

La investigación reportada en esta tesis es parte de los programas de investigación del CICESE (Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California).

La investigación fue financiada por el CONAHCYT (Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías).

Todo el material contenido en esta tesis está 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 o titular de los Derechos Autor.

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, Baja California**



**Maestría en Ciencias
Ciencias de la Vida**

**Plasticidad fenotípica de dos poblaciones de la almeja
mano de león (*Nodipecten subnodosus*) ante
variaciones térmicas *in situ*: una aproximación
transcriptómica**

Tesis
para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
Maestro en Ciencias

Presenta:

Grecia Dayana Sánchez Rosales

Ensenada, Baja California, México
2024

Tesis defendida por
Grecia Dayana Sánchez Rosales

y aprobada por el siguiente Comité

Dra. Clara Elizabeth Galindo Sánchez
Co-directora de tesis

Dra. Laura Liliana López Galindo
Co-directora de tesis

Dra. Edna Sánchez Castrejón

Dra. Fabiola Lafarga De la Cruz

Dra. María Teresa Sicard González



Dr. Edgardo Alfredo Sepúlveda Sánchez Hidalgo
Coordinador del Posgrado en Ciencias de la Vida

Dra. Ana Denise Re Araujo
Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Grecia Dayana Sánchez Rosales** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Ciencias de la Vida

**Plasticidad fenotípica de dos poblaciones de la almeja mano de león
(*Nodipecten subnodosus*) ante variaciones térmicas *in situ*: una aproximación
transcriptómica**

Resumen aprobado por:

Dra. Clara Elizabeth Galindo Sánchez
Co-directora de tesis

Dra. Laura Liliana López Galindo
Co-directora de tesis

Es esencial comprender cómo la resiliencia y adecuación de los organismos son afectados por los cambios de temperatura, para predecir las consecuencias ecológicas del calentamiento global. En este estudio se seleccionaron dos poblaciones de la especie *Nodipecten subnodosus*, una población ubicada en el Pacífico y otra en el Golfo de California. La almeja mano de león, como se conoce comúnmente esta especie, es considerada uno de los moluscos bivalvos de mayor importancia en el sector pesquero y acuícola, a lo largo de la costa del Pacífico Mexicano. Estudios previos han demostrado que existen diferencias genéticas y fisiológicas entre la población ubicada en el Pacífico respecto a la del Golfo de California, asociadas a las diferentes condiciones oceanográficas de las zonas. No obstante, aún se desconocen las estrategias específicas que han contribuido al éxito de cada población en su entorno local y cómo responderán ante el aumento de la temperatura de los océanos. Por ende, el objetivo de este estudio fue evaluar la plasticidad fenotípica de ambas poblaciones, en los diferentes ambientes. Para ello, se generaron dos progenies a partir de dos poblaciones silvestres; una ubicada en el Pacífico (Laguna Ojo de Liebre) y otra en el Golfo de California (Bahía de los Ángeles). Mediante estrategias de trasplante recíproco y *common garden*, se evaluó el perfil transcriptómico de almejas juveniles (F1) provenientes de la progenie obtenida de reproductores de LOL y BLA crecida en LOL (Pacífico). Asimismo, también se evaluó el perfil transcriptómico de juveniles silvestres (F0) provenientes de BLA y LOL. El análisis transcriptómico de las branquias revelaron patrones de expresión génica distintivos entre las poblaciones, destacando procesos biológicos clave relacionados con metabolismo energético y respuesta inmune. Se observaron estrategias únicas en ambas poblaciones, sugiriendo adaptaciones específicas a sus respectivos ambientes. La población de Bahía de los Ángeles exhibió una mayor resiliencia respecto a la población de LOL, indicando una plasticidad fenotípica potencialmente más robusta y adaptativa frente al aumento de la temperatura. Este estudio proporciona una base molecular para comprender las complejas interacciones genéticas y metabólicas subyacentes a la capacidad de *N. subnodosus* para hacer frente al cambio climático.

Palabras clave: Ectotermos; *Nodipecten subnodosus*, trasplante recíproco; *common garden*, adaptación; temperatura; plasticidad fenotípica; resiliencia; transcriptómica; procesos biológicos.

Abstract of the thesis presented by Grecia Dayana Sánchez Rosales as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in life science

Phenotypic plasticity of two lion's-paw scallops (*Nodipecten subnodosus*) populations to *in situ* thermal variations: a transcriptomic approach

Abstract approved by:

PhD. Clara Elizabeth Galindo Sánchez
Thesis Director

PhD. Laura Liliana López Galindo
Thesis Director

Understanding how organisms' resilience and adaptability are affected by temperature changes is crucial for predicting the ecological impact of global warming. This study focused on two populations of *Nodipecten subnodosus*, commonly known as the lion's paw scallop, found in the Pacific and Gulf of California. These bivalve mollusks play a significant role in the fisheries and aquaculture industry along the Mexican Pacific coast. Previous research has shown genetic and physiological differences between the Pacific and Gulf of California populations due to varying oceanographic conditions. However, specific strategies contributing to each population's success in their local environment and their responses to rising ocean temperatures remain unclear. The aim of this study was to assess the phenotypic plasticity of both populations in different environments. Two progenies were generated from wild populations in Laguna Ojo de Liebre (Pacific) and Bahía de los Ángeles (Gulf of California). Using reciprocal transplant and common garden strategies, we evaluated the transcriptomic profiles of juvenile clams (F1) from progenies raised in the Pacific and wild juveniles (F0) from both populations. Transcriptomic analyses of the gills revealed distinct gene expression patterns, highlighting key processes related to energy metabolism and immune response. Both populations showed unique adaptation strategies to their environments, with the Bahía de Los Ángeles population exhibiting greater resilience compared to the Pacific population. This study establishes a molecular foundation for comprehending the genetic and metabolic interactions underlying *N. subnodosus* capacity to navigate climate change.

Keywords: Ectotherms, *Nodipecten subnodosus*, reciprocal transplant, common garden, adaptation, temperature, phenotypic plasticity, resilience, transcriptomic, biological process.

Dedicatoria

A mis padres por ser mi apoyo incondicional y siempre creer en mí

A mis abuelas por ser mi paz en los momentos de mayor estrés

A mis hermanas por estar siempre, por su confianza y sus consejos.

A mi hermana Saraby, por nunca dudar y ser el principal impulso en mi superación académica y personal.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca de manutención otorgada para realizar mis estudios de posgrado, CVU: 1136884. Parte de este trabajo fue financiado por el Proyecto Ciencia de Frontera (78911)-CONAHCYT y por el proyecto Interno CICESE No. 682136.

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (CICESE), por permitirme realizar mis estudios de posgrado, la facilidad del uso de sus instalaciones y el apoyo económico para realizar mi estancia en CIBNOR unidad La Paz, B.C.S. De igual manera, al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. (CIBNOR), donde se generaron los organismos experimentales (F1) y disecciones para la facilitación de las muestras para llevar a cabo este trabajo.

A mis directoras de tesis Dra. Clara Elizabeth Galindo Sánchez y Dra. Laura Liliana López Galindo, por su apoyo, por creer en mí, por sus consejos y guía durante este proyecto. Gracias a Dra. Clara por permitirme ser parte de tu grupo de trabajo y el apoyo académico.

A mi comité de tesis Dra. Fabiola Lafarga De la Cruz, Dra. María Teresa Sicard González y Dra. Edna Sánchez Castrejón por su tiempo, apoyo y enseñanzas que me permitieron concluir mis estudios de posgrado. Gracias Dra. Fabi, por su apoyo en materiales, equipo y sus consejos acertados. A la Dra. Tere, por el recibimiento tan cálido en su grupo de trabajo al realizar la estancia, por sus consejos y apoyo. A la técnica del laboratorio de genómica funcional Dra. Edna, por todo el apoyo en laboratorio, paciencia y disponibilidad en cada duda, pero sobre todo por su empatía y compañía en los momentos más complicados.

Al equipo de trabajo de la Dra. Teresa Sicard en CIBNOR, los técnicos; Dra. Diana Patricia Carreño León, Dr. Armando Monge Quevedo, M. en C. Gilberto González Soriano, M. en C. Rosa Isela Vázquez Sánchez y Dra. Rosa Linda Salgado García. Asimismo, al Dr. Alan Ulaje Fernández, al M. en C. Gilberto González Turado y a Biol. Natalia Joaquín gracias por su recibimiento, apoyo, consejos y conocimientos. Agradecimiento especial a la Dra. Claudia Ventura, por su disponibilidad y guía en mis primeros días de laboratorio, así como sus consejos y apoyo. A Adriana Mejía, por su apoyo y por facilitarme siempre los trámites con su gran disposición en todo momento.

Gracias a todos los integrantes del Laboratorio de Genómica Funcional (LabGen) por sus consejos y enseñanzas en las presentaciones de labmeeting y por los momentos de diversión. Muchas gracias a Dr. Miguel Tripp, Dr. Ricardo Gómez y Dr. Pavel Galindo por el apoyo en los análisis bioinformáticos y en la preparación de muestras en CIBNOR. A mis hermanas académicas Paulina Mejía y Giselle Moreno por su tiempo, compañía consejos, apoyo y su amistad. Gracias a mi red de apoyo, Evelyn, Héctor, Román, Sadot, Alexis y Manuel. Al grupo de Pelícanos Viajeros por su cálido recibimiento y apoyo incondicional en las caminatas.

A mi familia por siempre creer en mí y apoyarme en cada etapa de mi vida incondicionalmente, a mi gatito Duque por ser mi compañía de desvelos. A mi mejor amiga Laura por siempre creer en mí y por los consejos. A mi amiga Diana por ser parte de mi crecimiento profesional, por su gran apoyo y compañía. A mis amigos que llegaron en el momento justo, por acompañarme en toda esta experiencia a David, Erik, Heriberto, Carmen, Noelia, Juan Pablo y Jhordan. En especial a mis amigas Leslye, Carolina y Anahí les agradezco sus consejos, pláticas, cafés, tiempo y apoyo incondicional.

Tabla de contenido

	Página
Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	viii
Lista de tablas	x
Capítulo 1. Introducción	1
1.1 Antecedentes	3
1.1.1 Ectotermos y su plasticidad fenotípica a los cambios de temperatura	3
1.1.2 Experimentos de interacciones del genotipo por ambiente en moluscos.....	5
1.1.3 Generalidades de <i>Nodipecten subnodosus</i>	6
1.1.4 <i>Nodipecten subnodosus</i> bajo estrés térmico	8
1.1.5 Diferencias entre las poblaciones de <i>N. subnodosus</i> de Laguna Ojo de Liebre y Bahía de los Ángeles	8
1.1.6 Estudios genómicos en <i>Nodipecten subnodosus</i>	10
1.1.1 1.1.7 Análisis transcriptómicos en moluscos ante el estrés por temperatura.....	11
1.2 Justificación	13
1.3 Hipótesis.....	14
1.4 Objetivos	14
1.4.1 Objetivo general	14
1.4.2 Objetivos específicos.....	15
Capítulo 2. Metodología	16
2.1 Sitios de cultivo y common garden	16

2.1.2	Muestreo de almejas silvestres.....	17
2.1.3	Preparación de muestras	17
2.2	Extracción de ARN, preparación de librerías y secuenciación masiva RNA-Seq	18
2.3	Análisis bioinformático.....	20
2.3.1	Análisis de calidad de secuencias, ensamble <i>de novo</i> y análisis de integridad del ensamble.....	20
2.3.2	Estimación de abundancia y análisis de genes expresados diferencialmente.....	21
2.3.3	Anotación funcional	22
2.3.4	Enriquecimiento funcional de términos ontológicos.....	22
Capítulo 3.	Resultados.....	23
3.1	Perfiles transcriptómicos de dos poblaciones de <i>Nodipecten subnodosus</i>	23
3.1.1	Preparación de pools, construcción de librerías y secuenciación.....	23
3.1.2	Preprocesamiento, construcción del transcriptoma <i>de novo</i> y calidad.....	23
3.1.3	Genes expresados diferencialmente.....	25
3.1.4	Anotación funcional del transcriptoma.....	39
3.1.5	Análisis de enriquecimiento GO de genes expresados diferencialmente	40
Capítulo 4.	Discusión	46
Capítulo 5.	Conclusiones.....	58
	Literatura citada	59
	Anexos	70

Lista de figuras

Figura	Página
Figura 1. Esquema de reacción de plasticidad fenotípica. El eje “x” indica dos ambientes distintos, el eje “y” los fenotipos óptimos para cada ambiente en los que se encuentra la población (Modificado de Lalejini et al., 2021).....	4
Figura 2. Esquema de experimento de <i>common garden</i> . La translocación hace referencia a la extracción de organismos (reproductores) de una población a otro sitio, en este caso para la fertilización y generación de la F1 que será expuesta en un sitio común en campo.	6
Figura 3. Distribución geográfica de <i>N. subnodosus</i> en las costas del Océano Pacífico.	7
Figura 4. Ciclo estacional de temperatura de Bahía de Los Ángeles (BLA) y Laguna Ojo de Liebre (LOL). Se indica la temperatura de los meses más fríos (azul) y más cálidos (rojo) durante el año (Joachim-Mejía, 2022).	9
Figura 5. Localización de los sitios de coleta y cultivo de juveniles de la almeja mano de león <i>Nodipecten subnodosus</i> . La laguna Ojo de Liebre ubicado en Guerrero Negro, fue seleccionado como el sitio común para el cultivo de la progenie F1 en este estudio.	16
Figura 6. A) Diseño experimental de la generación F1 y muestreos in situ. B) Muestreos in situ de poblaciones silvestres (F0). BLA = Bahía de Los Ángeles y LOL = Laguna Ojo de Liebre.	17
Figura 7. Línea del tiempo de las etapas de muestreo.	18
Figura 8. Anatomía interna de un ejemplar juvenil de almeja mano de león <i>N. subnodosus</i> , en flechas se indica la ubicación de las lamelas branquiales.	18
Figura 9. Electroforesis en gel de agarosa al 1% de muestras de ARN total extraído de branquias provenientes de ambas poblaciones y generaciones de <i>N. subnodosus</i> . BLA = Bahía de Los Angeles y LOL = Laguna Ojo de Liebre.	19
Figura 10. Flujo de trabajo para construcción de librerías y análisis bioinformático para muestras secuenciadas mediante técnica de RNA-seq.....	21
Figura 11. Electroforesis por Bioanalyzer 2100 (Agilent) de las 12 librerías indexadas para la verificación de la pureza de los fragmentos, así como su tamaño promedio.	23
Figura 12. Genes expresados diferencialmente en los diferentes contrastes de cada muestra. A) comparación de silvestres (F0) vs cultivados (F1), B) diferencia entre las localidades F0, C) comparación entre generación de BLA y D) comparación entre generación LOL.	26
Figura 13. Análisis de componentes principales de los perfiles de expresión de la comparación entre generaciones.	27
Figura 14. Genes expresados diferencialmente y con anotación de cada contraste.....	27

- Figura 15. Mapa de calor del análisis de los patrones de expresión de genes en branquias de *N. subnodosus*. Contraste por generación F0 vs F1 de almejas provenientes de Bahía de Los Ángeles (BLA) y Laguna Ojo de Liebre (LOL). 28
- Figura 16. Mapas de calor del análisis de los patrones de expresión de genes en branquias de *N. subnodosus*. A) contraste por sitio de almejas silvestres (F0), B) contraste por sitio de almejas cultivadas en sitio común (F1), C) comparación entre generación y sitio de BLA y D) comparación entre generación de LOL. 29
- Figura 17. Distribución taxonómica de los géneros con mayor homología en el transcriptoma de *N. subnodosus*, de acuerdo con la base de datos de Swissprot. 39
- Figura 18. Términos enriquecidos GO de procesos biológicos en genes sobre expresados de almejas silvestres (F0), LOL como control. El tamaño del círculo corresponde al número de genes involucrados en el proceso y el color que tan significativo fue al compararlo con el universo de genes DE. 41
- Figura 19. Términos enriquecidos GO de procesos biológicos en genes sub expresados de almejas silvestres (F0), LOL como control. El tamaño del círculo corresponde al número de genes involucrados en el proceso y el color que tan significativo fue al compararlo con el universo de genes DE. 41
- Figura 20. Términos enriquecidos GO de procesos biológicos en genes sobre expresados de almejas cultivadas (F1), LOL como muestra control. El tamaño del círculo corresponde al número de genes involucrados en el proceso y el color que tan significativo fue al compararlo con el universo de genes DE. 42
- Figura 21. Términos enriquecidos GO de procesos biológicos en genes sub expresados de almejas cultivadas (F1), LOL como muestra control. El tamaño del círculo corresponde al número de genes involucrados en el proceso y el color que tan significativo fue al compararlo con el universo de genes DE. 42
- Figura 22. Términos enriquecidos GO de procesos biológicos en genes sobre expresados del contraste entre generación y sitio BLA-F0 vs BLA-F1, los organismos F0 fungieron como control. El tamaño del círculo corresponde al número de genes involucrados en el proceso y el color que tan significativo fue al compararlo con el universo de genes DE. 43
- Figura 23. Términos enriquecidos GO de procesos biológicos en genes sub expresados del contraste entre generación y sitio BLA-F0 vs BLA-F1, los organismos F0 fungieron como control. El tamaño del círculo corresponde al número de genes involucrados en el proceso y el color que tan significativo fue al compararlo con el universo de genes DE. 43
- Figura 24. Términos enriquecidos GO de procesos biológicos en genes sobre expresados del contraste entre generaciones LOL-F0 vs LOL-F1, los organismos F0 fungieron como control. El tamaño del círculo corresponde al número de genes involucrados en el proceso y el color que tan significativo fue al compararlo con el universo de genes DE. 45
- Figura 25. Términos enriquecidos GO de procesos biológicos en genes sub expresados del contraste entre generaciones LOL-F0 vs LOL-F1, los organismos F0 fungieron como control. El tamaño del círculo corresponde al número de genes involucrados en el proceso y el color que tan significativo fue al compararlo con el universo de genes DE. 45

Lista de tablas

Tabla	Página
Tabla 1. Número total de muestras de branquias colectadas de cada población para la extracción de RNA.....	19
Tabla 2. Lecturas pareadas de RNA-seq antes y después de la limpieza con Trimmomatic.....	24
Tabla 3. Estadísticas de ensamble <i>de novo</i> y anotación del transcriptoma de <i>N. subnodosus</i>	24

Capítulo 1. Introducción

La temperatura de la superficie del mar es uno de los factores abióticos más importantes en los océanos (NOAA, 2009). Dependiendo de la latitud, la temperatura superficial del mar varía, presentando temperaturas cálidas próximas al ecuador y más frías en las regiones de los polos (EPA, 2001). Los cambios en la temperatura del mar determinan la distribución de los organismos y el funcionamiento de los ecosistemas marinos (Somero, 2010; Matoo et al., 2013). La regulación del metabolismo y la adecuación ("fitness") de los organismos está sujeta a diversos factores abióticos, entre los cuales destaca la temperatura. Este elemento ejerce una influencia crucial que, en última instancia, incide en la eficacia biológica de las especies, la estructura de la población y la funcionalidad de los ecosistemas marinos (Yee-Duarte, 2009; Seuront, et al., 2018). Una vez que se sobrepasan los límites de temperatura, se compromete la actividad y supervivencia de las especies marinas que habitan en un lugar, alterando su crecimiento, alimentación y reproducción (Pörtner, 2001; Pörtner y Knust, 2007).

Los fenómenos naturales como El Niño Oscilación de Sur (ENSO) y la Oscilación Decadal del Pacífico (PDO) son factores que contribuyen al incremento de la temperatura de forma periódica e irregular ocurriendo cada dos a siete años en el caso de ENSO y cada década para el PDO, desencadenando alteraciones en precipitaciones, temperaturas en el Océano Pacífico tropical oriental y dando como resultado una fase cálida, provocando una disminución en la productividad de los ecosistemas marinos (NOAA, 2009; NCAR, 2016). Basado en datos reconstruidos por la Agencia de Protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés) y los Centros Nacionales de Información Ambiental y Atmosférica (NOAA), desde 1880 hasta el año 2020 la temperatura de la superficie del mar ha incrementado en una tasa promedio de $\sim 0.095^{\circ}\text{C}$ por década. Desde el siglo XIX, hasta la época actual, se le atribuye a la antropización ser uno de los principales motores del cambio climático, debido al incremento de gases de efecto invernadero, que retienen la radiación térmica e incrementan la temperatura (IPCC, 2013).

Entre los ecosistemas marinos abiertos, la zona epipelágica es uno de los ambientes marinos con mayor índice de fluctuación térmica en tiempo y espacio (IPCC, 2021). Los organismos ectotermos que habitan en estos ambientes emplean diversos ajustes en el comportamiento y/o su fisiología para amortiguar las variaciones del ambiente (Yampolsky et al., 2014; Piasečná et al., 2015). Dichas estrategias se dan mediante la capacidad adaptativa, y el trasfondo genético de la especie (adaptación

local, polimorfismo y asimilación genético) (Somero, 2010). La plasticidad fenotípica es un tipo de respuesta que puede o no ser adaptativa, donde el organismo tiene la capacidad de emplear diversas estrategias para intentar optimizar el gasto energético en reacciones que le permitan reducir el riesgo ante las condiciones desfavorables (Pigliucci et al., 2006). La plasticidad de los ectotermos marinos depende de su distribución, ya que las especies ubicadas en rangos de latitud más amplios suelen tener una mayor termo-tolerancia ante las fluctuaciones de temperatura (Matoo et al., 2013; Ding et al., 2020).

Los pectínidos son uno de los grupos bivalvos con reconocimiento en el ámbito pesquero, tienen una amplia distribución latitudinal, así como gradientes relacionados con la profundidad del mar (Waller, 2007). Habitan en temperaturas con rangos extensos desde -1° hasta los 30°C y en ambientes con diferentes amplitudes de temperatura estacional, por lo que son un buen modelo de estudio de fisiología térmica, debido a su sensibilidad y adaptación (Le Pennec et al., 1998).

Uno de los moluscos bivalvos con mayor importancia comercial en el Noroeste de México es la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*). Su alto valor comercial se debe al músculo abductor, el cual alcanza los 108 gramos en peso húmedo y su principal consumidor es el continente asiático (Arellano-Martínez et al., 2011). Posee una distribución desde Laguna Manuela en Baja California hasta el Pacífico Sur en Paita, Perú (González-Ortiz et al., 2017). Es una especie hermafrodita funcional, es decir, se desarrollan ambos gametos simultáneamente en la gónada. La temperatura juega un papel importante en la fisiología de *N. subnodosus*, dado que, dependiendo de las condiciones térmicas y la disponibilidad de alimento, es el éxito del desarrollo y madurez gonádica de la especie (López, 2009; Salgado-García et al., 2020). Así mismo, la calidad del músculo abductor se ve influenciada por las temperaturas cálidas de verano en la zona del Pacífico, afectando sus propiedades fisicoquímicas y texturales, lo que conlleva a pérdidas notables en el mercado pesquero y acuícola (Beltrán-Lugo et al., 2006).

En México, la pesquería y cultivo de la almeja mano de león se realizan tanto en la zona del Pacífico como en el Golfo de California, siendo laguna Ojo de Liebre (ubicada en el Pacífico) el sitio con la población más grande de *N. subnodosus* (Massó-Rojas et al., 2014). Las poblaciones que habitan en las distintas zonas (Pacífico y Golfo de California) poseen una diferencia genética entre ellas (Petersen et al., 2010). Así mismo, se ha observado una variación en las estrategias fisiológicas para alcanzar su madurez gonádica, lo cual está relacionado con el régimen de temperaturas y la productividad primaria de ambos lados de la península (Arellano-Martínez et al., 2004; Martínez, 2005; Yee-Duarte, 2009).

Actualmente, los informes de calentamiento global han generado preocupación e interés en la capacidad de adaptación de las poblaciones, la plasticidad fenotípica y la respuesta fisiológica de las almejas (Sicard, 2006; Artigaud et al., 2015; Salgado-García et al., 2020). Se ha estudiado el efecto negativo a nivel fisiológico que tienen las altas temperaturas en *N. subnodosus*, afectando principalmente el crecimiento y su reproducción (Arellano-Martínez et al., 2004; Sicard et al., 2006; Saucedo et al., 2013). Sin embargo, una de las limitaciones principales son los escasos estudios realizados a nivel genómico, particularmente aquellos que permiten comprender los mecanismos de regulación de adaptación de la especie ante los cambios de temperatura (Nguyen et al., 2011; Artigaud et al., 2015). Los análisis de expresión génica son cada vez más empleados para determinar la divergencia adaptativa en respuesta a factores abióticos. Los análisis transcripcionales comparativos cuantifican con mayor precisión la facultad de la plasticidad en poblaciones localizadas en distintos hábitats (Dayan et al., 2015).

Por esta razón el propósito de este estudio es comparar la plasticidad fenotípica de dos poblaciones de *Nodipecten subnodosus* silvestres y la de su descendencia, a partir del análisis de los perfiles transcriptómicos que permitan dilucidar su respuesta al ambiente. Así mismo, este estudio puede sentar las bases para la creación de programas de mejoramiento genético al identificar fenotipos de diferentes poblaciones de *N. subnodosus* resistentes y susceptibles al aumento de temperatura.

1.1 Antecedentes

1.1.1 Ectotermos y su plasticidad fenotípica a los cambios de temperatura

Entre los principales factores que modulan los ambientes costeros marinos cercanos a la costa están las influencias antropogénicas, las cuales pueden ocasionar cambios en la temperatura, pH y disponibilidad de oxígeno (NOAA, 2009). La temperatura, es la principal variable que afecta la capacidad de los organismos a responder ante cambios ambientales (Yampolsky et al., 2004).

Diversos estudios han demostrado que la tolerancia térmica a corto plazo en los ectotermos marinos es dependiente de su distribución, ya que, en organismos localizados en la zona intermareal suelen tener mayor tolerancia al aumento de temperatura de forma gradual, a diferencia de los ubicados en los límites inferiores de la costa (Ding et al., 2020). Sin embargo, las modificaciones de temperatura a

largo plazo pueden comprometer la supervivencia de los ectotermos marinos, con un mínimo incremento en la temperatura (Brun et al., 2008; Matoo et al., 2013). También se ha demostrado que no todas las especies a pesar de encontrarse en una misma zona tendrán una tolerancia similar en respuesta al estrés térmico, tal es el caso de *Ophionotus victoriae* una de las especies marinas más susceptibles a cambios mínimos de temperatura (Nguyen et al., 2011).

La plasticidad fenotípica y la adaptación local son dos formas de respuesta que pueden ser evolutivas dadas a partir de la selección por la tolerancia de temperaturas subóptimas (Yampolsky et al., 2014). La plasticidad fenotípica es la propiedad de un genotipo de modificar sus características físicas, bioquímicas y comportamiento en respuesta a cierta condición ambiental. Por el contrario, la adaptación local, se basa en poblaciones que poseen diferencias genéticas que han sido conferidas debido a una divergencia y procesos de selección natural de uno o más rasgos (genotipo) que le confieren el éxito de supervivencia y reproducción ante las modulaciones térmicas específicas para la zona en la que habitan (Pigliucci et al., 2006).

Entre los estudios realizados para entender la base implícita entre genotipo por medio ambiente, se ha demostrado que la plasticidad puede estar mediada por mecanismos epigenéticos, efectos transgeneracionales o la misma herencia epigenética. Tanto las modificaciones epigenéticas y la plasticidad producen cambios en la expresión génica o en el fenotipo sin presentar una alteración en la secuencia de ADN y ambas son inducidas por el ambiente (Schlichting y Wund, 2014; Hu y Barret R., 2017).

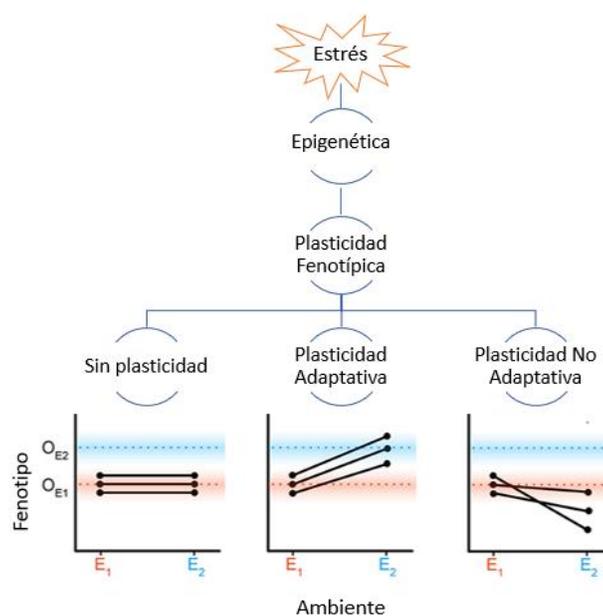


Figura 1. Esquema de reacción de plasticidad fenotípica. El eje "x" indica dos ambientes distintos, el eje "y" los fenotipos óptimos para cada ambiente en los que se encuentra la población (Modificado de Lalejini et al., 2021).

Una población puede dividirse en si presenta plasticidad o no, y si esta plasticidad resulta ser adaptativa al nuevo escenario ambiental. Entre las normas de reacción (cambio fenotípico o ausencia del mismo) hipotéticas para poblaciones en distintos ambientes se menciona que pueden existir tres escenarios (figura 1): en el primero las poblaciones no son plásticas y los fenotipos no se verán modificados ante el factor ambiental, cuando se tiene una población plástica adaptativa hace referencia a que los fenotipos son dinámicos y se ajustarán al nuevo óptimo y en el último escenario cuando el ambiente induce fenotipos que se alejan de los óptimos se define a la población plástica pero no adaptativa (Lalejini et al., 2021).

El potencial de adaptación de los bivalvos dependerá de la interacción entre la divergencia genética y la plasticidad fenotípica, la cual se verá mayormente favorecida en ambientes dinámicos (Nguyen et al., 2011). En un estudio realizado por Li et al. (2018), sobre plasticidad adaptativa en dos poblaciones de *Crassostrea gigas* (intermareal vs submareal) se observó una mayor plasticidad en ostiones intermareales en cuanto a la expresión de genes de respuesta a temperaturas altas y una mayor tasa de supervivencia. Sin embargo, se exhibió un menor crecimiento en comparación de las poblaciones submareales, lo cual confirma una diferencia en la plasticidad adaptativa de las poblaciones ubicadas en diferentes zonas de mareas, facilitando la adaptación en zonas más dinámicas.

1.1.2 Experimentos de interacciones del genotipo por ambiente en moluscos

Los distintos fenotipos de una población se encuentran determinados por el factor ambiental, genético y su interacción. Por ende, uno de los principales desafíos es determinar si el potencial adaptativo de una población es atribuido a la diferencia genética o por una influencia en el ambiente (Miaud y Meril, 2001).

Los experimentos de common garden (jardín común) (Figura 2) son enfoques experimentales que prueban la adaptación local en diferentes rasgos de interés de una población como: historia de vida, relaciones alométricas y fenología. Así mismo puede ser aplicado para el estudio de interacciones del genotipo por ambiente (Villemereuil et al., 2015).

Este tipo de enfoques experimentales pueden dividirse en dos clases de experimentos: trasplantes recíprocos y *common garden*. Los trasplantes recíprocos son diseñados para probar la adaptación local mediante trasladar un grupo de individuos de dos poblaciones de ambientes distintos al ambiente de

la población contraria, mientras que en el experimento de *common garden* se extraen organismos de dos poblaciones distintas a un ambiente común, con condiciones idénticas con el fin de minimizar la variación ambiental para poder reconocer el componente genómico de los cambios fenotípicos (Sanford y W. Kelly, 2011).

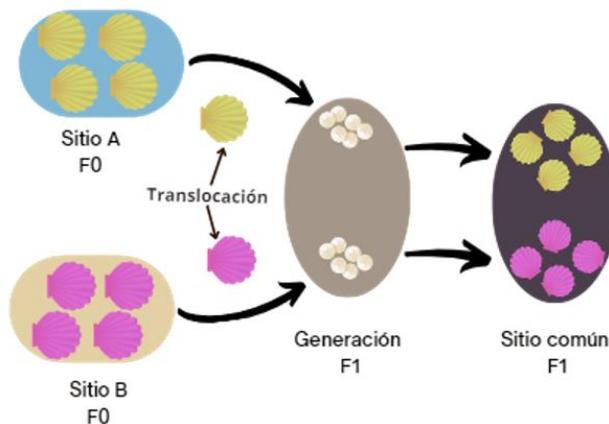


Figura 2. Esquema de experimento de *common garden*. La translocación hace referencia a la extracción de organismos (reproductores) de una población a otro sitio, en este caso para la fertilización y generación de la F1 que será expuesta en un sitio común en campo.

El enfoque de *common garden* se han implementado para demostrar la importancia de la plasticidad fenotípica en cuanto a las variaciones morfológicas de poblaciones de una misma especie ubicadas en distintos sitios. El estudio realizado en la ostra perla *Pinctada margaritifera* sobre la plasticidad fenotípica, adaptación local y la bioincrustación, bajo un enfoque de *common garden*, demostró que la variabilidad del crecimiento de las ostras en las distintas zonas de cultivo se debe a la plasticidad fenotípica, en donde la variable determinante es la temperatura; y por ello, la elección del sitio de cultivo resulta un factor clave para el crecimiento óptimo de las ostras (Hulot et al., 2019).

1.1.3 Generalidades de *Nodipecten subnodosus*

Uno de los moluscos bivalvos con mayor importancia comercial, debido a su alta demanda en el sector pesquero y acuícola, es la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*). Esta especie presenta una distribución geográfica que se extiende a lo largo del Océano Pacífico, desde Laguna Manuela en Baja California, México, hasta el Pacífico Sur en Paita, Perú. También se encuentra en el Mar del Golfo de California, específicamente en Bahía de los Ángeles, México (Figura 3) (González-Ortiz et al., 2017). La almeja mano de león es uno de los pectinidos más grandes alcanzando tallas en ejemplares adultos de

hasta 21.8 cm de longitud y un peso (incluyendo concha) de 1,863g (Félix-Pico et al., 1999). Es una especie monomiaria (con un sólo músculo aductor), y su gran demanda se debe a que este músculo abductor puede llegar a pesar hasta 108 g en invierno para un ejemplar adulto. Además, *N. subnodosus* es un organismo hermafrodita funcional, en donde ambos gametos se desarrollan en la gónada simultáneamente y presentan un desove de forma asincrónica para evitar la autofecundación (Arellano-Martínez et al., 2011).



Figura 3. Distribución geográfica de *N. subnodosus* en las costas del Océano Pacífico.

Nodipecten subnodosus ha sido explotada por pesquerías artesanales durante las dos últimas décadas, esta especie, se captura dos veces al año en los “bancos naturales” localizados en los complejos lagunares de Guerrero Negro (Pacífico Norte). Se cuenta con registros de capturas que van de las 300 toneladas a finales de los años 90’s a 50 toneladas en el año 2011 (Castillo, 2016). Con base en estas cifras, se observan pérdidas notables, provocando la búsqueda de alternativas con el fin de conservar y aumentar la producción de esta especie. A través de estudios realizados por Maeda-Martínez en 2007, se propone el cultivo de *N. subnodosus* como un método alternativo viable para continuar con la producción de la especie; ya que se muestra que es uno de los moluscos con mayor potencial para su desarrollo en acuicultura, debido a su tolerancia a la temperatura y su corto período de crecimiento en comparación con otras especies de bivalvos de importancia comercial (López, 2009; Saucedo et al., 2013; Artigaud et al., 2015).

1.1.4 *Nodipecten subnodosus* bajo estrés térmico

El rango de temperatura estudiado en la especie varía de los 15 a los 30°C; sin embargo, se desconocen las tasas de crecimiento en estos límites de temperatura. Su temperatura óptima es de 22-24°C, mientras que su tolerancia térmica es de 28.1°C como temperatura máxima en la que aún presentan crecimiento y posee una tolerancia de temperatura mínima a 20.6°C (Sicard, 2006).

La actividad biológica de *N. subnodosus* se ve comprometida ante la hipertermia, un ejemplo es el estudio realizado por Salgado-García (2020), donde se encontró que la madurez gonádica de las almejas es afectada por la temperatura. En él, se registraron niveles elevados de los nucleótidos (monofosfato de inosina e hipoxantina) relacionados con condiciones *post mortem* o de estrés, así como una disminución en los niveles de ATP y GTP en el músculo abductor. Por otra parte, se ha observado que las variaciones estacionales, en donde la temperatura y la productividad primaria de la zona cambian, también contribuyen a modificar las propiedades fisicoquímicas y de textura del músculo en la almeja mano de león (Beltran-Lugo et al., 2006). En sus resultados muestran que, en verano con temperaturas más cálidas se obtiene el mayor peso del músculo. Sin embargo, su calidad se vio afectada por la elevada cantidad de glucógeno provocando la disminución de humedad, colágeno y aminoácidos (glicina, taurina, alanina y arginina) que contribuyen al sabor dulce del músculo para su consumo.

1.1.5 Diferencias entre las poblaciones de *N. subnodosus* de Laguna Ojo de Liebre y Bahía de los Ángeles

La Laguna Ojo de Liebre (LOL), ubicada en el noroeste de Baja California Sur, forma parte de la Reserva de la Biosfera El Vizcaíno. La laguna presenta un medio hiperhalino por el poco aporte de agua dulce, y una temperatura mínima de 18°C y máxima promedio de 26°C (Cervantes 1997 y Aguila et al., 2000). Este complejo lagunar posee una baja productividad primaria (1.2 µg clorofila a/L) (Delgadillo-Hinojosa et al., 2002; Martínez, 2005) en comparación con Bahía Magdalena ubicada más al sur, donde se tiene una alta disponibilidad de alimento (Gómez-Gutiérrez et al., 2001). Debido a las condiciones naturales de Laguna Ojo de Liebre, en cuanto a su temperatura y productividad primaria, se ha reportado un comportamiento conservativo en la maduración gonadal. Es decir, su madurez gonádica depende directamente de las reservas almacenadas en los diferentes tejidos y la transferencia de los nutrientes

almacenados de la glándula digestiva a la gónada para el éxito en su reproducción (Martínez, 2005; Arellano-Martínez et al., 2011).

Por otro lado, Bahía de Los Ángeles (BLA) es un área natural protegida localizada en una región árida con temperaturas que van desde los 15°C en invierno hasta los 30°C en verano (Blanco-Betancourt et al., 2004; Cortés, 2019). Una de las características de esta bahía es su alta productividad primaria (2-3 μg clorofila a/L) debido al constante intercambio de agua y nutrientes con el Canal de Ballenas, así como de las interacciones con mareas y su topografía (Muñoz et al., 1991; López et al., 2006). En el estudio llevado a cabo por Yee-Duarte (2009) acerca de la reproducción de la población de *N. subnodosus* en Bahía de Los Ángeles, se identificó un comportamiento oportunista. No se evidenció un ciclo de almacenamiento de nutrientes o transferencia hacia los tejidos somáticos; en cambio, se observó un desarrollo gonadal y remaduración continua. Por lo tanto, se atribuye al clima y a la disponibilidad de alimento en la zona el tipo de comportamiento fisiológico de la población.

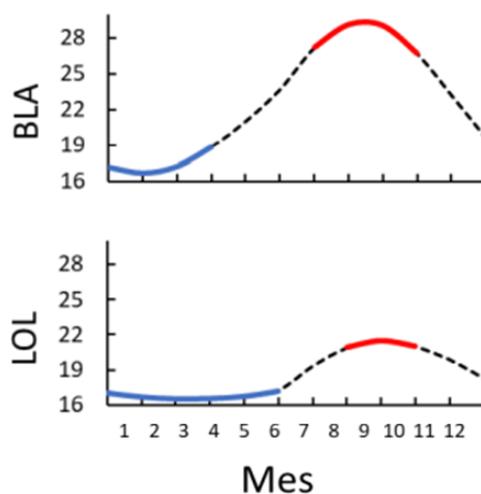


Figura 4. Ciclo estacional de temperatura de Bahía de Los Ángeles (BLA) y Laguna Ojo de Liebre (LOL). Se indica la temperatura de los meses más fríos (azul) y más cálidos (rojo) durante el año (Joachin-Mejía, 2022).

Ambas costas peninsulares poseen diferencias entre sus factores abióticos, principalmente los patrones de temperatura en sus ciclos estacionales (Figura 4), en donde se observan valores de mayor amplitud en Bahía de Los Ángeles. En el estudio llevado a cabo por Yee-Duarte (2009) acerca de la reproducción de la población de *N. subnodosus* en Bahía de Los Ángeles, se identificó un comportamiento oportunista. No se evidenció un ciclo de almacenamiento de nutrientes o transferencia hacia los tejidos somáticos; en cambio, se observó un desarrollo gonadal y remaduración

continua. Por lo tanto, se atribuye al clima y a la disponibilidad de alimento en la zona el tipo de comportamiento fisiológico de la población.

Con respecto a los estudios ecofisiológicos de las poblaciones ubicadas en el Golfo de California y del Pacífico se han descrito diferencias en la respuesta fisiológica, ya que, en experimentos de trasplantes recíprocos se observaron diferencias en crecimiento y supervivencia al trasladar una subpoblación del Pacífico al Golfo de California y viceversa. Las almejas provenientes del Pacífico registraron tasas de respiración significativamente superiores a las que provenían del Golfo de California; lo cual afectó la eficiencia en la tasa de crecimiento. Lo anterior puede atribuirse a la aclimatación a condiciones ambientales estresantes por parte de la población del Golfo de California, ya que fue la población que exhibió mayor tasa de supervivencia en temperaturas cálidas al trasladarla del Golfo de California al Pacífico y en su sitio de origen (Koch et al., 2015; Purce et al., 2020).

1.1.6 Estudios genómicos en *Nodipecten subnodosus*

Los estudios genómicos dedicados a moluscos bivalvos de importancia comercial son limitados, gran parte de la información molecular se centra en especies modelo como el ostión japonés (*Magallana gigas*) o la ostra perlera (*Pinctada margaritifera*). En el caso de *N. subnodosus*, las investigaciones se han enfocado principalmente en aspectos fisiológicos, como: densidad óptima de cultivo, temperaturas óptimas de crecimiento, alimentación y efecto del estrés térmico en la maduración gonadal (López, 2009; Arellano-Martínez et al., 2011; Nguyen et al., 2011).

En cuanto a estudios genéticos de la almeja mano de león, se destacan las investigaciones sobre diversidad y estructura genética realizadas por Ibarra et al. (2005) y Petersen et al. (2010). Las cuales, evidenciaron diferencias genéticas entre las poblaciones del Golfo de California y del Pacífico mediante el uso de microsatélites específicos. Ambos estudios identificaron dos grupos genéticamente distintos y mitotipos (linajes genéticos) distintos entre las agrupaciones de mano de león, además de observar un mayor número de alelos privados (únicos) en la población del Golfo de California.

Lo anterior se respalda con el estudio genético más reciente realizado por Oviedo (2017) con marcadores microsatélites, donde se revelan diferencias alélicas entre las poblaciones del Golfo de California y del Pacífico.

En particular, la población de Bahía de Los Ángeles (Golfo de California) presentó el mayor número de alelos detectados (84). De los 120 alelos totales reportados, el 13.3% fue exclusivo de las poblaciones del Golfo de California, mientras que el 35% se compartió entre las localidades del Golfo de California y el 39.2% se compartió entre el Golfo de California y las poblaciones de la costa Pacífico (Oviedo, 2017). Así mismo, estudios con marcadores tipo SNP's (polimorfismos de un solo nucleótido) derivados de secuenciación RADseq también demostraron una diferencia en la diversidad genética entre las poblaciones del Golfo de California y del Pacífico (Vargas, 2018; Valenzuela-Quiñonez et al., en preparación). Estas contribuciones brindan una comprensión más profunda de la variabilidad genética y la estructura poblacional de la especie, y demuestran que las poblaciones del Pacífico y del Golfo de California son genéticamente distintas.

1.1.1 1.1.7 Análisis transcriptómicos en moluscos ante el estrés por temperatura

La caracterización transcriptómica empleada en estudios de la respuesta de los organismos ante algún factor ambiental permite entender los procesos a nivel molecular que contribuyen a la resiliencia de la especie al entorno cambiante. El desarrollo de las herramientas de secuenciación de última generación (NGS) ofrece una mayor información sobre los genes expresados diferencialmente, aún si la especie de estudio no es un organismo modelo, con el fin de identificar los genes involucrados en procesos biológicos de interés (Artigaud et al., 2015).

Las respuestas genómicas que se han evaluado en organismos marinos, a pesar de que han empleado herramientas de análisis de datos masivos, como la transcriptómica, se han enfocado con un limitado número de genes, tal es el caso de la sobreexpresión en los genes conservados que codifican para las proteínas de choque térmico (HSP, por sus siglas en inglés) en donde se evalúan respuestas ante estrés térmico agudo por un corto tiempo. Un ejemplo es el estudio de la respuesta de HSP en vieiras de mar *Argopecten irradians* y la viera *Placopecten magellanicus* localizada en aguas profundas, en donde el grado de expresión de HSP está relacionado con el hábitat y una capacidad diferencial de cada especie (Domínguez, 2020).

Estudios transcriptómicos recientes realizados en la almeja generosa (*Panopea globosa*) sometida a estrés térmico revelan un incremento de coexpresión en genes involucrados con el metabolismo energético y la respuesta antioxidante (Juárez et al., 2018). Entre estos, se encontró un alto nivel de la

expresión del gen *CAT*, el cual codifica la enzima cloranfenicol acetiltransferasa, cuya función es prevenir el daño celular ocasionado por la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS).

Posteriormente Kong et al., (2022) reportó una respuesta similar en la almeja *Agemaki (Sinonovacula constricta)* bajo estrés térmico agudo, así como un incremento en la expresión de genes de proteínas chaperonas involucradas en el plegamiento y degradación de proteínas: tres genes correspondientes a la familia conservada de proteínas de choque térmico (*HSP* por sus siglas en inglés) y otros cuatro genes de chaperonas moleculares del retículo endoplasmático (RE) como : *GRP94* (proteína 94 regulada por glucosa que actúa como chaperona en el plegamiento de proteínas ante algún factor estresor en el RE) , *CALR* (calreticulina, es una chaperona cuya principal función es actuar en la homeostasis de la célula como una amortiguadora de iones de calcio, ubicada en el RE) , *PDI* (proteína disulfuro-isomerasa, enzima y chaperona catalizadora del plegamiento de proteínas oxidativas, también actúa en la regulación de la homeostasis redox del RE) y *ERP29* proteína 29 del retículo endoplasmático que actúa como chaperona en el plegamiento, secreción y tráfico de proteínas regulada positivamente ante estrés en el RE) (Marzec et al., 2012; Wang et al., 2015; McLaughlin et al., 2018; Migliaccio & Uversky, 2018).

En experimentos donde la tolerancia térmica de los organismos sobrepasa los límites de aclimatación se ha observado una alta expresión en genes relacionados con procesos apoptóticos, como la vía de caspasas en condiciones de estrés térmico crónico en el caso del abulón rojo *Haliotis rufescens* (Tripp et al., 2021) y la vía *AP1* en la viera gigante *Pecten maximus* (Artigaud et al., 2015).

Las investigaciones a nivel transcriptómico en la almeja mano de león son limitadas, y han tenido un enfoque funcional y reproductivo, como es el estudio realizado por Galindo-Torres et al. (2018) donde se caracterizó el transcriptoma global de *N. subnodosus* y se identificaron los genes de determinación y diferenciación sexual. Así como el estudio de Llera (2013), en el cual se identificaron genes expresados en espermatogénesis con la finalidad de obtener un primer panel de marcadores para en un futuro permitir el estudio de almejas poliploides.

Estos estudios pioneros proporcionan valiosa información sobre la expresión génica y los procesos biológicos subyacentes en la almeja mano de león. Sin embargo, debido a la escasez de investigaciones transcriptómicas en esta especie, se destaca la necesidad de realizar más estudios en este ámbito para comprender mejor los mecanismos moleculares que regulan diferentes aspectos de su biología y

fisiología. Lo anterior enfocado principalmente a entender las respuestas de la almeja mano de león, a los diferentes ambientes de ambas poblaciones: del Pacífico y del Golfo de California.

1.2 Justificación

Nodipecten subnodosus es uno de los moluscos bivalvos de gran importancia comercial y alto potencial acuícola, gracias a su rápido crecimiento y márgenes amplios en sus límites de temperatura. Sin embargo, el cambio climático, manifestado en el aumento de las temperaturas de los océanos, plantea desafíos significativos para estas poblaciones, generando inquietudes sobre su capacidad de adaptación y su plasticidad fenotípica.

Los impactos fisiológicos adversos que las altas temperaturas tienen en *N. subnodosus*, afectando principalmente el crecimiento y la reproducción, han sido objeto de estudios previos. Además, se han identificado diferencias genéticas entre poblaciones del Golfo de California y del Pacífico, en sitios específicos como Bahía de Los Ángeles y Laguna Ojo de Liebre, donde se reporta una divergencia genética entre estas poblaciones. Estos sitios presentan condiciones contrastantes, siendo Bahía de Los Ángeles caracterizado por amplias fluctuaciones de temperatura, mientras que Laguna Ojo de Liebre ofrece condiciones más estables durante todo el año. Surge así la pregunta crucial sobre si la plasticidad fenotípica prevalece sobre la adaptación local en ambas poblaciones.

La escasez de estudios a nivel molecular, particularmente aquellos que investiguen los mecanismos de aclimatación de la especie a los cambios de temperatura, representa una limitación importante en la comprensión de las estrategias de *N. subnodosus* ante las variaciones térmicas. En este contexto, la caracterización transcriptómica propuesta en esta tesis se presenta como una herramienta crucial. Este enfoque no solo contribuirá a comprender la base molecular subyacente a la aclimatación de *N. subnodosus*, sino que también permitirá identificar genes clave involucrados en procesos biológicos relevantes.

El desarrollo de tecnologías de secuenciación de última generación permite identificar genes expresados diferencialmente, relacionados con procesos biológicos importantes para el organismo, facilitando la identificación de aquellos relacionados con la resiliencia al cambio climático. Estos hallazgos no solo mejorarán nuestra comprensión de la vulnerabilidad de la especie, sino que también arrojarán luz sobre su plasticidad fenotípica y la capacidad de estas poblaciones para hacer frente a los

desafíos ambientales emergentes. En última instancia, la investigación propuesta contribuirá significativamente al desarrollo de estrategias de manejo y conservación en un contexto de cambio climático.

1.3 Hipótesis

1.-Dado que las poblaciones de *N. subnodosus* provenientes de Bahía de Los Ángeles y de Laguna Ojo de Liebre son genéticamente diferentes, existirá una variación en los perfiles transcriptómicos, especialmente en procesos biológicos involucrados en metabolismo energético y sistema inmune, predominantemente expresados en las branquias. Se espera que la población de Bahía de los Ángeles, con su historial de fluctuaciones térmicas amplias, exhiba una mayor expresión de genes involucrados con los procesos biológicos antes mencionados, lo que le confiere una mejor resiliencia al estrés térmico en comparación con la población de Laguna Ojo de Liebre, que experimenta condiciones térmicas más estables.

2.-Además, se predice que las generaciones F1 de ambas poblaciones, sometidas a un *common garden*, mostrarán respuestas similares en los perfiles transcriptómicos, independientemente de la divergencia genética, sugiriendo que la plasticidad fenotípica es una respuesta preponderante ante el estrés ambiental.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Evaluar y comparar la plasticidad fenotípica de dos poblaciones genéticamente diferentes de *Nodipecten subnodosus*, en respuesta a la variación térmica del sitio de procedencia, a partir del análisis transcriptómico

1.4.2 Objetivos específicos

1. Generar información transcriptómica *de novo* a partir del tejido branquial de dos poblaciones, Bahía de Los Ángeles (Golfo de California) y Laguna Ojo de Liebre (Pacífico) de la almeja mano de león *N. subnodosus*.
2. Evaluar los cambios de expresión génica (sobreexpresión o subexpresión) de genes involucrados al efecto del estrés térmico en almejas silvestres y progenies de dos poblaciones de *N. subnodosus* cultivadas en un sitio común y en su sitio de origen.
3. Identificar los procesos biológicos relacionados con la respuesta a la variación térmica *in situ* de almejas silvestres y la progenie de dos poblaciones naturales en un sitio común, a partir del análisis transcriptómico.
4. Comparar la variación en los perfiles transcriptómicos de las almejas en cada sitio versus las cultivadas en un sitio común.

Capítulo 2. Metodología

2.1 Sitios de cultivo y common garden

Los organismos experimentales (F1) fueron generados en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste Unidad La Paz, a partir de 13 reproductores adultos colectados en verano (Julio y Agosto) mediante buceo en poblaciones naturales, 7 provenientes de Laguna Ojo de Liebre en Baja California Sur ($27^{\circ}51'50''$ N $114^{\circ}08'42''$ W) y 6 organismos de Bahía de Los Ángeles ($28^{\circ}57'20.9''$ N $113^{\circ}33'16.6''$ W) (Baja California, México) (Figura 5) con una talla promedio de 14 cm de altura de concha. La reproducción se realizó a partir del método descrito por López (2019). Se aislaron los ovocitos para evitar la autofecundación y se fertilizaron con espermatozoides de otras almejas para la producción de descendencia. Los reproductores de cada población se mantuvieron separados en todo el experimento, a partir de los 7 reproductores de LOL se generaron 4 familias, que finalmente fueron mezcladas para su cultivo masivo hasta el asentamiento larval en el laboratorio. En el caso de los reproductores de BLA se conformaron 3 familias, las cuales se mezclaron para su cultivo masivo en laboratorio. Posterior al asentamiento larval de las dos progenies de cada población se trasladaron a campo en LOL, cada población F1 fueron colocadas en canastas Niester y se crecieron durante 7 meses hasta alcanzar la etapa juvenil (Figura 6a).

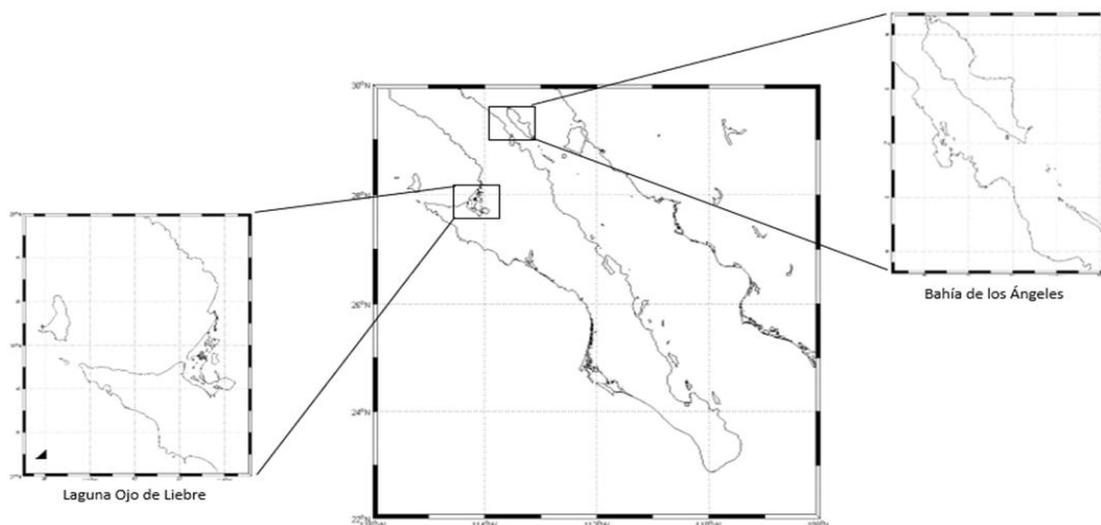


Figura 5. Localización de los sitios de colecta y cultivo de juveniles de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus*. La laguna Ojo de Liebre ubicado en Guerrero Negro, fue seleccionado como el sitio común para el cultivo de la progenie F1 en este estudio.

2.1.2 Muestreo de almejas silvestres

Se realizó un segundo muestreo en verano de almejas silvestres de etapa juvenil, se extrajeron 8 almejas de BLA y 10 provenientes de LOL (Figura 6b). Cada grupo silvestre proveniente de cada población fueron consideradas F0 para realizar la comparación con las almejas F1, es importante resaltar que tanto las almejas silvestres como la generación F1 fueron muestreadas en etapa juvenil.

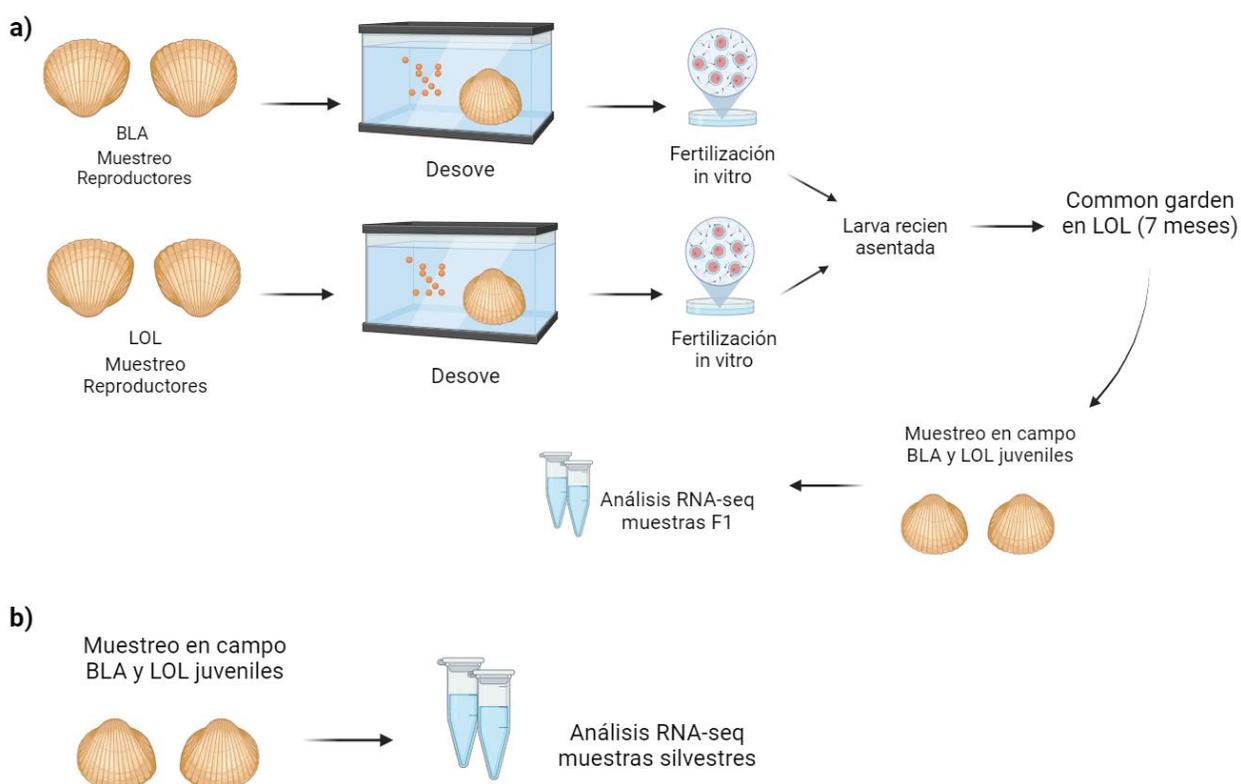


Figura 6. A) Diseño experimental de la generación F1 y muestreos in situ. B) Muestreos in situ de poblaciones silvestres (F0). BLA = Bahía de Los Ángeles y LOL = Laguna Ojo de Liebre.

2.1.3 Preparación de muestras

Las almejas silvestres (F0) se muestrearon en el año 2021 (Figura 7), se colocó cada almeja completa en nitrógeno líquido a -195.8°C dentro de un tanque y fueron transportados a CIBNOR donde se dejaron en ultracongelación a -80°C hasta la disección y preparación de muestras. Las branquias (Figura 8) fueron inmediatamente preservados en RNAlater Stabilization Solution (Invitrogen). Este tejido fue seleccionado debido a las diversas funciones que cumple en el organismo, entre ellas: respiración, transporte de nutrientes y excreción de desechos. En el año 2022 se realizó el muestreo *in situ* de 10 organismos juveniles de cada población (F1) crecidos en LOL (Figura 7), se disectaron las branquias y se colocaron en nitrógeno

líquido para posteriormente procesar la muestra mediante pulverización y preservación en RNAlater Stabilization Solution (Invitrogen).

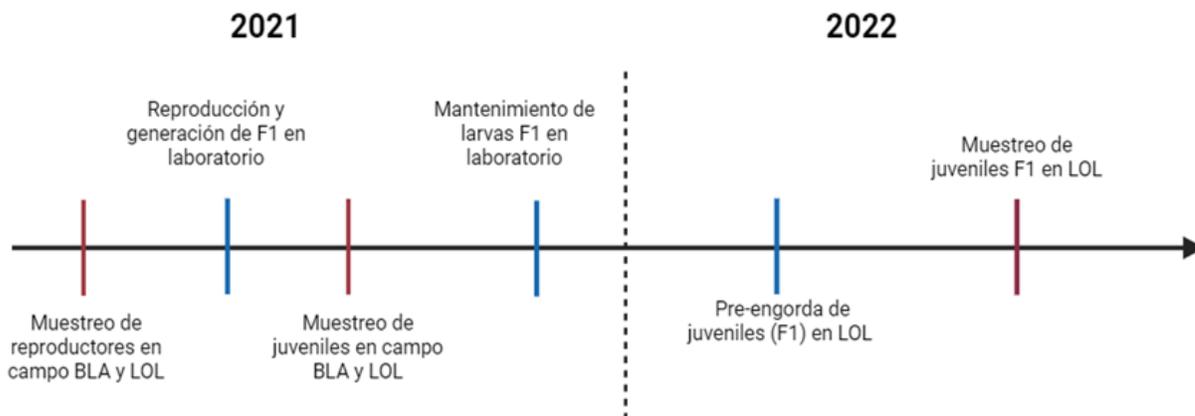


Figura 7. Línea del tiempo de las etapas de muestreo.



Figura 8. Anatomía interna de un ejemplar juvenil de almeja mano de león *N. subnodosus*, en flechas se indica la ubicación de las lamelas branquiales.

2.2 Extracción de ARN, preparación de librerías y secuenciación masiva RNA-Seq

Se realizaron un total de 38 extracciones de ARN (tabla 1) a partir de 25 mg de tejido branquial homogeneizado por disrupción química con solución de lisis de RNeasy® Plus Mini Kit (Qiagen) y mecánica con perlas de zirconia en un homogeneizador Fastprep24™ (MP Biomedicals™) a una velocidad de 6 m/s por 30 s durante 3 ciclos.

Tabla 1. Número total de muestras de branquias colectadas de cada población para la extracción de RNA.

Localidad	Generación	Muestras
Bahía de Los Ángeles	Silvestres (F0)	8
Laguna Ojo de Liebre	Silvestres (F0)	10
Bahía de Los Ángeles	Cultivados (F1)	10
Laguna Ojo de Liebre	Cultivados (F1)	10

La extracción se realizó siguiendo los pasos del proveedor. La elución del ARN total se realizó en 30 μ L de agua estéril libre de nucleasa. La cuantificación del ARN total se midió con el espectrofotómetro NanoDrop™ 2000 (Thermo Scientific™) y se verificó su pureza a través de la relación 260/280 (relación del ácido nucleico con respecto a la presencia de proteínas), y la relación 260/230, (medición de contaminación por fenoles o compuestos orgánicos). La integridad de ARN extraído se verificó mediante electroforesis con gel de agarosa al 1% utilizando Buffer TAE 1X. Se verificó la existencia de las bandas 18s y 28s ARN ribosomal y la ausencia de degradación (Figura 9).

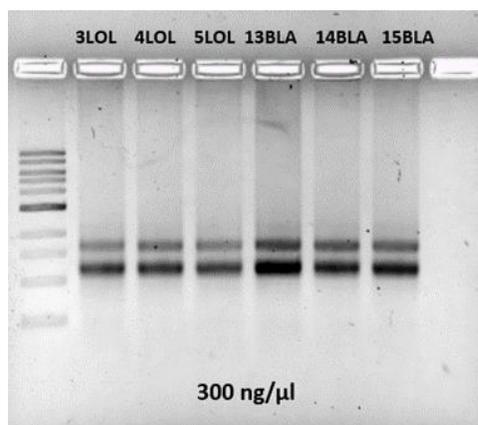


Figura 9. Electroforesis en gel de agarosa al 1% de muestras de ARN total extraído de branquias provenientes de ambas poblaciones y generaciones de *N. subnodosus*. BLA = Bahía de Los Angeles y LOL = Laguna Ojo de Liebre.

A partir del ARN purificado se seleccionaron 2 muestras biológicas para cada pool, por tanto, se realizaron 3 pools de cada población para los organismos silvestres (F0) y 3 pools de cada población de almejas cultivadas en LOL (F1), resultando en un total de 12 pools. Para realizar cada pool se normalizó la concentración a 1 μ g de ARN total de cada muestra y se hizo una dilución para tener una concentración de 20 ng/ μ L en 100 μ L de volumen final por pool.

Después de realizar los pools se verifico la concentración mediante la cuantificación con el fluorómetro Qubit® RNA HS Assay Kits en el equipo Qubit™ 3.0 (Invitrogen™), posteriormente se realizó la preparación de las librerías siguiendo el protocolo de Illumina TruSeq RNA Library Prep Kit v2. Las librerías se hicieron a partir de 1 µg de cada pool de ARN utilizando el kit TrueSeq® V2 (Illumina) y se realizaron dos limpiezas con la finalidad de conservar únicamente los fragmentos de interés (Anexo I y II).

La concentración de ADNds (ADN de doble cadena) se cuantificó con el fluorómetro dsDNA HS Assay Qubit™ 3.0 (Invitrogen™), se evaluó la calidad y tamaño de los fragmentos con el chip de DNA 7500 mediante el sistema Bioanalizador Agilent 2100 y electroforesis en gel de agarosa al 4% utilizando Buffer TBE 1X durante 90 minutos a 80 volts. Las bibliotecas indexadas fueron normalizadas a 15nM y secuenciadas en la plataforma Illumina HiSeq PE150 en Novogene Inc. (Sacramento CA, EE. UU.).

2.3 Análisis bioinformático

2.3.1 Análisis de calidad de secuencias, ensamble *de novo* y análisis de integridad del ensamble.

La evaluación de la calidad de las lecturas crudas se realizó mediante el software FastQC_v0.11.7 (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>). Los índices, adaptadores de secuenciación y lecturas de baja calidad se eliminaron con la herramienta Trimmomatic v0.39 (Bolger et al., 2014) manteniendo únicamente las lecturas con un valor Phred > 30 (probabilidad de error de una base mal asignada de 0.001). La calidad de las lecturas limpias se corroboró con el programa FastQC y se analizaron los resultados de calidad mediante la agrupación con el programa MultiQC v1.15 (Ewels et al., 2016) (Figura 10).

El ensamble del transcriptoma *de novo* se realizó con el programa Trinity v2.15.1 de acuerdo con la guía descrita por Haas y colaboradores (2013) para lecturas pareadas. La calidad del ensamble reconstruido fue analizada mediante los programas Ruby v.2.2.0 (<https://www.ruby-lang.org/en/news/2013/02/24/ruby-2-0-0-p0-is-released/>) y BUSCO v.5.4.3 (Benchmarking Universal Single-Copy Orthologs; Manni et al., 2021) con las bases de datos de Metazoa_odb10 y Mollusca_odb10, las cuales, contienen 954 y 5,295 BUSCO grupos, respectivamente.

2.3.2 Estimación de abundancia y análisis de genes expresados diferencialmente

Para la estimación de la abundancia se dividieron los transcritos por poblaciones silvestres (F0) y cultivadas (F1), las lecturas de cada biblioteca se alinearon con el transcriptoma común de referencia con Bowtie2 (Langmead y Salzberg, 2012). La abundancia de transcritos para cada condición se realizó a partir de la cuantificación y normalización de los transcritos por millón (TPM) con el programa RSEM (Li y Dewey, 2011).

La matriz de todas las bibliotecas obtenidas se analizó y filtraron genes con poca abundancia. Acto seguido, se analizaron los genes expresados diferencialmente, primeramente se identificaron transcritos expresados diferencialmente (DE, por sus siglas en inglés) entre la generación (F0 y F1) y población (BLA y LOL), para esto se utilizó el paquete DESeq2 (Love et al., 2014) mediante el programa R (Ihaka y Gentleman, 1996), finalmente los genes expresados diferencialmente (DEG, por sus siglas en inglés) se organizaron de acuerdo con el patrón de expresión y se visualizaron mediante gráfico de volcán, análisis de componentes principales (PCA) y mapas de calor (heatmaps). El diagrama de Venn fue elaborado a partir de los DEG con anotación.



Figura 10. Flujo de trabajo para construcción de librerías y análisis bioinformático para muestras secuenciadas mediante técnica de RNA-seq.

2.3.3 Anotación funcional

La anotación funcional de las lecturas (contigs) de buena calidad se realizó con la herramienta Trinotate v4.0.1 (<https://trinotate.github.io/>) integrada en Trinity v2.15.1. La búsqueda de homología se realizó con las bases de datos UniProtKB/Swiss-Prot utilizando BlastX y BlastP (versión;2.13.0, Altschul et al., 1990) con valores de E menores a $1e-05$.

Se utilizaron las bases de dominio de proteínas conservadas, predicción de péptido señal y dominios transmembranales (hmmer 3.3.2/PFAM, tmhmm 2.0 y signalP v6, respectivamente) (Punta et al., 2012; Teufel et al., 2022). Asimismo, se buscó en la base de datos KEGG (enciclopedia de genes y genomas de Kioto) (Kanehisa et al., 2012) mediante Trinotate para la identificación de genes implicados en diferentes vías metabólicas y se realizó un análisis de enriquecimiento funcional de términos ontológicos (Gene Ontology, GO) (Ashburner et al., 2000). Finalmente se utilizó el programa Transdecoder v.5.7.0 (<https://github.com/TransDecoder/TransDecoder/wiki>) para la identificación de regiones codificantes.

2.3.4 Enriquecimiento funcional de términos ontológicos

En función del reporte de Trinotate se filtraron los datos de BlastX y se realizó un análisis para visualizar la distribución de taxones por género mediante los transcritos anotados, también se hizo un filtrado con los resultados obtenidos de PFAM y anotaciones GO. Por último, para cada contraste de genes expresados diferencialmente se hizo un enriquecimiento funcional junto con los datos filtrados de Blast y PFAM, utilizando la función de TopGO en el programa R (Ihaka y Gentleman, 1996), y se identificaron los procesos biológicos mejor representados para cada contraste.

Capítulo 3. Resultados

3.1 Perfiles transcriptómicos de dos poblaciones de *Nodipecten subnodosus*

3.1.1 Preparación de pools, construcción de librerías y secuenciación

La figura 11 muestra los resultados del tamaño (200-350 pb) y pureza de los fragmentos de las 12 librerías indexadas de ADNds (doble sentido) mediante electroforesis por el equipo Bioanalyzer 2100 (Agilent).

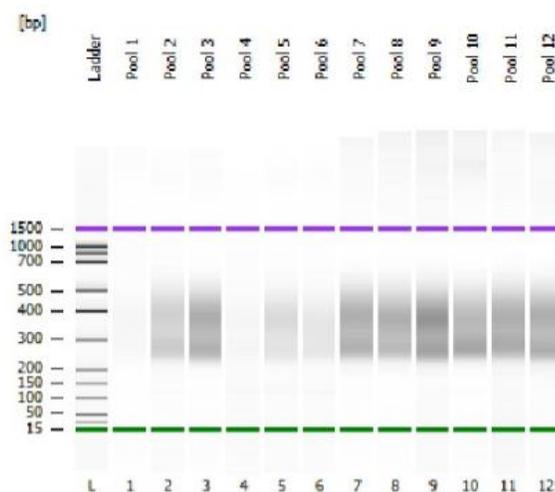


Figura 11. Electroforesis por Bioanalyzer 2100 (Agilent) de las 12 librerías indexadas para la verificación de la pureza de los fragmentos, así como su tamaño promedio.

3.1.2 Preprocesamiento, construcción del transcriptoma *de novo* y calidad

Los resultados de la secuenciación de branquias generaron un promedio de 32'626,775 lecturas crudas pareadas por cada biblioteca con una longitud de 150 pb (Figura 11). Después de filtrar cada lectura, depurando adaptadores, oligonucleótidos y lecturas con calidad menor a un Phred score de 30, se ensamblaron un total de 61.5% (20'073,348) de secuencias (tabla 2) con una longitud mínima de 84 pb. El transcriptoma se ensambló con un total de 175,197 transcritos incluyendo isoformas, de los cuales 109,878 eran correspondientes a genes. La longitud promedio de los transcritos fue de 919 nucleótidos y un N50 de 1,620 nucleótidos (tabla 3).

Tabla 2. Lecturas pareadas de RNA-seq antes y después de la limpieza con Trimmomatic.

Condición	No. lecturas crudas	No. lecturas filtradas	% lecturas filtradas
BLA_F0	33'787,615	21'286,197	63
LOL_F0	31'435,261	18'861,157	60
BLA_F1	32'265,993	20'049,916	62
LOL_F1	33'018,234	20'141,123	61
Total	32'626,775	20'073,348	61.5

Tabla 3. Estadísticas de ensamblaje *de novo* y anotación del transcriptoma de *N. subnodosus*.

Ensamblaje <i>de novo</i>	Total de contig por transcrito
Total de bases ensambladas	161'154,533
Total de transcritos	175,197
Total de genes	109,878
Contenido de GC (%)	37.6
Contig N10	4,902
Contig N20	3,451
Contig N30	2,682
Contig N40	2,091
Contig N50 (considerando todos los transcritos)	1,620
Contig de mayor longitud(nt)	21,346
Contig de menor longitud(nt)	179
Transcrito con ORF	34,290
Longitud media de contig (nt)	483
Longitud promedio de transcrito (nt)	919.85
Anotación	
Transcritos anotados/únicos	112,158
Blastx	27,469
BlastP	11,217
Kegg	25,125
PFAM	14,228
Secuencias con anotaciones GO	19,416

Se encontraron un total de 770 genes completos BUSCO (de 954 BUSCO genes) de la base de datos *Metazoa* y 3,453 genes completos (de 5295 BUSCO genes) de la base de datos *Mollusca* en el

transcriptoma, menos del 10% fueron genes BUSCO con algún grado de fragmentación y menos del 30% no se pudieron identificar. Entre los resultados de calidad de Ruby se identificaron 112,158 contigs del transcriptoma correspondiente al 64% y se obtuvo 0.08% de contigs segmentados.

3.1.3 Genes expresados diferencialmente

Un total de 93,845 contigs se expresaron diferencialmente al comparar por generación (Figura 12 C y D), 38,979 genes tuvieron un cambio de expresión con un valor ajustado < 0.05 y un Log fold change > 2 , el 31% de estos genes se sobre expresaron y el 18% tuvieron una subexpresión. Al filtrar el número de contigs de la generación F0 se tuvo un total de 85,709 contigs de los cuales solo 362 genes se expresaron diferencialmente, 167 se sobre expresaron y 195 presentaron una subexpresión (Figura 12B), de los 362 genes expresados diferencialmente 261 genes tuvieron anotación. Finalmente se hizo una tercera comparación de los patrones de expresión de la generación F1, hubo un total de 88,057 contigs, únicamente 160 genes tuvieron un cambio de expresión considerando los valores ajustados, presentándose un mayor número de genes sub expresados (Figura 12 A). En el análisis de componentes principales (Figura 13) se observa que los perfiles de expresión de las muestras correspondientes a la F1 poseen una mayor variación con respecto a las muestras provenientes de almejas silvestres (F0), separándolas en dos grupos por generación, independientemente del sitio de origen de cada población. Por otra parte, estos mismos genes que tuvieron una diferencia significativa también tuvieron anotación en las bases de datos de BlastX y pfam (Figura 14).

La figura 15 muestra los patrones de expresión por generación, donde es notable una diferencia en comparación con las localidades, no obstante, en la generación F0 los patrones de LOL F0 se separa de BLA F0, indicando una diferencia entre localidades silvestres.

Los resultados previos se corroboraron con la figura 16B donde se compararon únicamente los patrones de expresión de muestras silvestres (F0). En el caso de la diferencia entre la generación F1, si bien si existe un patrón marcado entre el grupo de BLA y LOL, se debió principalmente al contraste que tuvo un menor número de genes (160) que se expresaron diferencialmente. En cuanto a los patrones de expresión de almejas provenientes de BLA (Figura 16 C) se observa una mayor diferencia en los patrones de expresión por generación y sitio de cultivo. Sin embargo, en la figura D es visible nuevamente el cambio de patrones de expresión, a pesar de que ambas generaciones de LOL fueron cultivadas en el mismo sitio.

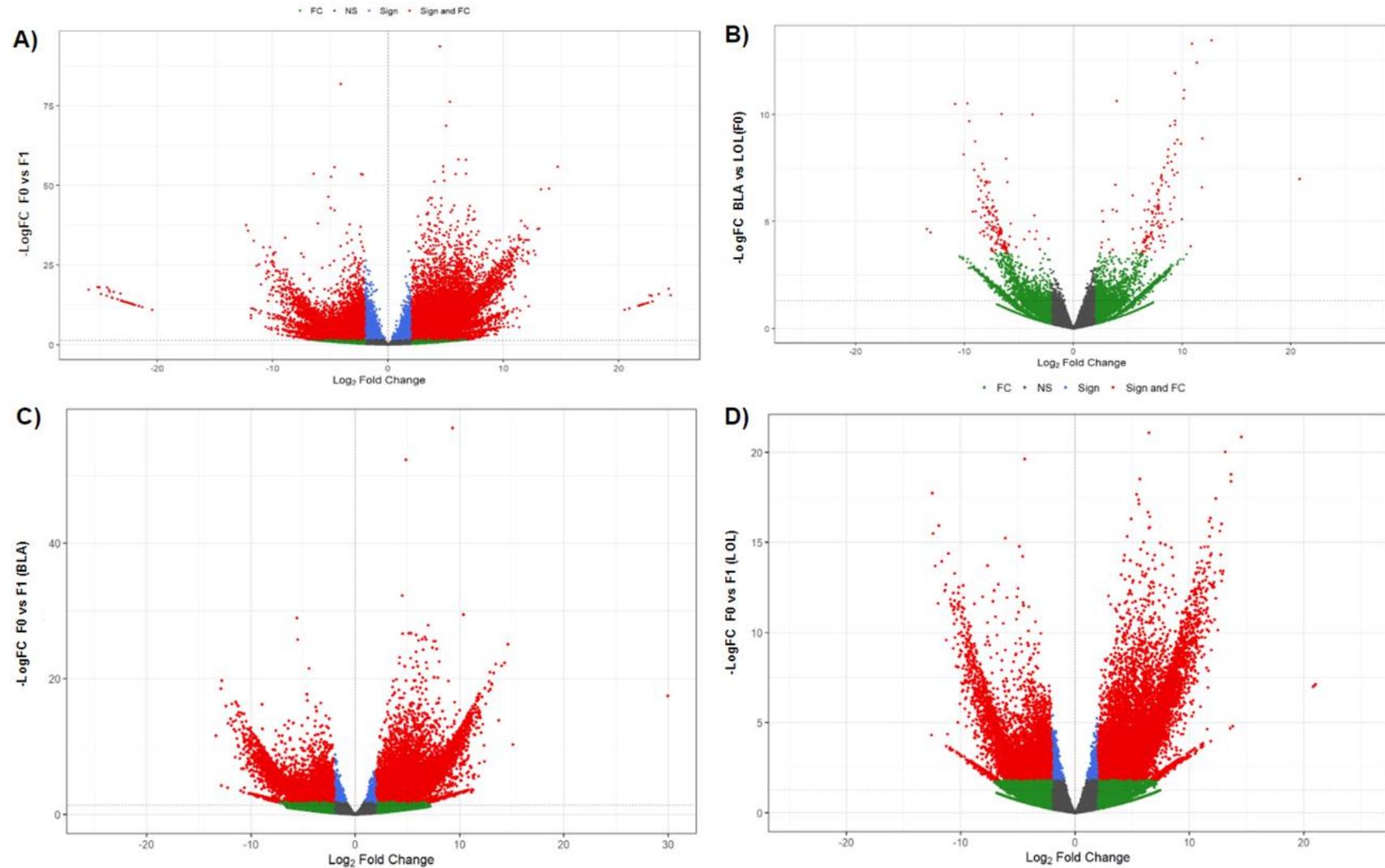


Figura 12. Genes expresados diferencialmente en los diferentes contrastes de cada muestra. A) comparación de silvestres (F0) vs cultivados (F1), B) diferencia entre las localidades F0, C) comparación entre generación de BLA y D) comparación entre generación LOL.

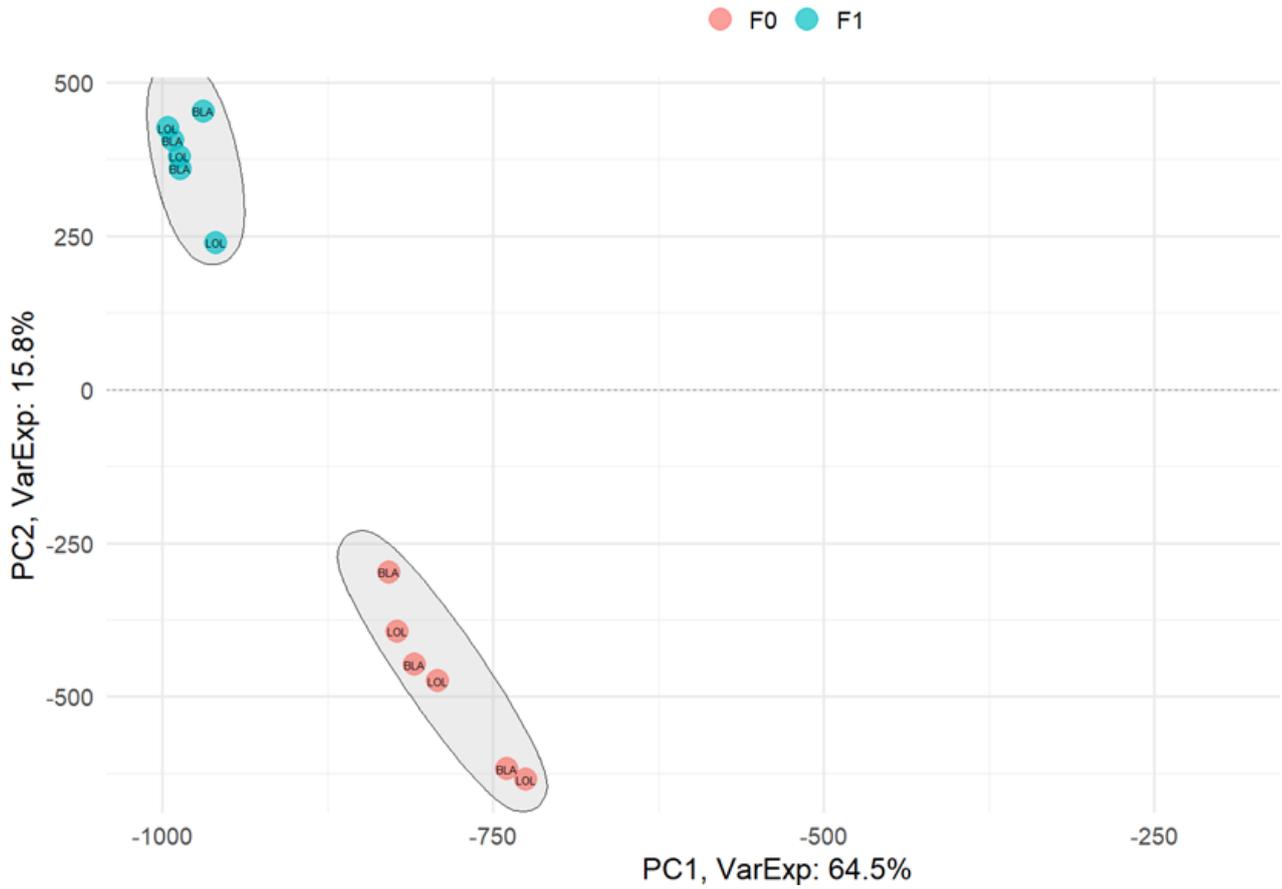


Figura 13. Análisis de componentes principales de los perfiles de expresión de la comparación entre generaciones.

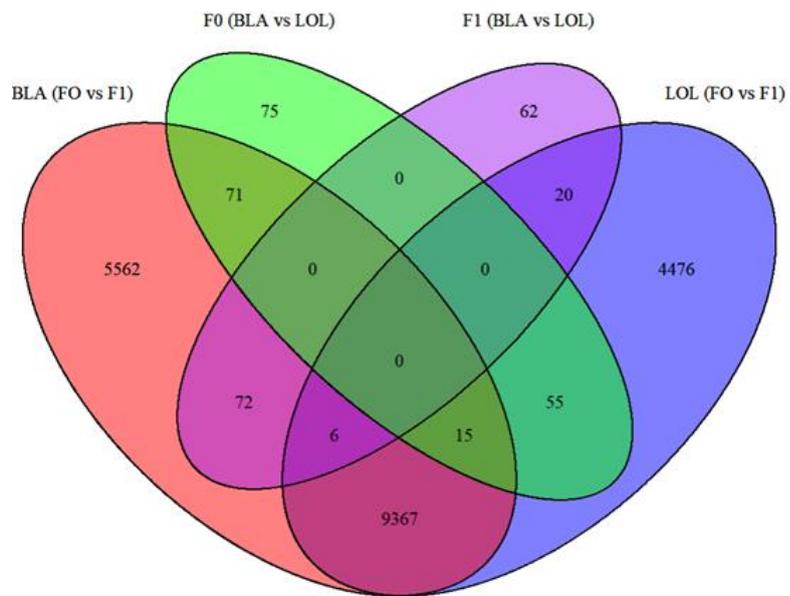


Figura 14. Genes expresados diferencialmente y con anotación de cada contraste.

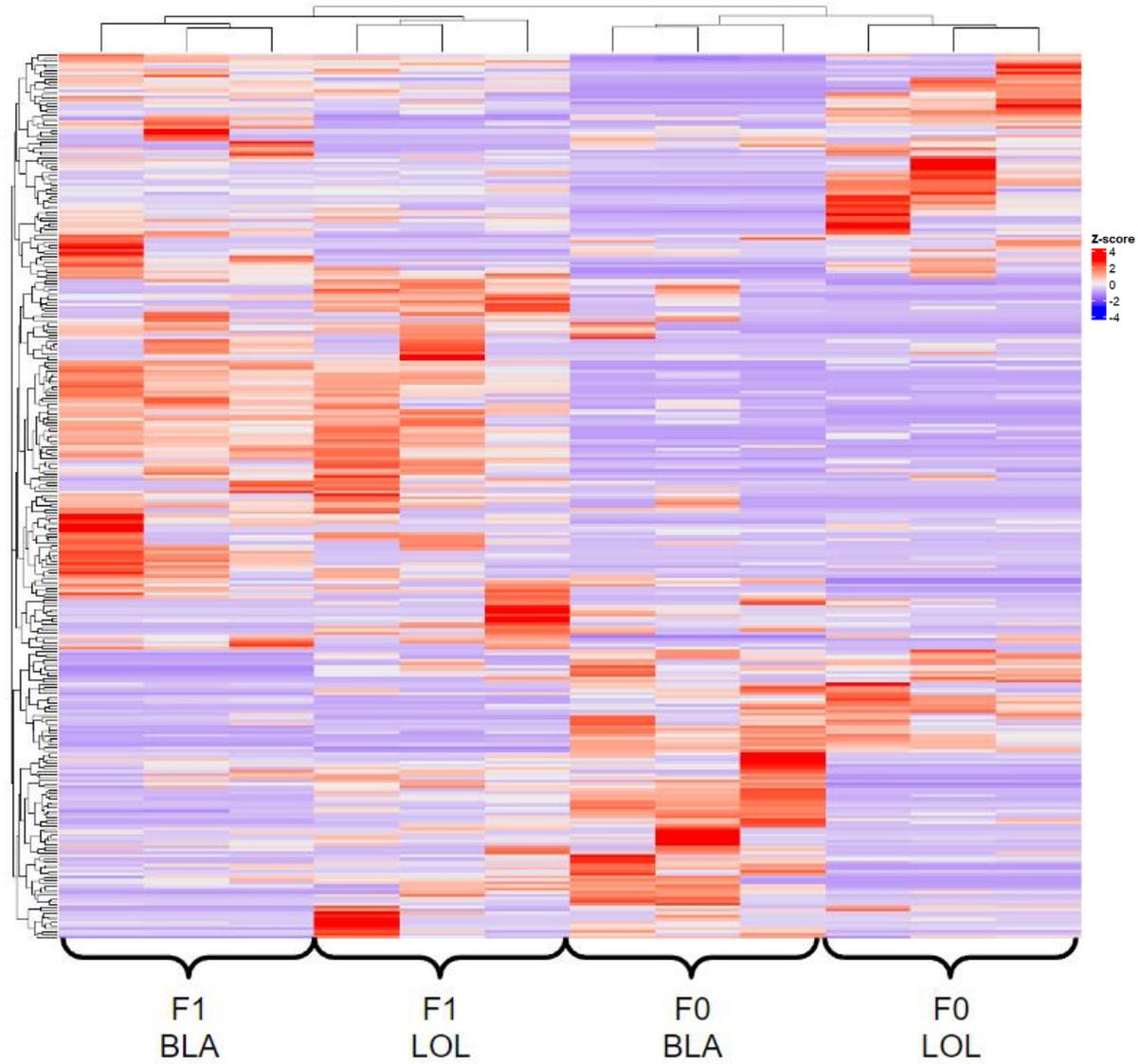


Figura 15. Mapa de calor del análisis de los patrones de expresión de genes en branquias de *N. subnodosus*. Contraste por generación F0 vs F1 de almejas provenientes de Bahía de Los Ángeles (BLA) y Laguna Ojo de Liebre (LOL).

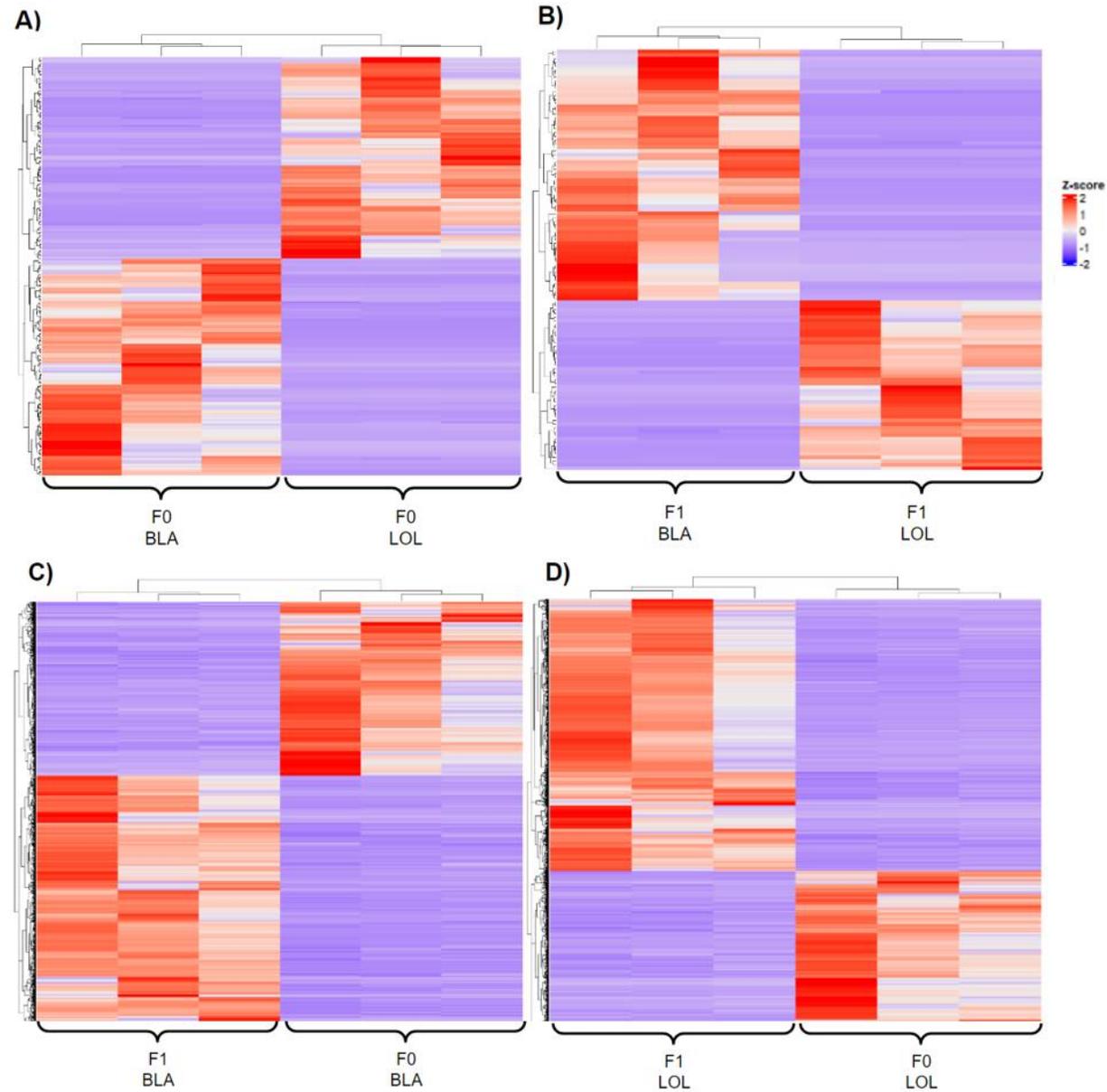


Figura 16. Mapas de calor del análisis de los patrones de expresión de genes en branquias de *N. subnodosus*. A) contraste por sitio de almejas silvestres (F0), B) contraste por sitio de almejas cultivadas en sitio común (F1), C) comparación entre generación y sitio de BLA y D) comparación entre generación de LOL.

3.1.4 Anotación funcional del transcriptoma

El 64% de los contigs tuvo anotación, un total de 27,469 transcritos presentaron una anotación en Blastx utilizando la base de datos Uniprot-Swissprot (tabla 3), se tuvo la mayor coincidencia con proteínas identificadas del género *Homo sapiens* alrededor de 4,600, seguido de los géneros *Mus musculus* con más de 3,600 hits y *Rattus norvegicus* con 1,262 anotaciones.

Se identificaron 39 géneros del *Phylum mollusca*, donde el género *Pecten* fue el que tuvo mayor número de coincidencias (Figura 17).

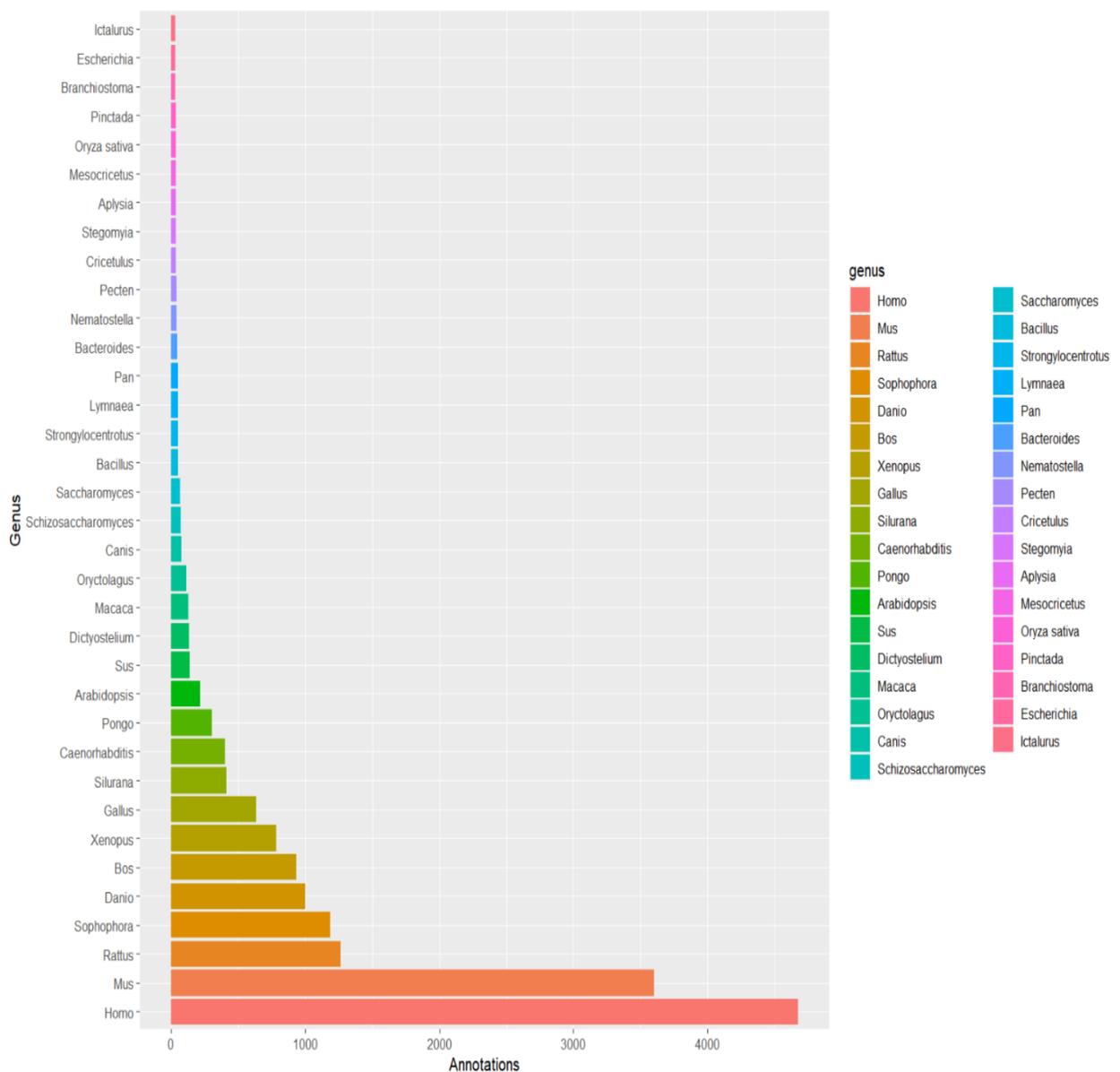


Figura 17. Distribución taxonómica de los géneros con mayor homología en el transcriptoma de *N. subnodosus*, de acuerdo con la base de datos de Swissprot.

3.1.5 Análisis de enriquecimiento GO de genes expresados diferencialmente

Para cada contraste de genes expresados diferencialmente se identificaron los procesos biológicos enriquecidos significativamente ($P < 0.05$) a partir del análisis de enriquecimiento de términos GO. 6,802 procesos biológicos fueron enriquecidos significativamente considerando todos los contrastes de los genes expresados diferencialmente (DGE).

En la comparación de población BLA y LOL silvestres se identificaron 20 procesos enriquecidos de genes sobre expresados y 21 sub expresados. Del contraste entre BLA y LOL F1 se identificaron 22 procesos biológicos enriquecidos de genes sobre expresados y 24 sub expresados.

En los contrastes por generación de cada localidad además de tener un mayor número de DGE se identificaron un mayor número de procesos enriquecidos, en el caso de BLA F1 comparado con BLA F0 se identificaron 3,294 sobre expresados y 241 sub expresados, por otra parte, LOL F1 contra LOL F0 se enriquecieron 3,466 sobre expresados y 123 sub expresados.

Se dividieron los procesos por sus funciones: metabólicos, sistema inmune, señalización a estímulos, reproducción, defensa viral y procesos transcripcionales (celulares, modificaciones, transporte, proliferación, etc.), para fines de este estudio se enfocó únicamente en procesos metabólicos, sistema inmune y algunos involucrados con metilación, daño o modificación al ADN.

De los procesos biológicos de la comparación de almejas silvestres, se detectaron 4 procesos metabólicos; regulación negativa de peptidil-serina y fosforilación oxidativa sobre expresados en la población de BLA F0, y proceso biosintético de cisteína y fosforilación de AMP sub expresados (Figura 18 y 19). Aunado a lo anterior, resaltan los genes *AK9* (adelinato cinasa 9) y *COX 1* (subunidad 1 del citocromo oxidasa) enzimas clave en la fosforilación de AMP y fosforilación oxidativa.

Cabe resaltar que los procesos sub expresados en BLA F0 es indicativo de la sobre expresión de estos procesos en las almejas provenientes de LOL F0. Asimismo, se observaron 7 procesos inmunitarios, 3 sobre expresados y 4 sub expresados, involucrados en reconocimiento de agentes extraños y estimulación de células B como la regulación positiva de interleucina 5 y la quimiotaxis de neutrófilos.

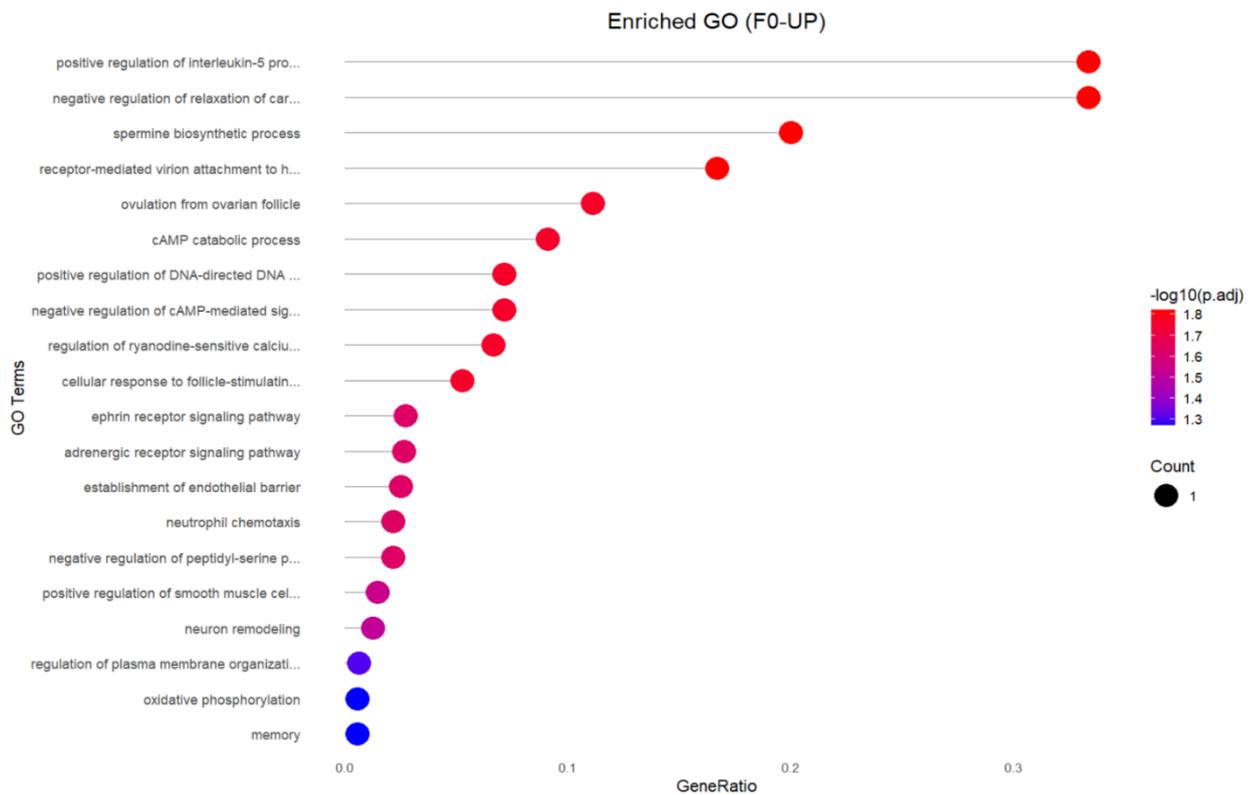


Figura 18. Términos enriquecidos GO de procesos biológicos en genes sobre expresados de almejas silvestres (F0), LOL como control. El tamaño del círculo corresponde al número de genes involucrados en el proceso y el color que tan significativo fue al compararlo con el universo de genes DE.

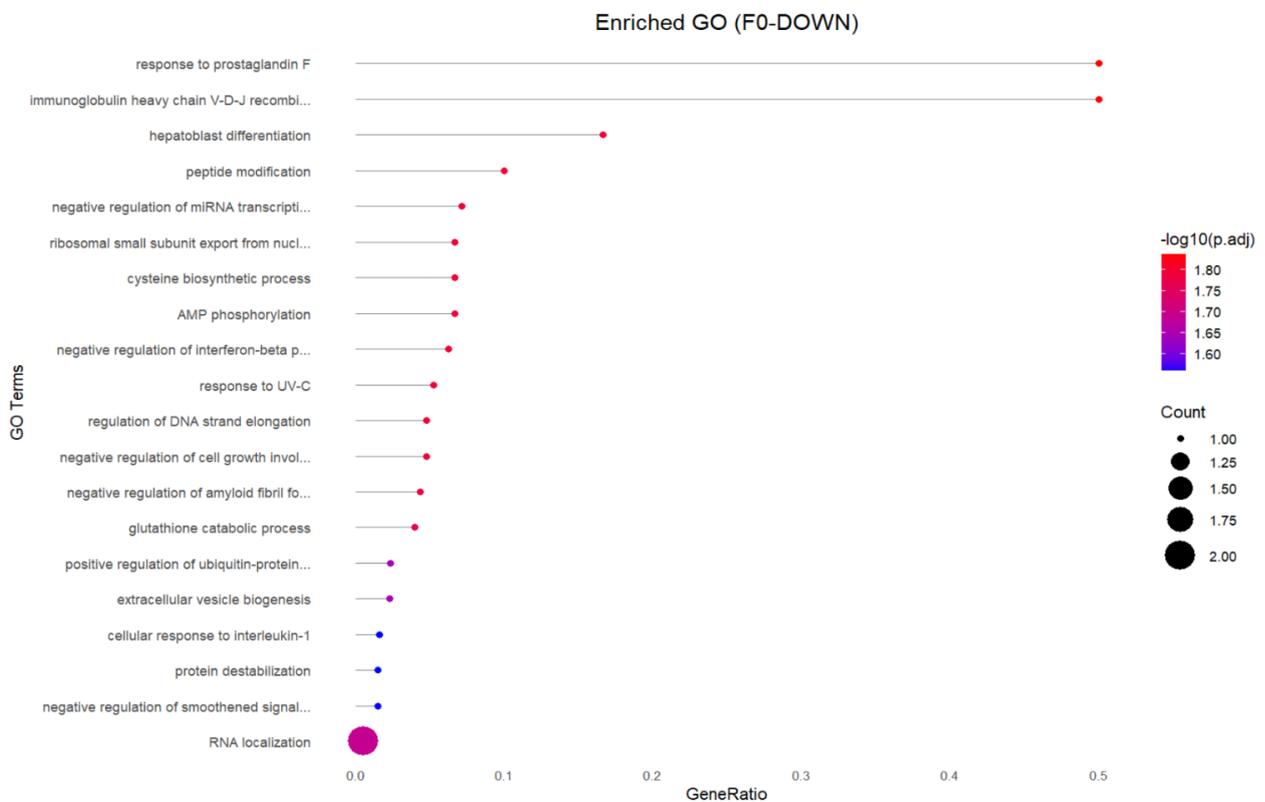


Figura 19. Términos enriquecidos GO de procesos biológicos en genes sub expresados de almejas silvestres (F0), LOL como control. El tamaño del círculo corresponde al número de genes involucrados en el proceso y el color que tan significativo fue al compararlo con el universo de genes DE.

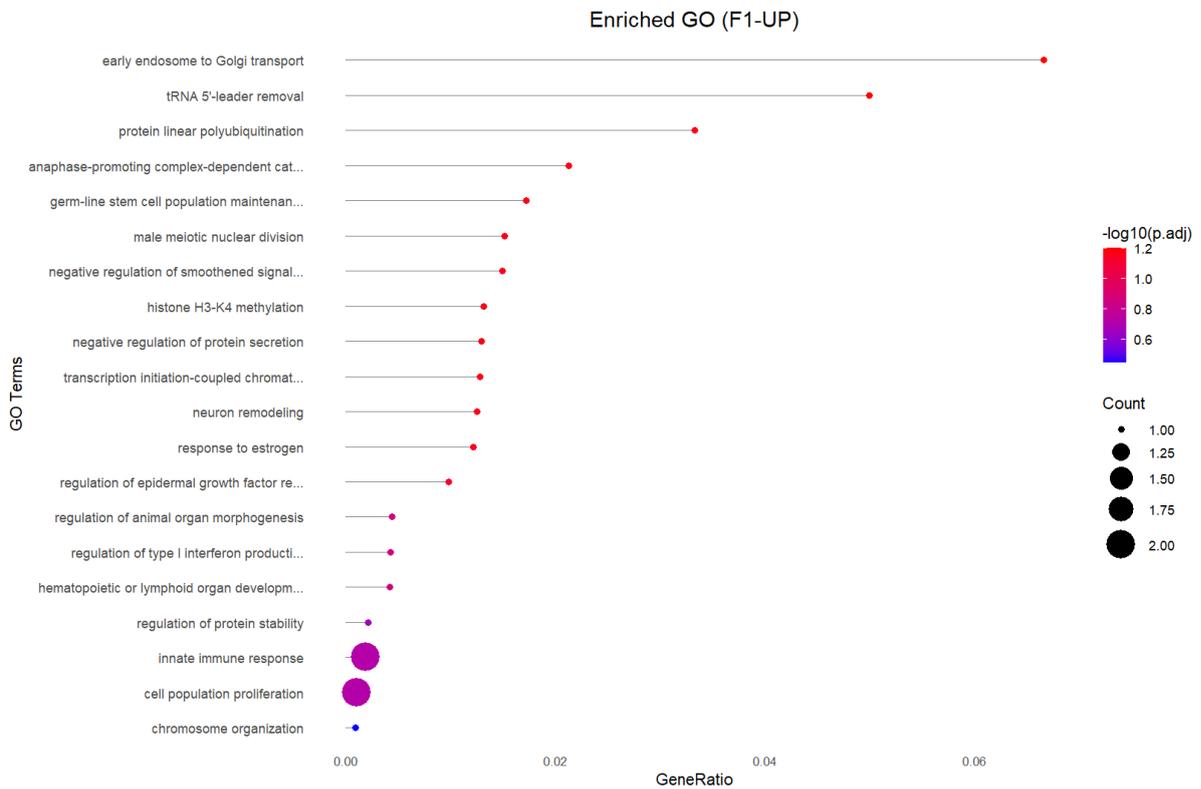


Figura 20. Términos enriquecidos GO de procesos biológicos en genes sobre expresados de almejas cultivadas (F1), LOL como muestra control. El tamaño del círculo corresponde al número de genes involucrados en el proceso y el color que tan significativo fue al compararlo con el universo de genes DE.

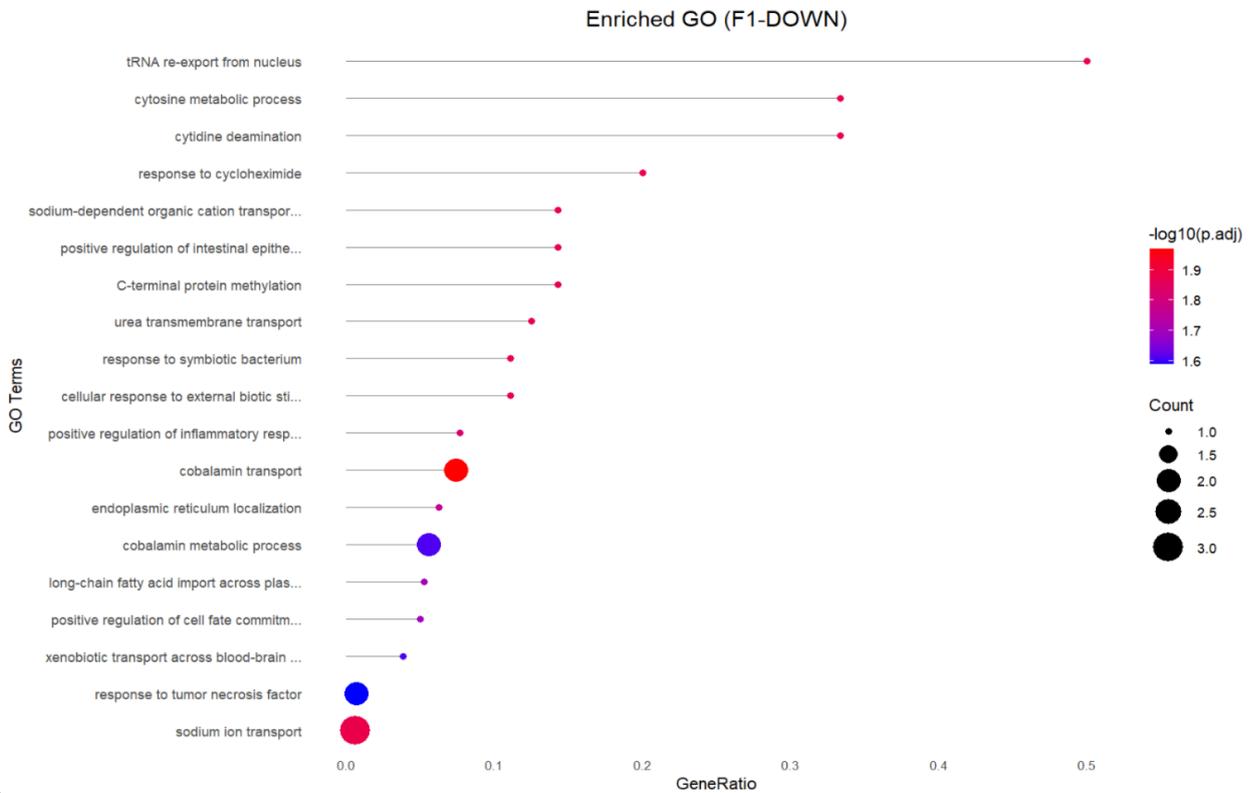


Figura 21. Términos enriquecidos GO de procesos biológicos en genes sub expresados de almejas cultivadas (F1), LOL como muestra control. El tamaño del círculo corresponde al número de genes involucrados en el proceso y el color que tan significativo fue al compararlo con el universo de genes DE.

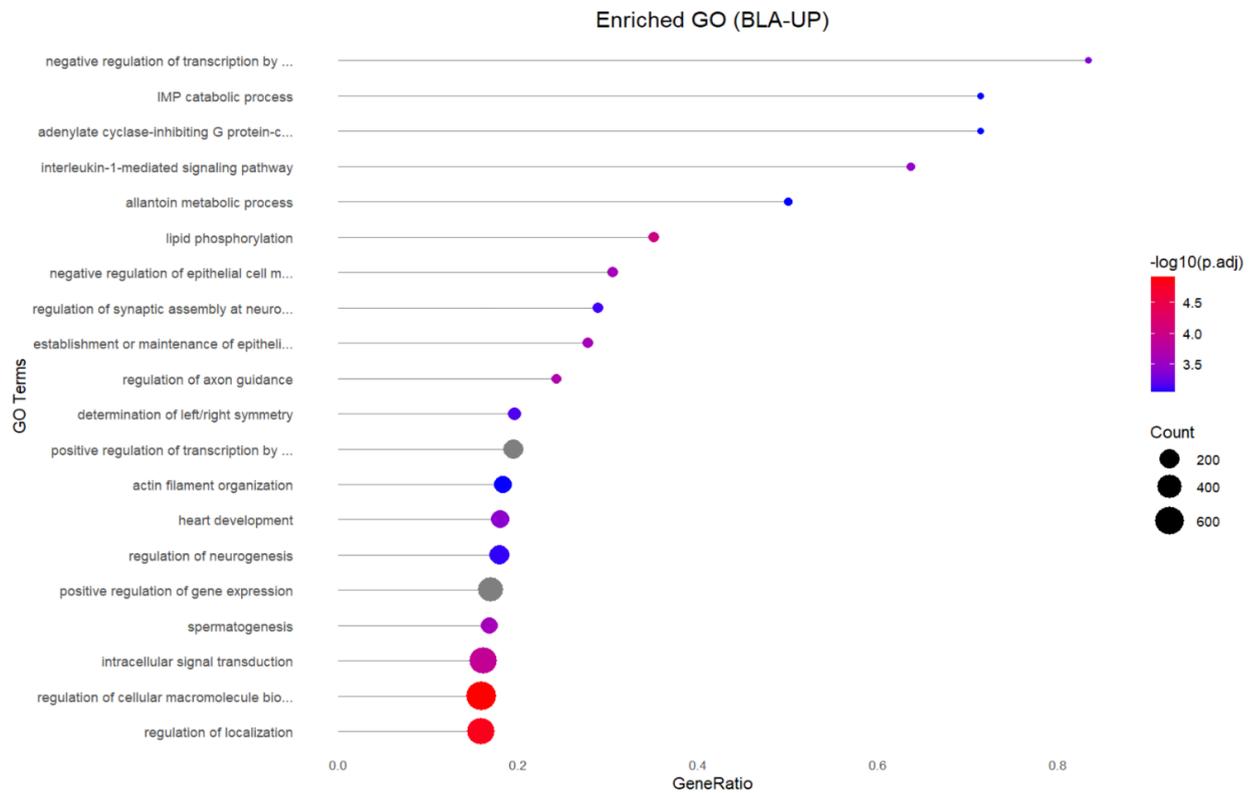


Figura 22. Términos enriquecidos GO de procesos biológicos en genes sobre expresados del contraste entre generación y sitio BLA-F0 vs BLA-F1, los organismos F0 fungieron como control. El tamaño del círculo corresponde al número de genes involucrados en el proceso y el color que tan significativo fue al compararlo con el universo de genes DE.

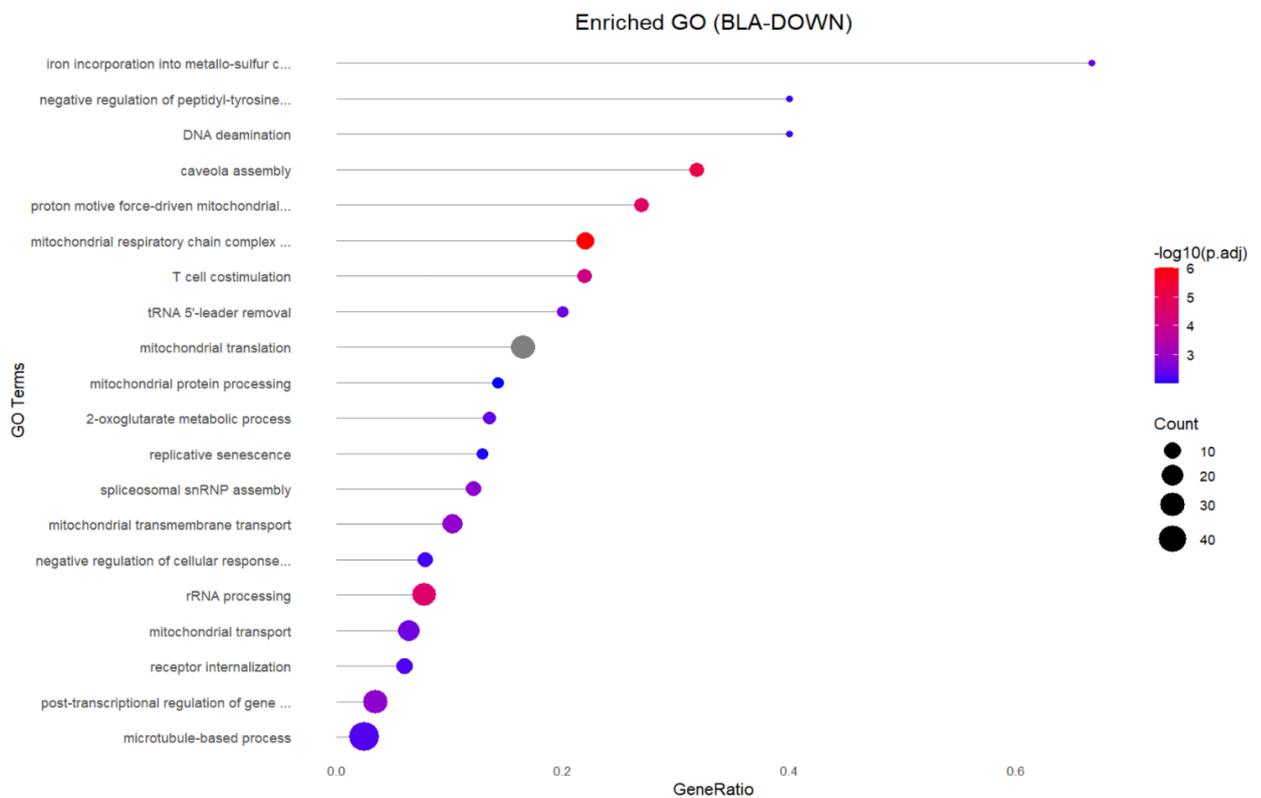


Figura 23. Términos enriquecidos GO de procesos biológicos en genes sub expresados del contraste entre generación y sitio BLA-F0 vs BLA-F1, los organismos F0 fungieron como control. El tamaño del círculo corresponde al número de genes involucrados en el proceso y el color que tan significativo fue al compararlo con el universo de genes DE.

En la comparación de las almejas cultivadas F1, la mayoría de los procesos enriquecidos sobre expresados (Figura 20) están relacionados con modificaciones postraduccionales (metilación de histona y remodelación de la cromatina acoplada a la transcripción), así como procesos de crecimiento epidérmico y morfogénesis.

Se detectaron 6 procesos involucrados en sistema inmune, la mitad presentó una sobre expresión, dentro de los procesos sub expresados resalta la respuesta del factor de necrosis tumoral, donde la supervivencia de la célula se ve comprometida. Únicamente se identificaron los procesos metabólicos de cobalamina y citosina sub expresados en BLA F1 (Figura 21).

Por lo que se refiera a las comparaciones por generación, en el caso de BLA FO versus la generación y sitio BLA F1 utilizando a las almejas silvestres como control se observó que la mayoría de los procesos sobre expresados en BLA F1 eran transcripcionales, involucrados en regulación de proliferación celular epitelial, neurogénesis, entre otros (Figura 22).

Por otra parte, se identificaron sub expresados procesos involucrados en la cadena respiratoria mitocondrial, además de estos resaltaron procesos como la desaminación de ADN y senescencia replicativa (Figura 23).

Únicamente se sobre expreso un proceso de interleucina-1 como vía de señalización de procesos inflamatorios y estimulación de células T como un proceso sub expresado. Dentro de los procesos metabólicos sobre expresados fue el catabolismo y síntesis de purinas.

De modo similar la comparación por generación en LOL obtuvo procesos similares que BLA, se compartieron 19 procesos biológicos enriquecidos, la mayoría sobre expresados en procesos transcripcionales, neurogénesis, regulación positiva de la expresión génica, organización cromosómica y determinación de simetría (Figura 24).

En los resultados de LOL F1 se sobre expreso la regulación negativa de ubiquitinación de H2 K63 y una subexpresión en cambio geométrico de ADN. Además, únicamente se sub expreso la coestimulación de células T como proceso involucrado en sistema inmune (Figura 25).

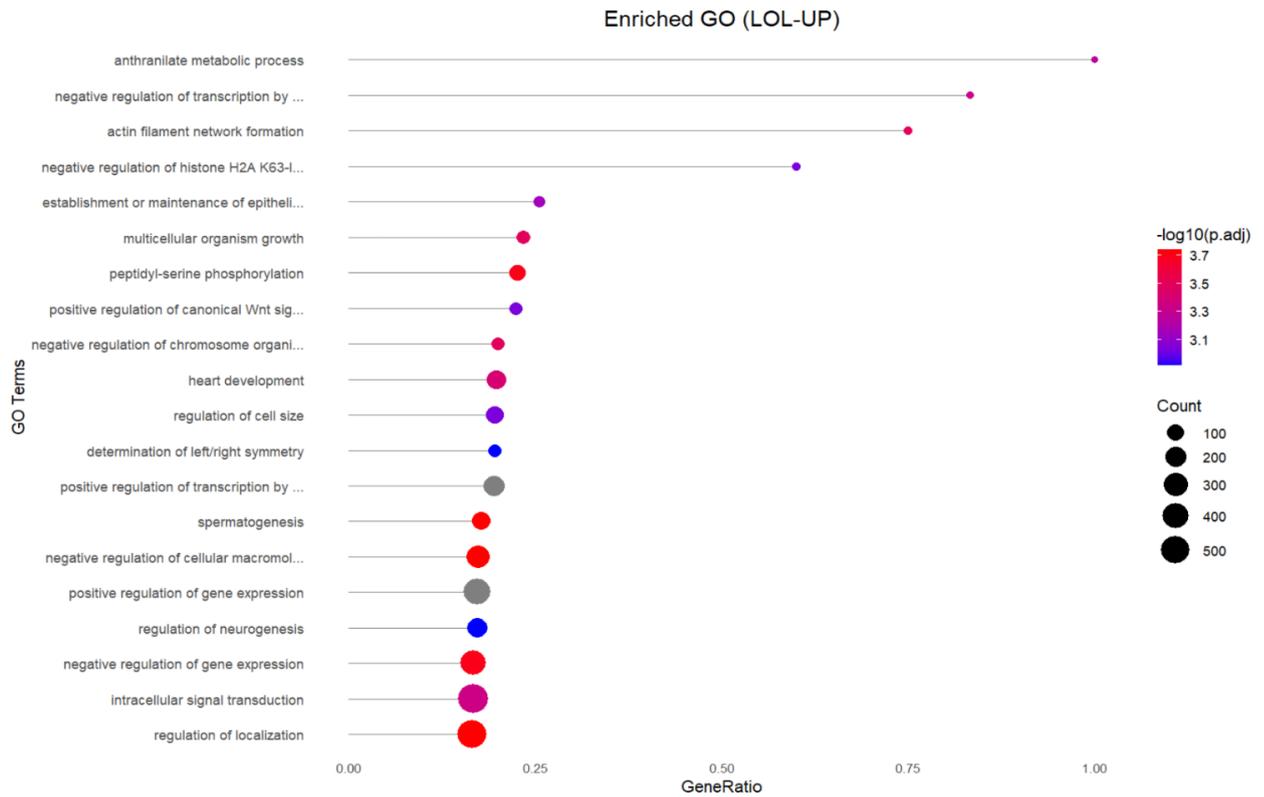


Figura 24. Términos enriquecidos GO de procesos biológicos en genes sobre expresados del contraste entre generaciones LOL-F0 vs LOL-F1, los organismos F0 fungieron como control. El tamaño del círculo corresponde al número de genes involucrados en el proceso y el color que tan significativo fue al compararlo con el universo de genes DE.

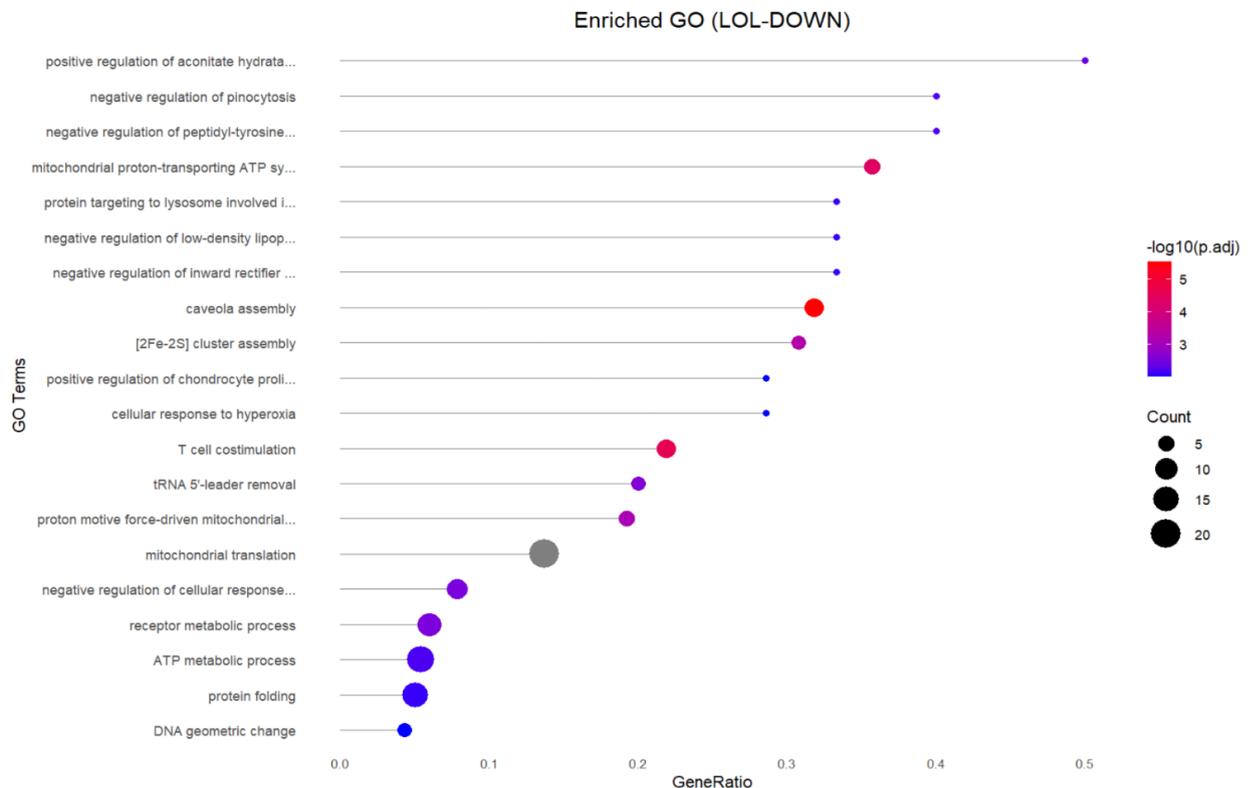


Figura 25. Términos enriquecidos GO de procesos biológicos en genes sub expresados del contraste entre generaciones LOL-F0 vs LOL-F1, los organismos F0 fungieron como control. El tamaño del círculo corresponde al número de genes involucrados en el proceso y el color que tan significativo fue al compararlo con el universo de genes DE.

Capítulo 4. Discusión

Diferencias entre las poblaciones de BLA y LOL silvestres

La comparación entre poblaciones silvestres muestra diferencias en los patrones de expresión y los genes expresados diferencialmente, indicando no solo una divergencia genómica (Ibarra et al., 2005; Valenzuela-Quiñonez et al., en preparación) sino también en los transcritos expresados. Lo cual es de esperarse, ya que los patrones de expresión de los transcritos pueden estar relacionados principalmente con los factores ambientales.

La población de Laguna Ojo de Liebre presentó un mayor número de genes expresados diferencialmente en comparación con Bahía de los Ángeles, siendo LOL la población con menor exposición histórica al estrés por altas temperaturas, en otras palabras, los registros históricos de temperaturas a los que se ha enfrentado la población de Laguna Ojo de Liebre se han mantenido dentro de los límites de temperatura típicos de la especie, con un rango de amplitud térmica menor en comparación con la población de Bahía de los Ángeles. Este resultado sugiere una mayor sensibilidad o capacidad de respuesta de la población de Laguna Ojo de Liebre a las variaciones ambientales, lo que podría deberse a su histórica limitación en la exposición a temperaturas extremas. (Cervantes 1997; Aguila et al., 2000; Joaquín-Mejía, 2022).

Diversos autores reportan el mismo de número de DGE en poblaciones con diferencias térmicas respectivas del sitio, como el estudio transcriptómico de la adaptación a la temperatura en corales *Acropora hyacinthus* (Barshis et al., 2013), en los caracoles *Chlorostoma funebris* (Gleason & Burton, 2015) y en dos poblaciones de *Crassostrea virginica* (Johnson et al., 2021).

A partir de los DGE enriquecidos se identificaron diversos procesos biológicos, donde los procesos transcripcionales fueron los que tuvieron mayor presencia seguido de la señalización a estímulos y sistema inmune, estos últimos procesos suelen enriquecerse mayormente en estudios realizados en organismos provenientes de campo (Sandoval-Castillo et al., 2020; Johnson et al., 2021).

La mayor sobreexpresión y significancia estadística de los procesos transcripcionales, como: localización de ARN, biogénesis y remodelación neuronal, puede atribuirse a la etapa juvenil de las almejas en el momento del muestreo. Además, la viabilidad de estas almejas puede haberse mantenido debido a que las temperaturas en los sitios de colecta no superaron los límites máximos de temperatura letal (Sicard, 2023, comunicación personal).

BLA exhibió una sobre expresión en interleucina 5 en comparación con las almejas provenientes de LOL, las cuales tuvieron un enriquecimiento en interleucina 1. Las interleucinas tienen un papel fundamental en la respuesta inmune innata, ya que interleucina 5 se encarga de la estimulación de células B-1 induciendo así una mayor producción de anticuerpos naturales (Takatsu et al., 2005), por otra parte, interleucina 1 contribuye en diferentes niveles, desde la producción de enzimas degradadoras como respuesta inflamatoria inmediata hasta la activación y respuesta de linfocitos (Qi et al., 2019; Boraschi, 2022).

Este tipo de citocinas se ha registrado que tiene gran participación en la respuesta inmune en invertebrados marinos, siendo la interleucina 17 la mayor documentada en hemocitos como respuesta temprana ante patógenos en especies como *Crassostrea gigas* (Roberts et al., 2008) y en el transcriptoma de branquia de la almeja *Patinopecten yessoensis* sometida a fluctuaciones de temperatura (Jiang et al., 2018).

Diversos estudios fisiológicos han establecido vínculos significativos entre la tolerancia térmica y el alcance aeróbico en los ectotermos marinos. Cuando se restringe el suministro de oxígeno, los ectotermos exhiben una marcada disminución en su capacidad para tolerar cambios de temperatura (Pörtner, 2002; Jiang et al., 2018; Johnson et al., 2021). Estas investigaciones han enfatizado la vital importancia de los procesos metabólicos en la capacidad de adaptación de los ectotermos marinos a diversas condiciones térmicas.

En la población de BLA silvestres se sobre expresaron procesos metabólicos como; la regulación negativa de proteínas que contienen peptidil-serina y la fosforilación oxidativa. El gen *COX1* (subunidad 1 del citocromo c oxidasa 1) impulsa la fosforilación oxidativa al aprovechar la reducción del consumo de oxígeno para generar enlaces de fosfato con una alta energía en forma de ATP (trifosfato de adenosina) (Deshpande & Mohiuddin, 2023; Uniprot, 2023).

Los procesos sub expresados en BLA F0 fue la biosíntesis de la cisteína, involucrada en la síntesis de glutatión un importante antioxidante, además la cisteína es uno de los sustratos clave en la vía de la biosíntesis de metionina (Fujishima et al., 2018). El segundo proceso sub expresado de gran importancia fue la fosforilación de AMP, dicho proceso desempeña un papel clave en la síntesis y degradación de ATP, donde el gen *AK9* (adenilato cinasa 9) cataliza la interconversión de nucleósidos fosfatos (Steinberg & Carling, 2019; Uniprot, 2023).

Los resultados de este estudio se relacionan estrechamente con investigaciones previas, como el trabajo realizado por Garvin et al. (2015) sobre RNA-seq en las branquias de la trucha de banda roja (*Oncorhynchus mykiss gairdneri*). En dicho estudio, se destacó la estrategia de una mejor respiración

mediante la fosforilación oxidativa, que se identificó como un mecanismo crucial de adaptación en ectotermos expuestos a entornos con bajos niveles de oxígeno debido al aumento de la temperatura. Esta estrategia metabólica permite a los organismos optimizar la producción de energía incluso en condiciones de baja disponibilidad de oxígeno, lo cual es esencial para su supervivencia y adaptación (Garvin et al., 2015).

Nuestros resultados encuentran respaldo en estudios fisiológicos de crecimiento en *N. subnodosus* a través de experimentos de trasplante recíproco. En estos experimentos, se observó una respuesta más eficiente en la tasa respiratoria y el crecimiento de las almejas provenientes del Golfo de California en comparación con la población del Pacífico (Koch et al., 2015; Purce et al., 2020). Estos hallazgos indican una capacidad diferencial para ajustar las tasas respiratorias en función de las condiciones locales, lo que confirma la notable plasticidad adaptativa de las almejas frente a las variaciones ambientales de su respectivo sitio.

En resumen, estos estudios subrayan la importancia crítica de la fosforilación oxidativa (OXPHOS) como una estrategia metabólica clave en la adaptación de los ectotermos a entornos desafiantes con bajos niveles de oxígeno, como aquellos generados por los incrementos de temperatura. Estos mecanismos metabólicos, junto con la capacidad de ajustar las tasas respiratorias según las condiciones locales, proporcionan una visión integral de la capacidad de las almejas para hacer frente a los cambios ambientales, resaltando así la complejidad de sus respuestas de aclimatación.

Por lo tanto, se puede inferir que las almejas de la población BLA silvestres son más resilientes a las variaciones térmicas debido a la estrategia metabólica por OXPHOS en comparación con la población de LOL ubicada en el Pacífico.

Durante la disección de las branquias se observó que las almejas silvestres no presentaban diferencias significativas en su crecimiento. Los juveniles provenientes de Bahía de los Ángeles, en el Golfo de California, tenían una altura de concha promedio de 7.4 cm, mientras que las almejas de Laguna Ojo de Liebre, en el Pacífico, tenían una altura de concha de 7.3 cm; ambas poblaciones mantenían un ancho de concha promedio de 7.7 cm (Sicard, 2023, comunicación personal). Estas observaciones sugieren que cada población podría estar aplicando estrategias específicas en su tasa respiratoria para alcanzar su talla de crecimiento, como lo mostraron los resultados de los genes sobre expresados relacionados con la fosforilación oxidativa en la población de BLA y fosforilación de AMP en LOL para la compensación al gasto energético.

Aunado a lo anterior, la productividad primaria de cada sitio se revela como un factor crucial a considerar. Por ejemplo, Bahía de los Ángeles exhibe el doble de concentración de clorofila a en

comparación con Laguna Ojo de Liebre (Muñoz et al., 1991; Delgadillo-Hinojosa et al., 2002; Martínez, 2005), lo que podría actuar como un mecanismo de compensación ante la mayor variabilidad y amplitud de temperaturas registradas en Bahía de los Ángeles. Esta variación en la productividad primaria se convierte en un factor determinante, ya que influye directamente en las reservas de energía acumuladas, las cuales son fundamentales para el crecimiento y la actividad reproductiva de las almejas. La capacidad de compensar el gasto energético metabólico utilizado en la tolerancia térmica se ve influenciada por la productividad primaria del entorno, lo cual, a su vez, impacta el crecimiento de estos organismos (Arellano-Martinez et al., 2004; Koch et al., 2015).

Lo anterior se puede respaldar con lo observado en este estudio, donde la población con mayor productividad primaria (BLA) emplea una estrategia por medio de gen *COX1* que le permite seguir produciendo energía a partir de la disminución de oxígeno por las altas temperaturas, en comparación con LOL donde se tiene una menor productividad primaria y la población debe utilizar estrategias como el caso de la fosforilación de AMP para la obtención de energía

Diferencias entre las poblaciones de BLA y LOL cultivadas

Los organismos utilizados en el presente estudio representan el 35% de supervivencia de almejas cultivadas, procedentes de 7 familias, 4 de la población de LOL, donde la mitad eran medios hermanos. Mientras que las otras 3 familias eran de hermanos completos, originados en Bahía de los Ángeles (BLA) (Sicard, 2023, comunicación personal). Por lo cual, es probable que haya ocurrido una reducción en la variabilidad genética en las almejas F1, resaltando la importancia de comprender las implicaciones genéticas en los resultados del estudio, y subrayando la necesidad de considerar el contexto genético al interpretar las observaciones y conclusiones derivadas de las muestras obtenidas (Curran et al., 2003). Esta reducción en los valores de diversidad es común debido al bajo número de reproductores (Honaas et al., 2016; Li et al., 2021).

Los patrones de expresión génica se mostraron con mayor similitud entre las poblaciones F1, independientemente de la asimilación genética (fenotipos fijos que divergen entre poblaciones) de la población silvestre congénere. Este fenómeno se observó al analizar un menor número de DGE al comparar únicamente las poblaciones de la generación F1, caso contrario al compararse con almejas silvestres del mismo sitio. Dicho patrón indica una homogeneización en la expresión genética cuando ambas poblaciones F1 fueron sometidas a un *common garden*, donde las condiciones abióticas eran idénticas.

Este tipo de respuesta plástica se ha observado en otros estudios. Por ejemplo, un experimento de *common garden* realizado con poblaciones de *Oncorhynchus mykiss gairdneri*, reveló que los patrones

de expresión génica se agrupaban principalmente según el tratamiento o la condición control de temperatura (Narum & Campbell, 2015). Sin embargo, una vez que las condiciones de temperatura superaban los límites máximos de la especie, se observaron diferencias en la expresión génica entre las poblaciones, como se evidenció en un estudio sobre la generación F1 de dos poblaciones de *Crassostrea gigas* provenientes de distintas zonas de mareas (Li et al., 2018), o en el caso de dos poblaciones de la ostra perla *Pinctada margaritifera*, donde la temperatura de exposición alcanzó los 32 y 34°C, considerado el límite máximo de temperatura para la especie (Le Luyer et al., 2022).

Estos hallazgos establecen una conexión entre la plasticidad fenotípica y la divergencia evolutiva de cada población. La capacidad de las poblaciones para mostrar adaptaciones específicas en respuesta a condiciones ambientales cambiantes subraya la complejidad y la importancia de la plasticidad fenotípica en la adaptación y la aclimatación de los organismos marinos.

La mayoría de los procesos biológicos enriquecidos en la generación F1 están involucrados con procesos postraduccionales como; remodelación de cromatina, destino celular, regulación de factores de crecimiento y morfogénesis. Lo anterior se relacionó con la talla y edad de los juveniles de cada población F1, ya que se registraron medidas promedio de 4.3 cm de altura de concha y 4.8 cm de ancho para LOL F1, mientras que la altura promedio de las almejas BLA F1 fue de 4.2 cm y 4.3 cm de ancho (Sicard, 2023, comunicación personal).

Uno de los procesos biológicos más interesantes para este estudio fue la sobre expresión de la metilación de la histona H3-K4 en BLA F1 respecto a LOL F1, en dicho proceso interviene el gen *ASH2L* (subunidad del complejo de histona metiltransferasa Set1/Ash2), un regulador transcripcional cuya función es el reclutamiento de complejos metiltransferasa en genes promotores (Uniprot, 2023), asimismo se ha descrito que la presencia de marcas epigenéticas como H3K4me3 en regiones específicas del genoma no solo indica la actividad transcripcional actual y media la plasticidad térmica del desarrollo, sino que también puede tener implicaciones a largo plazo. Por ejemplo, durante el desarrollo y la diferenciación celular, las células pueden "evocar" su estado de diferenciación anterior a través de marcas epigenéticas como H3K4me3. Estas marcas actúan como una especie de "memoria transcripcional", influenciando cómo los genes se regulan y se expresan en estados de diferenciación posteriores (Gu & Lee, 2013; Sha et al., 2020; Loughland et al., 2021).

Por otra parte, se enriquecieron 6 procesos relacionados con la respuesta inmune, la mitad de ellos sobre expresados en BLA F1 como; poliubiquitación lineal, regulación de la producción de interferón tipo I y respuesta innata. Mientras que en el caso de LOL F1 se enriqueció la desaminación de citidina, regulación positiva a la inflamación y respuesta celular al factor de necrosis tumoral (TNF por sus siglas

en inglés). El TNF es conocido por establecer una respuesta inflamatoria, principalmente promoviendo la activación de genes inflamatorios a través de las vías de señalización MAPK y NF- κ B. Sin embargo, es importante destacar que un exceso de señal de TNF puede ser perjudicial y, en algunos casos, letal para el huésped, ya que puede desencadenar la vía de muerte celular como respuesta a un patógeno o estrés celular (Van Loo & Bertrand, 2022).

Además, se ha reconocido a TNF como una de las principales respuestas de vía de señalización inmune en diferentes estudios de estrés térmico en ectotermos marinos, ya sea por estrés, por fluctuaciones de temperatura como el caso de la almeja *Patinopecten yessoensis* (Jiang et al., 2018), el estrés térmico agudo y crónico en *Panopea globosa* (Juárez et al., 2018) y en temperaturas letal media superior en almeja arca (*Scapharca subcrenata*) (Ning et al., 2021). Aunado a lo anterior, se puede deducir que la población de la generación F1 de LOL crecida en LOL es más susceptible a patógenos en temporada cálida en comparación con BLA F1 crecida en LOL.

Si bien, únicamente se enriquecieron dos procesos metabólicos: proceso metabólico de la citosina, involucrado en la síntesis y modificaciones de ácidos nucleicos, y metabolismo de cobalamina, participando como una coenzima clave en vías citosólicas y mitocondriales (Balabanova et al., 2021; Hayaishi & Kornberg, 1952). Ambos procesos mencionados anteriormente estuvieron sobre expresados en LOL F1. Otro proceso de gran relevancia para este trabajo fue el transporte transmembranal de urea, mediado por el gen *DUR3-1* como un transportador activo de urea (Uniprot, 2023).

El transportador transmembranal de urea es un proceso mediante el cual la urea, un compuesto soluble en agua $H_2N-CO-NH_2$, se transfiere de un lado de una membrana al otro, facilitado por un agente como un transportador o un poro. En las especies acuáticas, la excreción de desechos nitrogenados ocurre principalmente en las branquias. Estas estructuras, al estar directamente expuestas al medio acuático circundante desempeñan un papel crucial en la eliminación eficiente de sustancias nitrogenadas, como la urea del organismo (Weihrauch et al., 2009).

Lo anterior, se relaciona con los resultados fisiológicos obtenidos de Purce et al. (2020) en el trasplante recíproco de dos poblaciones *N. subnodosus*, donde las poblaciones del Pacífico exhibieron un mayor gasto de energía en los meses de post verano en comparación con las poblaciones del Golfo de California, ambas cultivadas en el Pacífico (Purce et al., 2020). Los organismos marinos expuestos a algún estresor térmico suelen mostrar un incremento en sus tasas metabólicas, que involucra un mayor consumo de oxígeno y excreción de amonio en comparación con los organismos que se

mantienen en sus óptimos de temperatura (Baojun et al., 2005; Saucedo et al., 2004; Juárez et al., 2018).

Estos hallazgos resaltan las diferencias en la regulación de la respuesta inmune y metabólica entre las poblaciones BLA F1 y LOL F1, lo que sugiere que a pesar de la similitud en los patrones de expresión al realizar la comparación entre ellas se pueden observar procesos vinculados a las adaptaciones específicas a su entorno y condiciones ambientales.

Diferencias entre la generación y sitio F0 y F1 de BLA

A partir de los resultados previos, es importante resaltar que hubo un mayor crecimiento en almejas LOL F1 en comparación con BLA F1 a pesar de que la tasa respiratoria fue menor en las poblaciones de BLA respecto a LOL independientemente de la generación y que las almejas provenientes de BLA F0 eran más grandes que las provenientes de LOL F0. Lo anterior, difiere con estudios de reto térmico en donde se exhibe que a mayor tasa metabólica menor crecimiento (Li et al., 2018; Purce et al., 2020). No obstante, si bien la temperatura juega un papel crucial en este estudio, la similitud en el crecimiento en las almejas BLA F1 y LOL F1 puede verse influenciada por la disponibilidad de alimento en LOL o por la diferencia de talla de BLA F1 respecto BLA F0 (Muñoz et al., 1991; Delgadillo-Hinojosa et al., 2002; Martínez, 2005).

La mayoría de los genes sobre expresados en BLA F1 corresponden a procesos que disminuyen la proliferación celular epitelial, neurogénesis y procesos transcripcionales. Algunas vías de señalización que inhiben la actividad de adenil ciclasa lo que conlleva a una disminución intracelular de AMPc (segundo mensajero utilizado en la transducción de señales) (Liu et al., 2021).

Dentro de los procesos que resaltaron fue el establecimiento del plano corporal para la determinación de la simetría del organismo. Por lo que se infiere que las almejas de BLA F1 eran más jóvenes que la BLA F0, ya que probablemente se estaban finalizando procesos de desarrollo de tejidos, lo anterior se corrobora con los datos fisiológicos en donde las tallas de los juveniles fueron menores a 5cm de altura promedio de concha (Sicard, 2023, comunicación personal) y con otros procesos biológicos enriquecidos de señalización como; proceso de quimiotaxis de los conos de crecimiento del axón y la transducción celular.

Únicamente se sobre expresó un proceso de interleucina 1 como vía de señalización de procesos inflamatorios y sistema inmune en BLA F1, proceso que comparte con las almejas silvestres de las distintas poblaciones, donde se observó sub expresada en BLA F0 mientras que en BLA F1 se sobre expreso respecto a BLA F0 por lo que la población de BLA si bien emplea la expresión de interleucinas

depende la amplitud y la variación térmica con respecto a la sobre expresión del proceso del sistema inmune. Mientras que la estimulación de las células T se sobre expreso en BLA F0, dicha estimulación de las células T se inicia en los tejidos linfoides secundarios, donde las células T interactúan con las células presentadoras de antígenos (APC). Misma que activa dos señales coordinadas: la primera a partir del receptor de células T (TCR) y la segunda por las APC a través de los ligandos coestimuladores (Glinos et al., 2020). Esta interacción entre las células T y las APC es crucial para desencadenar una respuesta inmunitaria eficaz, ya que asegura que la activación de las células T se produzca de manera adecuada y se evite la activación no deseada. A partir de lo anterior se puede inferir que existió una mayor respuesta en genes involucrados en sistema inmune en almejas silvestres en comparación a las almejas cultivadas en LOL.

En BLA F1, se ha observado una sobreexpresión de los procesos metabólicos relacionados con el catabolismo y la síntesis de purinas, a través de los procesos de metabolismo de alatoína, que actúa como un producto intermedio o final del catabolismo de purinas (Selamoglu, 2018), y el proceso catabólico del monofosfato de inosina. Este último participa como un factor clave en la síntesis de purinas y es precursor tanto del AMP (adenosín monofosfato) como del GMP (guanosín monofosfato) (Lovászi et al., 2021).

La significativa sobre expresión de estos procesos metabólicos, específicamente en el metabolismo de purinas, ha sido observada en el estudio transcriptómico de la almeja manila *Ruditapes philippinarum*. Estos hallazgos sugieren que las vías metabólicas, en particular el metabolismo de purinas, desempeñan un papel crucial en la adaptación fisiológica y respuesta de las almejas al estrés térmico (Jahan et al., 2022).

Los procesos sub expresados en BLA F1, es decir, que tuvieron una sobre expresión en BLA F0 se encuentran involucrados en formación de complejos de la cadena respiratoria mitocondrial, transporte de protones a través de la membrana mitocondrial para impulsar la síntesis de ATP, y el metabolismo del 2-oxoglutarato, un metabolito clave en el ciclo del TCA y en el metabolismo del nitrógeno (Araújo et al., 2014; Berry et al., 2018; Sousa et al., 2018).

Estudios previos en peces y moluscos han demostrado que los complejos mitocondriales juegan un papel crucial en la adaptación térmica de los organismos, se cree que estas adaptaciones están impulsadas por cambios en la maquinaria respiratoria mitocondrial en los complejos I, III y IV (Garvin et al., 2015; Sousa et al., 2018). El complejo I, es especialmente relevante debido a su función regulatoria de la apoptosis y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). Esto se debe a que

cataliza la entrada de electrones en las mitocondrias, lo que representa un punto crítico en el flujo de energía de los organismos ectotermos (Le Luyer et al., 2022).

Lo anterior podría ser un indicador del estado en el que se encontraban las almejas silvestres respecto a los cultivados. Dado que la mayoría de los procesos vinculados a la cadena respiratoria mitocondrial y la síntesis de ATP exhibieron una mayor presencia en las poblaciones silvestres, se podría inferir que, aunque BLA F0 utiliza estrategias de compensación para enfrentar fluctuaciones y contrarrestar el gasto energético, experimentaron un mayor estrés en comparación con la población BLA F1 cultivada en LOL, que creció en un entorno con una mayor estabilidad en las variaciones térmicas.

Si bien, la estrategia de BLA F0 en la respiración a partir de OXPHOS amortigua el costo energético ante el estrés térmico, al compáralo con la generación BLA F1 se sobre expresaron procesos indicativos de daño celular como: desaminación del ADN, proceso mediado por los genes *EXOS4* y *EXOS5* ambos componentes de complejos exosómicos que participan en degradación y procesamiento de ARN celular (Kow, 2002; Uniprot, 2023), y el proceso de senescencia replicativa, proceso de detención irreversible del ciclo celular desencadenada por telómeros críticamente acortados, dicho proceso es mediado por los genes *CTC1*, *ROMO1*, *WRN* y *ATR* los cuales participan en la reparación del daño al ADN y protección de los telómeros (Kudlova et al., 2022; Sun et al., 2019). Por lo tanto, se infiere la existencia de un daño al celular en BLA F0 ocasionado por ROS ante el estrés térmico y la participación de varios genes que intervienen con los complejos mitocondriales para mitigar el estrés térmico por medio de la respiración a través de la oxidación fosforilativa, así como de complejos de reparación y prevención a daño al ADN.

Diferencias entre la generación F0 y F1 de LOL

La comparación por generación entre las almejas provenientes de Laguna Ojo de Liebre (LOL), fue donde se presentó un mayor número de DGE, siendo las únicas variables la generación y la talla de los organismos (Sicard, 2023, comunicación personal). No obstante, como se mencionó previamente en la comparación con silvestres y respaldado con otros estudios se ha observado que especies con menor exposición histórica al estrés por temperatura suelen presentar una mayor regulación positiva de genes (Barshis et al., 2013; Gleason & Burton, 2015; Johnson et al., 2021).

De forma similar a BLA F1, en las almejas LOL F1 la mayoría de los procesos biológicos sobre expresados corresponden a una disminución en la tasa de transcripción, expresión y organización cromosómica. Igualmente, se identificaron procesos relacionados con desarrollo y regulación de neurogénesis, todos los anteriores relacionados con la finalización de procesos de desarrollo y crecimiento de los juveniles.

Uno de los procesos sobre expresados más importantes en LOL F1 respecto a LOL F0 fue la regulación negativa en la ubiquitinación de la histona 2 unida a K63 mediada por los genes *TRIPC* (E3 ubiquitina-proteína ligasa TRIP12) y *UBR5* (E3 ubiquitin-protein ligase UBR5) los cuales participan en la regulación de la homeostasis celular ante el daño al ADN, al suprimir la proteína RNF68 previniendo la propagación incontrolada de ubiquitinación de histonas específicamente de H2A (Aquila & Atanassov, 2020; Lee et al., 2021; Liu et al., 2018). La actividad de ubiquitinación ligada a K63 se ha observado en estudios del sistema inmune en peces acuícolas como la corvina parda (*Miichthys miiuy*) y en el pez cebra (*Danio rerio*) al participar en la regulación positiva de la respuesta inmune innata frente agentes patógenos (Jin et al., 2019; Li et al., 2023). Lo anterior puede ser un indicador de una mayor susceptibilidad de las poblaciones LOL F1 respecto a LO F0 en relación con la maquinaria de reparación de ADN.

Únicamente se identificó la coestimulación de células T como un proceso sobre expresado en LOL F0 comparado con LOL F1, como se había mencionado anteriormente este tipo de coestimulación hace posible la interacción entre los receptores de las células T (TCR) y las células presentadoras de antígeno (APC) (Glinos et al., 2020). Estos hallazgos podrían inferir que los organismos silvestres tuvieron una mayor respuesta inmune que las almejas F1, estudios previos en *Crassostrea virginica* y *Pinctada fucata martensii* mencionan que la edad puede fungir como un factor ante una mayor o menor respuesta de genes involucrados en defensa inmune, no obstante de forma contraria a nuestros resultados en LOL F1, las ostras más jóvenes (>1.5 años) de *P. fucata* exhibieron una mayor respuesta de genes involucrados actividades antioxidantes y proteínas de choque térmico que ostras con una mayor edad (>2.5 años) (Adzigbli et al., 2019; Johnson et al., 2021).

Los procesos metabólicos sobre expresados en LOL F0, de manera similar a BLA F0, estaban relacionados con la cadena respiratoria mitocondrial. Estos procesos incluían la formación de proteínas mitocondriales, la transferencia de electrones por grupos [2Fe-2S] y la síntesis de ATP mitocondrial impulsada por la fuerza motriz de protones.

Dichas actividades metabólicas están directamente involucradas en la producción de ATP, que es la principal fuente de energía para las células (Dunn & Grider, 2023; He et al., 2010). Este aumento en la producción de ATP sugiere un incremento en la tasa metabólica en LOL F0, indicando una mayor actividad celular y necesidad de energía.

Nuestros resultados se alinean con lo reportado en estudios fisiológicos sobre el trasplante recíproco de poblaciones de *N. subnodosus*. En estos estudios, se observó un aumento significativo en la tasa

respiratoria de la población del Pacífico, lo que indica un incremento en el metabolismo y la actividad celular en respuesta a condiciones específicas del entorno (Koch et al., 2015; Purce et al., 2020).

Nuestros hallazgos refuerzan la idea de que las poblaciones de almejas tienen adaptaciones metabólicas específicas en diferentes entornos, lo que les permite hacer frente a las demandas energéticas variables y las condiciones ambientales cambiantes.

*Plasticidad fenotípica en las poblaciones y generaciones de *N. subnodosus**

La plasticidad fenotípica, definida tradicionalmente como la capacidad de un genotipo para generar fenotipos alternativos en diferentes condiciones ambientales, se extiende a la variación fenotípica inducida ambientalmente (Pigliucci, 2001). Esta variación fenotípica puede ser tanto positiva como negativa en términos de adaptabilidad potencial y está influenciada por la arquitectura genética subyacente (Ghalambor et al., 2015; Scheiner, 2003). La plasticidad fenotípica se manifiesta en tres tipos principales: la plasticidad del desarrollo, la reversible o aguda, y la plasticidad transgeneracional (Angilletta, 2009; Munday et al., 2013; Donelson et al., 2018).

Estudios poblacionales en ectotermos marinos provenientes de sitios con temperaturas variables han revelado diferencias significativas en la expresión génica entre las poblaciones. Específicamente, la población que está más expuesta a temperaturas variables muestra una respuesta más eficiente al aumento de la temperatura y un menor gasto energético en comparación con las poblaciones de entornos más estables (Johnson et al., 2021, Barshis et al., 2013). Este fenómeno sugiere la presencia de una plasticidad fenotípica notable que les permite adaptarse a condiciones ambientales cambiantes. Además, se ha observado que la mayoría de los genes responsables de esta plasticidad fenotípica están relacionados con procesos clave como la cadena respiratoria mitocondrial y el sistema inmune ((Adzibli et al., 2019; Garvin et al., 2015).

La importancia de la cadena respiratoria mitocondrial subraya la capacidad de estas poblaciones para optimizar la producción de energía en respuesta a variaciones de temperatura. Finalmente, la activación diferencial de genes del sistema inmune sugiere una respuesta adaptativa para hacer frente a posibles desafíos patógenos que podrían surgir en contextos de cambios de temperatura (Le Luyer et al., 2022; Narum & Campbell, 2015).

A partir de lo anterior, se puede definir como un factor clave a la plasticidad fenotípica en las poblaciones y generaciones de Golfo de California (BLA) y Pacífico (LOL) para poder ajustar sus perfiles de expresión ante las variables ambientales de los sitios. En donde se concluye que cada población silvestre posee una estrategia específica de enantiostasis (capacidad de un organismo vivo de

conservar sus funciones fisiológicas y metabólicas ante un ambiente inestable), en las que intervienen mecanismos complejos, más allá de la respuesta ante las variaciones de temperatura de cada sitio.

Mientras que en la generación F1, si bien sigue compartiendo genes de sus parentescos, los perfiles de expresión fueron homogéneos en genes involucrados con la respuesta a la aclimatación y postranscripcionales en ambas poblaciones al cultivarse en un sitio con las mismas variables ambientales.

Estos hallazgos resaltan la notable plasticidad adaptativa de los ectotermos marinos y cómo su expresión génica diferencial, especialmente en áreas clave como la respiración y la inmunidad, les confiere la capacidad de enfrentar y adaptarse a entornos fluctuantes, permitiéndoles así sobrevivir y prosperar en condiciones cambiantes del medio ambiente marino.

Es fundamental reconocer ciertas limitaciones en este estudio, especialmente al considerar que se llevó a cabo con organismos provenientes del campo. Una de las limitaciones principales se relaciona con las diferencias en los tamaños y los períodos de muestreo entre las poblaciones. Las almejas silvestres se capturaron en pleno verano (julio y agosto), mientras que las almejas cultivadas en LOL se muestrearon después del verano (octubre). Estas diferencias temporales podrían haber introducido variabilidad en los datos, ya que las condiciones ambientales podrían haber cambiado entre los períodos de muestreo.

Un factor adicional que pudo influir en las diferencias observadas en las respuestas transcriptómicas es la disparidad en la talla entre las poblaciones silvestres y las cultivadas en LOL. Aunque la edad exacta de los organismos silvestres es desconocida, se observó que eran más grandes en comparación con las almejas cultivadas. Además, se debe tener en cuenta la reducción en la variabilidad genética de las almejas F1 en comparación con las almejas F0. Esta variación en el tamaño de las poblaciones podría haber desempeñado un papel significativo en las respuestas transcriptómicas detectadas.

Es importante destacar que, a pesar de estas limitaciones, los resultados obtenidos en este estudio son coherentes con datos previos de estudios fisiológicos en *N. subnodosus* (Koch et al., 2015; Purce et al., 2020) y comparten patrones similares con investigaciones sobre perfiles transcripcionales en poblaciones de moluscos que habitan en ambientes contrastantes (Gleason & Burton, 2015; Li et al., 2018; Johnson et al., 2021). A pesar de las limitaciones mencionadas, este trabajo representa una primera aproximación transcriptómica valiosa en dos poblaciones de *N. subnodosus* provenientes de sitios con grandes diferencias en sus variables ambientales, especialmente en términos de temperatura.

Capítulo 5. Conclusiones

El aumento de las temperaturas en los ecosistemas marinos, resultado del cambio climático y la actividad antropogénica, ejerce una influencia significativa en la capacidad de adaptación de los ectotermos marinos, impactando directamente su crecimiento, reproducción y supervivencia. En este estudio, el análisis transcriptómico ha proporcionado una valiosa aproximación a las estrategias de adaptación de dos poblaciones de *Nodipecten subnodosus* frente a las elevadas temperaturas en su entorno natural, así como a la respuesta transgeneracional observada en un *common garden*.

La plasticidad fenotípica se revela como un factor crucial en las poblaciones silvestres y en la primera generación. La modulación de los patrones de expresión génica es altamente dependiente del ambiente, siempre y cuando este no supere los límites máximos de temperatura de la especie. Este hallazgo resalta la importancia de entender cómo las poblaciones naturales se adaptan y responden a las condiciones cambiantes del medio ambiente, lo que es esencial en el contexto del cambio climático actual.

Además, nuestro estudio pone de manifiesto que cada población silvestre presenta una respuesta metabólica única al aumento de la temperatura. Es particularmente interesante destacar que la población BLA exhibió un mayor potencial de plasticidad en comparación con la población de LOL, lo que sugiere diferencias significativas en las estrategias de adaptación entre estas poblaciones.

Nuestro trabajo subraya la importancia de la plasticidad fenotípica y la adecuación transgeneracional en la supervivencia de las poblaciones de *N. subnodosus* frente a los desafíos impuestos por el cambio climático. Los resultados obtenidos proporcionan una base sólida para comprender las complejas interacciones genéticas y metabólicas que subyacen a la capacidad de estos organismos para hacer frente a las condiciones ambientales cambiantes. Además, esta comprensión a nivel molecular tiene implicaciones cruciales para la industria acuícola, destacando la importancia de considerar estos factores en las estrategias de manejo y conservación de esta especie comercialmente valiosa en un mundo marcado por el cambio climático global.

Literatura citada

- Adzibli, L., Yu, W., Li, J., Yang, C., & Deng, Y. (2019). Influence of Age on Pearl Production Performance, Enzymatic Activity, and Immune-Related Gene Expression of the Pearl Oyster *Pinctada fucata martensii*. *North American Journal of Aquaculture*, 81(4), 430–437. <https://doi.org/10.1002/NAAQ.10111>.
- Águila, R. N., Casas, M., Cruz, M. B., & Núñez, R. A. (2000). Variación estacional de la ficoflora en la laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, México. *Hidrobiológica*, 10(2), 147-160. <https://hidrobiologica.izt.uam.mx/index.php/revHidro/article/view/929/519>
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2).
- Angilletta, M. J. (2009). Thermal Adaptation: A Theoretical and Empirical Synthesis. *Thermal Adaptation: A Theoretical and Empirical Synthesis*, 1–302. <https://doi.org/10.1093/ACPROF:OSO/9780198570875.001.1>
- Aquila, L., & Atanassov, B. S. (2020). Regulation of Histone Ubiquitination in Response to DNA Double Strand Breaks. *Cells*, 9(7). <https://doi.org/10.3390/CELLS9071699>.
- Arellano-Martínez, M., Caballos-Vázquez, B. P., Villalejo-Fuerte, M., García-Domínguez, F., Elorduy-Garay, J. F., Esliman-Salgado, A., & Racotta, I. (2004). Reproduction of the lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus sowerby 1835* (Bivalvia:Pectinidae) from Laguna Ojo de Liebre, B.C.S., México. *Journal of Shellfish Research*, 23(3), 723-729. https://www.researchgate.net/publication/281577436_Reproduction_of_the_lion%27s_paw_scallop_Nodipecten_subnodosus_sowerby_1835_Bivalvia_Pectinidae_from_Laguna_Ojo_de_Liebre_BCS_Mexico
- Artigaud, S., Richard, J., Thorne, M., Lavaud, R., Sainte-Marie, J., Jean, F., Pichereau, V. (2015). Deciphering the molecular adaptation of the king scallop (*Pecten maximus*) to heat stress using transcriptomics and proteomics. *BMC Genomics*, 16. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2132-x>
- Arellano-Martínez, M., Ceballos-Vázquez, B., Ruíz-Verdugo, C., Pérez de León, E., Cervantes- Duarte, R., & Domínguez-Valdez, P. (2011). Growth and reproduction of the lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus* in a suspended culture system at Guerrero Negro lagoon, Baja California Sur, Mexico. *Aquaculture Research*, 42(4), 571-582. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02652.x>
- Ashburner, M., Ball, C. A., Blake, J. A., Botstein, D., Butler, H., Cherry, J. M., Davis, A. P., Dolinski, K., Dwight, S. S., Eppig, J. T., Harris, M. A., Hill, D. P., Issel-Tarver, L., Kasarskis, A., Lewis, S., Matese, J. C., Richardson, J. E., Ringwald, M., Rubin, G. M., & Sherlock, G. (2000). Gene Ontology: tool for the unification of biology. *Nature Genetics*, 25(1), 25–29. <https://doi.org/10.1038/75556>.
- Baojun, T., Baozhong, L., Hongsheng, Y., & Jianhai, X. (2005). Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Meretrix meretrix* in different temperature and salinity. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 23(4), 469–474. <https://doi.org/10.1007/BF02842693>
- Barshis, D. J., Ladner, J. T., Oliver, T. A., Seneca, F. O., Traylor-Knowles, N., & Palumbi, S. R. (2013). Genomic basis for coral resilience to climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(4), 1387–1392. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1210224110/-/DCSUPPLEMENTAL/SD02.XLSX>.

- Beltrán-Lugo, A., Maeda-Martínez, A., Pacheco-Aguilar, R., & Nolasco-Soria, H. (2006). Seasonal variations in chemical, physical, textural, and microstructural properties of adductor muscles of Pacific lions-paw scallop (*Nodipecten subnodosus*). *Aquaculture*, 258, 619-632. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.039>
- Berry, B. J., Trewin, A. J., Amitrano, A. M., Kim, M., & Wojtovich, A. P. (2018). Use the protonmotive force: mitochondrial uncoupling and reactive oxygen species. *Journal of molecular biology*, 430(21), 3873. <https://doi.org/10.1016/J.JMB.2018.03.025>
- Blanco-Betancourt, R., Pacheco-Ruíz, I., Guzmán-Calderón, J. M., & Zertuche-González, J. A. (2004). Base de datos de la temperatura del agua de mar en seis bahías de la costa noroccidental del Golfo de California, México. [Informe técnico, Instituto de Investigaciones Oceanológicas] https://www.researchgate.net/publication/258341876_Base_de_datos_de_la_temperatura_del_agua_de_mar_en_seis_bahias_de_la_costa_noroccidental_del_Golfo_de_California_Mexico#ullTextFileContent
- Boraschi, D. (2022). What Is IL-1 for? The Functions of Interleukin-1 Across Evolution. *Frontiers in Immunology*, 13. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2022.872155/BIBTEX>
- Brun, N. T., Bricelj, V. M., MacRae, T. H., & Ross, N. W. (2008). Heat shock protein responses in thermally stressed bay scallops, *Argopecten irradians*, and sea scallops, *Placopecten magellanicus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 358, 151-162. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2008.02.006>
- Castillo Futema D. I. (2016). Insustentabilidad de la extracción de la almeja mano de león en la localidad de Guerrero Negro. [Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California Sur.] Repositorio UABCS. <https://biblio.uabcs.mx/tesis/te3526.pdf>
- Cervantes, A. A. (1997). Caracterización ecológica de la comunidad ictica de la Laguna Ojo de Liebre, B.C.S. México. [Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, B.C.S.] Repositorio Digital IPN. <https://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/14709>
- Cortés Espinoza, E. F. (2019). Condiciones superficiales del hábitat del tiburón ballena (*Rhincodon typus*) durante su temporada de agregación en Bahía de los Ángeles en 2017. [Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Baja California] Repositorio Institucional UABC. <https://repositorioinstitucional.uabc.mx/server/api/core/bitstreams/7175abd2-1d9f-454c-82f0-28d8b7be19d3/content>
- Curran, J. M., Buckleton, J. S., & Triggs, C. M. (2003). What is the magnitude of the subpopulation effect? *Forensic Science International*, 135(1), 1–8. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(03\)00171-3](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(03)00171-3)
- Dayan, D., Crawford, D., & Oleksiak, M. (2015). Phenotypic plasticity in gene expression contributes to divergence of locally adapted populations of *Fundulus heteroclitus*. *Molecular Ecology*, 24(13), 3345–3359. <https://doi.org/10.1111/mec.13188>
- Delgadillo-Hinojosa, F. H., S. R. Canino, Z. J. A. Segovia y B. A. Muños. (2002). Dinámica de nutrientes en la laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, México. XIII Congreso Nacional de Oceanografía, Puerto Vallarta, Jalisco, México. http://www.cuc.udg.mx/sites/default/files/publicaciones/XIII_CONGRESO_NACIONAL_DE_OCEANOGRAFIA.pdf
- Deser, Clara & Trenberth, Kevin & National Center for Atmospheric Research Staff (Eds). (2022-November 09)."The Climate Data Guide: Pacific Decadal Oscillation (PDO): Definition and Indices."

<https://climatedataguide.ucar.edu/climate-data/pacific-decadal-oscillation-pdo-definition-and-indices>

- Deshpande, O. A., & Mohiuddin, S. S. (2023). Biochemistry, Oxidative Phosphorylation. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553192/>
- Ding, F., Li, A., Cong, R., Wang, X., Wang, W., Que, H., Li, L. (2020). The Phenotypic and the Genetic Response to the Extreme High Temperature Provides New Insight Into Thermal Tolerance for the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *Frontiers in Marine Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00399>
- Domínguez, A. C. (2020). Análisis transcriptómico de la glándula óptica en hembras de Octopus maya durante el proceso reproductivo bajo estrés térmico. [Tesis de Doctorado, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada] Repositorio CICESE. https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/3232/1/tesis_Dom%C3%ADngu ez%20Estrada%20Alison%20Chantal_24_feb_2020.pdf
- Donelson, J. M., Salinas, S., Munday, P. L., & Shama, L. N. S. (2018). Transgenerational plasticity and climate change experiments: Where do we go from here? *Global Change Biology*, 24(1), 13–34. <https://doi.org/10.1111/GCB.13903>
- Dunn, J., & Grider, M. H. (2023). Physiology, Adenosine Triphosphate. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553175/>
- EPA United States Environmental Protection Agency. (2001) Climate Change Indicators: Sea Surface Temperature. National Oceanic and Atmospheric Administration. Washington, DC. <https://www.epa.gov/climate-indicators/oceans>
- Ewels, P., Magnusson, M., Lundin, S., & Käller, M. (2016). MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. *Bioinformatics*, 32(19), 3047–3048. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTW354>
- Félix-Pico, E.F., M. Villalejo-Fuerte, A. Tripp-Quezada & O. Holguin-Quinones. (1999). Growth & survival of *Lyropecten subnodosus* (Sowerby,1835) in suspended culture at the national marine park of Bahía de Loreto, B.C.S., México. pp. 39-40. En: *Book of Abstracts*. 12th International Pectinid Workshop, Bergen, Norway.
- Fujishima, K., Wang, K. M., Palmer, J. A., Abe, N., Nakahigashi, K., Endy, D., & Rothschild, L. J. (2018). Reconstruction of cysteine biosynthesis using engineered cysteine-free enzymes. *Scientific Reports*, 8(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19920-y>
- Galindo, L. L. (2018). Effect of chronic thermal stress at the physiological and transcriptomic level on the performance and reproductive success of Octopus maya males. [Tesis de Doctorado, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, B. C.] Repositorio CICESE. https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/2521/1/Tesis%20Doctorado%20Laura%20L%20c%20b3pez%20Eli-17_10_2018.pdf
- Galindo-Torres, P., García-Gasca, A., Llera-Herrera, R., Escobedo-Fregoso, C., Abreu-Goodger, C., & Ibarra, A. (2018). Sex determination and differentiation genes in a functional hermaphrodite scallop, *Nodipecten subnodosus*. *Marine Genomics*, 37, 161-175. <https://doi.org/10.1016/j.margen.2017.11.004>
- Garvin, M. R., Thorgaard, G. H., & Narum, S. R. (2015). Differential Expression of Genes that Control Respiration Contribute to Thermal Adaptation in Redband Trout (*Oncorhynchus mykiss gairdneri*). *Genome Biology and Evolution*, 7(6), 1404–1414. <https://doi.org/10.1093/GBE/EVV078>

- Ghalambor, C. K., Hoke, K. L., Ruell, E. W., Fischer, E. K., Reznick, D. N., & Hughes, K. A. (2015). Non-adaptive plasticity potentiates rapid adaptive evolution of gene expression in nature. *Nature*, 525(7569), 372-375. <https://doi.org/10.1038/nature15256>
- Gleason, L. U., & Burton, R. S. (2015). RNA-seq reveals regional differences in transcriptome response to heat stress in the marine snail *C. chlorostoma funebris*. *Molecular ecology*, 24(3), 610-627. <https://doi.org/10.1111/mec.13047>
- Glinos, D. A., Soskic, B., Williams, C., Kennedy, A., Jostins, L., Sansom, D. M., & Trynka, G. (2020). Genomic profiling of T-cell activation suggests increased sensitivity of memory T cells to CD28 costimulation. *Genes & Immunity*, 21(6), 390–408. <https://doi.org/10.1038/s41435-020-00118-0>
- Gómez-Gutiérrez, J., Palomares-García, R., Hernández-Trujillo, S., & Carballido-Carranza, A. (2001). Community structure of zooplankton in the main entrance of Bahía Magdalena, México during 1996. *Revista de Biología Tropical*, 49(2), 454-558. https://tropicalstudies.org/rbt/attachments/volumes/vol49-2/13-G%C3%B3mez_Community.pdf
- González-Ortiz, L., Hernández-Alcántara, P., Vázquez-Juárez, R., Quiroz-Guzmán, E., García-Garza, M. E., & de León-González, J. Á. (2017). Variación espacial y temporal de la infestación de la concha por *Polydora* sp. (Spionidae: Polychaeta) sobre la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) en la laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88(4), 845–852. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.10.017>
- Gu, B., & Lee, M. G. (2013). Histone H3 lysine 4 methyltransferases and demethylases in self-renewal and differentiation of stem cells. *Cell and Bioscience*, 3(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/2045-3701-3-39/FIGURES/4>
- Haas, B. J., Papanicolaou, A., Yassour, M., Grabherr, M., Blood, P. D., Bowden, J., & Regev, A. (2013). De novo transcript sequence reconstruction from RNA-seq using the Trinity platform for reference generation and analysis. *Nature protocols*, 8(8), 1494-1512. <https://doi.org/10.1038/2Fnprot.2013.084>
- Hayaishi, O., & Kornberg, A. (1952). Metabolism of cytosine, thymine, uracil, and barbituric acid by bacterial enzymes. *Journal of Biological Chemistry*, 197(2), 717–732. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)55628-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)55628-3)
- He, X., Zhang, Y., & Yu, Z. (2010). In silico cloning, expression of Rieske-like apoprotein gene and protein subcellular localization in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Molecular Biology Reports*, 37(7), 3259–3264. <https://doi.org/10.1007/s11033-009-9910-y>
- Honaas, L. A., Altman, N. S., & Krzywinski, M. (2016). Study design for sequencing studies. *Methods in Molecular Biology*, 1418, 39–66. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3578-9_3
- Hu, J., & Barret R., D. H. (2017). Epigenetics in natural animal populations. *Evolutionary Biology*, 1612-1632. <https://doi.org/10.1111/jeb.13130>
- Ihaka, R., & Gentleman, R. (1996). R: a language for data analysis and graphics. *Journal of computational and graphical statistics*, 5(3), 299-314. <https://doi.org/10.1080/10618600.1996.10474713>
- Vargas Bravo, M., H. (2018). Genómica poblacional de la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) en las costas de la península de Baja California, México. [Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada] Repositorio CICESE. https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/2758/1/Tesis%20Vargas%20Bravo%20Manuel%20Hueman%2016%20Enero%202019_IMPRIMIR.pdf

- Hulot, V., Saulnier, D., Latchere, O., Maihota, N., & Gaertner-Mazouni, N. (2019). Phenotype plasticity, local adaptation, and biofouling influence on growth of the pearl oyster *Pinctada margaritifera*: A common garden approach. *Aquaculture*, 512. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734309>
- Ibarra, A. M., Petersen, J. L., Famula, T. R., & May, B. (2005). Characterization of 35 microsatellite loci in the Pacific lion-paw scallop (*Nodipecten subnodosus*) and their cross-species amplification in four other scallops of the Pectinidae family. *Molecular Ecology Notes*, 6(1), 153-156. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01173.x>
- Jahan, K., Nie, H., Yin, Z., Zhang, Y., Li, N., & Yan, X. (2022). Comparative transcriptome analysis to reveal the genes and pathways associated with adaptation strategies in two different populations of Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) under acute temperature challenge. *Aquaculture*, 552, 737999. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2022.737999>
- Jiang, W., Lin, F., Fang, J., Gao, Y., Du, M., Fang, J., Li, W., & Jiang, Z. (2018). Transcriptome analysis of the Yesso scallop, *Patinopecten yessoensis* gills in response to water temperature fluctuations. *Fish & Shellfish Immunology*, 80, 133–140. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.05.038>
- Jin, Y., Jia, K., Zhang, W., Xiang, Y., Jia, P., Liu, W., & Yi, M. (2019). Zebrafish TRIM25 promotes innate immune response to RGNNV infection by targeting 2CARD and RD regions of RIG-I for K63-linked ubiquitination. *Frontiers in Immunology*, 10, 2805. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02805>
- Juárez, O., Lafarga-De la Cruz, F., Leyva-Valencia, I., López-Landavery, E., García-Esquivel, Z., Díaz, F., Galindo-Sánchez, C. (2018). Transcriptomic and metabolic response to chronic and acute thermal exposure of juvenile geoduck clams *Panopea globosa*. *Marine Genomics*, 42, 1- 13. <https://doi.org/10.1016/j.margen.2018.09.003>
- Joachin-Mejía, N. G. (2022). Caracterización del hábitat térmico de la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) en el noroeste mexicano. [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México] Repositorio de Tesis DGBSDI. <https://ru.dgb.unam.mx/bitstream/20.500.14330/TES01000831728/3/0831728.pdf>
- Johnson, K. M., Jones, H. R., Casas, S. M., La Peyre, J. F., & Kelly, M. W. (2021). Transcriptomic signatures of temperature adaptation in the eastern oyster *Crassostrea virginica*. *Journal of Evolutionary Biology*, 34(8), 1212-1224. <https://doi.org/10.1111/jeb.13789>
- Koch, V., Rengstorf, A., Taylor, M., Mazón-Suástegui, J. M., Sinsel, F., & Wolff, M. (2015). Comparative growth and mortality of cultured Lion's Paw scallops (*Nodipecten subnodosus*) from Gulf of California and Pacific populations and their reciprocal transplants. *Aquaculture Research*, 46(1), 185-201. <https://doi.org/10.1111/are.12175>
- Kong, X., Lv, L., Ren, J., Liu, Y., Lin, Z., & Dong, Y. (2022). Comparative transcriptome analyses unravel the response to acute thermal stress in the razor clam, *Sinonovacula constricta*. *Aquaculture Reports*, 23. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101079>
- Kow, Y. W. (2002). Repair of deaminated bases in DNA. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(7), 886-893. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00902-4](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00902-4)
- Kudlova, N., De Sanctis, J. B., & Hajdich, M. (2022). Cellular senescence: molecular targets, biomarkers, and senolytic drugs. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(8), 4168. <https://doi.org/10.3390/ijms23084168>

- Lalejini, A., Ferguson, A. J., Grant, N. A., & Ofria, C. (2021). Adaptive phenotypic plasticity stabilizes evolution in fluctuating environments. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9, 550. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.715381>
- Langmead, B., & Salzberg, S. L. (2012). Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature methods*, 9(4), 357-359. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>
- Le Luyer, J., Monaco, C. J., Milhade, L., Reisser, C., Soyeux, C., Raapoto, H., Belliard, C., Le Moullac, G., Ky, C. L., & Pernet, F. (2022). Gene expression plasticity, genetic variation and fatty acid remodelling in divergent populations of a tropical bivalve species. *Journal of Animal Ecology*, 91(6), 1196–1208. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13706>
- Lee, K. K., Rajagopalan, D., Bhatia, S. S., Tirado-Magallanes, R., Chng, W. J., & Jha, S. (2021). The oncogenic E3 ligase TRIP12 suppresses epithelial–mesenchymal transition (EMT) and mesenchymal traits through ZEB1/2. *Cell Death Discovery*, 7(1), 95. <https://doi.org/10.1038/s41420-021-00479-z>
- Li, Q., Chen, Y., Wang, P., Sun, Y., & Xu, T. (2023). PSMD13 inhibits NF- κ B pathway by targeting TAK1 for K63-linked ubiquitination in miiuy croaker (*Miichthys miiuy*). *Fish & Shellfish Immunology*, 138. <https://doi.org/10.1016/J.FSI.2023.108857>
- Li, Y., Pembleton, L. W., Victoria, A., Rosewarne, G. M., & Daetwyler, H. D. (2021). Strategies of preserving genetic diversity while maximizing genetic response from implementing genomic selection in pulse breeding programs. *Theoretical and Applied Genetics*, 135(6), 1813-1828. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-982484/v1>
- Liu, N., Wang, Y., Li, T., & Feng, X. (2021). G-Protein Coupled Receptors (GPCRs): Signaling Pathways, Characterization, and Functions in Insect Physiology and Toxicology. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(10). <https://doi.org/10.3390/IJMS22105260>
- Liu, P., Gan, W., Su, S., Hauenstein, A. V., Fu, T. M., Brasher, B., Schwerdtfeger, C., Liang, A. C., Xu, M., & Wei, W. (2018). K63-linked polyubiquitin chains bind to DNA to facilitate DNA damage repair. *Science signaling*, 11(533). <https://doi.org/10.1126/SCISIGNAL.AAR8133>
- Llera Herrera R. A. (2013). Genómica de la espermatogénesis en la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus*. [Tesis de Doctorado, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.] Repositorio CIBNOR. https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/206/1/llera_r.pdf
- López, J. A. (2009). Temperatura y monoaminas en la actividad reproductiva de la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus* Sowerby, 1835). [Tesis de Doctorado, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.] Repositorio CIBNOR. http://dspace.cibnor.mx:8080/bitstream/handle/123456789/3184/lopez_j%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- López, M., Candela, J., & Argote, M. (2006). Why does the Ballenas Channel have the coldest SST in the Gulf of California?. *Geophysical Research Letters*, 33(11), 1-5. <https://doi:10.1029/2006GL025908>
- Loughland, I., Little, A., & Seebacher, F. (2021). DNA methyltransferase 3a mediates developmental thermal plasticity. *BMC Biology*, 19(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S12915-020-00942-W/TABLES/2>
- Lovász, M., Németh, Z. H., Gause, W. C., Beesley, J., Pacher, P., & Haskó, G. (2021). Inosine monophosphate and inosine differentially regulate endotoxemia and bacterial sepsis. *FASEB*

journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 35(11). <https://doi.org/10.1096/fj.202100862R>

- Love, M. I., Huber, W., & Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology*, 15(12), 1–21. <https://doi.org/10.1186/S13059-014-0550-8/FIGURES/9>
- Maeda-Martínez, A. N. (2007). Estado actual del cultivo de bivalvos en México. *Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Taller Técnico Regional de la FAO*, 20(24), 91-100. <http://www.fao.org/3/i0444s/i0444s06.pdf>
- Manni, M., Berkeley, M. R., Seppey, M., & Zdobnov, E. M. (2021). BUSCO: Assessing Genomic Data Quality and Beyond. *Current Protocols*, 1(12). <https://doi.org/10.1002/CPZ1.323>
- Martínez, M. A. (2005). Características ecofisiológicas de la reproducción de *Nodipecten subnodosus* (Sowerby, 1835) (Pectinidae) en la Laguna Ojo de Liebre, B.C.S, México. [Tesis de Doctorado, Instituto Politécnico Nacional, La Paz.] Repositorio Digital IPN. <https://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/14306/1/arellanom2.pdf>
- Marzec, M., Eletto, D., & Argon, Y. (2012). GRP94: an HSP90-like protein specialized for protein folding and quality control in the Endoplasmic Reticulum. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1823(3). <https://doi.org/10.1016/J.BBAMCR.2011.10.013>
- Massó-Rojas, J. A. E., Morales-Bojórquez, E., Arellano-Martínez, M., Ceballos-Vázquez, B. P., Talavera-Maya, J., Ceseña-Espinoza, N., & Enrique, M. B. (2014). Almeja mano de león *Nodipecten subnodosus*. En Beléndez., Espino., Galindo., Gaspar-Dillanes., Huidobro., & Morales (Eds). *Sustentabilidad y pesca responsable en México: evaluación y manejo. SAGARPA e Instituto Nacional de Pesca* (pp 17-48). Editorial. <https://www.edicionesdelanoche.com/>
- Matoo, O., Ivanina, A., Ullstad, C., Beniash, E., & Sokolova, I. (2013). Interactive effects of elevated temperature and CO2 levels on metabolism and oxidative stress in two common marine bivalves (*Crassostrea virginica* and *Mercenaria mercenaria*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 164, 545-553. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2012.12.025>
- McLaughlin, T., Falkowski, M., Wang, J. J., & Zhang, S. X. (2018). Molecular chaperone ERp29: A potential target for cellular protection in retinal and neurodegenerative diseases. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1074, 421–427. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75402-4_52/FIGURES/1
- Miaud, C., & Meril, J. (2001). Local adaptation or environmental induction? Causes of population differentiation in alpine amphibians. *Biota*, 17(28), 31-50. https://www.researchgate.net/publication/237252181_Local_adaptation_or_environmental_induction_Causes_of_population_differentiation_in_alpine_amphibians
- Migliaccio, A. R., & Uversky, V. N. (2018). Dissecting physical structure of calreticulin, an intrinsically disordered Ca²⁺-buffering chaperone from endoplasmic reticulum. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 36(6), 1617–1636. <https://doi.org/10.1080/07391102.2017.1330224>
- Munday, P. L., Warner, R. R., Monro, K., Pandolfi, J. M., & Marshall, D. J. (2013). Predicting evolutionary responses to climate change in the sea. *Ecology Letters*, 16(12), 1488–1500. <https://doi.org/10.1111/ele.12185>

- Muñoz-Barbosa, A., Gaxiola-Castro, G., & Segovia-Zavala, J.A. (1991). Temporal Variability Of Primary Productivity, Chlorophyll And Seston In Bahia De Los Angeles, Gulf Of California. *Ciencias Marinas*, 17(4), 47–68. <https://doi.org/10.7773/cm.v17i4.845>
- Narum, S. R., & Campbell, N. R. (2015). Transcriptomic response to heat stress among ecologically divergent populations of redband trout. *BMC Genomics*, 16(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/S12864-015-1246-5/FIGURES/5>
- Nguyen, K. D., Morley, S., Lai, C.-H., Clark, M., Tan, K. S., Bates, A., & Peck, L. (2011). Upper Temperature Limits of Tropical Marine Ectotherms: Global Warming Implications. *Plos One*, 6(12), 1-8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029340>
- Ning, J., Zou, D., Lu, X., Cao, W., Chen, M., Liu, B., & Wang, C. (2021). Transcriptomic analyses provide insights into the adaptive responses to heat stress in the ark shells, *Scapharca subcrenata*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 38, 100813. <https://doi.org/10.1016/J.CBD.2021.100813>
- NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration). (2009). Climate Variability: Oceanic Niño Index. <https://www.climate.gov/news-features/understanding-climate/climate-variability-oceanic-nino-index>
- Oviedo Velázquez, B., P. (2017). Diversidad y estructura genética de la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) en la región central del Golfo de California [Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada] Repositorio CICESE. https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/1875/1/tesis_Oviedo_Vel%c3%a1zquez_Brenda_Priscila_04_dic_2017.pdf
- Peck, L., Massey, A., Thorne, M., & Clark, M. (2009). Lack of acclimation in *Ophionotus victoriae*: brittle stars are not fish. *Polar Biology*, 32, 399-402. <https://doi.org/10.1007/s00300-008-0532-y>
- Piasečná, K., Pončová, A., Tejedo, M., y Gvoždík, L. (2015). Thermoregulatory strategies in an aquatic ectotherm from thermally constrained habitats: An evaluation of current approaches. *Journal of Thermal Biology*, 52, 97-107. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2015.06.007>
- Pigliucci, M., Murren, C. J., y Schlichting, C. D. (2006). Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Journal of Experimental Biology*, 209 (12), 2362-2367. <https://doi:10.1242/jeb.02070>
- Petersen, J. L., Ibarra, A. M., & May, B. (2019). Nuclear and mtDNA lineage diversity in wild and cultured Pacific lion-paw scallop, *Nodipecten subnodosus* (Baja California Peninsula, Mexico). *Marine Biology*, 157, 2751–2767. <https://doi.org/10.1007/s00227-010-1534-1>
- Pörtner, H. (2001). Climate change and temperature-dependent biogeography: oxygen limitation of thermal tolerance in animals. *Naturwissenschaften*, 88, 137–146. <https://doi.org/10.1007/s001140100216>
- Pörtner, H. O. (2002). Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 132(4), 739–761. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00045-4](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00045-4)
- Pörtner, H.O., Peck, L.S. & Hirse, T. (2006). Hyperoxia alleviates thermal stress in the Antarctic bivalve, *Laternula elliptica*: evidence for oxygen limited thermal tolerance. *Polar Biology*, 29, 688–693. <https://doi.org/10.1007/s00300-005-0106-1>

- Pörtner, H. O., y Knust, R. 2007. Climate Change Affects Marine Fishes Through the Oxygen Limitation of Thermal Tolerance. *Science*, 315(95), 95-97. <https://doi:10.1126/science.1135471>
- Punta, M., Coggill, P. C., Eberhardt, R. Y., Mistry, J., Tate, J., Bournsnel, C., Pang, N., Forslund, K., Ceric, G., Clements, J., Heger, A., Holm, L., Sonnhammer, E. L. L., Eddy, S. R., Bateman, A., & Finn, R. D. (2012). The Pfam protein families database. *Nucleic Acids Research*, 40(D1), D290–D301. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKR1065>
- Purce, D. N. S., Donovan, D. A., Maeda-Martínez, A. N., Koch, V., Purce, D. N. S., Donovan, D. A., Maeda-Martínez, A. N., & Koch, V. (2020). Scope for growth of cultivated Pacific and Gulf of California populations of lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus*, and their reciprocal transplants. *Latin american journal of aquatic research*, 48(4), 538–551. <https://doi.org/10.3856/VOL48-ISSUE4-FULLTEXT-2468>
- Qi, P., Huang, H., Guo, B., Liao, Z., Liu, H., Tang, Z., & He, Y. (2019). A novel interleukin-1 receptor-associated kinase-4 from thick shell mussel *Mytilus coruscus* is involved in inflammatory response. *Fish & Shellfish Immunology*, 84, 213–222. <https://doi.org/10.1016/J.FSI.2018.10.018>
- Roberts, S., Gueguen, Y., de Lorgeril, J., & Goetz, F. (2008). Rapid accumulation of an interleukin 17 homolog transcript in *Crassostrea gigas* hemocytes following bacterial exposure. *Developmental & Comparative Immunology*, 32(9), 1099–1104. <https://doi.org/10.1016/J.DCI.2008.02.006>
- Salgado-García, R. L., Kraffe, E., Maytorena-Verdugo, C., Rivera-Camacho, A., Sicard, M., Arellano-Martínez, M., & Racotta, I. (2020). Metabolic responses of adult lion's paw scallops *Nodipecten subnodosus* exposed to acute hyperthermia in relation to seasonal reproductive effort. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59242-6>
- Sandoval-Castillo, J., Gates, K., Brauer, C. J., Smith, S., Bernatchez, L., & Beheregaray, L. B. (2020). Adaptation of plasticity to projected maximum temperatures and across climatically defined bioregions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(29), 17112–17121. https://doi.org/10.1073/PNAS.1921124117/SUPPL_FILE/PNAS.1921124117.SAPP.PDF
- Sanford, E., & W. Kelly, M. (2011). Local Adaptation in Marine Invertebrates. *Annual Review of Marine Science*, 3, 509-535. <https://doi:10.1146/annurev-marine-120709-142756>
- Saucedo, P., González-Jiménez, A., Acosta-Salmón, H., Mazón-Suástegui, J., & Ronsón-Paulín, J. (2013). Nutritional value of microalgae-based diets for lions-paw scallop (*Nodipecten subnodosus*) juveniles reared at different temperatures. *Aquaculture*, 392, 113-119. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.02.001>
- Saucedo, P. E., Ocampo, L., Monteforte, M., & Bervera, H. (2004). Effect of temperature on oxygen consumption and ammonia excretion in the Calafia mother-of-pearl oyster, *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856). *Aquaculture*, 229(1–4), 377–387. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00327-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00327-2)
- Seuront, L., Terence, P., y Lathlean, J. A. (2018). A review of the thermal biology and ecology of molluscs, and of the use of infrared thermography in molluscan research. *Journal of Molluscan Studies*, 84(3), 203–232. <https://doi.org/10.1093/mollus/eyy023>
- Scheiner, S. M. (2003). Genetics and Evolution of Phenotypic Plasticity. *Annual review of ecology and systematics*, 24(1), 35-68. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.24.110193.000343>

- Schlichting, C., & Wund, M. (2014). Phenotypic plasticity and epigenetic marking: an assessment of evidence for genetic accommodation. *Evolution*, 68(3), 656-672. <https://doi.org/10.1111/evo.12348>
- Scoville, A., & Pfrender, M. (2010). Phenotypic plasticity facilitates recurrent rapid adaptation to introduced predators. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(9), 4260–4263. <https://doi.org/10.1073/pnas.0912748107>
- Selamoglu, Z. (2018). Allantoin as Metabolic Compound. *Journal of Traditional Medicine & Clinical Naturopathy*, 07(1), 1. <https://doi.org/10.4172/2573-4555.1000E143>
- Sicard, M. T. (2006). Efecto de la oscilación térmica en la fisiología de la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus* Sowerby, 1835). [Tesis de Doctorado en Ciencias, Universidad Autónoma de Nuevo León.] Repositorio Institucional UANL. <http://eprints.uanl.mx/id/eprint/20739>
- Sicard, M. T., Maeda-Martínez, A. N., Lluch-Cota, S. E., Lodeiros, C., & Roldán-Carrillo, L. M. (2006). Frequent monitoring of temperature: an essential requirement for site selection in bivalve aquaculture in tropical–temperate transition zones. *Aquaculture Research*, 37, 1040–1049. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01527.x>
- Somero, G. 2010. The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine ‘winners’ and ‘losers’. *Journal of Experimental Biology*, 213(6), 912–920. <https://doi.org/10.1242/jeb.037473>
- Sousa, J. S., D’Imprima, E., & Vonck, J. (2018). Sub-cellular biochemistry. In Harris, J., Boekema, E. (Eds), *Mitochondrial Respiratory Chain Complexes* (pp. 167–227). Springer.
- Steinberg, G. R., & Carling, D. (2019). AMP-activated protein kinase: the current landscape for drug development. *Nature Reviews Drug Discovery*, 18(7), 527–551. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0019-2>
- Sun, L., Chiang, J. Y., Choi, J. Y., Xiong, Z. M., Mao, X., Collins, F. S., Hodes, R. J., & Cao, K. (2019). Transient induction of telomerase expression mediates senescence and reduces tumorigenesis in primary fibroblasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(38), 18983–18993. https://doi.org/10.1073/PNAS.1907199116/SUPPL_FILE/PNAS.1907199116.SAPP.PDF
- Takatsu, K., Moon, B. G., Itakura, A., Tsukamoto, Y., Horikawa, K., Iikutani, M., Kouro, T., & Takaki, S. (2005). Role of IL-5 in the innate immune system and disease control. *The International Journal on the Science and Technology of Desalting and Water Purification*, 1285, 145–154. <https://doi.org/10.1016/J.ICS.2005.07.094>
- Teufel, F., Almagro, J. J., Johansen, A. R., Gíslason, M. H., Pihl, S. I., Tsigos, K. D., Winther, O., Brunak, S., von Heijne, G., & Nielsen, H. (2022). SignalP 6.0 predicts all five types of signal peptides using protein language models. *Nature Biotechnology*, 40(7), 1023–1025. <https://doi.org/10.1038/s41587-021-01156-3>
- Tripp-Valdez, M., Cicala, F., Galindo-Sánchez, C., Chacón-Ponce, K., López-Landavery, E., Díaz, F., Lafarga-De la Cruz, F. (2021). Growth Performance and Transcriptomic Response of Warm-Acclimated Hybrid Abalone *Haliotis rufescens* (♀) × *H. corrugata* (♂). *Marine Biotechnology*, 23, 62-76. <https://doi.org/10.1007/s10126-020-10002-7>
- UniProt Universal Protein Resource (2023, Octubre 12). AK9 - Adenylate kinase 9 - Homo sapiens (Human). <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q5TCS8/entry>

- UniProt Universal Protein Resource (2023, Octubre 12). ASH2L - Set1/Ash2 histone methyltransferase complex subunit ASH2 - Homo sapiens (Human). <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q9UBL3/entry>
- UniProt Universal Protein Resource (2023, Octubre 12). COX1 - Cytochrome c oxidase subunit 1 - Pectinoacasta pectinipes. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A8K2ADH9/entry>
- UniProt Universal Protein Resource (2023, Septiembre 28). DUR3-1 - Probable urea active transporter 1 - Schizosaccharomyces pombe (strain 972 / ATCC 24843) (Fission yeast). <https://www.uniprot.org/uniprotkb/O94469/entry>
- UniProt Universal Protein Resource (2023, Septiembre 28). EXOSC4 - Exosome complex component RRP41 - Homo sapiens (Human). <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q9NPD3/entry#function>
- UniProt Universal Protein Resource (2023, Septiembre 28). EXOSC5 - Exosome complex component RRP46 - Mus musculus (Mouse). <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q9CRA8/entry>
- Van, G., & Bertrand, M. J. M. (2022). Death by TNF: a road to inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 23(5), 289–303. <https://doi.org/10.1038/s41577-022-00792-3>
- Villemereuil, P., Gaggiotti, O., Mouterde, M., & Till-Bottraud, I. (2015). Common garden experiments in the genomic era: new perspectives and opportunities. *Heredity*, 116, 249–254. <http://dx.doi.org/10.1038/hdy.2015.93>
- Waller, T. R. 2007. The Evolutionary and Biogeographic Origins of the Endemic Pectinidae (Mollusca: Bivalvia) of the Galápagos Islands. *Journal of Paleontology*, 81(5), 929-950. <https://doi.org/10.1666/pleo05-145.1>
- Wang, L., Wang, X., & Wang, C. C. (2015). Protein disulfide–isomerase, a folding catalyst and a redox-regulated chaperone. *Free Radical Biology and Medicine*, 83, 305–313. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2015.02.007>
- Weihrauch, D., Wilkie, M. P., & Walsh, P. J. (2009). Ammonia and urea transporters in gills of fish and aquatic crustaceans. *Journal of Experimental Biology*, 212(11), 1716–1730. <https://doi.org/10.1242/JEB.024851>
- Yampolsky, L., M. Schaer, T., & Ebert, D. (2014). Adaptive phenotypic plasticity and local adaptation for temperature tolerance in freshwater zooplankton. *Proceedings of the Royal Society B*, 281, 1-9. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.2744>
- Yee Duarte, J. A. (2009). Reproducción de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus*, Sowerby 1835 en Bahía de los Ángeles B.C. México. [Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional. La Paz]. Repositorio Digital IPN. <https://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/14127/1/yeed1.pdf>

Anexos

Anexo I Protocolo de limpieza con perlas AmpureXP (primera limpieza)

1. Colocar 30 μ l de la librería de DNA en un tubo Eppendorf de 0.2 ml y adicionar 0.5 volúmenes de perlas (15 μ l). Incubar durante 15 minutos a TA
2. Colocar en la placa magnética durante 5 minutos
3. Recuperar el sobrenadante y colocarlo en un tubo nuevo de 0.2 ml debidamente marcado
4. (sobrenadante recuperado 40 μ l)
5. Adicionar 1.5 volúmenes de perlas AMPure XP (60 μ l) e incubar durante 15 minutos a TA
6. Colocar en la placa magnética durante 5 minutos y remover completamente el sobrenadante
7. Dejar los tubos en la placa magnética y adicionar 200 μ l de etanol al 80% fresco a cada tubo cuidadosamente tratando de no mover las perlas
8. Incubar a TA durante 30 s, remover y descartar el sobrenadante. Realizar un total de dos lavados. En el primer lavado no hay problema si queda un poco de la solución, en el caso del segundo lavado se debe retirar completamente el etanol
9. Dejar secar las perlas a TA en la placa magnética durante 15 min y posteriormente remover de la placa magnética. El tiempo de secado puede variar, lo importante es que el pellet de perlas se vea opaco, sin llegar a agrietarse
10. Adicionar 33 μ l de RSB a cada tubo, pipetear 10 veces para mezclar e incubar a TA por 2 min
11. Colocar los tubos en la placa magnética a TA durante 5 min o hasta que se aclare la solución
12. Transferir 30 μ l del sobrenadante a un tubo de 0.2 ml debidamente etiquetado

Anexo II Protocolo de limpieza con perlas AmpureXP (segunda limpieza)

1. Colocar 28 μL de la librería de DNA en un tubo Eppendorf de 0.2 ml y adicionar 0.6 volúmenes de perlas (16.8 μL). Incubar durante 15 minutos a TA
2. Colocar en la placa magnética durante 5 minutos
3. Recuperar el sobrenadante y colocarlo en un tubo nuevo de 0.2 ml debidamente marcado
4. (sobrenadante recuperado 44 μl)
5. Adicionar 2.0 volúmenes de perlas AMPure XP (88 μl) e incubar durante 15 minutos a TA
6. Colocar en la placa magnética durante 5 minutos y remover completamente el sobrenadante
7. Dejar los tubos en la placa magnética y adicionar 200 μl de etanol al 80% fresco a cada tubo cuidadosamente tratando de no mover las perlas
8. Incubar a TA durante 30 s, remover y descartar el sobrenadante. Realizar un total de dos lavados. En el primer lavado no hay problema si queda un poco de la solución, en el caso del segundo lavado se debe retirar completamente el etanol
9. Dejar secar las perlas a TA en la placa magnética durante 15 min y posteriormente remover de la placa magnética. El tiempo de secado puede variar, lo importante es que el pellet de perlas se vea opaco, sin llegar a agrietarse
10. Adicionar 22.5 μl de RSB a cada tubo, pipetear 10 veces para mezclar e incubar a TA por 2 min
11. Colocar los tubos en la placa magnética a TA durante 5 min o hasta que se aclare la solución
12. Transferir 20 μl del sobrenadante a un tubo de 0.2 ml debidamente etiquetado