patrones de heterogeneidad a largo plazo (Addison *et al.*, 2008). Si bien el alto flujo genético de *M. californianus* puede contribuir a la alta variabilidad genética y homogeneidad demostrada en este estudio y previos, también se le puede atribuir a la falta de gradientes selectivos fuertes en su distribución geográfica (Addison *et al.*, 2008).

Los límites de distribución geográfica suelen ser regiones donde las condiciones ecológicas son diferentes a las presentadas en las áreas de distribución central, con un ambiente subóptimo que dificulta la supervivencia de los organismos. Es en estas fronteras donde se espera la presencia de estructura genética al compararse con los sitios centrales. Evidencia de ello se puede ver en otros invertebrados como la estrella de mar *P. ochraceus*, que en su límite de distribución norte cuenta con una estructura poblacional significativa (Marko *et al.*, 2010), al igual que muestra indicios de estructura en zonas con barreras biogeográficas en su distribución hacia el sur (Harely *et al.*, 2006). A pesar de lo esperado, la localidad más sureña de Punta Lobos no mostró evidencias de estructura genética a pesar de encontrarse cerca de la zona de transición entre la CC y la CNE (PNUD-INECC, 2017), además de los efectos e impactos del cambio climático y aumento térmico de las aguas.

A partir de lo obtenido, otro concepto se le puede atribuir a la población de *M. californianus*. Los resultados del trabajo de Carson *et al.* (2011), enfocado en la evaluación de la conectividad demográfica de *M. californianus* y *M. galloprovincialis* en el Condado San Diego, California, sostienen que el concepto de metapoblación en organismos marinos, propuesta por Sale *et al.* (2006), es apropiado para ambas especies de *Mytilus*. La definición de metapoblación marina de Sale *et al.* (2006) se define como “un sistema en el que (1) las poblaciones locales habitan parches de hábitat discretos y (2) la dispersión entre parches no es tan baja como para negar una conectividad demográfica significativa ni tan alta como para eliminar cualquier independencia de la dinámica de las poblaciones locales, incluyendo un grado de asincronía con otras poblaciones locales”. Los autores elaboraron el concepto de metapoblación marina a partir de especies en la que la primera fase de su historia de vida fuera pelágica larval, esto por el potencial de distribución que presentan en la columna de agua, al igual que su importancia en el mantenimiento de la estructura poblacional. Por ello, ante la baja estructura poblacional, la conectividad genética y la alta diversidad haplotípica en las siete subpoblaciones en este trabajo, es posible que el mejillón *M. californianus* se presente como una metapoblación en su distribución geográfica en la península de Baja California. Si la dinámica poblacional del mejillón californiano se tratara de una metapoblación marina, de acuerdo a lo reportado por Carson *et al.* (2011), las subpoblaciones de mejillón al norte de Punta Lobos actúan como puntos de suministro de larvas, que son transportadas por la CC. El suministro constante a Punta Lobos y su reciente crecimiento demográfico puede tratarse de una recolonización de la zona, un evento común y característico de una metapoblación (Sale *et al.*, 2006), explicando a su vez la alta diversidad haplotípica presentada.

Es posible que resultados marginales sobre la estructura poblacional para *M. californianus* no sean detectadas debido a su elevada diversidad haplotípica (Hedrick, 1999). En un intento de revelar la estructura de *M. californianus*, Addison *et al.* (2008) removieron las secuencias con las mutaciones recientes como método alternativo. Sin embargo, aunque lograron disminuir los valores de diversidad haplotípica, sus valores de  $\Phi_{ST}$  se hacían más negativos con mayor remoción de mutaciones. Otra forma para discernir estructura genética sería aplicar el método de coalescencia, que es más sensible y capaz de detectar las diferencias a través de la diversidad. Este método se enfoca en la aplicación de diversos modelos genéticos a través de simulaciones por computadora (Posada & Crandall, 2001). Es importante asegurarse si existen pequeños indicios de estructura poblacional en *M. californianus* en su distribución geográfica en Baja California, para comenzar un acercamiento ecológico y genético adecuado en su estudio.

Por su parte, ante el hallazgo de alta diversidad genética en el límite sur del mejillón californiano, aunado a los enfrentamientos ecológicos y térmicos actuales, se requiere un estudio más detallado en esta región utilizando herramientas y metodologías moleculares más precisas. Este enfoque permitiría una comprensión más profunda de los eventos y trazar un camino hacia la identificación de las causas detrás de los resultados obtenidos. A pesar de la alta diversidad genética encontrada en el límite sur de la distribución de *M. californianus*, los cambios ambientales podrían tener un impacto significativo en esta especie de gran importancia ecológica y económica. Por esta razón, es necesario continuar con su monitoreo.. Lograr un marco genético completo de *M. californianus* en territorio mexicano sería fundamental para el desarrollo de planes de manejo y estrategias efectivas en la gestión de la pesquería de este bivalvo, y que a la vez permitan su resiliencia en el futuro próximo.

Así mismo, se requieren investigaciones genéticas adicionales y una ampliación en el número de sitios de muestreo para confirmar a *M. californianus* como metapoblación; además, sería necesario incorporar localidades de Estados Unidos y Canadá para abordar de manera completa su estructura genética como metapoblación en toda su distribución geográfica.

## **Conclusión**

A pesar de que el cambio climático actual y sus efectos han tenido un impacto significativo a múltiples especies en los últimos años, el mejillón californiano muestra respuestas genéticas singulares. Este estudio revela que *M. californianus* en Baja California presenta una alta diversidad genética principalmente atribuible a la elevada frecuencia de haplotipos únicos en cada sitio analizado. Investigaciones previas han demostrado valores similares en localidades correspondientes a la región de distribución norte y central del mejillón californiano.

Los resultados obtenidos de los índices de diversidad, el test de neutralidad y la red de haplotipos sugieren que la población del mejillón californiano en la región noroeste de México se encuentra en expansión súbita sin alcanzar la estabilidad aún, tras un evento de cuello de botella. A pesar de ello, se sugiere que la causa de su historia demográfica tiene indicios antes de la LGM, difiriendo a lo reportado para muchas especies del intermareal rocoso del Pacífico Noreste. Actualmente, *M. californianus* no presenta estructura poblacional en Baja California, suceso también reportado para su distribución en Estados Unidos y Canadá.

Ante lo presentado en este trabajo, se propone que *M. californianus* se trata de una metapoblación en los sitios de estudio. Esto daría explicación a la alta diversidad genética y nula estructura poblacional en Punta Lobos, de modo que las localidades norteñas funcionan como puntos de suministro.

Los resultados en este trabajo remarcan la importancia de continuar con estudios en las zonas de límite de distribución de *M. californianus*, ante su gran importancia ecológica y económica. Actualmente, las condiciones ambientales impactan con mayor intensidad cada año y la supervivencia de los organismos se encuentra perjudicada. Haría falta un estudio más detallado con herramientas y metodologías moleculares precisas que permitan una comprensión profunda en la estructura genética del mejillón californiano, incluyendo localidades de Estados Unidos y Canadá. Esto permitiría un análisis de genética poblacional de *M. californianus* en toda su distribución geográfica. Así mismo, se requiere un estudio enfocado en la región del límite sur para esclarecer los acontecimientos y factores que rigen su elevada dinámica poblacional en un ambiente subóptimo y con mayor impacto ante el cambio climático.

## Literatura citada

- Abadía-Cardoso, A. (2006). Variabilidad genética del elefante marino del norte *Mirounga angustirostris*, en Isla Guadalupe, Islas San Benito e Isla de Cedros, México [Tesis de Doctorado]. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Ensenada, México.
- Addison, J. A., Ort, B. S., Mesa, K. A., & Pogson, G. H. (2008). Range-wide genetic homogeneity in the California sea mussel (*Mytilus californianus*): a comparison of allozymes, nuclear DNA markers, and mitochondrial DNA sequences. *Molecular Ecology*, 17, 4222–4232. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.2008.03905.x>
- Astorga, M. P., Cardenas, L., Perez, M., Toro, J. E., Martinez, V., Farias, A., & Uriarte, I. (2020). Complex spatial genetic connectivity of mussels *Mytilus chilensis* along the southeastern Pacific coast and its importance for resource management. *Journal of Shellfish Research*, 39(1), 77–87. <https://doi.org/10.2983/035.039.0108M>
- Avise, J. C., Arnold, J. R., Ball, R. C., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E., Reeb, C. A., & Saunders, N. C. (1987). Intraspecific Phylogeography: The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 489–522. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.18.110187.002421>

- Avise, J. C. (1991). Ten unorthodox perspectives on evolution prompted by comparative population genetic findings on mitochondrial DNA. *Annual Review of Genetics*, 25(1), 45–69. <https://doi.org/10.1146/annurev.ge.25.120191.000401>
- Avise, J. C. (1992). Molecular Population Structure and the Biogeographic History of a Regional Fauna: A Case History with Lessons for Conservation Biology. *Oikos*, 63(1), 62. <https://doi.org/10.2307/3545516>
- Avise, J. C. (2000). *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard University Press. <https://doi.org/10.2307/j.ctv1nznfj7>
- Bandelt, H., Forster, P., & Röhl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1), 37–48.
- Bartlett, B. R. (1972). *Reproductive ecology of the California sea mussel, Mytilus californianus Conrad* [Tesis de Maestría]. University of the Pacific Theses and Dissertations.
- Bayne, B. L. (1976). *Marine Mussels: Their Ecology and Physiology* (1st ed.). Cambridge University Press.
- Bayne, B. L., Bayne, C. J., Carefoot, T. C., & Thompson, R. J. (1976). The Physiological Ecology of *Mytilus californianus* Conrad: 2. Adaptations to Low Oxygen Tension and Air Exposure. *Oecologia*, 22(3), 229–250 pp.
- Becker, B. J., Levin, L. A., Fodrie, F. J., & McMillan, P. A. (2007). Complex larval connectivity patterns among marine invertebrate populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(9), 3267–3272. <https://doi.org/10.1073/pnas.0611651104>
- Blanchette, C., & Gaines, S. (2007). Distribution, abundance, size and recruitment of the mussel, *Mytilus californianus*, across a major oceanographic and biogeographic boundary at Point Conception, California, USA. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 340(2), 268–279 pp. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2006.09.014>
- Bohonak, A. J. (1999). Dispersal, gene flow, and population structure. *The Quarterly Review of Biology*, 74(1), 21–45. <https://doi.org/10.1086/392950>
- Botsford, L. W. (2001). Physical influences on recruitment to California Current invertebrate populations on multiple scales. *ICES Journal of Marine Science*, 58(5), 1081–1091. <https://doi.org/10.1006/jmsc.2001.1085>
- Breton, S., Beaupré, H. D., Stewart, D. E., Hoeh, W. R., & Blier, P. (2007). The unusual system of doubly uniparental inheritance of mtDNA: isn't one enough? *Trends in Genetics*, 23(9), 465–474. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2007.05.011>
- Brown, W.M. (1985) The mitochondrial genome of animals. In: MacIntyre, R.J. Ed., *Molecular Evolutionary Genetics*, Plenum, New York, 95-130.
- Burton, R. (1983). Protein polymorphisms and genetic differentiation of marine invertebrate populations. *Mar. Biol. Lett.* 4: 193-206. *Marine Biology Letters*, 4, 193–206.
- Carson, H. S., Cook, G. S., López-Duarte, P. C., & Levin, L. A. (2011). Evaluating the importance of demographic connectivity in a marine metapopulation. *Ecology*, 92(10), 1972–1984. <https://doi.org/10.1890/11-0488.1>
- Coe, W. R., & Fox, D. L. (1942). Biology of the California sea-mussel (*Mytilus Californianus*). I. Influence of temperature, food supply, sex and age on the rate of growth. *The Journal of Experimental Zoology*, 90(1), 1–30 pp. <https://doi.org/10.1002/jez.1400900102>
- Conner, J. K., & Hartl, D. L. (2004). *A Primer of Ecological Genetics* (1st ed.). Sinauer Associates, 304 pp.
- Christian, J.R., & Ono, T. (2018). Ocean Acidification and Deoxygenation in the North Pacific Ocean. PICES Special Publication. 6. 108 pp.

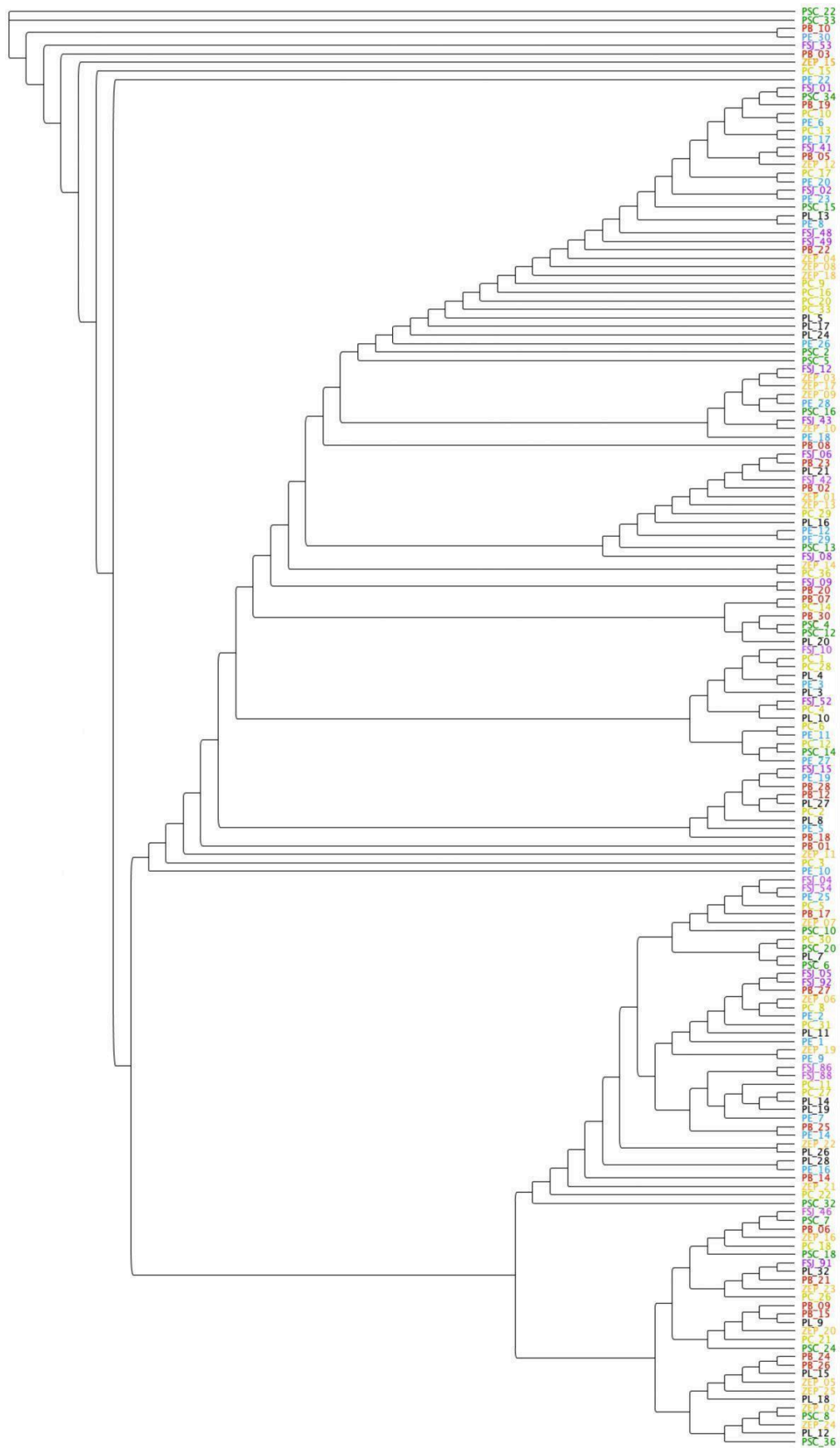
- Doucet-Beaupré, H., Breton, S., Chapman, E. G., Blier, P., Bogan, A. E., Stewart, D. E., & Hoeh, W. R. (2010). Mitochondrial phylogenomics of the Bivalvia (Mollusca): searching for the origin and mitogenomic correlates of doubly uniparental inheritance of mtDNA. *BMC Evolutionary Biology*, *10*(50). <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-50>
- Durazo, R. (2015). Seasonality of the transitional region of the California Current System off Baja California. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, *120*(2), 1173–1196. <https://doi.org/10.1002/2014JC010405>
- Engel, J. D. (2004). Population genetic structure of the California sea mussel, *Mytilus californianus*: Influence of the Pleistocene, biogeography, and microevolutionary processes [Tesis Doctorado]. Universidad de California.
- Etter, R. J., & Bower, A. S. (2015). Dispersal and population connectivity in the deep North Atlantic estimated from physical transport processes. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, *104*, 159–172. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2015.06.009>
- Excoffier, L. and H.E. L. Lischer (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. *10*: 564-567.
- Excoffier, L., Smouse, P., & Quattro, J. (1992). Analysis of Molecular Variance Inferred From Metric Distances Among DNA Haplotypes: Application to Human Mitochondrial DNA Restriction Data. *Genetics*, *131*, 479–491. <https://doi.org/10.1093/genetics/131.2.479>
- Filgueira, R., Brown, M. E., Comeau, L. A., & Grant, J. E. (2015). Predicting the timing of the pediveliger stage of *Mytilus edulis* based on ocean temperature. *Journal of Molluscan Studies*. <https://doi.org/10.1093/mollus/eyu093>
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, *3*(5), 294–299.
- Geller, J. C., Meyer, C., Parker, M. A., & Hawk, H. (2013). Redesign of PCR primers for mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I for marine invertebrates and application in all-taxa biotic surveys. *Molecular Ecology Resources*, *13*(4), 851–861. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12138>
- Gilg, M. R., Johnson, E. G., Gobin, J., Matthew Bright, B., & Ortolaza, A. I. (2013). Population genetics of introduced and native populations of the green mussel, *Perna viridis*: Determining patterns of introduction. *Biological Invasions*, *15*(2), 459–472. <https://doi.org/10.1007/s10530-012-0301-2>
- Harley, C. D. G., Pankey, M. S., Wares, J. P., Grosberg, R. K., & Wonham, M. J. (2006). Color Polymorphism and Genetic Structure in the Sea Star *Pisaster ochraceus*. *The Biological Bulletin*, *211*(3), 248–262. <https://doi.org/10.2307/4134547>
- Harrison, R. J. (1989). Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. *Trends in Ecology and Evolution*, *4*(1), 6–11. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(89\)90006-2](https://doi.org/10.1016/0169-5347(89)90006-2)
- Hartl, D. L., & Clark, A. G. (2007). *Principles of Population Genetics* (4th ed.). Sinauer Associates Inc. 652.
- Haupt, A. J., Micheli, F., & Palumbi, S. R. (2013). Dispersal at a Snail's Pace: Historical Processes Affect Contemporary Genetic Structure in the Exploited Wavy Top Snail (*Megastraea undosa*). *Journal of Heredity*, *104*(3), 327–340. <https://doi.org/10.1093/jhered/est002>

- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270(1512), 313–321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Hedgecock, D., & Hay, B. (1994). *TEMPORAL AND SPATIAL GENETIC STRUCTURE OF MARINE ANIMAL POPULATIONS IN THE CALIFORNIA CURRENT*. 35.
- Hedrick, P. W. (1999). Perspective: Highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. *Evolution*, 53(2), 313–318. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1999.tb03767.x>
- Hewitt, G. M. (2004). Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 359(1442), 183–195. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1388>
- Instituto Nacional de la Pesca. (2006). *Sustentabilidad y Pesca Responsable en México* (C. O. Cadena, Ed.). INP, SAGARPA 560 pp.
- Integrated Taxonomic Information System (ITIS) (2023) retrieved from, <http://www.itis.gov/>
- Levinton, J. S., & Suchanek, T. H. (1978). Geographic Variation, Niche Breadth and Genetic Differentiation at Different Geographic Scales in the Mussels *Mytilus californianus* and *M. edulis*. *Marine Biology*, 49, 363–375.
- Li, J., Ye, Y., Wu, C., Qi, P., Guo, B., & Chen, Y. (2013). Genetic variation of *Mytilus coruscus* Gould (Bivalvia: Mytilidae) populations in the East China Sea inferred from mtDNA COI gene Sequence. *Biochemical Systematics and Ecology*, 50, 30–38. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2013.03.033>
- Li, S., Li, Q., Yu, H., Kong, L., & Liu, S. (2015). Genetic variation and population structure of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in the northwestern Pacific inferred from mitochondrial COI sequences. *Fisheries Science*, 81(6), 1071–1082. <https://doi.org/10.1007/s12562-015-0928-x>
- Lutz, R. A., & Kennish, M. J. (1992). Ecology and morphology of larval and early postlarval mussels. In E. M. Gosling (Eds.), *The Mussel Mytilus: Ecology, Physiology, Genetics and Culture* (1st ed., Vol. 105, pp. 53–85). Elsevier Science Publishers.
- Marko, P. B., Hoffman, J. M., Emme, S. A., McGovern, T. M., Keever, C. C., & Nicole Cox, L. (2010). The ‘Expansion–Contraction’ model of Pleistocene biogeography: Rocky shores suffer a sea change? *Molecular Ecology*, 19(1), 146–169. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04417.x>
- Masanja, F., Yang, K., Xu, Y., He, G., Liu, X., Xu, X., Xiaoyan, J., Xin, L., Mkuye, R., Deng, Y., & Zhao, L. (2023). Impacts of marine heat extremes on bivalves. *Frontiers in Marine Science*, 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmars.2023.1159261>
- Mathiesen, S., Thyrring, J., Hemmer-Hansen, J., Berge, J., Sukhotin, A. A., Pw, L., Bekaert, M., Sejr, M. K., & Nielsen, E. E. (2017). Genetic diversity and connectivity within *Mytilus* spp. in the subarctic and Arctic. *Evolutionary Applications*, 10(1), 39–55. <https://doi.org/10.1111/eva.12415>
- Matthews, D. K., & Emery, W. J. (2009). Velocity observations of the California Current derived from satellite imagery. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 114(C8). <https://doi.org/10.1029/2008JC005029>
- Moritz, C., Dowling, T. E., & Brown, W. J. (1987). Evolution of Animal Mitochondrial DNA: Relevance for Population Biology and Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18(1), 269–292. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.18.110187.001413>
- Moritz, C., & Cicero, C. (2004). DNA Barcoding: Promise and Pitfalls. *PLOS Biology*, 2(10), e354. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020354>

- Nei, M., & Li, W. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76(10), 5269–5273. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.10.5269>
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics* (2nd ed.). Columbia University Press. 514.
- Ni, G., Li, Q., Kong, L., & Yu, H. (2014). Comparative phylogeography in marginal seas of the northwestern Pacific. *Molecular Ecology*, 23(3), 534–548. <https://doi.org/10.1111/mec.12620>
- Nelson, K., & Hedgecock, D. (1980). Enzyme Polymorphism and Adaptive Strategy in the Decapod Crustacea. *The American Naturalist*, 116(2), 238–280. <http://www.jstor.org/stable/2460675>
- Palumbi, S. R., & Wilson, A. C. (1990). MITOCHONDRIAL DNA DIVERSITY IN THE SEA URCHINS *STRONGYLOCENTROTUS PURPURATUS* AND *S. DROEBACHIENSIS*. *Evolution*, 44(2), 403–415. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1990.tb05208.x>
- Passamonti, M., & Ghiselli, F. (2009). Doubly Uniparental Inheritance: Two Mitochondrial Genomes, One Precious Model for Organelle DNA Inheritance and Evolution. *DNA And Cell Biology*, 28(2), 79–89. <https://doi.org/10.1089/dna.2008.0807>
- Peña-Mejía, C. E. (2011). Estructura de las comunidades del intermareal rocoso asociadas al mejillón *Mytilus californianus* en la costa oeste de Baja California [Maestría]. UABC-IIO.
- PNUD-INECC. (2017). *Impactos del cambio climático en función de las características geomorfológicas, oceánicas y atmosféricas de las islas de México y del mar en el que se encuentran*. Informe Final. Responsable técnico: Alfonso Aguirre Muñoz. Seguimiento técnico por INECC: Karina Santos y José Machorro. Elaborado en el marco del proyecto #86487 “Plataforma de Colaboración sobre Cambio Climático y Crecimiento Verde entre Canadá y México”, Coordinador: Alejandro Monterroso Rivas. *Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático y el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo*. Ciudad de México. 29p.
- R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rodrigues, M. P., Morelli, K. A., & Jansen, A. M. (2017). Cytochrome c oxidase subunit 1 gene as a DNA barcode for discriminating *Trypanosoma cruzi* DTUs and closely related species. *Parasites & Vectors*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2457-1>
- Sagarin, R. D., & Gaines, S. D. (2002). Geographical abundance distributions of coastal invertebrates: using one-dimensional ranges to test biogeographic hypotheses. *Journal of Biogeography*, 29(8), 985–997 pp <https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.2002.00705.x>
- Sale, P. F., Hanski, I., & Kritzer, J. P. (2006). The Merging of Metapopulation Theory and Marine Ecology: Establishing the Historical Context. En *Marine Metapopulations* (pp. 3–28). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-012088781-1/50004-2>
- Sarver, S. K., & Foltz, D. W. (1993). Genetic population structure of a species' complex of blue mussels (*Mytilus* spp.). *Marine Biology*, 117, 105–112. <https://doi.org/10.1007/bf00346431>
- Schmidt, D. (1999). A Review of California Mussel (*Mytilus californianus*): Fisheries, Biology and Fisheries Programs. Canadian Stock Assessment Secretariat Research Document; 99/187. Ottawa: Fisheries and Oceans Canada. 32 pp.
- Smith, K. E., Burrows, M. T., Hobday, A. J., Sen Gupta, A., Moore, P. J., Thomsen, M., Wernberg, T., & Smale, D. A. (2021). Socioeconomic impacts of marine heatwaves:

- Global issues and opportunities. *Science*, 374(6566), eabj3593. <https://doi.org/10.1126/science.abj3593>
- Seed, R., & Suchanek, T. H. (1992). Population and community ecology of *Mytilus*. In E. M. Gosling (Eds.), *The Mussel Mytilus: Ecology, Physiology, Genetics and Culture* (1st ed., Vol. 105, 87–169 pp). Elsevier Science Publishers.
- Simon, C. (1991). Molecular Systematics at the Species Boundary: Exploiting Conserved and Variable Regions of the Mitochondrial Genome of Animals via Direct Sequencing from Amplified DNA. In *Springer eBooks* (pp. 33–71). Springer Nature. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-83962-7\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-642-83962-7_4)
- Souza, H. V., Marchesin, S. R. C., & Itoyama, M. M. (2016). Analysis of the mitochondrial COI gene and its informative potential for evolutionary inferences in the families Coreidae and Pentatomidae (Heteroptera). *Genetics and Molecular Research*, 15(1). <https://doi.org/10.4238/gmr.15017428>
- Strub, P. T., & James, C. (2000). Altimeter-derived variability of surface velocities in the California Current System: 2. Seasonal circulation and eddy statistics. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 47(5–6), 831–870. [https://doi.org/10.1016/S0967-0645\(99\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0967-0645(99)00129-0)
- Strüder-Kypke, M. C., & Lynn, D. H. (2010). Comparative analysis of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (COI) gene in ciliates (Alveolata, Ciliophora) and evaluation of its suitability as a biodiversity marker. *Systematics and Biodiversity*, 8(1), 131–148. <https://doi.org/10.1080/14772000903507744>
- Suchanek, T. H. (1981). The Role of Disturbance in the Evolution of Life History Strategies in the Intertidal Mussels *Mytilus edulis* and *Mytilus californianus*. *Oecologia*, 50, 143–152 pp.
- Suchanek, T. H. (1992). Extreme biodiversity in the marine environment: Mussel bed communities of *Mytilus californianus*. *The Northwest Environmental Journal*, 8(1), 151–152 pp.
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3), 585–595. <https://doi.org/10.1093/genetics/123.3.585>
- Téllez-Duarte, A. (1987). Los concheros de Baja California y sus perspectivas de investigación. *Estudios Fronterizos*, 5(14), 111–124.
- Wang, W. X., & Widdows, J. (1991). Physiological responses of mussel larvae *Mytilus edulis* to environmental hypoxia and anoxia. *Marine Ecology Progress Series*, 70, 223–236.
- White, K. (1937). Memoirs: No. XXXI. *Mytilus*. The University Press of Liverpool, Liverpool.
- Wilson, A. C., Cann, R. L., Carr, George, M., Gyllensten, U. B., Helm-Bychowski, K. M., Higuchi, R. G., Palumbi, Prager, E. M., Sage, R. D., & Stoneking, M. (1985). Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of the Linnean Society*, 26, 375–400.
- Yi, C. H., Yoon, M., Kim, J. M., Kim, I.-H., Cho, I.-Y., & An, H. S. (2021). Genetic analysis and population genetic structure of hard-shelled mussel, *Mytilus coruscus* Gould 1861 (Mytiloidea: Mytilidae) from the coasts of South Korea based on mitochondrial cytochrome oxidase (COI) gene sequences. *Genes & Genomics*, 43(6), 577–585. <https://doi.org/10.1007/s13258-021-01073-4>
- Zhang, D., & Hewitt, G. M. (1996). Nuclear integrations: challenges for mitochondrial DNA markers. *Trends in Ecology and Evolution*, 11(6), 247–251. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(96\)10031-8](https://doi.org/10.1016/0169-5347(96)10031-8)

# Anexos



Anexo I. Árbol filogenético (Neighbor-Joining Tree) de *Mytilus californianus* en Baja California, México. Las localidades se resaltan en: Playa Encantada (azul), El Zeppelin (naranja), Punta Clara (amarillo), Punta Baja (rojo), Faro San José (morado), Punta Lobos (negro), y Punta San Carlos (verde).