

UCH-FC

MAG-EBE

2696

3.1

El género *Tegula* Lesson, 1835 en la costa Suroccidental de Sudamérica: una reevaluación taxonómica de las especies considerando nuevos caracteres sistemáticos y el establecimiento de una hipótesis filogenética



Tesis
Entregada a la
Universidad de Chile
En cumplimiento parcial de los requisitos
Para optar al grado de
Magíster en Ciencias con Mención en Ecología y Biología Evolutiva

Facultad de Ciencias

Por

Gonzalo Andrés Collado Inzulza

Director de Tesis Dr.

Marco Méndez Torres

Co-directora Dra.

Carmen Espoz

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado al profesor Jaime Ramírez Böhme, quien me incentivó a encontrar la especie *Tegula ignota*, descrita por él en 1976 utilizando sólo caracteres de la concha. Esto, debido a que nunca pudo encontrar algún animal vivo. Varios investigadores dudaban de la veracidad de esta publicación. “No existe” “puede ser un fósil”, “una variedad de *quadricostata*” o simplemente “está mal descrita”, eran algunos de las expresiones utilizadas en relación a este taxón. Al consultarle por la especie, don Jaime me enseñó su colección y me obsequió el ejemplar más destacado que poseía, con mucha gratitud. Casi ocho meses después de aquella primera reunión pude dar con una población de *Tegula ignota*. Después de este hallazgo observamos hermosos ejemplares vivos de la especie, él estudiándolos por primera vez, con una lupa de mano. La primera fotografía que muestra un ejemplar de las especies de *Tegula* estudiadas aquí corresponde a *Tegula ignota*. A Don Jaime, le brindo mi más sincero reconocimiento.



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quisiera agradecer a mi director de tesis Dr. Marco Méndez, y a Carmen Espoz, codirectora, por haber guiado este trabajo de investigación. En especial agradezco la confianza que depositaron en mí desde un principio y a lo largo del desarrollo de este estudio. Espero con este trabajo haber retribuido, en alguna medida, tal consideración. También quiero agradecer a la profesora Cecilia Osorio, del Laboratorio de Invertebrados Acuáticos, Universidad de Chile, por haberme dado la oportunidad de trabajar en su laboratorio, y además ayudarme con la confirmación de la identidad de algunas de las especies utilizadas en el presente estudio. Al Dr. Guido Pastorino también agradezco la ayuda otorgada en la determinación *de Tegula patagonica*. También quiero agradecer al profesor Donald Brown de la Universidad de Valparaíso por apoyarme en el estudio sobre la morfología espermática de las especies. Aprovecho de dar mis más sinceros agradecimientos al Dr. Eduardo Couve por haberme facilitado el microscopio electrónico de transmisión y a don Fidel Vargas por todo el trabajo que invirtió en el procesamiento de las muestras en el Laboratorio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Valparaíso. Mis mayores agradecimientos son también para mi amigo compañero de postgrado, Claudio Correa, por haberme instruido en la forma de trabajar secuencias génicas. Compañera de postgrado también es Soledad Cortés, a quien agradezco mucho el haber muestreado *Tegula patagonica*, allá en Puerto Madryn, Argentina. También agradezco a mis colegas y amigos estudiantes de Biología Marina de la Universidad Católica del Norte, Manuel Espinosa y especialmente a Jorge Mitrovich, por la invaluable ayuda y esfuerzo en la obtención del material biológico. Al buzo, don

Mario Soto, agradezco el haberme ayudado en la obtención de *Tegula ignota*. También deseo agradecer las sugerencias de la Comisión de Postgrado a este trabajo de investigación. Agradezco también a mi familia por el apoyo otorgado, especialmente en los primeros meses de permanencia en el programa. La tesis fue parcialmente financiada por la beca de finalización de tesis de postgrado de la Universidad de Chile, año 2003. ✓

INDICE DE MATERIAS

Dedicatoria	ii
Agradecimientos	iii
Indice de tablas	vii
Indice de figuras	viii
Resumen	ix
1. INTRODUCCION	1
1.1. Antecedentes generales de <i>Tegula</i>	1
1.2. Hipótesis	6
1.3. Objetivos	7
2. MATERIALES Y METODOS	9
2.1. Análisis comparativo	9
2.2. Selección y recolección de taxa	9
2.3. Morfología del epipodio	9
2.4. Morfología y ultraestructura del espermatozoide	11
2.5. Extracción, amplificación, purificación y secuenciación de DNA	12
2.6. Análisis filogenético	13
3. RESULTADOS	18
3.1. Revisión histórica	18
3.2. Descripción del epipodio de <i>Tegula</i>	27

3.3. Descripción del espermatozoide de <i>Tegula</i>	30
3.4. Análisis comparativo	32
3.4.1. <i>Tegula atra</i> (Lesson, 1830)	32
3.4.2. <i>Tegula euryomphala</i> (Jones, 1844)	34
3.4.3. <i>Tegula ignota</i> Ramírez, 1976	36
3.4.4. <i>Tegula luctuosa</i> (D' Orbigny, 1841)	37
3.4.5. <i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)	38
3.4.6. <i>Tegula quadricostata</i> (Wood, 1828)	41
3.4.7. <i>Tegula tridentata</i> (Potiez y Michaud, 1838)	42
3.5. Análisis filogenético molecular	44
3.5.1. Parafilia de las especies chilenas	49
4. DISCUSION	52
4.1. Revisión sistemática	52
4.2. Morfología del epipodio	52
4.3. Morfología del espermatozoide	53
4.4. Relaciones filogenéticos	56
4.5. Evidencia fósil	58
4.6. Zoogeografía	59
4.7. Consideraciones finales e implicancias taxonómicas	60
5. CONCLUSIONES	66
6. LITERATURA CITADA	68
7. ANEXO	77

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Localidades de muestreo de las especies chilenas de <i>Tegula</i>	10
Tabla 2.	Secuencias COI de especies de <i>Tegula</i> adquiridas del GenBank	14
Tabla 3.	Nombres propuestos para las especies de <i>Tegula</i> junto a las designaciones actuales	19

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Distribución de las especies de <i>Tegula</i> descritas para Chile	2
Figura 2.	Localidades de muestreo de las especies de <i>Tegula</i> utilizadas en el análisis filogenético molecular	15
Figura 3.	Anatomía externa y morfología del epipodio en <i>Tegula</i>	26
Figura 4.	Ultraestructura del espermatozoide en <i>Tegula</i>	29
Figura 5.	Filogenia obtenida del análisis de parsimonia	43
Figura 6.	Filogenia obtenida del análisis del vecino más cercano	45
Figura 7.	Filogenia obtenida del análisis de máxima probabilidad	46
Figura 8.	Filogenia obtenida mediante inferencia bayesiana	47
Figura 9.	Superposición de subgéneros propuestos para <i>Tegula</i> sobre una filogenia COI	60

RESUMEN

Históricamente la taxonomía de las especies chilenas de *Tegula* se ha basado en la morfología de la concha, un carácter variable que ha provocado confusiones taxonómicas en el grupo reflejadas en discordias en el número de especies reconocidas y conflicto en las asignaciones subgenéricas. En las clasificaciones las especies se han asignado a los subgéneros *Agathistoma* y/o *Chlorostoma*, o no se han adscrito a subgénero. Estos desacuerdos surgen debido a que la monofilia del grupo no se ha evaluado adecuadamente. En este trabajo se reevalúa la taxonomía de las especies empleando caracteres del epipodio y espermatozoide y se examinan las relaciones de parentesco entre los taxa utilizando diferentes aproximaciones filogenéticas. Las relaciones filogenéticas se evaluaron en 29 especies Tegulinae utilizando secuencias de DNA mitocondrial del gen que codifica la subunidad 1 de la proteína citocromo oxidasa (COI). La filogenia resultante fue además empleada para postular un patrón de colonización de las especies de *Tegula* que habitan las costas chilenas.

Los resultados muestran que en la literatura se registraron 58 nombres específicos, distribuidos en nueve géneros y tres subgéneros, para siete especies de *Tegula* caracterizadas en este estudio. El análisis molecular indica que las especies de *Tegula* que habitan la costa chilena no conforman un grupo monofilético, ya que se dividen en dos clados que no son hermanos. Las especies *Tegula atra*, *Tegula ignota*, *Tegula luctuosa* y *Tegula euryomphala* forman un clado separado de las especies *Tegula patagonica*, *Tegula quadricostata* y *Tegula tridentata*, que están más emparentadas con las especies tropicales de *Tegula*. El análisis molecular indica que el grupo hermano de las especies chilenas y

tropicales de *Tegula* lo constituyen las especies de *Tegula* de Baja California. Considerando este antecedente, el registro fósil y la distribución geográfica de las especies se infiere que a las costas chilenas arribaron al menos dos linajes de *Tegula* siguiendo una ruta de dispersión Norte-Sur por la costa del Pacífico. El análisis sugiere también que la taxonomía de *Tegula* a nivel de subgénero debe ser revisada.

1. INTRODUCCION

1.1. Antecedentes del género *Tegula*

El género *Tegula* Lesson, 1835 está representado por cerca de 40 especies (Hellberg, 1998) que se encuentran adscritas a la cuenca del Pacífico, mar Caribe y costa atlántica Sudamericana. *Tegula* pertenece a la Familia Trochidae, Clado Vetigastropoda (Haszprunar, 1988; Ponder y Lindberg, 1997), que agrupa algunos de los gastrópodos más antiguos, con registros fósiles que datan del Triásico medio y Holoceno (Hickman y McLean, 1990). Las primeras clasificaciones incluyen a *Tegula* en el orden Archaeogastropoda (Thiele, 1929). El ejemplar tipo del género corresponde a *Tegula elegans* Lesson, 1835 (Carcelles, 1945). Estos gastrópodos herbívoros (Watanabe, 1984) se caracterizan por presentar una concha por lo común cónica espiral y opérculo córneo multiespiro casi circular sin carbonato de calcio (Ramírez, 1981). Internamente presentan una rádula ripidoglossa, un solo ctenidio bipectinado (izquierdo), corazón con dos aurículas y un ventrículo cruzado por el recto. *Tegula* corresponde a un grupo de organismos que emplea la fertilización externa como estrategia reproductiva y presenta un desarrollo larval de tipo lecitotrófico (Morán, 1997).

En Chile, el género *Tegula* está representado por varias especies que habitan en ambientes intermareales y submareales (Ramírez, 1981; Véliz y Vásquez, 2000), algunas de las cuales coexisten de manera simpátrica (Fig. 1). Este grupo ha sido principalmente estudiado desde el punto de vista taxonómico y existe una abundante literatura en relación con este tema. Entre los autores que tratan especies chilenas de *Tegula* se

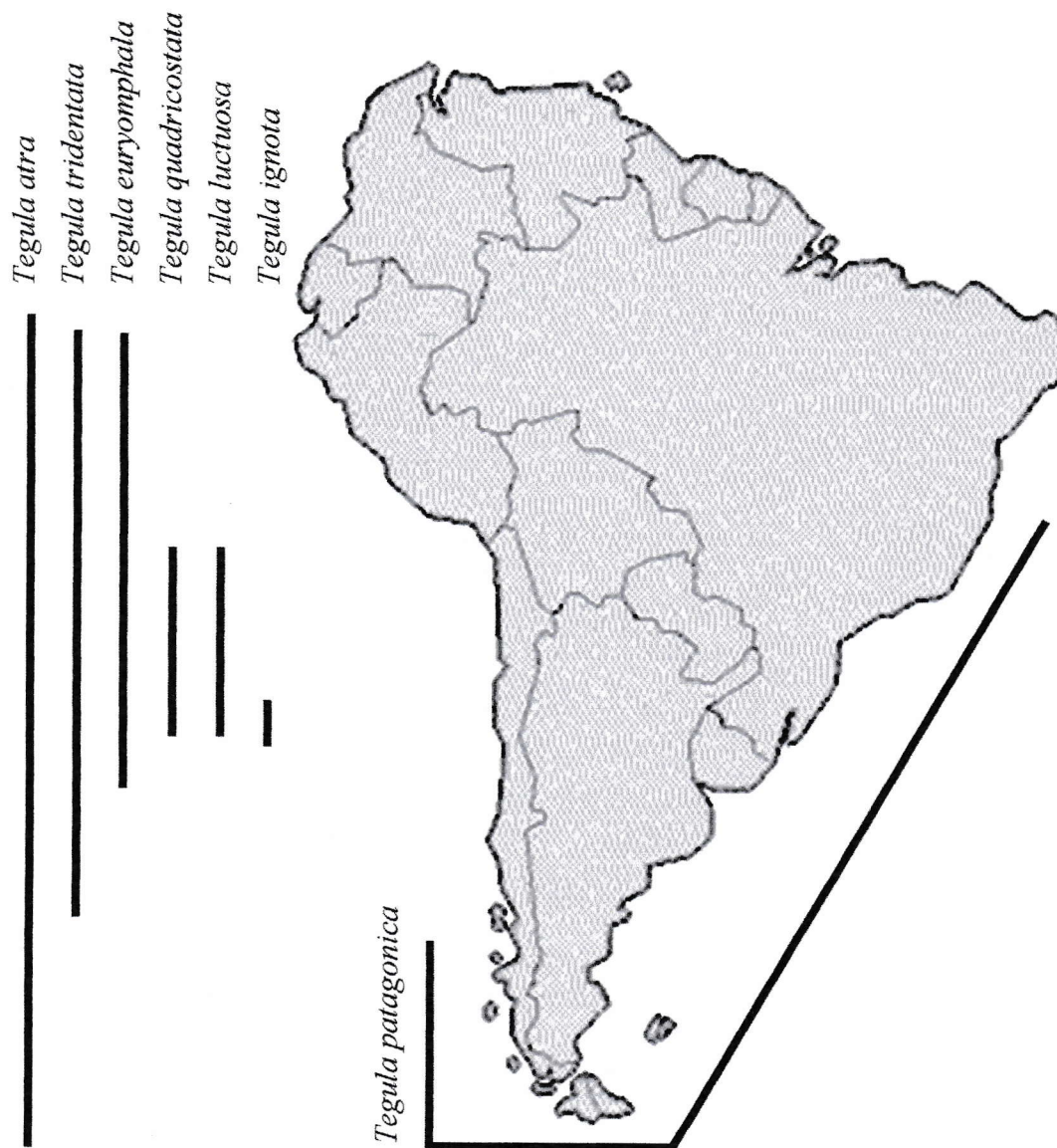


Figura 1. Distribución de las especies de *Tegula* descritas para las costas chilenas de acuerdo a diferentes autores (vea el texto para detalles) y el presente estudio.

encuentran: Lesson (1830), D' Orbigny (1835-1841), Potiez y Michaud (1838), Hupé (1854), Philippi (1845; 1860); Pilsbry (1889), Dall (1909), Carcelles (1944; 1945), Carcelles y Willianson (1951), Marincovich (1973), Ramírez (1981), Alamo y

Valdivieso (1987), Guzmán y col. (1998), Véliz y Vásquez (2000), y Nicosia y Gaete (2003). Por otro lado, los trabajos que consideran estudios en otras áreas de la biología son escasos en este grupo. Entre estos se pueden nombrar las investigaciones de Véliz y Vásquez (2000) y Lancelloti y Vásquez (2000) que entregan antecedentes ecológicos, principalmente relacionados con el hábitat y distribución de las especies. Brown (1992) estudió la espermatogénesis en *Tegula tridentata*. Vásquez y Buschman (1997) y Vásquez y col. (1998) entregan antecedentes sobre la alimentación de las especies. Hellberg (1998), por otro lado, incluyó tres especies chilenas de *Tegula* en un análisis filogenético molecular.

En relación con los estudios taxonómicos, históricamente los trabajos en *Tegula* se han basado exclusivamente en la morfología externa de la concha. El uso de este carácter ha provocado confusión taxonómica debido a que presenta una alta variabilidad, lo que resulta en un problema cuando el criterio tipológico se emplea para reconocer especies de *Tegula* (Véliz y Vásquez, 2000). En este contexto, las discrepancias taxonómicas se han traducido en dos problemas fundamentales. Estos son, a) el número de especies y variedades aceptadas varía ampliamente entre los autores y a la fecha no se ha alcanzado un consenso, y b) conflicto en las asignaciones subgenéricas dentro del grupo. En las clasificaciones se ha considerado a las especies como un grupo homogéneo dentro de *Tegula*, sin que los autores hayan realizado propuestas subgenéricas (Ramírez, 1981; Véliz y Vásquez, 2000; Nicosia y Gaete (2003), o se han asignado a los subgéneros *Agathistoma* Olsson y Harbison, 1953 (Hellberg, 1998) o *Chlorostoma* Swainson, 1840 (Keen, 1971; Marincovich, 1973; Alamo y Valdivieso, 1987; Guzmán y col., 1998; Lancelloti y Vásquez, 2000). Según Keen (1971), las

especies de *Tegula* representadas en Chile pertenecen al subgénero *Chlorostoma*, que incluye especies de tamaño grande de aguas templadas. Por otro lado, Hellberg (1998) ubica a las especies chilenas *Tegula tridentata* y *Tegula quadricostata* en *Agathistoma*, subgénero que incluye especies tropicales y subtropicales de *Tegula* de tamaño pequeño a mediano. La especie *Tegula tridentata* ha sido también asignada a *Chlorostoma* por varios autores (Keen, 1971; Marincovich, 1973; Alamo y Valdivieso, 1987; Brown, 1992; Guzmán y col., 1998; Lancellotti y Vásquez, 2000). *Tegula patagonica* también ha sido asignada al subgénero *Omphalius* (Philippi, 1847) por Abbott (1974). Estos antecedentes sugieren que en *Tegula* la clasificación es artificial.

Sin embargo, a pesar de los numerosos intentos por ordenar la taxonomía de las especies chilenas de *Tegula*, las dificultades persisten debido a que los esfuerzos no han sido dirigidos desde una perspectiva filogenética. Un ordenamiento es una clasificación de un grupo cuyas relaciones filogenéticas aún no han sido delineadas, de manera que puede ser natural o artificial (Brooks y McLennan, 1991). Como en *Tegula* las relaciones de parentesco son inciertas, se desconoce si alguno de los ordenamientos propuestos refleja o no las relaciones cladísticas del grupo. Con el propósito de contribuir a resolver las dudas taxonómicas en cuanto al número de taxa válidos y determinar si las especies chilenas de *Tegula* constituyen un grupo monofilético, en este trabajo se reevalúa la taxonomía de las especies empleando caracteres distintos a los usados de forma tradicional y se examinan las relaciones de parentesco entre los taxa. Para la caracterización de las especies se estudia la morfología del epipodio y espermatozoide. Las relaciones de parentesco se examinan empleando datos moleculares que se analizan utilizando diferentes métodos filogenéticos.

1.2. Caracteres utilizados en este estudio

En relación con los caracteres taxonómicos incorporados en este estudio, el epipodio corresponde a un complejo de estructuras sensoriales ubicadas en la porción dorsal del pie bajo el margen de la concha de los vetigastropodos (Cox, 1962; *fide* Geiger, 1999). En los Trochidae, el epipodio corresponde a diferentes órganos que se proyectan a partir de la pared del cuerpo y se extienden a lo largo del margen superior del pie (Hickman y McLean, 1990). En el presente estudio se ha considerado el análisis de este complejo debido a que en vetigastropodos presenta una naturaleza especie específica (Owen et al., 1971; *fide* Geiger, 1999) y se ha utilizado para caracterizar especies de *Tegula* (Macdonald y Maino, 1966; Hickman y McLean, 1990). En relación con la morfología espermática, una abundante literatura muestra que en vetigastropodos el espermatozoide es de naturaleza especie específica (Hodgson y Bernard, 1988; Hodgson y col., 1990; Hodgson y Foster, 1992; Hodgson y Chia, 1993; Hodgson, 1995; Collado y Brown, 2003). Estos antecedentes, además del conocimiento que se tiene sobre la morfología del espermatozoide de otro grupo vetigastropodo (por ejemplo especies de *Fissurella*), permitió al autor de esta tesis considerar la estructura espermática como un carácter morfológico útil para caracterizar especies de *Tegula*. Espermatozoides de *Tegula* han sido publicados por Koike (1985) para las especies *Tegula argyrostoma* (bajo *Chlorostoma argyrostoma lischkei*) y *Tegula pfeifferi* (bajo *Omphalius pfeifferi pfeifferi*), y por Brown (1992) para *Tegula tridentata*. ✓

En relación con los datos moleculares, en la actualidad se utilizan distintos marcadores moleculares para inferir filogenias y a la vez detectar divergencia molecular (Avise, 1994; Nei y Kumar, 2000). En este trabajo se escogió el gen de DNA

mitocondrial que codifica la subunidad 1 de la proteína citocromo oxidasa (COI) debido a que esta región génica se ha utilizado para inferir relaciones de parentesco en *Tegula* (Hellberg, 1998), y considerando la información que entrega el registro fósil de las especies. De acuerdo a Carcelles y Williamson (1951) las especies *Tegula atra*, *Tegula euryomphala* y *Tegula tridentata* se habrían originado en el Cuaternario. Por otro lado, según Herm (1969), las especies chilenas *Tegula atra* y *Tegula luctuosa* tienen un origen pliocénico y *Tegula tridentata* pleistocénico. Algunas especies de *Tegula* de California, que muestran variabilidad en sus secuencias COI Hellberg (1998), también tienen un origen pliocénico.

1.3. Hipótesis de trabajo

En este trabajo se ha revisado la información existente en la literatura que considera aspectos taxonómicos en especies de *Tegula* que se han descrito para las costas de Chile. Estos antecedentes muestran que la taxonomía del grupo es confusa, evidenciando dificultades que van desde incertezas en el número de especies aceptadas como válidas hasta una clara incongruencia en las asignaciones subgenéricas. Como se mencionó anteriormente, se ha considerado a las especies chilenas de *Tegula* como un grupo homogéneo dentro del género sin asignarlas a algún subgénero (Ramírez, 1981; Véliz y Vásquez, 2000). Las especies también se han considerado parafiléticas, debido a que algunas especies se han asignado a los subgéneros *Agathistoma* (Hellberg, 1998) o *Chlorostoma* (Keen, 1971; Marincovich, 1973; Alamo y Valdivieso, 1987; Guzmán y col., 1998; Lancelloti y Vásquez, 2000). Debido a que los ordenamientos propuestos varían entre los autores y se desconoce si alguno de ellos constituye un ordenamiento

natural, en el presente estudio se propone como hipótesis de trabajo que las especies chilenas de *Tegula* comprenden un grupo monofilético. Para poner a prueba esta hipótesis se evaluarán las relaciones de parentesco entre estas especies en un contexto global. Esto es, incorporando las secuencias COI de las especies chilenas de *Tegula* en un análisis filogenético molecular que incluye las secuencias COI de todas las especies de *Tegula* disponibles a la fecha. Bajo este contexto, si las especies chilenas constituyen un grupo monofilético, estas debieran evidenciar que constituyen un grupo natural separándose de las otras especies involucradas en el análisis.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo general

Reevaluar la taxonomía de las especies de *Tegula* descritas para Chile empleando nuevos caracteres taxonómicos y determinar a través de un análisis filogenético molecular las relaciones de parentesco entre las especies.

1.4.2. Objetivos específicos

1. Realizar una revisión sistemática actualizada sobre las especies de *Tegula* descritas para Chile.
2. Caracterizar las especies chilenas de *Tegula* mediante la morfología del espermatozoide y la morfología del epipodio.

3. Determinar las relaciones de parentesco entre las especies a través de un análisis filogenético molecular empleando secuencias parciales del gen COI.
4. Inferir a partir de la filogenia COI un patrón de colonización de las especies de *Tegula* que habitan la costa chilena.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. Análisis comparativo

El análisis comparativo de las especies chilenas de *Tegula* realizado en el presente estudio consistió en: 1) la revisión de la colección sistemática de los Trochidae del Museo Nacional de Historia Natural de Santiago, Chile, 2) la revisión de la colección personal de especies de *Tegula* del profesor Jaime Ramírez, en Santiago, Chile, 3) intercambio de material biológico y discusión taxonómica con especialistas del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia, Buenos Aires, Argentina, 4) revisión de la bibliografía disponible en relación con la taxonomía del grupo. El análisis comparativo permitió establecer la sinonimia de las especies estudiadas.

2.2. Selección y recolección de taxa

La recolección de ejemplares de las especies utilizadas en este estudio se realizó en diferentes localidades costeras del norte y centro de Chile (Tabla 1). En esta zona fue posible encontrar, desde Coquimbo (IV Región) a La Boca (VI Región), seis especies de *Tegula*. La única especie que no habita esta zona es *Tegula patagonica*, cuya distribución es más austral y se extiende hasta la costa de Brasil por el Atlántico. Esta especie fue recolectada en Puerto Madryn, Argentina.

2.3. Morfología del epipodio

Para la caracterización del epipodio se utilizó un método implementado en esta tesis. Este consistió en recolectar ejemplares de cada especie y transportarlos vivos al

Tabla 1. Localidades de muestreo de las especies estudiadas del género *Tegula*.

Especie	Localidad muestreo	Coordenadas
1. <i>Tegula atra</i>	La Herradura ¹ y Totalillo Sur ² , Coquimbo, Chile.	¹ 29°57,94 S ² 30°04,38 S
2. <i>Tegula euryomphala</i>	La Herradura, Coquimbo, Chile.	¹ 29°57,94 S
3. <i>Tegula ignota</i>	La Boca, VI Región, Chile.	
4. <i>Tegula luctuosa</i>	La Herradura ¹ y Totalillo Sur ² , Coquimbo, Chile.	¹ 29°57,94 S ² 30°04,38 S
5. <i>Tegula quadricostata</i>	La Herradura ¹ y Totalillo Sur ² , Coquimbo, Chile.	¹ 29°57,94 S ² 30°04,38 S
6. <i>Tegula patagonica</i>	Puerto Madryn, Chubut, Argentina	
7. <i>Tegula tridentata</i>	La Herradura ¹ y Totalillo Sur ² , Coquimbo, Chile.	¹ 29°57,94 S ² 30°04,38 S

laboratorio donde fueron mantenidos en acuarios con agua de mar. A continuación, cada ejemplar fue invertido sobre su superficie dorsal en un contenedor con agua de mar limpia en mezcla isotónica con una solución de cloruro de magnesio al 10% en volumen suficiente como para cubrirlos completamente. El traspaso de los ejemplares en posición invertida al segundo recipiente provoca la extensión de los órganos del pie y epipodio mientras intentan girar a la posición ventral normal. Debido a que los ejemplares persisten en esta acción durante un prolongado lapso de tiempo, la solución anestésica de cloruro de magnesio provoca su relajación, conservando sus partes blandas extendidas. Después de esto, los ejemplares fueron congelados en la misma solución y preservados en alcohol al 70% para su posterior disección bajo lupa. Las estructuras epipodiales analizadas corresponden a los tentáculos cefálicos, palmetes

cefálicos, tentáculos epipodiales, lóbulo izquierdo del cuello, lóbulo derecho del cuello, papilas epipodiales y pliegue epipodial.

2.4. Morfología y ultraestructura del espermatozoide

Para la fijación e inclusión de tejido testicular se siguió el método utilizado por Collado y Brown (2003). Pequeños trozos de testículo fueron extraídos desde machos adultos y se prefijaron durante 2 h en glutaraldehído al 2% en buffer cacodilato 0.25 M de pH 7.4 ajustado con sacarosa (17,5 %) en solución isomolar al agua de mar. A continuación las muestras fueron lavadas en el mismo buffer y postfijadas 2 h en tetróxido de osmio al 2% más el buffer ajustado con sacarosa al 25%. La fijación y lavado se realizó a una temperatura de 4 °C. Las muestras se deshidrataron en una batería creciente de alcohol y alcohol-acetona e impregnaron e incluyeron en Medcast® mezcla dura. Los cortes finos se contrastaron con acetato de uranilo y citrato de plomo para finalmente ser observados en un microscopio electrónico de transmisión Zeiss 900 a 80 Kv.

Para las medidas de longitud total y ultraestructurales del espermatozoide se utilizó un método implementado en esta tesis. Para esto una pequeña porción de testículo fue agitada en fijador ALFAC (alcohol-formalina-ácido acético) hasta que los espermatozoides quedaron suspendidos en la solución. Una submuestra de espermatozoides fue depositada en un portaobjetos y luego teñida con hematoxilina-eritrocina orange G. Con la ayuda de una cámara fotográfica adaptada a un microscopio de luz se fotografiaron 20 espermatozoides por especie a un aumento de 1000x. Los

espermatozoides fueron finalmente medidos utilizando el programa NIH 1.6. Las medidas consistieron en la longitud total del espermatozoide, que no incluía el flagelo, la longitud y ancho del núcleo y la longitud y ancho del acrosoma. La longitud total del espermatozoide fue comparada entre las especies utilizando una prueba t de Student (Sokal y Rohlf, 1995).

2.5. Extracción de DNA, amplificación, purificación y secuenciación

En este trabajo se extrajo DNA genómico de cuatro especies de *Tegula* que habitan la costa del cono Sur de Sudamérica, mediante suspensión Chelex, siguiendo a Hellberg (1998). Las especies utilizadas fueron: *Tegula euryomphala*, *Tegula ignota*, *Tegula luctuosa* y *Tegula patagonica*. Para la extracción de DNA, se molió en un tubo ependorf una pequeña muestra de tejido del manto, pie o músculo radular de cada especie en 200 μ l de suspensión Chelex al 20% que luego fue calentada a baño María durante 10 min y centrifugada a 14.000 rpm durante 10 min. Las muestras fueron mantenidas congeladas hasta la amplificación de un fragmento de aproximadamente 640 pares de bases del gen COI mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Para la amplificación se ocupó 1 a 2 μ l de solución sobrenadante del Chelex que sirvió como templado para una mezcla PCR de 50 μ l. Para la preparación de la solución PCR, se mezcló en un tubo ependorf agua bidestilada estéril (33.03 μ l), buffer 10x de la enzima (5 μ l), cloruro de magnesio (2 μ l), dNTPs (2 μ l), partidores (1.15 μ l), polimerasa taq (0.67 μ l) y DNA genómico (5 μ l). Como partidores se utilizaron los oligonucleótidos secuenciados por Folmer



y col. (1994): HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') y LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'). La mezcla se llevó a un termociclador que fue programado bajo las siguientes condiciones durante 31 ciclos: desnaturalización a 94 °C por 50 s, alineamiento del partidor a 50 °C por 90 s y elongación del partidor a 72 °C por 90 s, con un ciclo de extensión final de 8 m a 72 °C. Los productos amplificados fueron purificados en columnas Qiagen® y luego secuenciados en ambas direcciones en un secuenciador automático Abi 3700.

2.6. Análisis filogenético

Para la polarización de los caracteres moleculares de secuencias COI, siguiendo los principios de la sistemática filogenética, se utilizó el método de comparación con el grupo externo (Maddison y col., 1984). El análisis filogenético fue conducido en un contexto global. Esto es, considerando todas las secuencias del gen COI disponibles para especies de *Tegula* (Fig. 2, Tabla 2). Estas incluyen: 1) secuencias de las especies chilenas secuenciadas en este estudio, 2) secuencias de especies chilenas secuenciadas por Hellberg (1998), 3) secuencias disponibles en GenBank para especies de *Tegula* del Pacífico, mar Caribe y costa atlántica sudamericana (Hellberg, 1998; Hellberg y Vacquier, 1999), y 4) la secuencia COI de un taxón utilizado como grupo externo. Para enraizar los árboles en los diferentes análisis se utilizó como grupo externo a *Norrisia norrisi*, el único miembro Tegulinae además de *Tegula* (Hickman y McLean, 1990), y cuya secuencia COI fue publicada por Hellberg (1998). De esta manera, el total de taxa incorporados al análisis filogenético molecular alcanzó a 29 especies Tegulinae.

Tabla 2. Localidades de muestreo y números de acceso de las especies cuyas secuencias COI fueron adquiridas desde el GenBank. Fuente: *Tegula viridula*, Hellberg y Vacquier (1999). El resto de las especies, Hellberg (1998). (*): La localidad corresponde a la distribución geográfica de la especie. CA: California; BC: Baja California.

	Especie	Localidad de recolección	Acceso GenBank
1.	<i>Norrisia norrisi</i> Sowerby II, 1838	Punta Baja, BC	080650
2.	<i>Tegula aureotincta</i> (Forbes, 1852)	Bahía Asuncion, BC	080651
3.	<i>T. brunnea</i> (Philippi, 1848)	Pacific Grove, CA	080652
4.	<i>T. montereyi</i> (Kiener, 1850)	Pacific Grove, CA	080653
5.	<i>T. regina</i> Stearns, 1892	San Diego, CA	080654
6.	<i>T. pfeifferi</i> (Philippi, 1846)	Península Izu, Japón	080655
7.	<i>T. rusticus</i> (Gmelin, 1791)	Uchiura, Japón	080656
8.	<i>T. nigerrima</i> (Gmelin, 1791)	Hong Kong	080657
9.	<i>T. argirostoma</i> (Gmelin, 1791)	Hong Kong	080658
10.	<i>T. xanthostigma</i> (A. Adams, 1853)	Uchiura, Japón	080659
11.	<i>T. funebris</i> (A. Adams, 1855)	Punta Santo Tomas, BC	080660
12.	<i>T. gallina</i> (Forbes, 1850)	Punta Santo Tomas, BC	080661
13.	<i>T. rugosa</i> (A. Adams, 1853)	Bahía de Los Angeles, BC	080662
14.	<i>T. atra</i> (Lesson, 1830)	Algarrobo, Chile	080663
15.	<i>T. quadricostata</i> (Word, 1828)	Pichidangui, Chile	080664
16.	<i>T. tridentata</i> (Potiez & Michaud, 1838)	Punta Santo Tomás, BC	080665
17.	<i>T. excavata</i> (Lamarck, 1822)	Tierre-de-Haut, Guadeloupe	080666
18.	<i>T. pellisserpentis</i> (Word, 1828)	Ciudad de Panamá, Panamá	080667
19.	<i>T. verrucosa</i> McLean, 1970	Ciudad de Panamá, Panamá	080668
20.	<i>T. eiseni</i> Jordan, 1936	East Anacapa Island, CA	080669
21.	<i>T. corteziana</i> McLean, 1970	Puertocitos, BC	080670
22.	<i>T. mariana</i> Dall, 1919	Puertocitos, BC	080671
23.	<i>T. felipensis</i> McLean, 1970	San Felipe, BC	080672
24.	<i>T. fascista</i> (Born, 1778)	Isla Utila, Honduras	080674
25.	<i>T. viridula</i> (Gmelin, 1791)	Caribe y Brasil*	132340

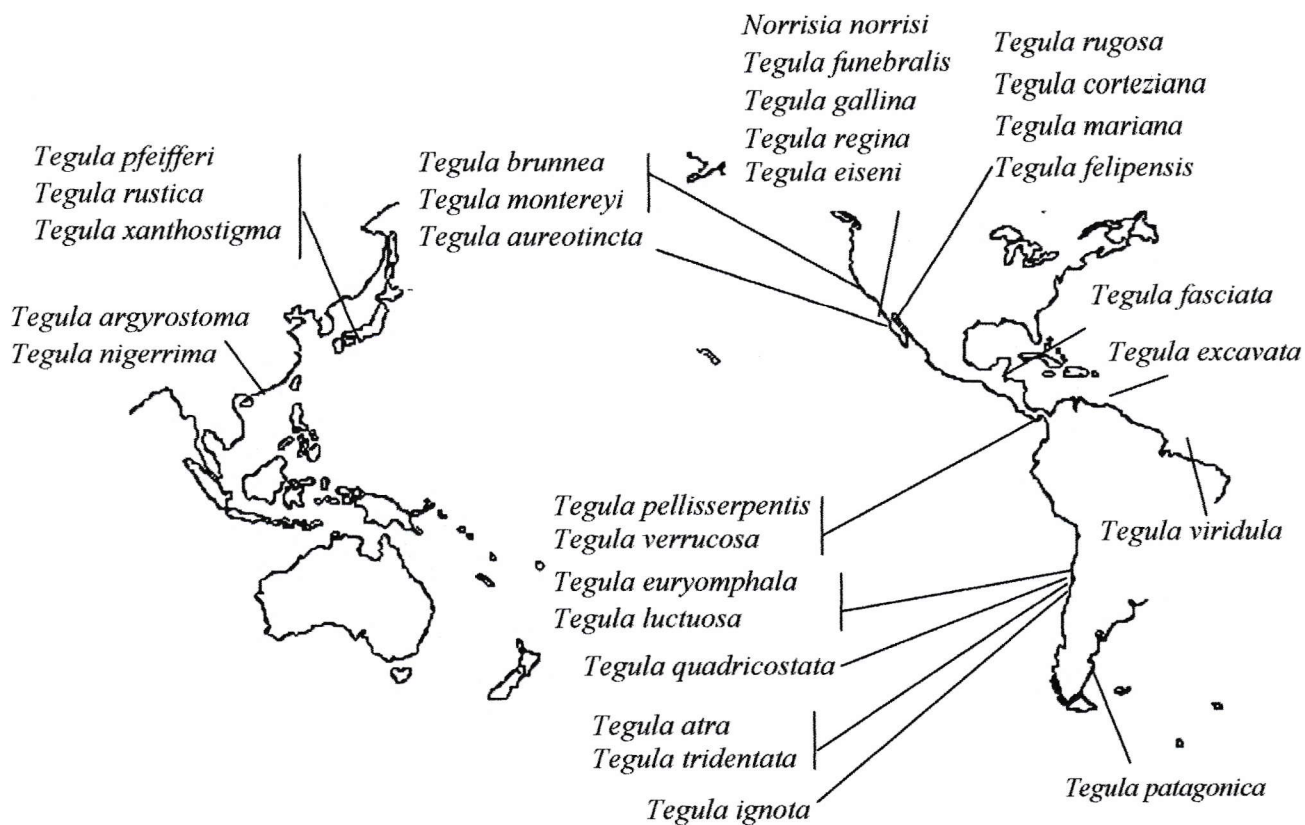


Figura 2. Localidades de muestreo de las especies de *Tegula* cuyas secuencias COI se utilizaron en el análisis filogenético molecular realizado en el presente estudio. Las secuencias se obtuvieron de Hellberg (1998), Hellberg y Vacquier (2000) y el presente estudio.

Para la edición de las secuencias originales utilizadas en este estudio se utilizó el programa BioEdit 5.0.9 (Hall, 1999) y paralelamente el programa Chromas 1.45 (McCarthy, 1996-1998). Se implementó un análisis BLAST (“Basic local analysis sequence tools”) para corroborar si las secuencias obtenidas de *Tegula* correspondían al gen COI. Además, la información codificada en las secuencias de DNA se tradujo a secuencias de aminoácidos de la proteína COI. Debido a que en las secuencias COI y en las ya publicadas no había inserciones o deleciones, el alineamiento se realizó mediante inspección visual en el programa BioEdit. Los árboles filogenéticos fueron construidos

mediante cuatro métodos: máxima parsimonia, vecino más cercano (neighbor-joining), máxima probabilidad (maximum likelihood) e inferencia bayesiana. Se calculó la razón de las transiciones respecto de las transversiones entre los taxa utilizando el programa MEGA (Kumar y col., 2001). Debido a que la matriz contemplaba 29 taxa, para el análisis de parsimonia se implementó una búsqueda heurística en el programa PAUP* (Swofford, 2000) con 100 series de adición de secuencias al azar. Para aumentar la posibilidad de encontrar el árbol óptimo se implementó el algoritmo de “branch swapping” TBR (“tree bisection reconnection”). Los estados del carácter fueron tratados como desordenados e igualmente pesados. El soporte de los nodos fue evaluado utilizando el método de aleatorización “bootstrap” no paramétrico con 1000 réplicas. El análisis vecino más cercano (Saitou y Nei, 1987) se realizó en el programa MEGA (Kumar y col., 2001) usando la distancia de Kimura de dos parámetros (Kimura, 1980). En este análisis se evaluó el soporte de cada nodo en el árbol empleando 1000 réplicas “bootstrap”. El análisis de máxima probabilidad fue realizado en el programa PAUP*. El modelo utilizado y los parámetros fueron seleccionados empleando como criterio el Likelihood Ratio Tests (LRTs) implementado en el programa ModelTest 3.06 (Posada y Crandell, 1998, 2001). Se evaluó el soporte de cada nodo en el árbol empleando 100 réplicas “bootstrap”. El mismo modelo de evolución de secuencias seleccionado por el Likelihood Ratio Tests se utilizó para el análisis bayesiano que se realizó en el programa MrBayes 2.01 (Huelsenbeck, 2000; Huelsenbeck y Ronquist, 2001). Aquí se implementó el algoritmo MCMC (cadena de Markov Monte Carlo) con 1.000.000 de generaciones. Del universo de árboles obtenidos se muestreó cada 100 generaciones y se construyó un árbol de consenso de mayoría con longitudes de rama después de haber

descartado por inspección gráfica los primeros 1000 árboles correspondientes a 100.000 generaciones. Después de las 100.000 generaciones, el valor $-\ln L$ convergió a un valor estable y se construyó un árbol de consenso basado en los árboles muestreados después de la convergencia.

2. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en este trabajo se han organizado de la siguiente manera. Primero se entrega la revisión histórica de las clasificaciones de las especies chilenas de *Tegula* correspondiente al objetivo 1 propuesto en esta tesis. A continuación, y en concordancia con el objetivo 2, se describe la morfología del epipodio y espermatozoide en sus aspectos generales y se hace un análisis comparativo entre las especies mediante estas estructuras. Adicionalmente, para enriquecer el análisis comparativo, se entregan las principales características de la morfología de la concha y se resumen los datos obtenidos a partir de la literatura sobre el hábitat y la distribución geográfica de las especies. Finalmente, se entregan los resultados del análisis filogenético molecular el cual responde a los objetivos 3 y 4 de esta tesis.

2.1. Revisión sistemática de las especies chilenas de *Tegula*

La revisión sistemática permitió recuperar de la literatura los nombres propuestos por los autores para las especies de *Tegula* descritas para Chile. Estos nombres, junto a las designaciones actuales, se muestran en la Tabla 3.

La primera especie de *Tegula* de la costa chilena señalada en la literatura corresponde a *Tegula quadricostata*, nombrada como *Trochus quadricostatus* por Wood en 1828 (Ramírez, 1981). Este autor tiene prioridad en la nominación de la especie. Poco después Lesson (1830) describe por primera vez a *Tegula atra* bajo el nombre de *Trochus ater* por lo que este autor tiene prioridad en su nominación.

Tabla 3. Nombres propuestos para las especies chilenas de *Tegula* y las designaciones actuales de acuerdo a este estudio.

Nombres propuestos	Designaciones actuales
<i>Chlorostoma atra</i> Dell, 1971	<i>Tegula atra</i> (Lesson, 1830)
<i>Chlorostoma atrum</i> H. y A. Adams, 1858	<i>Tegula atra</i> (Lesson, 1830)
<i>Chlorostoma atrum moestum</i> Pilsbry, 1889	<i>Tegula atra</i> (Lesson, 1830)
<i>Chlorostoma corrugatum</i> Pilsbry, 1889	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Chlorostoma euriomphalus</i> Pilsbry, 1889	<i>Tegula euryomphala</i> (Jones, 1844)
<i>Chlorostoma hidalgoi</i> Pilsbry, 1900	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Chlorostoma luctuosum</i> Pilsbry, 1889	<i>Tegula luctuosa</i> (D' Orbigny, 1841)
<i>Chlorostoma orbignyana</i> Pilsbry, 1900	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Chlorostoma patagonica</i> Pilsbry, 1889	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Chlorostoma patagonicum</i> Pilsbry, 1900	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Chlorostoma tridentatus</i> Pilsbry, 1889	<i>Tegula tridentata</i> (Potiez y Michaud, 1838)
<i>Chlorostoma tropidophorus</i> Adams, 1851	<i>Tegula luctuosa</i> (D' Orbigny, 1841)
<i>Clanculus corrugatus</i> Adams, 1851	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Clanculus patagonicus</i> Gray, 1850	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Minolia ambliia</i> Dall, 1927	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Molines corrugata</i> H. y A. Adams, 1858	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Monodonta catenifera</i> Potiez y Michaud, 1838	<i>Tegula quadricostata</i> (Wood, 1828)
<i>Monodonta tridentata</i> Potiez and Michaud, 1838	<i>Tegula tridentata</i> (Potiez y Michaud, 1838)
<i>Neomphalius corrugatus</i> von Ihering, 1902	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Neomphalius patagonicus</i> von Ihering, 1908	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Omphalius corrugatus</i> von Ihering, 1908	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Tegula atra</i> (Lesson, 1830)	
<i>Tegula atra moesta</i> (Jones, 1844)	<i>Tegula atra</i> (Lesson, 1830)
<i>Tegula (Chlorostoma) atra</i> Marincovich, 1973	<i>Tegula atra</i> (Lesson, 1830)
<i>Tegula crusoiana</i> (Pilsbry, 1889)	<i>Diloma sp.</i> (Pilsbry, 1889)
<i>Tegula euryomphala</i> (Jones, 1844)	
<i>Tegula euryomphalus</i> Alamo y Valdivieso, 1987	<i>Tegula euryomphala</i> (Jones, 1844)
<i>Tegula (Chlorostoma) euryomphala</i> Guzmán y col., 1998	<i>Tegula euryomphala</i> (Jones, 1844)
<i>Tegula fuscescens</i> Carcelles, 1945	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Tegula hidalgoi</i> Pilsbry, 1900	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Tegula ignota</i> Ramírez, 1976	
<i>Tegula luctuosa</i> (D' Orbigny, 1841)	
<i>Tegula (Chlorostoma) luctuosa</i> Guzmán y col., 1998	<i>Tegula luctuosa</i> (D' Orbigny, 1841)
<i>Tegula moesta</i> Alamo y Valdivieso, 1987	<i>Tegula atra</i> (Lesson, 1830)
<i>Tegula orbignyana</i> (Pilsbry, 1900)	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1840).	
<i>Tegula (Omphalius) patagonica</i> Keen, 1971	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Tegula quadricostata</i> (Wood, 1828)	

Continuación Tabla 3.

<i>Tegula tridentata</i> (Potiez y Michaud, 1838)	<i>Tegula tridentata</i> (Potiez y Michaud, 1838)
<i>Tegula (Chlorostoma) tridentata</i> Marincovich, 1973	
<i>Trochus ater</i> Lesson, 1830	<i>Tegula atra</i> (Lesson, 1830)
<i>Trochus bicarinatus</i> Potiez y Michaud, 1838	<i>Tegula luctuosa</i> (D' Orbigny, 1841)
<i>Trochus carinatus</i> Philippi, 1844	<i>Tegula luctuosa</i> (D' Orbigny, 1841)
<i>Trochus corrugatus</i> Philippi, 1846	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Trochus euriomphalus</i> Jones, 1844	<i>Tegula euryomphala</i> (Jones, 1844)
<i>Trochus fuscescens</i> Philippi, 1845	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Trochus kieneri</i> Hupé, 1854	<i>Tegula euryomphala</i> (Jones, 1844)
<i>Trochus luctuosus</i> D' Orbigny, 1841	<i>Tegula luctuosa</i> (D' Orbigny, 1841)
<i>Trochus lugubris</i> Philippi, 1844	<i>Tegula atra</i> (Lesson, 1830)
<i>Trochus microstomus</i> D' Orbigny, 1841	<i>Tegula tridentata</i> (Potiez y Michaud, 1838)
<i>Trochus moestus</i> Jones, 1844	<i>Tegula atra</i> (Lesson, 1830)
<i>Trochus obscurus</i> Kiener,	<i>Tegula euryomphala</i> (Jones, 1844)
<i>Trochus patagonicus</i> D' Orbigny, 1840	<i>Tegula patagonica</i> (D' Orbigny, 1835)
<i>Trochus quadricostatus</i> Wood, 1828	<i>Tegula quadricostata</i> (Wood, 1828)
<i>Trochus stenomphalus</i> Jones, 1844	<i>Tegula tridentata</i> (Potiez y Michaud, 1838)
<i>Trochus torulosus</i> Philippi, 1844	<i>Tegula quadricostata</i> (Wood, 1828)
<i>Trochus tridens</i> Menke (en Phil. , 1844)	<i>Tegula tridentata</i> (Potiez y Michaud, 1838)
<i>Trochus tridentatus</i> Pilsbry, 1889	<i>Tegula tridentata</i> (Potiez y Michaud, 1838)

Alcide D' Orbigny publicó una serie de trabajos que incluyen especies chilenas durante 1835 a 1847. Este autor reconoció cuatro especies de *Tegula* bajo *Trochus*: *Trochus ater*, *Trochus luctuosus*, *Trochus microstomus* y *Trochus patagonicus*. Estos nombres ahora corresponden a las especies *Tegula atra*, *Tegula luctuosa*, *Tegula tridentata* y *Tegula patagonica*, respectivamente. De estas especies, *Tegula luctuosa* y *Tegula patagonica* llevan a D' Orbigny como autoridad. Sin embargo, la fecha exacta de publicación de *Tegula patagonica* es incierta debido a que los trabajos de D' Orbigny fueron publicados en varias partidas. Algunos autores han citado la especie con fecha de publicación de 1840 (Carcelles, 1944; 1945; Keen, 1971; Ramírez, 1981; entre otros). Pilsbry (1900), por otro lado, le asigna la fecha "1835-1846". Debido a que *Tegula*

Trochus e introduce un nuevo nombre, *Trochus fonki* Philippi, 1860, el cual no fue utilizado por autores posteriores y tampoco tiene uso actual.

Jones (1844; *fide* Ramírez, 1981) reconoció cuatro especies de *Tegula* bajo *Trochus*. De estas, *Trochus euryomphalus* corresponde actualmenete a *Tegula euryomphala* por lo que el autor tiene prioridad en la nominación de la especie. Jones también describe a la especie *Trochus moestus*, que fue subsecuentemente aceptada por Philippi (1844; *fide* Ramírez, 1981) y Hupé (1854) como una especie válida. Posteriormente, este taxón fue tratado como *Chlorostoma atrum* var. *moestum* por Pilsbry (1889) y como la variedad *moesta* de *Tegula atra* por Carcelles (1945), Ramírez (1981) y Nicosia y Gaete (2003). La revisión de la colección de moluscos del profesor Jaime Ramírez, que contiene conchas de *Tegula atra* var. *moesta*, permitieron al autor de este trabajo los ejemplares como individuos de espira más altas de la especie *Tegula atra*, por lo que no se justifica su existencia como un taxón válido. Carcelles (1945) previamente había llegado a una conclusión similar.

Gray (1850; *fide* Carcelles, 1945) nombró una especie de *Tegula*, *Clanculus patagonicus*, actualmente *Tegula patagonica*, incorporando por primera vez el género *Clanculus* a la taxonomía de las especies chilenas. En el presente, *Clanculus* no se ocupa en la taxonomía de *Tegula*.

Adams (1851; *fide* Ramírez, 1981) describe a *Tegula luctuosa* como *Chlorostoma tropidophirus*, incorporando por primera vez el nombre *Chlorostoma*, en este caso como un género. El autor también describe a *Tegula patagonica* como *Clanculus corrugatus*.

H. y A. Adams (1858; *fide* Ramírez, 1981) describen dos especies de *Tegula*:



Tegula atra como *Chlorostoma atrum* y *Tegula patagonica* como *Molines corrugata*.

Hupé (1854) resume las especies de *Tegula* descritas hasta entonces para Chile. El autor nombra 10 especies bajo la denominación de *Trochus*: *Trochus ater*, *Trochus luctuosus*, *Trochus araucanus*, *Trochus fuscescens*, *Trochus gaudichaudii*, *Trochus moestus*, *Trochus quadricostatus*, *Trochus rouaultii*, *Trochus kienerii* y *Trochus tridens*. De estos nombres, actualmente *Trochus ater* corresponde a *Tegula atra*; *Trochus luctuosus* a *Tegula luctuosa*; *Trochus araucanus* y *Trochus gaudichaudii* a *Diloma nigerrima* Gmelin, 1791; *Trochus fuscescens* a *Tegula patagonica*; *Trochus quadricostatus* a *Tegula quadricostata*; *Trochus kienerii* a *Tegula euryomphala* y *Trochus tridens* a *Tegula tridentata*. El nombre *Trochus moestus* aceptado por Hupé 1854, se considera sinónimo de *Tegula atra* (Carcelles, 1945; este estudio). La especie *Trochus rouaultii* corresponde a un fósil (Hupé, 1854).

Pilsbry (1889) reconoce seis especies de *Tegula* bajo *Chlorostoma* y una variedad. De las seis especies, dos corresponden a *Tegula patagonica* de acuerdo a las descripciones del autor. El nombre de *Monodonta crusoearia* introducido por Pilsbry (1889) fue posteriormente aceptado como una especie válida de *Tegula*, *Tegula crusoearia* (Pilsbry, 1889), por Alamo y Valdivieso (1987). De acuerdo a Ramírez (1981), *Monodonta crusoearia* corresponde a una especie de *Diloma* Philippi, 1845. El mismo año, Rochebrune y Mabile (1889) reconocen a *Tegula atra* como *Chlorostoma atrum*.

Von Ihering (1902; 1908, *fide* Carcelles, 1945) designa a *Tegula patagonica* como *Omphalius corrugatus* en 1902 y como *Neomphalius patagonicus* y *Neomphalius corrugatus* en 1908. El nombre genérico *Omphalius* fue incorporado

por primera vez a la taxonomía de *Tegula*. Entretanto, Lamy (1906) reconoció cuatro especies de *Tegula* bajo la denominación *Neomphalius*, género también incorporado por primera vez.

El género *Tegula* aparece formalmente en la literatura, en relación con las especies chilenas, después de la designación binomial de las especies *Tegula atra*, *Tegula tridentata* y *Tegula patagonica* realizada por Dall (1909). Estas especies ya habían sido reconocidas por autores previos, pero bajo distintas designaciones genéricas.

Carcelles (1944) en un catálogo de moluscos de Puerto Quequén reconoce a *Tegula patagonica* y se listan las especies *Tegula atra*, *Tegula orbignyana* y *Tegula hidalgoi* Pilsbry (1900). Esta última especie, adscrita a la costa argentina, fue tratada como una variedad de *Tegula patagonica* (Carcelles, 1944). En un nuevo trabajo, Carcelles (1945) trata las especies de *Tegula* que habitan la costa argentina e incorpora descripciones de especies chilenas. De acuerdo a este autor, en la costa de Chile, Argentina y Brasil habitarían diez especies de *Tegula*, siete en el Pacífico (*Tegula euryomphala*, *Tegula luctuosa*, *Tegula quadricostata*, *Tegula tridentata*, *Tegula fuscescens*, *Tegula gaudichaudii* y *Tegula atra*), y tres en el Atlántico (*Tegula viridula*, *Tegula patagonica* y *Tegula orbignyana*). De las especies del Pacífico, *Tegula euryomphala*, *Tegula luctuosa* y *Tegula quadricostata* aparecen nombradas formalmente por primera vez bajo el género *Tegula*.

Carcelles y Williamson (1951) reconocen seis especies de *Tegula*: *Tegula atra*, *Tegula tridentata*, *Tegula euryomphala*, *Tegula quadricostata*, *Tegula fuscescens* y *Tegula orbignyana*. De estas especies, las dos últimas actualmente son

sinónimos de *Tegula patagonica*.

En una revisión taxonómica y zoogeográfica de los gastrópodos de la costa peruana, Vegas (1968) describe dos especies de *Tegula*: *Tegula atra* y *Tegula mariana* Dall, 1909. Esta última especie habita desde California al Perú (Keen, 1971). Poco más tarde, Dell (1971) reconoce a *Tegula atra* como *Chlorostoma atra*.

El primer autor que asigna especies chilenas a un subgénero corresponde a Keen (1971). La asignación es al subgénero *Chlorostoma*, pero especifica los taxa. Posteriormente, Marincovich (1973) reconoce dos especies de *Tegula*: *Tegula atra* y *Tegula tridentata*, que las asigna al subgénero *Chlorostoma* Swaison, 1840, mientras Abbott (1974), asigna a *Tegula patagonica* al subgénero *Omphalius* Philippi, 1847.

En 1976, Jaime Ramírez publica la última especie de *Tegula* que fue descubierta y descrita en las costas chilenas, *Tegula ignota*. Esta especie fue encontrada por Ramírez en Coquimbo y Totoralillo, IV Región de Chile. Posteriormente, Ramírez (1981) describe siete especies de *Tegula* para Chile y una variedad. En este estudio las especies no fueron asignadas a ningún subgénero.

Ageitos de Castellanos y Landoni (1989), en un catálogo de la malacofauna magallánica, tratan dos especies de *Tegula* bajo el género *Chlorostoma*: *Chlorostoma atra* y *Chlorostoma orbignyana*. En este trabajo no hay asignaciones subgnéricas.

En un estudio sobre los moluscos de la zona de Antofagasta, Guzmán y col. (1998) describen cuatro especies de *Tegula* que fueron asignadas al subgénero *Chlorostoma*. El ordenamiento propuesto por los autores es el siguiente:

Género *Tegula* Lesson, 1835

Subgénero *Chlorostoma* Swaison, 1840

Tegula (Chlorostoma) atra (Lesson, 1830)

Tegula (Chlorostoma) euryomphala (Jones, 1844)

Tegula (Chlorostoma) luctuosa (D' Orbigny, 1841)

Tegula (Chlorostoma) tridentata (Potiez y Michaud, 1838)

Hellberg (1998), en un estudio filogenético molecular que incluyó tres especies chilenas de *Tegula*: *Tegula tridentata*, *Tegula quadricostata* y *Tegula atra*, asigna las dos primeras al subgénero *Agathistoma*. En este estudio no se hizo referencia al subgénero de *Tegula atra*.

Lancellotti y Vásquez (2000) analizan la distribución de las especies de invertebrados que habitan las costas de Chile. Aquí aparecen listadas siete especies de *Tegula* más una variedad. Estas son, *Tegula atra*, *Tegula euryomphala*, *Tegula ignota*, *Tegula luctuosa*, *Tegula quadricostata*, *Tegula patagonica*, *Tegula tridentata* y la variedad *moesta* de *Tegula atra*. Lancellotti y Vásquez (2000) asignan las especies *Tegula atra* y *Tegula tridentata* al subgénero *Chlorostoma*. Las restantes especies no fueron asignadas a ningún subgénero.

Véliz y Vásquez (2000), en un estudio que consideró varias localidades del Norte de Chile, reconocieron seis especies de *Tegula*. En este trabajo, donde no hay asignaciones subgenéricas, los autores propusieron la siguiente clasificación:

Familia Trochidae Rafinesque, 1815

Subfamilia Tegulinae Kuroda, Habe y Oyama, 1971

Género *Tegula* Lesson, 1835

Tegula atra (Lesson, 1830)

Tegula euryomphala (Jones, 1844)

Tegula ignota Ramírez, 1976

Tegula luctuosa (D' Orbigny, 1841)

Tegula quadricostata (Wood, 1828)

Tegula tridentata (Potiez y Michaud, 1838)

Nicosia y Gaete (2003), en un estudio sobre los moluscos de la Primera Región, listan cinco especies de *Tegula* más una variedad. Las especies no fueron asignadas a ningún subgénero.

3.2. Descripción del epipodio de *Tegula*

En la figura 3 se muestra la organización topográfica de las estructuras epipodiales en *Tegula*. En el Anexo 1 se tabulan las características del epipodio por cada especie. En el Anexo 2 y 3 se ilustran los principales órganos epipodiales en las especies.

En la zona anterior de la cabeza de los animales hay dos tentáculos cefálicos (fig. 3a: tc) y dos palmetes cefálicos (fig. 3a: pc), un tentáculo y un palmete se ubican a cada lado de la cabeza. Externamente a estas estructuras se localiza un pedúnculo ocular que posee un ojo en el extremo anterior (fig. 3a: j). Los palmetes cefálicos constituyen pequeñas extensiones de la pared del cuerpo en forma de paleta que en las especies de *Tegula* se encuentran bien desarrollados. Cada palmete se extiende hacia adelante y centro de la cabeza, aunque no llegan a ponerse en contacto. El borde en general es liso, sin subdivisiones adicionales. Los tentáculos cefálicos corresponden a dos delgadas estructuras que los animales pueden elongar. Cada tentáculo cefálico surge a partir de la

pared del cuerpo del animal, entre la base de cada palmete cefálico y cada pedúnculo ocular.

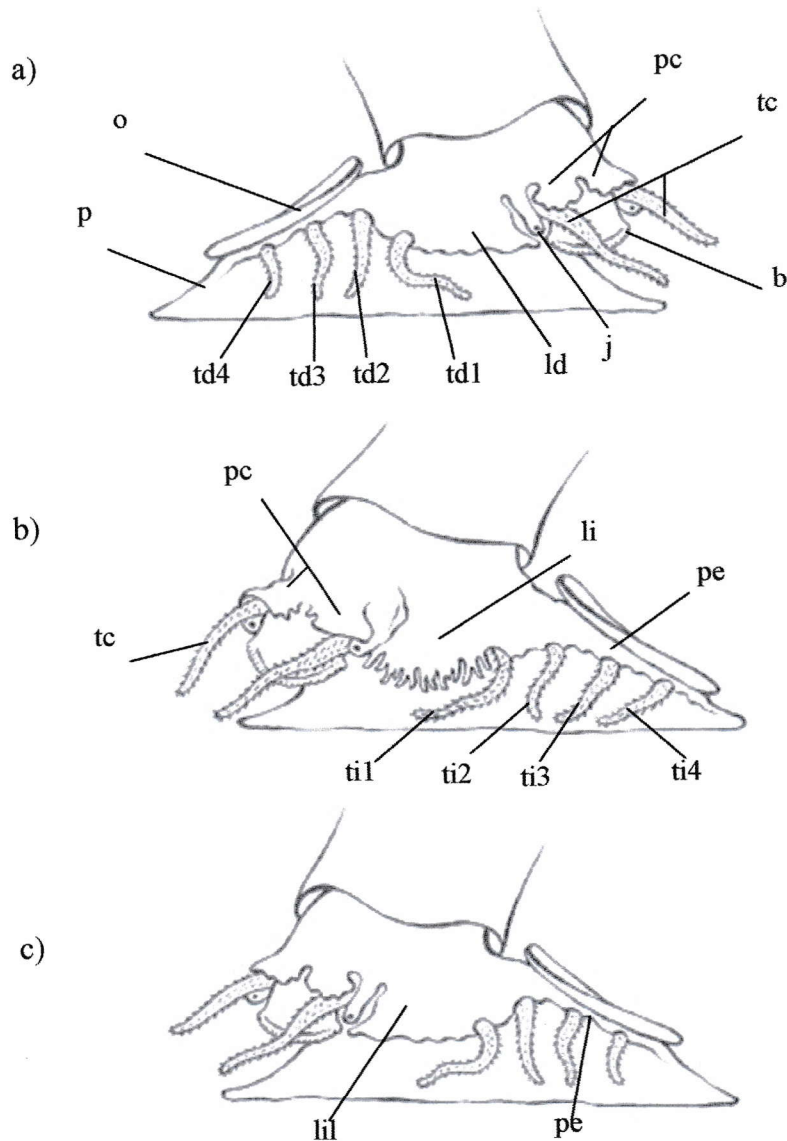


Figura 3. Anatomía externa y caracteres epipodiales en *Tegula*. a) Animal visto desde el costado derecho. b) Animal visto desde el costado izquierdo. c) Animal visto desde el costado izquierdo con el lóbulo izquierdo del cuello liso. Abreviaciones: b= boca; j= ojo; ld= lóbulo derecho del cuello; li= lóbulo izquierdo del cuello; lii= lóbulo izquierdo del cuello liso; o= opérculo; p= pie; pc= palmetes cefálicas; pe= pliegue epipodial; tc= tentáculos cefálicos; td1-td4= primer a cuarto tentáculo epipodial derecho; ti1-ti4= primer a cuarto tentáculo epipodial izquierdo. Modificado de Hickman y McLean (1990).

Los lóbulos del cuello son estructuras epipodiales que se ubican a ambos costados de la parte anterior de los animales. Cada lóbulo del cuello tiene forma laminar y se extienden en dirección antero-posterior a partir de la base del pedúnculo ocular hasta la zona donde se ubica el primer tentáculo epipodial. El borde inferior del lóbulo derecho (fig. 3a: ld) es liso en todas las especies. El lóbulo derecho puede presentar un tabique en su superficie interna que lo divide en dos zonas, la posterior más ancha. El lóbulo izquierdo (fig. 3b: li) presente variabilidad entre las especies ya que su borde puede ser liso o presentar prolongaciones dendriformes del órgano, las cuales pueden tener diferente grosor. El lóbulo izquierdo puede reunir también ambas condiciones, es decir, presentar una parte lisa y otra dendriforme. Este lóbulo carece de tabique interno.

Los tentáculos epipodiales son órganos similares a los tentáculos cefálicos. Cuatro tentáculos epipodiales se ubican en sentido antero-posterior a ambos costados de los animales (fig. 3a: td1-td4; fig. 3b: ti1-ti4). El primer tentáculo epipodial nace justo al final de cada lóbulo del cuello, que además marca la zona donde nace el pliegue epipodial. Los restantes tres pares de tentáculos se localizan en la cara ventral de este pliegue. Cada tentáculo del costado izquierdo presenta una papila epipodial en la base, al igual que desde el segundo al cuarto tentáculo derecho. El primer tentáculo derecho no presenta papila. En algunos ejemplares es posible encontrar más de una papila basal en los tentáculos que las poseen, pero constituyen casos raros.

El pliegue epipodial (fig. 3b y 3c: pe) en *Tegula* es un órgano amplio ubicado en ambos costados de los animales. Este órgano nace a la altura de la zona anterior media de los animales y se prolonga hasta el extremo posterior del pie. El pliegue puede expandirse en ancho, adquiriendo la forma de un abanico. En su cara ventral aloja los

tentáculos epipodiales 2º, 3º y 4º. El color de fondo del pliegue epipodial presenta variabilidad en las especies.

3.2. Descripción del espermatozoide de *Tegula*

En la figura 4 se muestra la organización ultraestructural del espermatozoide en *Tegula*. En el Anexo 4 y 5 se ilustra el espermatozoide de las especies caracterizadas en este estudio visto con microscopio electrónico de transmisión. En el Anexo 6 se entregan las dimensiones ultraestructurales del espermatozoide.

En *Tegula* el espermatozoide (fig. 4) tiene forma de bala y se compone de: a) una cabeza con núcleo y acrosoma, b) una pieza media formada por 5 ó 6 mitocondrias asociadas en anillo compacto alrededor del centriolo proximal, y un centriolo distal, y c) un flagelo con estructura 9+2 de microtúbulos que surge del centriolo distal. La membrana plasmática rodea en forma continua a todas las estructuras principales (cabeza, pieza media y flagelo). En la base de la cabeza del espermatozoide se aloja el núcleo, que tiene forma de barril y posee cromatina muy condensada, aunque pueden existir lagunas nucleares donde la cromatina es menos compacta. El núcleo en su extremo apical presenta una invaginación nuclear anterior o foseta y en su base una leve invaginación en todas las especies.

En el extremo anterior de la cabeza se aloja el acrosoma, cuya forma presenta variación en las especies estudiadas. El contenido acrosómico no se encuentra diferenciado en ninguna de las especies estudiadas. En el espacio subacrosómico de algunas especies se aloja un bastón axial. La pieza media y flagelo del espermatozoide no muestran variación entre las especies.

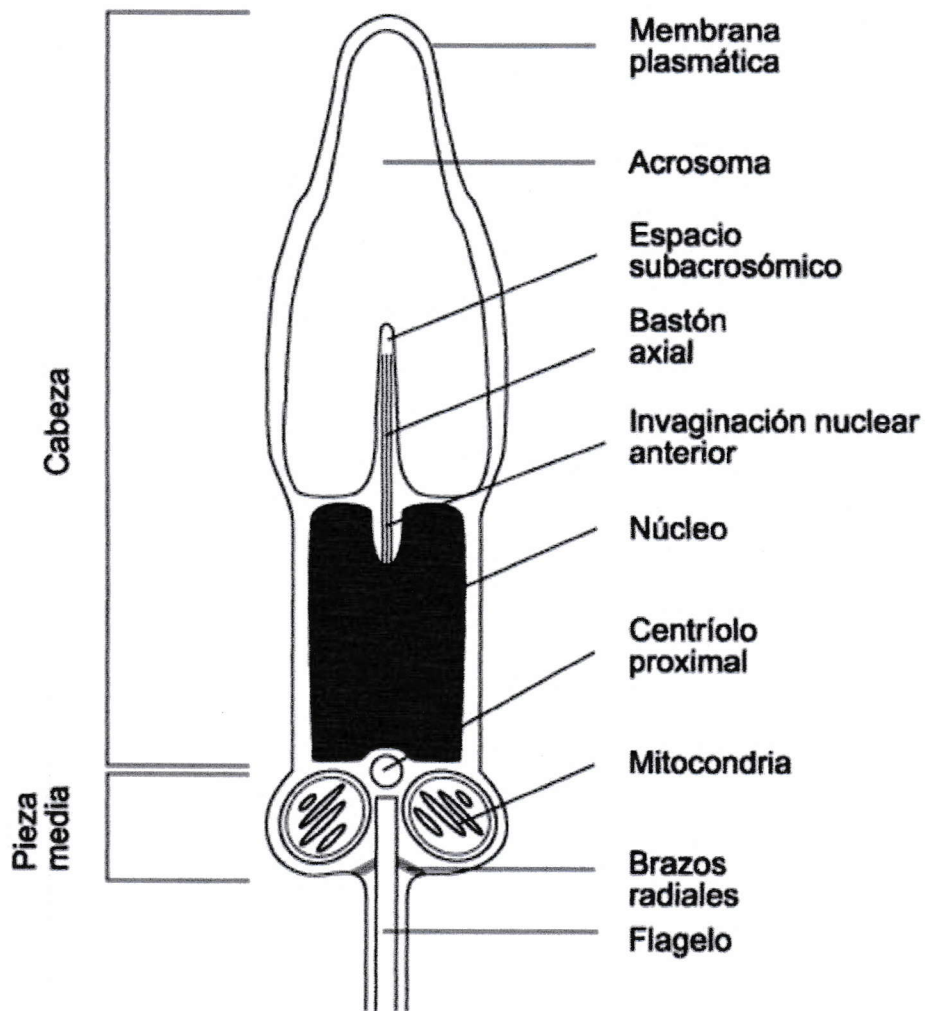


Figura 4. Modelo de la organización ultraestructural del espermatozoide de *Tegula*. El diagrama muestra el gameto en corte longitudinal. Sólo se muestra parte del flagelo.

3.4. Análisis comparativo

Tegula Lesson, 1835

La descripción del género *Tegula* que se sigue en este trabajo corresponde a la diagnosis más reciente con que se cuenta y que corresponde a la realizada por Véliz y Vásquez (2000).

Tegula presenta una concha globosa o de forma cónica con umbilico que puede presentarse desde ampliamente abierto a cerrado. La concha presenta una superficie lisa a fuertemente estriada, base aplanada y apertura oblicua. Siempre presenta uno o más dientes en la base de la columela. El opérculo es multiespiro y su retracción profunda.

Tegula atra (Lesson, 1830)

Trochus ater Lesson, 1830; D' Orbigny, 1841; Hupé, 1854.

Trochus moestus Jones, 1844; Philippi, 1844; Hupé, 1854.

Trochus lugubris Philippi, 1844.

Chlorostoma atrum H. y A. Adams, 1858; Pilsbry, 1889; Rochebrune y Mabilie, 1889.

Chlorostoma atrum var. *moestum* Pilsbry, 1889.

Tegula atra var. *moesta* Carcelles, 1950; Nicosia y Gaete, 2003.

Chlorostoma atra Dell, 1971.

Tegula (Chlorostoma) atra Marincovich, 1973; Alamo y Valdivieso, 1987; Guzmán y col., 1998; Lancellotti y Vásquez, 2000.

Tegula moesta Alamo y Valdivieso, 1987.

Tegula atra Dall, 1909; Carcelles, 1945; 1950; Carcelles y Williamson, 1951; Ramírez, 1981; Ageitos de Castellanos y Landoni, 1989; Véliz y Vásquez, 2000; Nicosia y Gaete, 2003.

Concha: *Tegula atra* es una especie de tamaño grande. El ejemplar más grande registrado en este estudio midió 34.4 mm de alto por 43.6 mm de diámetro. La concha de base casi plana es negra, lisa, no umbilicada y presenta un diente columelar (Véliz y Vásquez, 2000).

Epipodio: El lóbulo izquierdo del cuello en esta especie presenta prolongaciones dendriformes (o flecos) que varían en número de un individuo a otro. Esto hace que el grosor de los flecos también varíe, pero en general son más gruesos respecto a otras especies, especialmente cuando se compara con *Tegula euryomphala* y *Tegula luctuosa*. El lóbulo derecho del cuello presenta un tabique en su cara interna, característica presente sólo en esta especie. Desde la parte superior hacia el borde inferior del órgano el tabique se ensancha progresivamente. En esta especie los tentáculos cefálicos, los palmetes cefálicos, el lóbulo izquierdo de cuello y el color de fondo del pliegue epipodial son negros.

Espermatozoide: La longitud total alcanza 6.18 μm . El acrosoma, de forma de campana, tiene un espacio subacrosómico que penetra más allá de la zona media del acrosoma, pero esta invaginación no es tan profunda como en otras especies. El núcleo presenta una invaginación anterior en forma de U poco profunda.

Distribución: Dall (1909) registra esta especie desde Pacasmayo, Perú, al Estrecho de Magallanes. Carcelles y Williamson (1951) la registran para esta misma

área más la Patagonia (68° 50' S). Vegas (1968), sin embargo, la encontró más al Norte, en la localidad de San José, Perú, cerca de los 7° de latitud Sur. Ramírez (1981) y Lancellotti y Vásquez (2000) la registran desde Arica (18-21° S) al Estrecho de Magallanes (48-54° S).

Hábitat: Intermareal asociada a fondos duros, a plantas de *Lessonia nigrescens* Bory y a discos de adhesión de *Lessonia trabeculata* Villouta y Santelices (Véliz y Vásquez, 2000). En la zona de Iquique usualmente se encuentra junto a *Tegula tridentata* y *Diloma nigerrima* (Gmelin) (Marincovich, 1973).

Tegula euryomphala (Jones, 1844).

Trochus euryomphalus Jones, 1844; Philippi, 1847.

Trochus kieneri Hupé, 1854.

Chlorostoma euryomphalus Pilsbry, 1889.

Tegula euryomphalus Alamo y Valdivieso, 1987

Tegula (Chlorostoma) euryomphala Guzmán y col., 1998.

Tegula euryomphala Carcelles, 1945; Carcelles y Williamson, 1951; Ramírez, 1981; Véliz y Vásquez, 2000; Lancellotti y Vásquez, 2000; Nicosia y Gaete, 2003.

Concha: *Tegula euryomphala* es una especie de tamaño grande. El ejemplar más grande registrado en este estudio midió 32.4 mm de alto por 41.8 mm de diámetro. La concha es negra y de acuerdo a Véliz y Vásquez (2000) lisa, con espiras redondeadas y un diente columelar. El umbilico es ancho y profundo.

Epipodio: El borde del lóbulo izquierdo del cuello es blanco grisáceo, dendriforme, con flecos de longitud variable, pero en general aumentan de tamaño en dirección antero-posterior. La zona anterior del lóbulo izquierdo presenta una forma similar a una estrella, de aristas variables en número. El lóbulo derecho del cuello no presenta pliegue interno y el color del pliegue epipodial es blanquecino. Estas características diferencian claramente a esta especie de *Tegula atra* y del resto de las especies, con la excepción de *Tegula luctuosa*. El margen de los palmetes carece de pigmento negro en la mayoría de los individuos analizados. Los tentáculos cefálicos presentan una banda blanca a lo largo de su longitud.

Espermatozoide: La longitud total alcanza 5.88 μm . El acrosoma tiene forma de campana. El espacio subacrosómico penetra más allá de la zona media del acrosoma. El núcleo presenta una invaginación anterior en forma de U poco profunda.

Distribución: Esta especie se ha registrado desde Arica a Talcahuano (Ramírez, 1981). Véliz y Vásquez (2000) la encontraron en La Herradura, Coquimbo (30° S). Ramírez (1981) recolectó ejemplares en Punta Teatinos, La Serena y La Herradura, Coquimbo. Alamo y Valdivieso (1987) la registran desde Paita, Perú al sur de Talcahuano y Lancellotti y Vásquez (2000) desde Arica (18°-21° S) a Concepción (35°-38° S). Según Carcelles (1945) habita desde el Perú a Talcahuano.

Hábitat: Areas protegidas del oleaje con poco movimiento de agua, asociada a fondos de arena-conchuela (Véliz y Vásquez, 2000). Estos autores también la encontraron entre los 2 a 5 m de profundidad.

Tegula ignota Ramírez, 1976.

Tegula ignota Ramírez, 1976; Valdovinos, 1999; Véliz y Vásquez, 2000; Lancellotti y Vásquez, 2000.

Concha: *Tegula ignota* es una especie de tamaño grande. El ejemplar más grande registrado en este estudio midió 25.0 mm de alto por 36.5 mm de diámetro. La concha es pardo grisácea y con varias estrías gruesas que corren en el mismo sentido de las espiras. En algunos ejemplares la parte superior de la concha se muestra desgastada, adquiriendo una textura lisa de color rosado o blanquecino. El umbilico es ancho y profundo. Borde de la columela con dos dientes (Véliz y Vásquez, 2000).

Epipodio: Esta especie puede ser fácilmente reconocida a través de los caracteres epipodiales. El borde del lóbulo izquierdo del cuello presenta flecos finos uniformes en tamaño y es de color rojo. El lóbulo derecho no presenta tabique interno. El color del pliegue epipodial es de un rojo intenso, carácter que la diferencia claramente de las otras especies estudiadas aquí. El margen de los palmetes carece de pigmento negro. Los tentáculos cefálicos presentan una banda grisácea a lo largo de su longitud.

Espermatozoide: La longitud total alcanza 6.43 μm , siendo el de mayor tamaño entre las especies aquí estudiadas. El acrosoma, de forma cónica puntiaguda, presenta un espacio subacrosómico que penetra más allá de la zona media. El núcleo presenta una invaginación anterior en forma de U poco profunda.

Distribución: Ramírez (1976; 1981) y Véliz y Vásquez (2000) registraron esta especie sólo en Totalillo (30°2' S). Lancellotti y Vásquez (2000) la registran para Coquimbo (26°-31° S). En este estudio se encontró una población de la especie en la

localidad de La Boca, VI Región de Chile, lo que permite extender el rango de distribución en cerca de 5° de latitud Sur.

Tegula luctuosa (D'Orbigny, 1841).

Trochus luctuosus D'Orbigny, 1841; Hupé, 1854.

Trochus carinatus Philippi, 1844.

Trochus bicarinatus Potiez and Michaud, 1838.

Chlorostoma tropidophorus Adams, 1851.

Chlorostoma luctuosum Pilsbry, 1889.

Tegula (*Chlorostoma*) *luctuosa* Guzmán y col., 1998.

Tegula luctuosa Carcelles, 1945; Ramírez, 1981; Véliz y Vásquez, 2000; Lancellotti y Vásquez, 2000; Nicosia y Gaete, 2003.

Concha: *Tegula luctuosa* es una especie de tamaño grande, de color negro. El ejemplar más grande registrado en este estudio midió 16.2 mm de alto por 28.4 mm de diámetro. En el Museo Nacional de Historia Natural de Santiago se encuentra depositado un ejemplar que mide 21.2 mm de alto por 31.9 mm de diámetro. De acuerdo a Véliz y Vásquez (2000), la concha tiene un diente columelar, umbilico ancho y profundo, dos quillas en la zona distal y superior de las espiras, las cuales son muy marcadas en las últimas tres. En el presente estudio se encontraron ejemplares umbilicados y no umbilicados, aunque en este último caso son formas juveniles y el número escaso.

Epipodio: Esta especie no pudo ser distinguida de *Tegula euryomphala* a través de los caracteres epipodiales. El borde del lóbulo izquierdo del cuello presenta flecos de

longitud y número variable. Al igual que en *Tegula euryomphala*, el lóbulo derecho no presenta pliegue interno y el color del pliegue epipodial es blanquecino grisáceo, pudiendo diferenciarse de *Tegula atra*. El margen de los palmetes carece de pigmentación negra en la mayoría de los individuos analizados y los tentáculos cefálicos presentan una banda blanca a lo largo de su longitud.

Espermatozoide: La longitud total alcanza 6.13 μm . El acrosoma, de forma de campana, presenta un espacio subacrosómico que se invagina escasamente, no logrando alcanzar la zona media del acrosoma. El núcleo presenta una invaginación anterior ancha y poco profunda.

Distribución: Ramírez (1981) y Lancellotti y Vásquez (2000) la registran desde Arica (18°-21° S) a Valparaíso (31°-35° S) y Carcelles (1945) desde Ancón, Perú a Valparaíso. Véliz y Vásquez (2000) la registraron en varias localidades entre Caleta Camarones (20°11' S) y el Parque Nacional Fray Jorge (31°01' S).

Hábitat: La especie se encuentra en el intermareal rocoso, en grietas y en el interior de discos de adhesión de *Lesonia nigrescens* Bory (Véliz y Vásquez, 2000). Estos autores la registran también en la zona submareal entre los 20° y 31° S, coexistiendo con *Tegula tridentata*.

Tegula patagonica (D' Orbigny, 1835).

Trochus patagonicus D' Orbigny, 1840.

Trochus fuscescens Philippi, 1845.

Trochus corrugatus Philippi, 1846.

Clanculus patagonicus Gray, 1850; H. y A. Adams, 1858.

- Clanculus corrugatus* Adams, 1851.
- Molines corrugata* H. y A. Adams, 1858.
- Chlorostoma corrugatum* Pilsbry, 1889.
- Chlorostoma patagonica* Pilsbry, 1889.
- Chlorostoma patagonicum* Pilsbry, 1900.
- Chlorostoma hidalgoi* Pilsbry, 1900.
- Chlorostoma orbignyana* Pilsbry, 1900.
- Omphalius corrugatus* von Ihering, 1908; Doello-Jurado, 1916.
- Minolia ambliia* Dall, 1927.
- Tegula orbignyana* (Pilsbry, 1900); Carcelles y Williamson, 1951; Ageitos de Castellanos y Landoni, 1989.
- Tegula fuscecens* (Philippi, 1845); Carcelles y Williamsom, 1951; Alamo y Valdivieso, 1987.
- Tegula (Omphalius) patagonica* Keen, 1971.
- Tegula patagonica* Dall, 1909; Carcelles, 1944; Carcelles, 1945; Ramírez, 1981; Lancellotti y Vásquez, 2000.

Concha: *Tegula patagonica* es una especie de pequeño tamaño. El ejemplar más grande registrado en este estudio midió 12.6 mm de alto por 18.8 mm de diámetro. La concha es variable en color. Pueden hallarse individuos de concha de color café claro a gris. La altura de la concha también es variable. El umbilico, cuando está presente, es estrecho y profundo. En la base de la columela hay tres dientes.

Epipodio: Esta especie puede ser fácilmente reconocida a través de los caracteres epipodiales. El borde del lóbulo izquierdo del cuello es liso. El lóbulo derecho no presenta tabique interno. El color de los tentáculos cefálicos, el margen de los palmetes y el color de fondo del pliegue epipodial, al igual que en *Tegula atra* y *Tegula tridentata*, son negros.

Espermatozoide: La longitud total alcanza 5.08 μm , resultando el espermatozoide más pequeño de todas las especies estudiadas. También es la única especie en que el acrosoma es más pequeño que el núcleo. El acrosoma, de forma cónica, presenta el borde basal curvado hacia afuera. El espacio subacrosómico se invagina profundamente hasta cerca del ápice del acrosoma y aloja un bastón axial. El núcleo presenta una invaginación anterior en forma de U poco profunda.

Distribución: Esta especie se encuentra en la Patagonia y el Estrecho de Magallanes (Ramírez, 1981). Lancellotti y Vásquez (2000) la registran más específicamente desde el Estrecho de Magallanes (48°-54° S) a Cabo de Hornos (54°-56° S). Keen (1971) la cita desde Río de Janeiro, Brasil a Argentina. Dall (1909) la registra desde la Isla Lobos de Afuera, Perú a San Blas, Patagonia argentina, datos probablemente erróneos en relación con el límite Norte (Carcelles, 1944). Esta información fue continuada por Alamo y Valdivieso (1987). Pilsbry (1900) la cita para el Canal Beagle y Carcelles (1944) desde el Sur de Brasil a Golfo Nuevo, Argentina, además del Canal Beagle. Ageitos de Castellanos y Landoni (1989) la citan desde Golfo San Matías a Estrecho de Magallanes y Tierra del Fuego.

Hábitat: De acuerdo a Carcelles (1944), *Tegula patagonica* habita en fondos pedregosos de la zona litoral e intermareal y sería común en los fondos cercanos a

Puerto Quequén. De acuerdo a (Ramírez, 1981), se encuentra en rocas en zona de baja marea. En este estudio la especie fue encontrada en el intermareal, en Puerto Madryn, Argentina.

Tegula quadricostata (Wood, 1828).

Trochus quadricostatus Wood, 1828.

Monodonta catenifera Potiez and Michaud, 1838.

Trochus torulosus Philippi, 1844.

Tegula quadricostata Carcelles, 1945; Carcelles y Williamson, 1951; Ramírez, 1981; Véliz y Vásquez, 2000; Lancellotti y Vásquez, 2000; Nicosia y Gaete, 2003.

Concha: *Tegula quadricostata* es una especie de tamaño grande. El ejemplar más grande registrado en este estudio midió 24.3 mm de alto por 31.6 mm de diámetro. La concha, de color pardo claro, posee anillos de nódulos gruesos en las espiras, dos dientes columelares y un umbilico ancho y profundo (Véliz y Vásquez, 2000).

Epipodio: Esta especie puede ser fácilmente distinguible a través de los caracteres epipodiales. El borde del lóbulo izquierdo del cuello es liso. Sólo excepcionalmente se presenta uno o dos pequeños flecos en el borde del extremo posterior del lóbulo. La pigmentación café-rojiza de los lóbulos del cuello y pliegue epipodial (color que también se extiende a la pared del cuerpo y pie) es un carácter presente sólo en esta especie. *Tegula ignota* es similar en este sentido, pero la pigmentación roja es mucho más intensa en esta última especie. Hay una o dos papilas en la base de cada tentáculo epipodial. El lóbulo derecho del cuello no presenta tabique

interno. El margen de los palmetes carece de pigmentación y los tentáculos cefálicos son de color gris oscuro.

Espermatozoide: La longitud total alcanza 5.93 μm . El acrosoma, de forma de campana, presenta el borde basal cóncavo. El espacio subacrosómico penetra profundamente hasta cerca del ápice del acrosoma. El núcleo presenta una invaginación anterior en forma de U poco profunda.

Distribución: Ramírez (1981) y Lancellotti y Vásquez (2000) la registran desde Arica (18°-21° S) a Valparaíso (31°-35° S). Ramírez (1981) recolectó individuos en Papudo y Véliz y Vásquez (2000) entre Isla Choros (29°12' S) y el Parque Nacional Fray Jorge (31°01' S). Carcelles (1945) la cita desde Perú a Valparaíso.

Hábitat: Según Ramírez (1981) la especie habita entre los tres a 20 m de profundidad. Según Véliz y Vásquez (2000), esta especie se encuentra en el submareal bajo los 16 m de profundidad.. En este estudio se encontraron ejemplares entre 15 y 20 m. En la literatura no hay registros de la especie en la zona intermareal. Es abundante en los discos de adhesión de *Lessonia trabeculata* Villouta y Santelises. Bajo los 18 m de profundidad coexiste con *Tegula tridentata* Véliz y Vásquez (2000).

Tegula tridentata (Potiez y Michaud, 1838).

Monodonta tridentata Potiez y Michaud, 1838.

Trochus microstomus D' Orbigny, 1841.

Trochus tridens Menke (en Phil. , 1844); Hupé, 1854.

Trochus stenomphalus Jones, 1844.

Trochus tridentatus Pilsbry, 1889.

Chlorostoma tridentatus Pilsbry, 1889.

Tegula (Chlorostoma) tridentata Marincovich, 1973; Brown, 1992; Guzmán y col., 1998; Lancellotti y Vásquez, 2000.

Tegula tridentata Dall, 1909; Carcelles, 1945; Carcelles y Williamson, 1951; Ramírez, 1981; Véliz y Vásquez, 2000; Nicosia y Gaete, 2003.

Concha: *Tegula tridentata* es una especie de pequeño tamaño. El ejemplar más grande registrado en este estudio midió 15.7 mm de alto por 18.6 mm de diámetro. De acuerdo a Véliz y Vásquez (2000), la concha es alta, con tres dientes columelares, umbilico abierto, pequeño y profundo. En el presente estudio se encontraron ejemplares adultos umbilicados y no umbilicados en La Herradura, Coquimbo (29° 57,94' S) y en Totalillo Sur (30° 04,38' S), si bien los ejemplares no umbilicados son escasos.

Epipodio: En esta especie el borde de la mitad anterior del lóbulo izquierdo del cuello es liso mientras la mitad posterior presenta flecos en cantidad y grosor variables. En la mayoría de los individuos analizados el lóbulo derecho no presenta tabique interno. Los tentáculos cefálicos, el margen de los palmetes y el color de fondo del pliegue epipodial son negros.

Espermatozoide: La longitud total alcanza 5.79 μm . El acrosoma, de forma de campana, presenta el borde basal curvado hacia afuera. El espacio subacrosómico se invagina profundamente hasta cerca del ápice del acrosoma, incluso más profundamente que en *Tegula quadricostata*. El núcleo presenta una invaginación anterior profunda, carácter presente sólo en esta especie.

Distribución: Esta especie se encuentra desde Bahía Sechura, Perú al Archipiélago de Los Chonos, Chile (Dall, 1909). Ramírez (1981) y Lancellotti y Vásquez (2000), sin embargo, la registran desde Arica (18°-21° S) al Archipiélago de Los Chonos (44°-48° S). Véliz y Vásquez (2000) recolectaron individuos entre Caleta Camarones (20°11' S) y Los Vilos (31°57' S). Carcelles (1945) la cita desde Perú al Archipiélago de Los Chonos.

Hábitat: Esta especie se encuentra en el intermareal coexistiendo con *Tegula atra* y a mayores profundidades con *Tegula quadricostata* en los discos de adhesión de *Lessonia trabeculata* (Véliz y Vásquez, 2000). De acuerdo a estos autores, es una especie abundante entre los 0 y 16 m de profundidad. En la zona de Iquique es común en la zona intermareal baja, coexistiendo con *Tegula atra* y *Diloma nigerrima* (Marincovich, 1973).

3.4. Análisis filogenético molecular

Para el análisis filogenético molecular se emplearon 28 secuencias COI de especies de *Tegula* más la del grupo externo *Norrisia norrisi* totalizando 29 secuencias Tegulinae. De las especies de *Tegula*, la secuencia de *Tegula fasciata* correspondía a 604 nucleótidos (Hellberg, 1998). Como el gen COI es codificante, en este estudio se alinearon 603 sitios nucleotídicos debido a que ese número de nucleótidos codifica 201 aminoácidos. El análisis de las secuencias mostró diferencias en las frecuencias de las bases. En promedio, adenina alcanzó un 27.9%, citocina 12.6%, guanina 14.9% y timina 44.5%. La razón entre las transiciones y transversiones fue en promedio 4.5:1. Se

detectaron tres sustituciones aminoacídicas, dos en la especie caribeña *Tegula excavata* y una en la especie chilena *Tegula ignota*. Las secuencias COI de las especies chilenas *Tegula luctuosa* y *Tegula euryomphala* no mostraron variación. De los 603 sitios analizados, 374 fueron constantes, 27 resultaron variables y 202 resultaron informativos para parsimonia. El análisis de parsimonia en PAUP* entregó cuatro árboles igualmente parsimoniosos (longitud del árbol= 972 pasos, índice de consistencia= 0.336, índice de retención= 0.499, índice de consistencia rescalado= 0.168). El análisis de remuestreo “bootstrap” mostró un fuerte apoyo para la monofilia de cinco clados (fig. 5): un primer clado lo integran las especies de California *Tegula regina*, *Tegula montereyi* y *Tegula brunnea* (bootstrap=100%), un segundo y tercer clado lo conforman las especies asiáticas *Tegula pfeifferi*, *Tegula nigerrima* y *Tegula rustica* (bootstrap=98%) y *Tegula xanthostigma* y *Tegula argyrostoma* (bootstrap=100%), respectivamente; un cuarto clado mayor lo integran *Tegula pellisserpentis* más las especies del subgénero *Agathistoma* (que incluye especies de *Tegula* tropicales, chilenas y de Baja California) (bootstrap=86%); el quinto clado lo integran las especies chilenas *Tegula atra*, *Tegula ignota*, *Tegula luctuosa* y *Tegula euryomphala* (bootstrap=94%). El clado formado por las especies de California-Baja California *Tegula funebris*, *Tegula rugosa* y *Tegula gallina* muestra una baja resolución (bootstrap=52%). Las relaciones entre estos seis clados y la especie *Tegula aureotincta* también están pobremente resueltas.

El análisis del vecino más cercano (NJ) basado en la distancia de Kimura de dos parámetros entregó un solo árbol que muestra a las especies ocupando los mismos clados que se forman en el análisis de parsimonia. Los valores de bootstrap para el análisis NJ se muestran en la Figura 6.

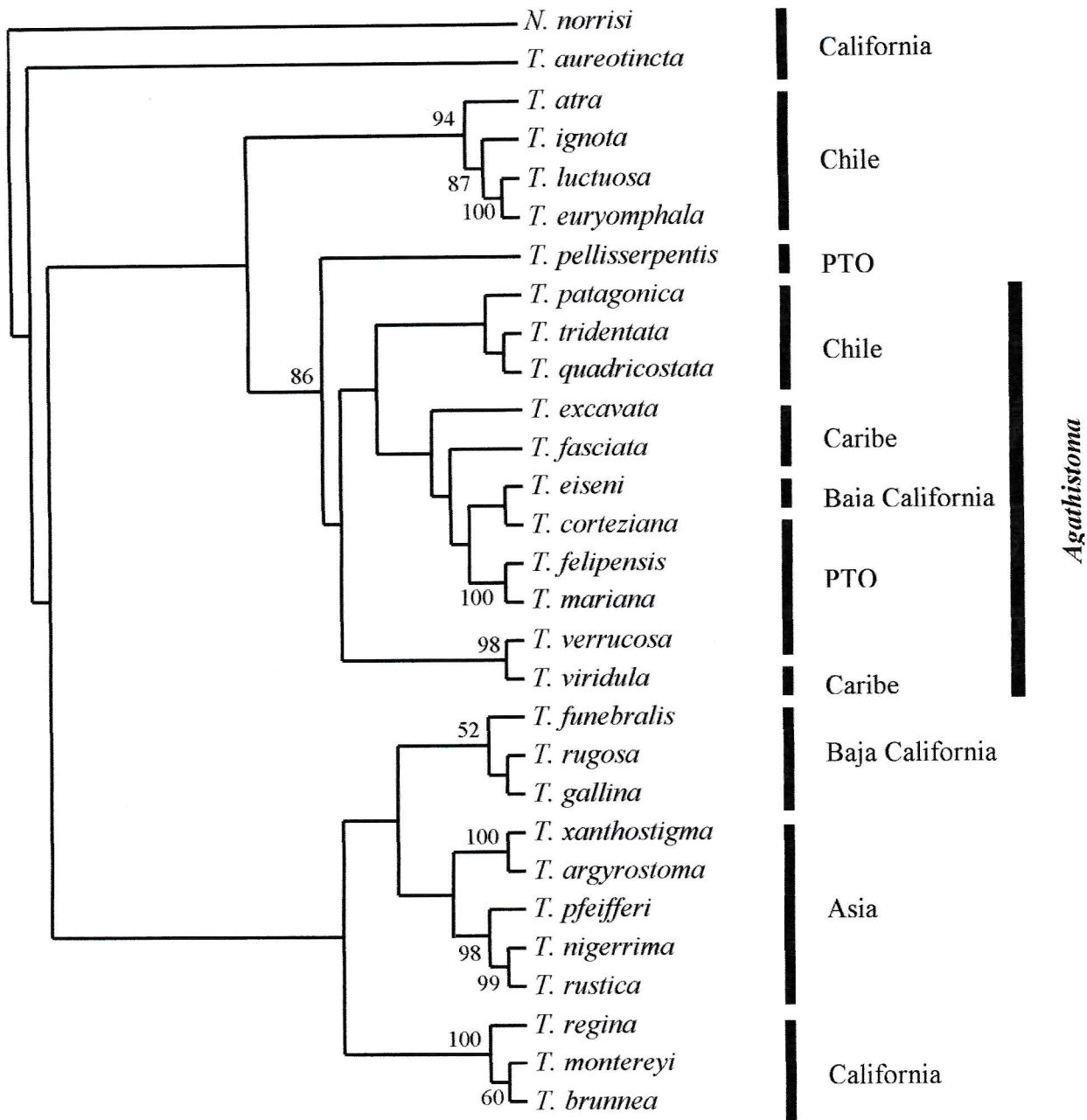


Figura 5. Una de las cuatro hipótesis filogenéticas entregadas por el análisis de máxima parsimonia de la región COI de DNA mitocondrial en especies de *Tegula*. Los números en los nodos indican valores de remuestreo bootstrap. El primer número se obtuvo del análisis de MP, el segundo del análisis NJ (=MP/NJ). Sólo se muestran los valores mayores a 50%. A la derecha de la filogenia se muestra el área donde se registran las especies. La línea gruesa indica las especies asignadas al subgénero *Agathistoma*.

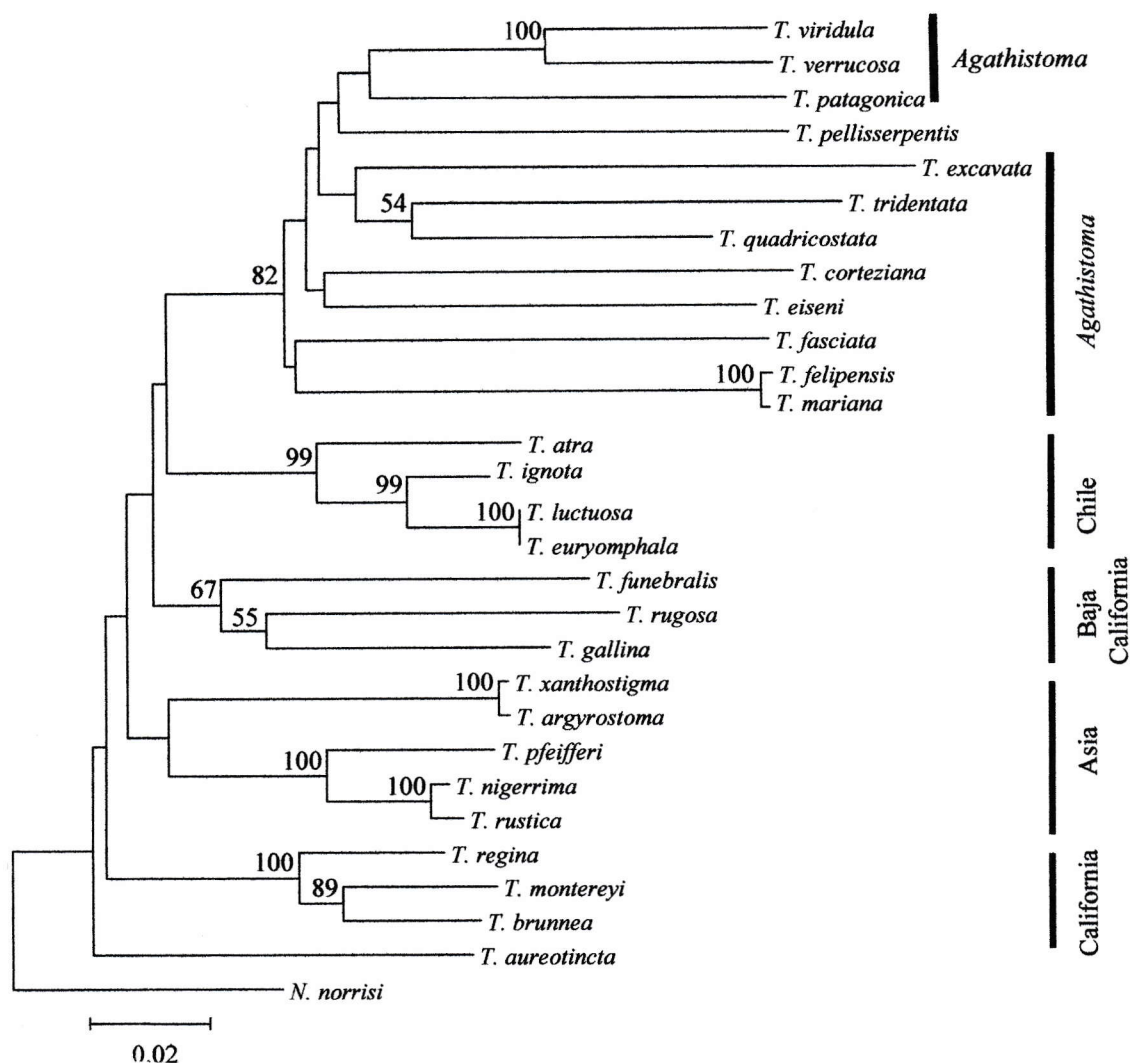


Figura 6. Arbol filogenético obtenido del análisis del vecino más cercano de la región COI en especies de *Tegula*. A la derecha de la figura se muestra el área geográfica que habitan las especies y las que han sido asignadas al subgénero *Agathistoma*. Sobre las ramas se ubican los valores de remuestreo bootstrap (1000 réplicas). Sólo se muestran los valores mayores al 50%.

El análisis de máxima probabilidad (modelo seleccionado en Model Test: GTR+I+G, $-\ln L = 4496,781$, proporción de sitios invariables: 0,601, parámetro shape de la distribución gamma: 1,016) entregó un solo árbol que muestra una topología similar a la entregada por el análisis del vecino más cercano. En la filogenis obtenida por máxima probabilidad los valores de bootstrap que apoyan la monofilia de las especies asiáticas,

las de California-Baja California y las del subgénero *Agathistoma* más *Tegula pellisserpentis* son más altos que los valores de bootstrap del análisis de parsimonia (76%, 93% y 98% respectivamente para los clados, fig. 7).

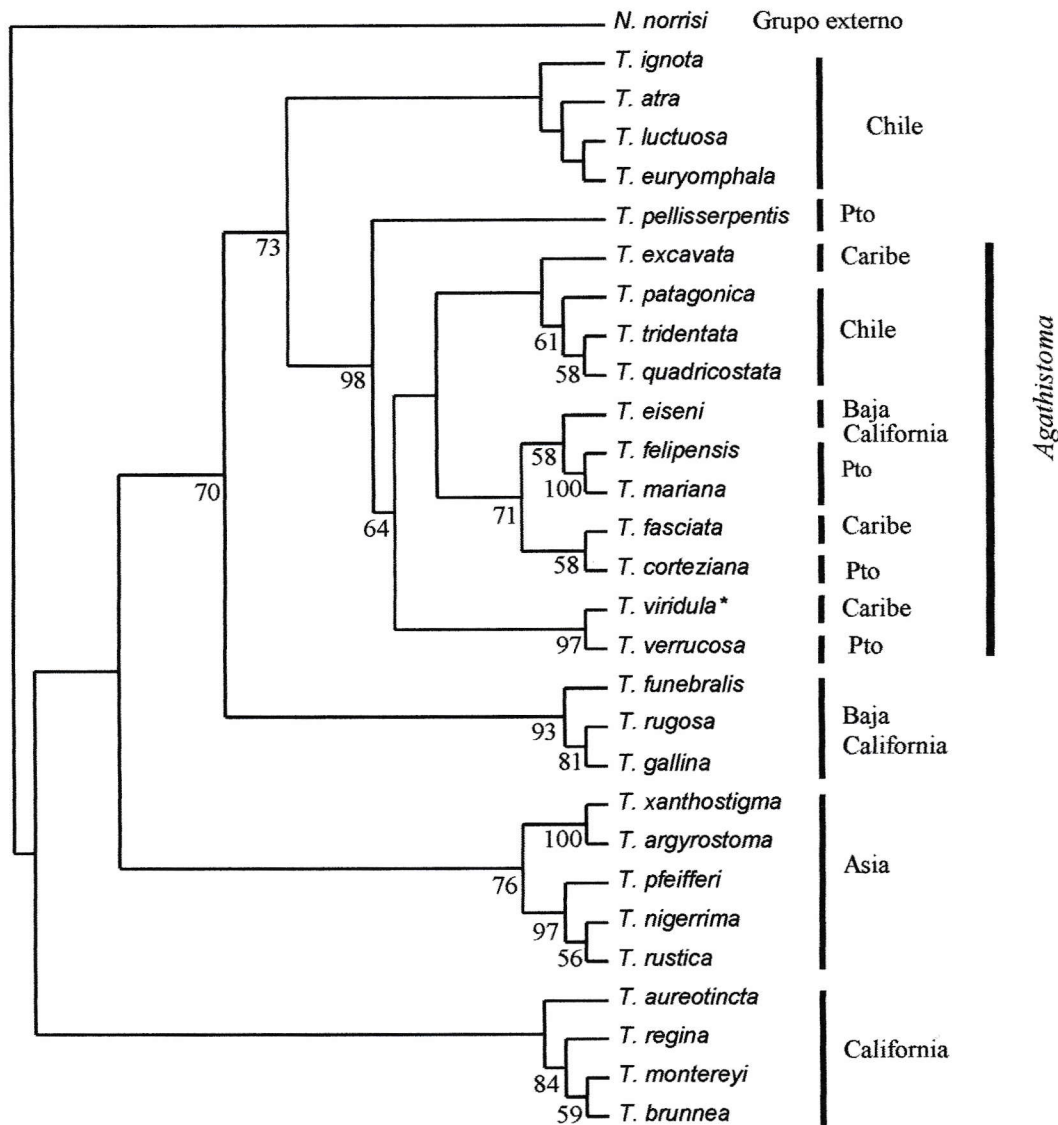


Figura 7. Relaciones filogenéticas entre especies de *Tegula* inferidas por máxima probabilidad a partir del análisis de la región COI de DNA mitocondrial. En los nodos se muestran los valores de remuestreo bootstrap (100 réplicas). Sólo se muestran los valores mayores al 50%. A la derecha de la filogenia se muestra el área geográfica donde se registran las especies. La línea gruesa indica las especies asignadas al subgénero *Agathistoma*. Pto: pacífico tropical oriental. *: *Tegula viridula* también habita la costa de Brasil.

El árbol de consenso entregado por el análisis bayesiano (fig. 8) muestra una topología que difiere levemente de los anteriores análisis. Aquí, el clado integrado por las especies de California-Baja California *Tegula funebris*, *Tegula rugosa* y *Tegula gallina* tiene un alto valor de probabilidad posterior (100%), al igual que el valor que apoya la monofilia de las especies de Asia y California (ambos con un 87% probabilidad posterior). En este análisis, la monofilia de las especies de *Agathistoma* más *Tegula pellisserpentis* recibe un alto valor de probabilidad posterior (100%). También el análisis muestra que la especie chilena *Tegula atra* se separa de las especies chilenas *Tegula ignota*, *Tegula luctuosa* y *Tegula euryomphala* y aparece basal a un clado mayor integrado por estas especies más el clado *Agathistoma*- *Tegula pellisserpentis*.

Parafilia de las especies chilenas de *Tegula*

En ninguno de los análisis realizados (máxima parsimonia, vecino más cercano, máxima probabilidad e inferencia bayesiana) las especies chilenas de *Tegula* conforman un grupo monofilético. En los tres primeros análisis anteriormente señalados las especies *Tegula atra*, *Tegula euryomphala*, *Tegula ignota* y *Tegula luctuosa* se separan de las especies *Tegula patagonica*, *Tegula quadricostata* y *Tegula tridentata*. Ambos grupos de especies conforman clados que no son hermanos. Las primeras cuatro especies aparecen formando un grupo monofilético en los análisis de parsimonia, vecino más cercano y máxima probabilidad (bootstrap= 94%, 98% y 73%, respectivamente). El segundo grupo de especies forma parte del clado integrado por las especies de *Agathistoma* más *Tegula pellisserpentis*. Los valores de bootstrap para este

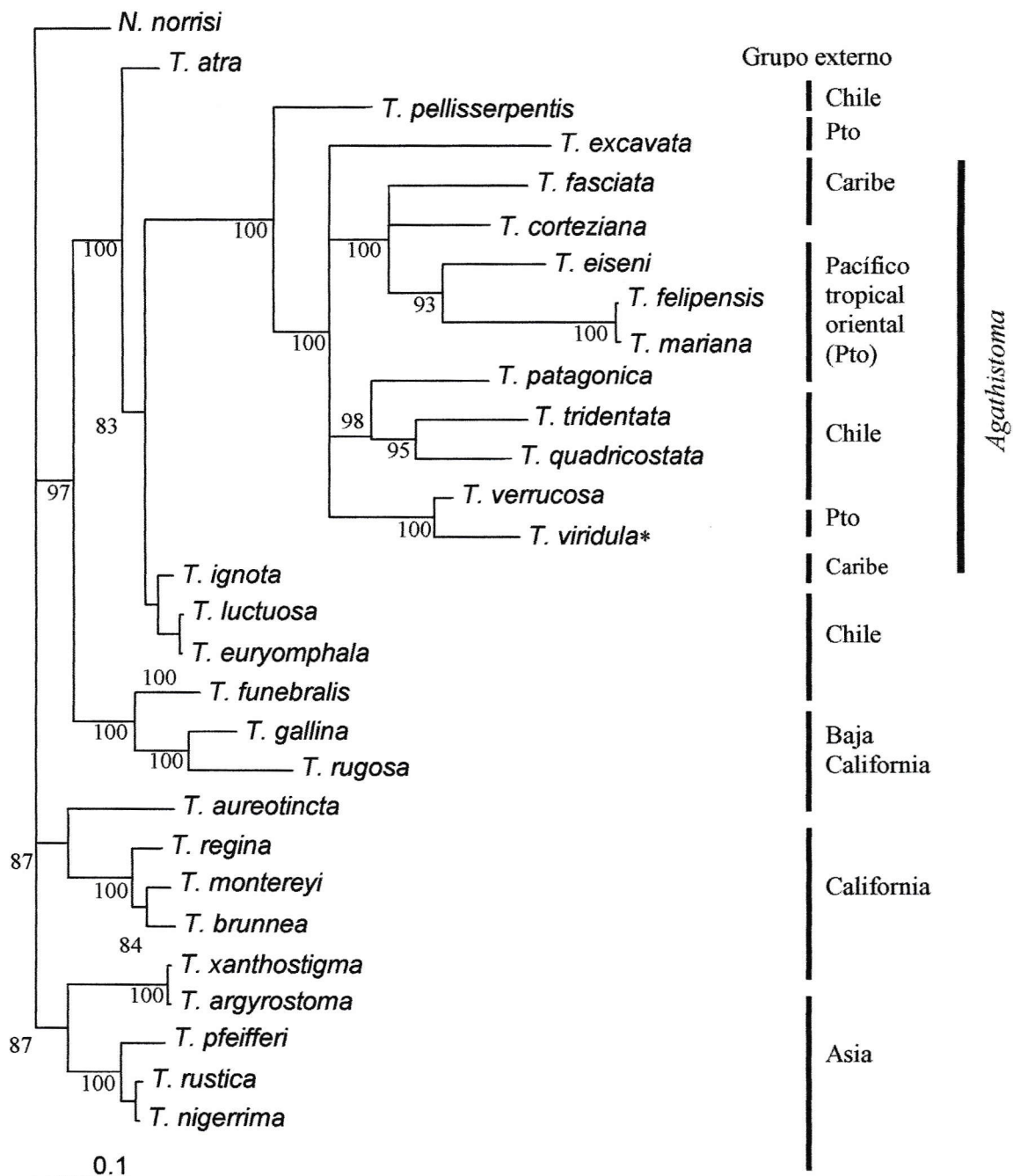


Figura 8. Filograma de consenso de los 99.000 árboles retenidos del análisis bayesiano de la región COI e especies de *Tegula*. A la derecha de la figura se muestra el área geográfica donde se registran las especie. Los números en los nodos son los valores de probabilidad posterior obtenidos del consenso de todos los árboles retenidos (sólo se muestran los valores sobre el 80%). La línea gruesa indica las especies del subgénero *Agathistoma*. *: *Tegula viridula* también habita la costa de Brasil.

clado son altos en los análisis de parsimonia y máxima probabilidad (86% y 98%, respectivamente) mientras en el análisis bayesiano es respaldado por un 100% de probabilidad posterior. De esta manera, el análisis molecular muestra que las especies chilenas de *Tegula* son parafiléticas. Con respecto a los grupos hermanos, el análisis bayesiano muestra que el grupo hermano de todas las especies chilenas más las especies tropicales y subtropicales de *Agathistoma* son las especies californianas *Tegula funebris*, *Tegula rugosa* y *Tegula gallina* (97% de probabilidad posterior). En un nivel más inclusivo, todos los análisis muestran que el grupo hermano de las especies chilenas *Tegula patagonica*, *Tegula quadricostata* y *Tegula tridentata* lo constituyen las especies tropicales de *Agathistoma* (bootstrap= 85%, 82% y 98% en el análisis de parsimonia, vecinos más cercanos y máxima probabilidad, respectivamente; 100% de probabilidad posterior en el análisis bayesiano).

5. Discusión

5.1. Revisión sistemática

El análisis de la literatura realizado en el presente estudio permitió recuperar 58 nombres específicos para siete especies de *Tegula* que habitan las costas chilenas y que fueron caracterizadas mediante la morfología del epipodio y espermatozoide. Estos nombres se distribuyen en nueve géneros (*Chlorostoma*, *Clanculus*, *Minolia*, *Moniles*, *Monodonta*, *Neomphalius*, *Omphalius*, *Tegula* y *Trochus*) y tres subgéneros (*Agathistoma*, *Chlorostoma* y *Omphalius*). Las especies reconocidas fueron: *Tegula atra* (Lesson, 1830), *Tegula euryomphala* (Jones, 1844), *Tegula ignota* Ramírez, 1976, *Tegula luctuosa* (D' Orbigny, 1841), *Tegula patagonica* (D' Orbigny, 1835), *Tegula quadricostata* (Wood, 1828) y *Tegula tridentata* (Potiez and Michaud, 1838). Entre los subgéneros, *Omphalius* fue pasado a sinimia de *Chlorostoma* por Keen (1971).

5.2. Morfología del epipodio

De acuerdo a Hickman y McLean (1990), el epipodio de los gastrópodos trocáceos corresponde a un pliegue horizontal que se proyecta a partir de la pared del cuerpo junto al margen superior del pie. El epipodio estaría modificado en varias estructuras sensoriales: tentáculos epipodiales, tentáculos cefálicos, lóbulo izquierdo del cuello, lóbulo derecho del cuello, macropapilas epipodiales basales, palmetes cefálicos, y pliegue epipodial (Macdonald y Maino, 1964; Crisp, 1981; Hickman y McLean, 1990). En relación con la función, los tentáculos epipodiales, al igual que los tentáculos cefálicos, son estructuras altamente extendibles de función táctil. El lóbulo izquierdo del

cuello, por otro lado, serviría como sifón para la entrada de una corriente inhalante de agua a la cavidad del manto (Hickman y McLean, 1990).

El estudio del epipodio de especies de *Tegula* realizado en esta tesis proporciona la primera descripción con fines taxonómicos sobre la anatomía de las partes blandas, considerando este grupo de organismos. Con la excepción de *Tegula euryomphala* y *Tegula luctuosa*, las especies *Tegula atra*, *Tegula ignota*, *Tegula patagonica*, *Tegula quadricostata* y *Tegula tridentata* pueden ser diferenciadas si se analizan en su conjunto las características que presentan los órganos epipodiales en cuanto a morfología y coloración. Los órganos taxonómicamente informativos son el lóbulo izquierdo del cuello, lóbulo derecho del cuello, pliegue epipodial, tentáculos cefálicos y palmetes cefálicos. El lóbulo izquierdo del cuello resultó especialmente útil en este sentido, debido a que puede presentar distinto color en las especies, como también una morfología característica en relación con su borde (ver Anexo 1, 2 y 3).

5.3. Morfología del espermatozoide

El espermatozoide de las especies de *Tegula* descritas en el presente trabajo, como en otros Trochidae (Koike, 1985; Hodgson y col., 1990; Hodgson, 1995), es del tipo primitivo (Franzén, 1955) o ectacuaespermatozoide (Jamieson, 1987), típico de especies que utilizan la fertilización externa como estrategia reproductiva. Ultraestructuralmente, el espermatozoide en *Tegula* muestra que la pieza media y el flagelo no presentan variación entre las especies, al igual COMO en otros vetigastropodos (Hodgson y col., 1990; Hodgson y Foster, 1992; Hodgson, 1995). Sin embargo, el espermatozoide muestra variación entre las especies en el tamaño y en las

características ultraestructurales del núcleo y acrosoma. Esto permitió diferenciar cada una de las especies estudiadas. El espermatozoide examinado a nivel ultraestructural ha resultado útil para identificar otras especies de vetigastropodos (Koike, 1985; Hodgson y Bernard, 1988; Hodgson y col., 1990; Hodgson y Foster, 1992; Hodgson y Chia, 1993; Healy, 1998; Collado y Brown, 2003). De acuerdo a Hodgson y col. (1990), la morfología espermática proporciona una variedad de caracteres útiles desde el punto de vista taxonómico los cuales pueden aplicarse en el nivel de especie y en categorías superiores. El presente estudio indica que las especies de *Tegula* pueden ser reconocidas por uno o más de los siguientes caracteres espermáticos: longitud total, longitud y forma del acrosoma, longitud y forma del núcleo, profundidad del espacio subacrosómico y profundidad de la invaginación nuclear anterior (Vea anexos 4 a 7 para las características del espermatozoide por especie). Por ejemplo, la especie *Tegula patagonica* puede ser reconocida fácilmente si se observa únicamente su acrosoma. La misma situación acontece con *Tegula tridentata*. El acrosoma presenta una morfología particular en esta última especie, y además es la única que presenta la invaginación nuclear anterior profunda. A pesar de que la longitud total entre el espermatozoide de *Tegula atra* y *Tegula luctuosa* no muestra diferencias estadísticamente significativas (Anexo 7), lo que puede ser producto del menor número de espermatozoides medidos en *Tegula atra*, los diferentes caracteres ultraestructurales cualitativos permiten diferenciar estas especies. De esta manera, la incorporación de caracteres cualitativos morfológicos y cuantitativos morfométricos en este estudio permiten concluir que las especies de *Tegula* analizadas poseen un espermatozoide con morfología específica de especie.

Las descripciones del espermatozoide de las especies pertenecientes al clado vetigastropoda fueron ya resumidas por Hodgson (1995). Con la excepción de los Skeneidae, que poseen espermatozoides dimórficos, los vetigastropodos producen un solo tipo de espermatozoide, el del tipo primitivo o ectaacuaespermatozoide, al igual como acontece en *Tegula*. En relación con los Trochidae, el autor señala que en este grupo el espermatozoide tiene un núcleo en forma de barril con una razón longitud: ancho <4:1 y presenta una invaginación nuclear anterior. El acrosoma, por otro lado, usualmente constituye el 50% o menos de la longitud total de la cabeza y su contenido puede o no estar diferenciado en una zona más densa al paso de los electrones. En la mayoría de las especies habría un bastón axial. En las especies de *Tegula* estudiadas aquí, el núcleo tiene forma de barril y presenta una invaginación nuclear anterior, lo que se corresponden con las características generales dadas por Hodgson (1995) para los Trochidae. Sin embargo, la relación longitud: ancho del núcleo en *Tegula* es <2:1 (Anexo 6). En relación con el acrosoma, las especies de *Tegula* presentan una característica particular de este organelo debido a que siempre es más grande que el núcleo. La excepción la constituye la especie *Tegula patagonica*, cuyo acrosoma concordaría con lo resumido por Hodgson (1995). El contenido acrosómico no se encuentra diferenciado en ninguna de las especies estudiadas y sólo *Tegula patagonica* presentó bastón axial. En este trabajo no se detectó bastón axial en *Tegula tridentata* como había sido evidenciado por Brown (1992).

5.4. Relaciones filogenéticas

Los análisis moleculares realizados entregaron filogenias similares con clados bien resueltos hacia las ramas terminales de los árboles. La resolución en niveles basales de los árboles es baja. En general, cuando los clados fueron apoyados por buenos valores de bootstrap en los análisis de parsimonia, vecino más cercano y máxima probabilidad, también recibieron buen soporte bayesiano. Los análisis también revelaron una congruencia entre los clados y el rango geográfico de las especies. Las especies asiáticas forman un grupo monofilético cuyo porcentaje de probabilidad posterior es alto en el análisis bayesiano (93%). Dentro de este clado hay dos subclados, uno formado por las especies hermanas *Tegula xanthostigma* y *Tegula argyrostoma*, y otro formado por *Tegula pfefferi* más las especies hermanas *Tegula nigerrima* y *Tegula rustica*. Cada subclado está respaldado por un valor de bootstrap de 100% en el análisis del vecino más cercano y de 100% de probabilidad posterior en el análisis bayesiano. Las especies de California-Baja California *Tegula funebris*, *Tegula rugosa* y *Tegula gallina* forman un grupo monofilético con un alto porcentaje de probabilidad posterior (100%). En este clado, *Tegula rugosa* y *Tegula gallina* son especies hermanas (100% de probabilidad posterior). Las especies tropicales de *Agathistoma* más *Tegula pelisserpentis* y las especies chilenas *Tegula patagonica*, *Tegula quadricostata* y *Tegula tridentata* también forman un grupo monofilético con alto porcentaje de probabilidad posterior (100%). En este clado, *Tegula felipensis* y *Tegula mariana* son especies hermanas (Bootstrap= 100% en el análisis de parsimonia, vecino más cercano y máxima probabilidad; 100% de probabilidad posterior en el análisis bayesiano), al igual que *Tegula tridentata* y *Tegula quadricostata* (95% de probabilidad posterior). Las especies de California *Tegula*

regina, *Tegula montereyi* y *Tegula brunnea* forman un grupo monofilético con un valor bootstrap de 100% en los análisis de parsimonia y del vecino más cercano. En este clado, *Tegula montereyi* y *Tegula brunnea* serían especies hermanas (Bootstrap= 89% en el análisis del vecino más cercano). Las especies chilenas *Tegula atra*, *Tegula ignota*, *Tegula euryomphala* y *Tegula luctuosa* se anidan en un clado con valores altos de bootstrap (84% en el análisis de parsimonia y 99% en el análisis del vecino más cercano).

Las filogenias entregadas por los análisis de parsimonia, vecinos más cercano, máxima probabilidad e inferencia bayesiana indican que las especies chilenas no son monofiléticas sino que se dividen en clados separados que no son grupos hermanos. En los tres primeros análisis uno de los grupos lo conforman las especies *Tegula atra*, *Tegula ignota*, *Tegula euryomphala* y *Tegula luctuosa*, las cuales conforman un grupo monofilético. En este clado, *Tegula atra* es la especie basal mientras *Tegula ignota* sería la especie hermana del clado *Tegula euryomphala* - *Tegula luctuosa* (99% en el análisis de los vecinos más cercanos). El otro grupo de especies lo conforman *Tegula patagonica*, *Tegula quadricostata* y *Tegula tridentata*, que se anidan en un clado junto a las especies de *Agathistoma* y *Tegula pellisserpentis*. Las relaciones entre las tres especies chilenas sólo aparecen bien resueltas en el análisis bayesiano (95% de probabilidad posterior para la monofilia de las especies *Tegula quadricostata* y *Tegula tridentata*). El análisis molecular indica que las especies chilenas de *Tegula* son parafiléticas, lo que no concuerda con la hipótesis inicial de trabajo, que asumía que las especies representaban un grupo monofilético.

El único estudio filogenético en *Tegula* corresponde al trabajo realizado por Hellberg (1998) empleando secuencias de genes mitocondriales COI y 12S. Este estudio incluyó 23 especies de *Tegula* de las cuales tres eran especies chilenas (*Tegula atra*, *Tegula quadricostata* y *Tegula tridentata*). En este análisis las especies *Tegula quadricostata* y *Tegula tridentata* resultaron ser especies hermanas mientras *Tegula atra* ocupó una posición en el árbol distante de estas especies. Sin embargo, a pesar de contar con este antecedente, el análisis de Hellberg (1998) no permitía revelar que las especies chilenas eran un grupo parafilético debido a que en su estudio no se incluyeron todas las especies que habitan la costa chilena. La incorporación de las nuevas secuencias en el presente estudio permitió revelar la condición parafilética de las especies. Esto demuestra la importancia de considerar la mayor cantidad posible de taxa a la hora de emprender un estudio filogenético, independiente del método que se utilice para reconstruir la filogenia de un grupo.

5.5. Evidencia fósil

De acuerdo a Carcelles y Williamson (1951), las especies *Tegula atra*, *Tegula euryomphala* y *Tegula tridentata* aparecen en el Pleistoceno (Cuaternario). Por otro lado, Herm (1969) señala que *Tegula atra* y *Tegula luctuosa* se originaron en el Plioceno. Este autor también señala que la especie *Tegula tridentata* habría aparecido después, durante el Pleistoceno. El patrón de ramificación que presentan las especies chilenas de *Tegula* en la filogenia COI concuerda con los registros paleontológicos de Herm (1969). La topología también es concordante con la información que señala que las especies de California-Baja California *Tegula funebris* y *Tegula gallina* son

pliocénicas (Hellberg, 1998). El análisis de máxima probabilidad y la inferencia bayesiana revelaron que el clado que integran este último grupo de especies es el grupo hermano de un clado mayor que incluye a las especies chilenas *Tegula atra* y *Tegula luctuosa*, también de origen pliocénico. Los análisis filogenéticos también muestran que las especies *Tegula atra* y *Tegula luctuosa* son siempre basales en los árboles filogenéticos con respecto a *Tegula tridentata*, concordando con la aparición más tardía de esta última especie, durante el pleistoceno (Herm, 1969). Los datos del registro fósil, sin embargo, deben tomarse con cautela debido a que pueden estar incompletos.

5.6. Zoogeografía

Goodacre y Wade (2001) en un estudio filogenético en caracoles partúlidos señalan que la colonización de una región puede ser inferida a partir de la distribución de las especies si se conocen las relaciones entre los taxa. Bajo este contexto, sería posible inferir la ruta por la cual las especies chilenas de *Tegula* ocuparon las costas del Pacífico si se sigue la filogenia COI. Por otro lado, si se cuenta con datos paleontológicos, los eventos biogeográficos pueden verse respaldados. El análisis molecular realizado en este estudio reveló que las especies son parafiléticas por lo que las costas chilenas habrían sido colonizadas por al menos dos linajes de *Tegula*. Esto concuerda con la aparición de especies chilenas en diferentes períodos geológicos por lo que ocupan diferentes clados en los árboles filogenéticos. Una primera radiación pliocénica habría originado las especies *Tegula atra*, *Tegula ignota*, *Tegula euryomphala* y *Tegula luctuosa*. Posteriormente, durante el Pleistoceno, una segunda radiación habría dado origen a las especies *Tegula patagonica*, *Tegula quadricostata* y *Tegula tridentata*. Ambos

radiaciones habrían seguido una ruta de colonización Norte→ Sur por la costa del Pacífico, atravesando el Ecuador. Esta predicción se sustenta en dos antecedentes. El primero es que el género *Tegula* surgió en el Mioceno medio en California y presentó una rápida radiación durante el Plioceno (Hellberg, 1998). Este período marca la aparición de las especies de California-Baja California *Tegula funebris* y *Tegula gallina* (Hellberg, 1998) y de las especies chilenas *Tegula atra* y *Tegula luctuosa* (Herm, 1968). Esto concuerda con la posición basal en el análisis bayesiano del clado de especies de California-Baja California con respecto a las especies chilenas. El segundo antecedente indica que el grupo hermano de las especies chilenas *Tegula patagonica*, *Tegula quadricostata* y *Tegula tridentata* son las especies tropicales de *Agathistoma*. Este subgénero, de origen relativamente reciente (menor a 4 millones de años, Campbell (1993, *fide* Hellberg, 1998), mostró una explosiva radiación una vez formado el Istmo de Panamá (Hellberg, 1998), evento ocurrido cerca de 3.1 millones de años atrás (Collin, 2003). Esto concuerda con la posición más derivada que ocupan las especies de *Agathistoma* en los diferentes análisis filogenéticos y con la radiación más tardía del linaje que habría dado origen a este grupo de especies chilenas durante el Pleistoceno.

5.7. Consideraciones finales para futuras investigaciones e implicancias taxonómicas

El análisis comparativo realizado en este trabajo permitió caracterizar siete especies de *Tegula* mediante el estudio de la morfología del epipodio y del espermatozoide. La importancia de incorporar caracteres de la morfología espermática

se vió acrecentada al poder diferenciar las especies *Tegula euryomphala* y *Tegula luctuosa*, debido a que sus secuencias COI y la morfología del epipodio no mostraron variación. Si bien en estas especies el espermatozoide de *Tegula luctuosa* es significativamente más grande que el de *Tegula euryomphala*, ambos gametos son estructuralmente similares. En especies simpátricas de patelogastrópodos que presentan espermatozoides similares se ha señalado que las características moleculares de los gametos serían más importantes que las morfológicas para actuar como barreras para evitar la fertilización cruzada (Jamieson y col., 1991). Recientemente se ha observado evolución rápida por selección positiva en proteínas espermáticas involucradas en la interacción de los gametos en especies de *Tegula* (Hellberg y Vacquier, 1999; Hellberg y col. 2000) y *Haliotis* (Kresge y col. 2001), lo que se ha asociado a divergencia interespecífica (Hellberg y col. 2000). La más importante de estas proteínas es la “lysin”. Esta proteína, que es liberada del acrosoma del espermatozoide de invertebrados marinos con reproducción externa, hace un orificio en la cubierta vitelina de los óvulos coespecíficos para permitir la entrada del espermatozoide (Lewis y col., 1982). Las comparaciones interespecíficas en especies estrechamente relacionadas de *Tegula* y *Haliotis* utilizando secuencias de DNA que codifican la proteína lysin han revelado una amplia divergencia y una acumulación rápida de sustituciones no sinónimas (Hellberg y col. 2000). Estos datos sugieren que las diferencias en la morfología espermática entre *Tegula euryomphala* y *Tegula luctuosa* podrían ser vistos como la continuación de la divergencia molecular que podría haber ocurrido en las proteínas espermáticas de las especies. La obtención de secuencias de la proteína lysin de ambas especies, u otra proteína espermática de evolución rápida (por ejemplo la TMAP, Hellberg y col. 2000),

podrían revelar si las lysin y sus receptores específicos están contribuyendo a mantener a estas especies aisladas reproductivamente.

De acuerdo a Hickman y McLean (1990), las especies de *Tegula* han sido asignadas a cinco subgéneros: *Tegula* s.s., *Aghatistoma* Olsson y Harbison, 1953, *Chlorostoma* Swaison, 1840, *Promartynia* Dall, 1909, y *Stearnsium* Berry, 1958. El subgénero *Omphalius* Philippi, 1847 constituye un sinónimo de *Chlorostoma* Swaison, 1840 (Keen, 1971). En el presente trabajo, la revisión histórica de las clasificaciones de las especies chilenas de *Tegula* reveló que existe conflicto entre los autores en las asignaciones subgenéricas. La clasificación de otras especies de *Tegula* también muestra inconsistencias a nivel de esta categoría taxonómica. Un ejemplo lo constituyen las especies *Tegula brunnea* y *Tegula funebris* debido a que han sido asignadas al subgénero *Agathistoma* por Abbott (1974) y a *Chlorostoma* por Hickman y McLean (1990). El conflicto entre nomenclatura y filogenia en *Tegula* puede apreciarse también al superponer los subgéneros asignados a las especies sobre la filogenia COI (fig. 9). En este contexto, la observación general de la Figura 9 muestra que el subgénero *Chlorostoma* es polifilético debido a que se distribuye en diferentes clados, lo que revela que esta asignación es artificial. Un análisis más detallado muestra que las especies de California *Tegula regina*, *Tegula montereyi* y *Tegula brunnea*, las cuales conforman un grupo monofilético (Bootstrap= 100% en los análisis de parsimonia y del vecino más cercano; 100% de probabilidad posterior en el análisis bayesiano), son asignadas a los subgéneros *Stearnsium*, *Promartynia* y *Agathistoma* o *Chlorostoma*, respectivamente. De manera similar, las especies de California-Baja California *Tegula funebris*, *Tegula rugosa* y *Tegula gallina* (monofilia soportada por un 100% de probabilidad posterior en

el análisis bayesiano) son asignadas a los subgéneros *Agathistoma* (*Tegula funebris* y *Tegula gallina*) y *Chlorostoma* (*Tegula rugosa*).

Las asignaciones subgenéricas también serían artificiales en otras especies de *Tegula*. Por ejemplo, las especies chilenas *Tegula atra*, *Tegula ignota*, *Tegula euryomphala* y *Tegula luctuosa* (monofilia soportada por un Bootstrap= 100% en los análisis de parsimonia y del vecino más cercano) y las especies asiáticas (monofilia soportada por un 100% de probabilidad posterior en el análisis bayesiano) son asignadas al subgénero *Chlorostoma*, a pesar de representar linajes distintos. Las especies tropicales de *Agathistoma* se dividen en al menos tres linajes, tal vez mereciendo cada uno de ellos la designación de un nuevo subgénero. Por estos antecedentes recién expuestos, el análisis molecular realizado en este trabajo sugiere que la taxonomía de *Tegula* a nivel de los subgéneros *Agathistoma*, *Chlorostoma*, *Promartynia* y *Stearnsium* debe ser sometida a revisión. *Tegula pellisserpentis* representa un linaje particular en todos los análisis y es la única especie asignada al subgénero *Tegula*, s. s. (Keen, 1971; Hellberg, 1998). La ubicación de este linaje en la filogenia es congruente con la actual nomenclatura.

Para que la clasificación de las especies de *Tegula* sea un ordenamiento natural, se deben incluir en un análisis filogenético todas las especies de *Tegula*. Como este estudio incluye sólo 28 especies, todavía es prematuro revisar el sistema de clasificación del género. Sin embargo, mientras se espera un muestreo más extensivo, en este trabajo se propone de manera transitoria para la sistemática de las especies chilenas de *Tegula* lo siguiente: 1) que las especies *Tegula patagonica*, *Tegula quadricostata* y *Tegula tridentata* sean asignadas al subgénero *Agathistoma*, y 2) la

sistemática del subgénero *Chlorostoma* debe ser revisada debido a que es polifilético.

Tras una revisión, las especies *Tegula atra*, *Tegula ignota*, *Tegula euryomphala* y *Tegula*

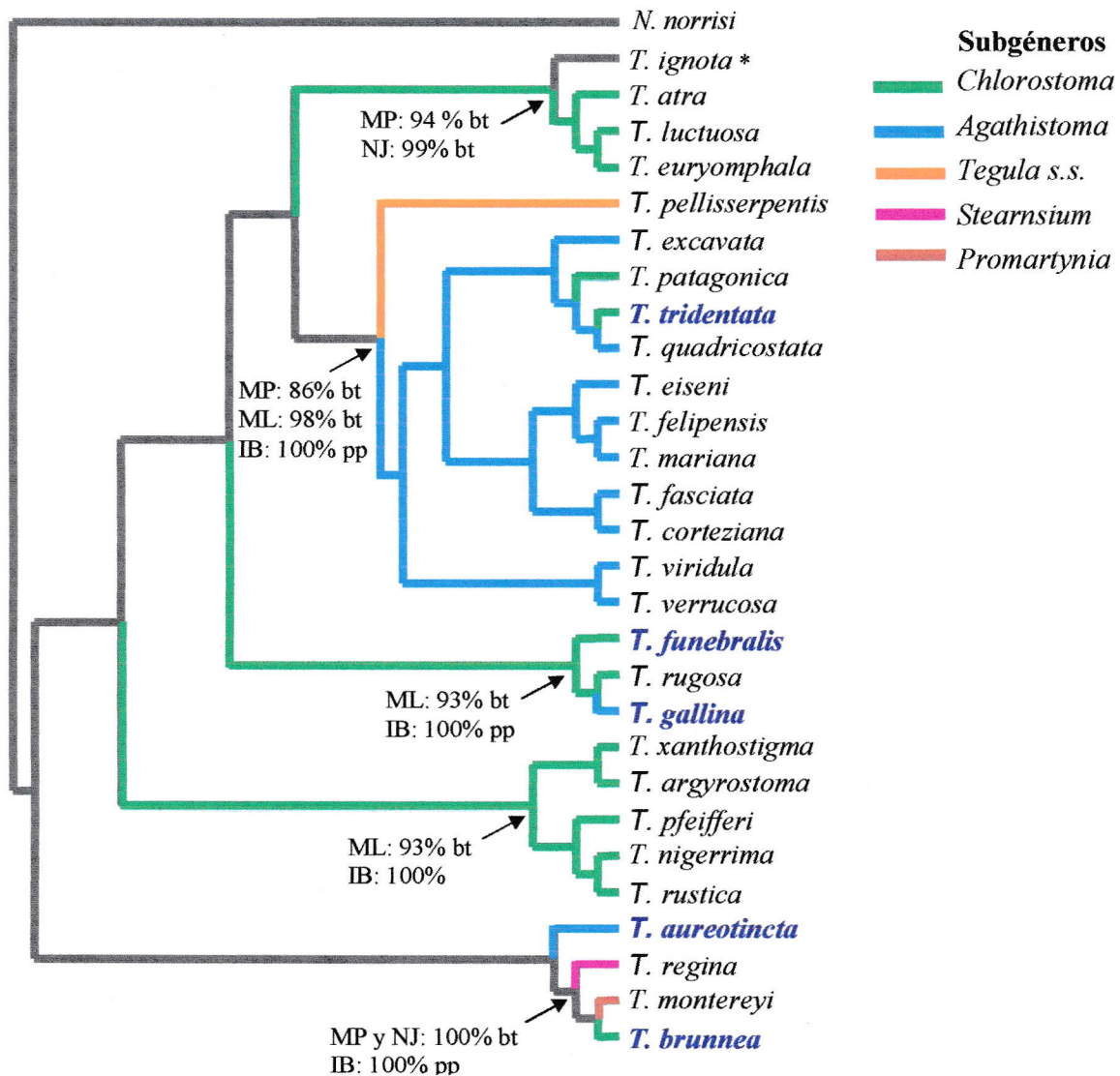


Figura 9. Superposición de los subgéneros asignados a las especies de *Tegula* sobre la hipótesis filogenética entregada por el análisis de máxima probabilidad. En los nodos se indican los valores de remuestreo bootstrap (bt) en los análisis de máxima parsimonia (MP), vecino más cercano (NJ) y máxima probabilidad (ML), y los porcentajes de probabilidad posterior obtenidos mediante inferencia bayesiana (IB). Los taxa mostrados en azul también se han asignado al subgénero *Agathistoma*. *: Taxón no asignado a subgénero.

podrían ser reasignadas a *Chlorostoma* o asignarse a un nuevo subgénero. De acuerdo al análisis filogenético entregado en el presente estudio, la asignación de las especies a *Chlorostoma* sería artificial debido que no refleja las relaciones evolutivas de las especies. Por otro lado, la etimología de *Chlorostoma* “boca verde” tampoco es muy apropiada para las especies chilenas, lo que ya fue discutido por Pilsbry (1900).

5. CONCLUSIONES

1. De la literatura se recuperaron 58 nombres específicos, distribuidos en nueve géneros (*Chlorostoma*, *Clanculus*, *Minolia*, *Moniles*, *Monodonta*, *Neomphalius*, *Omphalius*, *Tegula* y *Trochus*) y tres subgéneros (*Agathistoma*, *Chlorostoma* y *Omphalius*), para siete especies de *Tegula* caracterizadas en este estudio.
2. La morfología del espermatozoide y la morfología del epipodio proporcionan caracteres taxonómicos útiles que permiten distinguir las especies chilenas de *Tegula*. Estas son: *Tegula atra* (Lesson, 1830), *Tegula euryomphala* (Jones, 1844), *Tegula ignota* Ramírez, 1976, *Tegula luctuosa* (D' Orbigny, 1841), *Tegula patagonica* (D' Orbigny, 1835), *Tegula quadricostata* (Wood, 1828) y *Tegula tridentata* (Potiez y Michaud, 1838).
3. El análisis filogenético molecular indica que las especies chilenas de *Tegula* son parafiléticas. Las especies *Tegula atra*, *Tegula ignota*, *Tegula euryomphala* y *Tegula luctuosa* se agrupan en un clado separado de las especies *Tegula patagonica*, *Tegula quadricostata* y *Tegula tridentata*. Estas últimas se agrupan en un clado junto a especies tropicales de *Tegula*. La filogenia molecular indica también que la taxonomía del grupo a nivel de subgénero debe ser revisada.
4. De la filogenia molecular se infiere que a las costas chilenas del Pacífico habrían arribado al menos dos linajes de *Tegula* en períodos geológicos distintos. Una primera radiación pliocénica habría originado las especies *Tegula atra*, *Tegula ignota*, *Tegula euryomphala* y *Tegula luctuosa*. Una segunda radiación pleistocénica

habría originado las especies *Tegula patagonica*, *Tegula quadricostata* y *Tegula tridentata*. Ambos linajes habrían seguido a una ruta de colonización Norte→ Sur por la costa del Pacífico, atravesando el Ecuador.

LITERATURA CITADA

Abbott, R. 1974. American seas shells. The marine mollusca of the Atlantic and Pacific coast of North America. Second edition. Copyright by Litton Educational Publishing, Inc. 663 pp.

Ageitos de Castellanos, Z. y N. Landoni. 1989. Catalogo descriptivo de la malacofauna marina magallánica. 3. Trochidae y Turbinidae (Archigastropoda). Facultad de Ciencias naturales y Museo Universidad Nacional de la Plata. 40 p.

Alamo, V. y V. Valdivieso. 1987. Lista sistemática de moluscos marinos del Perú. Instituto del Mar del Perú. Boletín Volumen extraordinario. Callao, Perú., 205 pp.

Avise, J. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman & Hall, Inc. Great Britain 2-6 Boundary Row, London Se1 8HN.

Brooks, D. y D. McLennan. 1991. Phylogeny, ecology, and behavior. A research program in comparative biology. The University of Chicago Press, Chicago.

Brown, D. I. 1992. Testicular organization and spermatogenesis in *Tegula* (*Chlorostoma*) *tridentata* (Potiez and Michaud, 1832). Microscopía Electrónica y Biología Celular 16 (1): 17-33.

Carcelles, A. 1944. Catálogo de los moluscos de Puerto Quequén. Extracto de la Revista del Museo de la Plata (Nueva Serie). Sección Zoología, Tomo III, 233-309.

Carcelles, A. 1945. Las especies actuales de *Tegula* en la república Argentina. Physis XX: 31-40.

Carcelles, A. y S. Williamson. 1951. Catálogo de los Moluscos Marinos de la Provincia Magallánica. Revista del Instituto Nacional de Investigación de las Ciencias Naturales. Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", Ciencias Zoológicas, 2 (5): 225-283.

Collado, G. A. y D. I. Brown. 2003. Structure of the spermatozoa of two sympatric species of *Fissurella* Brugière, 1789 (Mollusca: Archaeogastropoda) from the southeast coast of South America. *Invertebrate Reproduction and Development*.

Collin, R. 2003. Phylogenetic relationships among calyptraeid gastropod and their implications for the biogeography of marine speciation. *Systematics Biology* 52 (5): 618-640.

Crisp, M. 1981. Epithelial structures of trochids. *Journal of the Marine Biological of the United Kingdom* 61: 95-106.

Dall, W. 1909. Report on a collection of shells from Peru, with a summary of the littoral marine Mollusca of the Peruvian zoological province. *Proceedings of the United States National Museum* 37: 147- 294.

Dall, W. 1927. Diagnosis of undescribed new species of mollusks in the collection of The Unites State National Museum. *Proceedings of The Unites State National Museum* 70 (2668) 1-1.

Dell, R. 1971. The marine Mollusca of the Royal Society Expedition to Sourhern Chile, 1958-59. *Records of the Dominion Museum (Wellington)* 7 (17): 155-233.

D' Orbigny, A. 1835-1847. *Voyage dans l' Amérique Meridionale, Mollusques*, 5, París.

Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 294-297.

Franzén, A. 1955. Comparative morfological investigations into the spermiogenesis among Mollusca. *Zoological journal Uppsala* 30: 399-456.

Geiger, D. L. 1999. A total evidence cladistics analysis of the family Haliotidae (Gastropoda: Vetigastropoda). Ph. D. Thesis, University of Southern California, Los Angeles.

Goodacre, S. y C. Wade. 2001. Molecular evolutionary relationships between partulid land snails of the Pacific. *Proceedings of The Royal Society of London B*. 268: 1-7.

Guzmán, N., S. Saá y L. Ortlieb. 1998. Catalogo descriptivo de los moluscos litorales (Gastropoda y Pelecypoda) de la zona de Antofagasta, 23° S (Chile). *Estudios Oceanológicos* 17: 17-86.

Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41: 95-98.

Haszprunar, G. 1988. On the origin and evolution of major gastropods groups, with special reference to the streptoneura. *Journal of the Molluscan Studies* 54: 367-441.

* Hellberg, M. y V. Vacquier. 1999. Rapid evolution of fertilization selectivity and lysin cDNA sequences in teguline gastropods. *Molecular Biology and Evolution* 16 (6), 839-848.

Hellberg, M., Moy, G. y V. Vacquier. 2000. Positive selection and propeptide repeats promote rapid interspecific divergence of a gastropod sperm protein. *Molecular Biology and Evolution* 17 (3): 458-466.

Herm, D. 1969. Marines Pliozän und Pleistozän in Nord- und Mittel-Chile unter besonderer Berücksichtigung der Entwicklung der Mollusken-Faunen. *Zitteliana* 2: 1-159.

Hickman, C. y J. McLean. 1990. Systematic revision and suprageneric classification of trochacean gastropods. *Natural History Museum of Los Angeles County Science Series* n° 35: 1-169.

Hodgson, A. 1995. Spermatozoal morphology of Patellogastropoda and Vetigastropoda (Mollusca: Prosobranchia). En: B. Jamieson, J. Ausio & J. Justine (eds), *Advances in spermatozoal phylogeny and taxonomy. Mémoires Du Muséum National D' Histoire Naturelle*, Tomo 166. Paris, 564 pp.

Hodgson, A. y R. Bernard. 1988. A comparison of the structure of the spermatozoa and spermatogenesis of 16 species of Patellid limpet (Mollusca: Gastropoda: Archaeogastropoda). *Journal of Morphology* 195: 205-223.

Hodgson, A., J. Heller y R. Bernard. 1990. Ultrastructure of the sperm and spermatogenesis in five South African species of the trochis genus *Oxystele* (Mollusca: Prosobranchia). *Molecular Reproduction and Development* 25: 263-271.

Hodgson, A. y G. Foster, 1992. Structure of the sperm of some South African archaeogastropods (Mollusca) from the superfamilies Haliotoidea, Fissurelloidea and Trochoidea. *Marine Biology* 113: 89-97.

Hodgson, A. y F. Chia. 1993. Spermatozoon structure of some North American prosobranchs from the families Lottiidae (Patellogastropoda) and Fissurellidae (Archaeogastropoda). *Marine Biology* 116: 97-101.

Huelsenbeck, J. P. 2000. MrBayes : Bayesian inference of phylogeny. Distributed by the author, Department of Biology, Univ. Rochester, Rochester, New York.

Huelsenbeck, J. P., y F. Ronques 2001. MrBayes 2.0: Bayesian inference of phylogeny. Distributed by the author, Department of Biology, Univ. Rochester, Rochester, New York, and Department of Biology, Univ. Uppsala, Uppsala, Sweden.

Hupé, L. 1854. Fauna Chilena. Moluscos. En: Ediciones C. Gay, Historia Física y Política de Chile. *Zoología* 8. Santiago, 499 pp.

Jamieson, B. 1987. A biological classification of sperm types, with special reference to annelids and molluscs, and an example of spermiocladistics. En: H. Mohri (eds), *New Horizons in Sperm Cell Research*. Japan Science Society Press, Tokyo/Gordon & Breach Science Publishers. New York, p. 311-332.

Jamieson, B., Hodgson, A. y R. Bernard. 1991. Phylogenetic trends and variation in the ultrastructure of the spermatozoa of sympatric species of South African limpets (Archaeogastropoda; Mollusca). *Inver Reprod. Dev.* 20:137-146.

Keen, A. 1971. *Sea shells of tropical west America*. Second edition. Stanford University Press, Stanford, California. 1064 pp.

Kimura, M. 1980. A simplified method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16: 111-120.

Koike, K. 1985. Comparative ultrastructural studies on the spermatozoa of the Prosobranchia (Mollusca: Gastropoda). Science Reports of the Faculty of Education Gunma University 34: 33-153.

Kresge, N., Vacquier, V. y D. Stou 2001. Abalone Lysin: the dissolving evolving sperm protein. BoiEssays 23: 95-103.

Kumar, S., Tamura, y M. Nei. 1991. Mega: molecular evolutionary genetics analysis. Vers. 2.01. Pennsylvania State University, University Park, PA.

Lamy, M. 1906. Coquilles recueillies par M. Le D^r Neveu-Lemaire pendant la mission de Créqui Montfort et Senéchal de la Grange dans l' Amérique du Sud (1903). Bulletin de Muséum d' Histoire Naturelle 30-36: 530 – 539. París.

Lancelloti, D. y J. Vásquez. 2000. Zoogeografía de macroinvertebrados bentónicos de la costa de Chile: contribución para la conservación marina. Revista Chilena de Historia Natural 73: 99-129.

Lesson, R. P. 1830. Zoologie. En: Duperry L. J. Voyage autour du monde, sur la Corvette La coquille, pendant les années 1822-25. París, Francia.

Lewis, C.; Leighton, D. & V. Vacquier. 1982. A protein from abalone sperm dissolves the egg vitelline layer by nonenzymatic mechanism. Developmental Biology 92: 227-239.

MacDonald, J. y C. Maino. 1964. Observations of the epipodium, digestive tract, coelomic derivatives, and nervous system of the trochid gastropod *Tegula funebris*. The Veliger 6 (Supplement): 50-55.

McCarthy, C. 1996-1998. Chromas. School of health science. Griffith University, Queensland, Australia. <http://www.technelysium.com.au/chromas.html>

Maddison, W. P., M. J. Donoghue y D. R. Maddison. 1984. Outgroup analysis and parsimony. *Systematic Zoology* 33: 83-103.

Marincovich, L. 1973. Intertidal mollusk of Iquique, Chile. Natural History Museum, Los Angeles County, *Science Bulletin* 16: 1-49.

Morán, A. L. 1997. Spawning and larval development of the black turban snail *Tegula funebris* (Prosobranchia: Trochidae). *Marine Biology* 128: 107-114.

Nei, N. y S. Kumar. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press. Pp 333.

Nicosia, W. y M. Gaete. 2003. Clase Molusca. Iista preliminar de los moluscos de la primera Región de Chile. *Apuntes de Zoología*, Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile. 15 pp.

Philippi, R. A. 1845. Diagnosen einiger neuer Conchylien. *Archiv für Naturgeschichte* 11 (1): 50-71.

Philippi, R. A. 1860. Zoología del desierto de Atacama. En: *Viaje al desierto de Atacama*. *Zoología VIII*: 139-172.

Pilsbry, H. A. 1889-1890. *Manual of Conchology*. Vol. 11. Trochidae. Conchological section, Academy of Natural Sciences, Philadelphia. 519 pp.

Pilsbry, H. A. 1900. Species of *Chlorostoma* of southern and eastern Patagonia. *The Nautilus*. 13 (10): 110-112.

- Ponder, W. y D. Lindberg. 1997. Towards a phylogeny of gastropods molluscs: an analisis using morphological characters. *Zoological Journal of the Linnean Society* 119: 83-265.
- Posada, D. y K. A. Crandell. 1998. ModelTest: Testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-818.
- Posada, D., y K. A. Crandell. 1998. Selecting the best-fit model of nucleotide substitution. *Systematics Biology* 50: 580-601.
- Ramírez, J. 1976. Nueva especie de Trochidae: *Tegula ignota* nov. sp. (Gastropoda: Monodontidae). *Noticiero Mensual del Museo Nacional de Historia Natural (Chile)* 3-5: 237-238.
- Ramírez, J. 1981. Moluscos de Chile. 1º Archaeogastropoda. Museo Nacional de Historia Natural. Santiago. 149 p.
- Rochebrune, A. T, de, y J. Mabile. 1885. Diagnoses de Mollusques nouveaux, recueillies par les membres de la mission du Cap Horn á santa Cruz. *Bulletin de la Société Philomatique de Paris* 7 (9) : 100-111.
- Saitou, N. y M. Nei. 1987. The neigborg-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406- 425.
- Sokal, R. y J. Rohlf. 1995. *Biometry. The principles and practice of statistical in biological research.* 3rd ed. Freeman & Co., New York.
- Swofford, D. L. 1998. PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony* (and Others Methods). Version. 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Thiele, J. 1929. Handbuch der systematischen weichtierkunde. Gastropoda. I. Prosobranchia (Vorderkiemer). Jena: Gustav fischer, 376 pp.

Vásquez, J. y A. Buschman. 1997. Herbivore-Kelp interactions in Chilean subtidal communities: a review. *Revista Chilena de Historia Natural* 70: 41-52.

Vásquez, J.; P. Camus y F. Ojeda. 1998. Diversidad, estructura y funcionamiento de ecosistemas costeros del Norte de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 71: 479-499.

Vegas, M. 1968. Revisión taxonómica y zoogeográfica de algunos gasterópodos y lamelibranquios del Perú. *Anales científicos de la Universidad Nacional Agraria, Lima*, 6 (1-2): 1-29.

Véliz, D. y J. Vásquez. 2000. La Familia Trochidae (Mollusca: Gastropoda) en el Norte de Chile: consideraciones ecológicas y taxonómicas. *Revista Chilena de Historia Natural* 73: 757-769.

Watanabe, J. 1984. Food preference, food quality and diets of three herbivorous gastropods (Trochidae: *Tegula*) in a temperate kelp forest habitat. *Oecologia* 62: 47-62.

7. ANEXO

1) Características cualitativas y cuantitativas del epipodio en las especies de *Tegula* caracterizadas en este estudio.

Especie	N° TEI	N° TED	Tentáculos cefálicos	Borde lóbulo izquierdo	Margen del palmete	Color epipodial	Tabique lóbulo derecho
<i>Tegula atra</i>	4	4	Negros	Dendriforme (fleclos gruesos)	Negro	Negro	Presente
<i>Tegula euryomphala</i>	4	4	Con banda blanca	Dendriforme	Blanco	Blanco	Ausente
<i>Tegula ignota</i>	4	4	Con banda gris	Dendriforme (fleclos finos)	No pigmentado	Rojo	Ausente
<i>Tegula luctusa</i>	4	4	Con banda blanca	Dendriforme	Blanco	Blanco	Ausente
<i>Tegula patagonica</i>	4	4	Negros	Liso	Negro	Negro	Ausente
<i>Tegula quadricostata</i>	4	4	Gris oscuro	Liso	No pigmentado	Café-Rojizo	Ausente
<i>Tegula tridentata</i>	4	4	Negros	Mitad anterior lisa, posterior dendriforme	Negro	Negro	Ausente

N° TEI: número de tentáculos epipodiales izquierdos.

N° TED: número de tentáculos epipodiales derechos.

2) Morfología del epipodio en las especies de *Tegula* caracterizadas en el presente estudio.

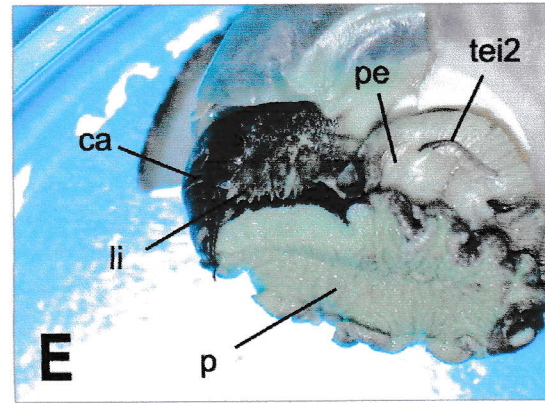
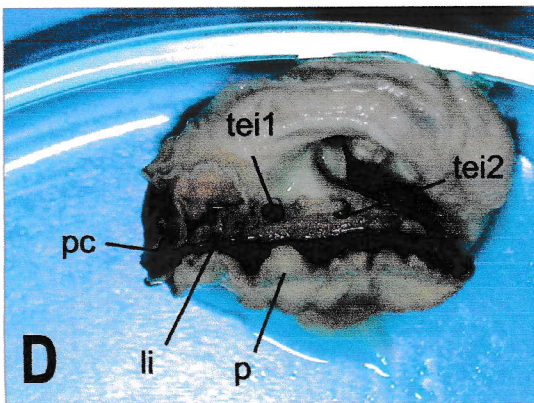
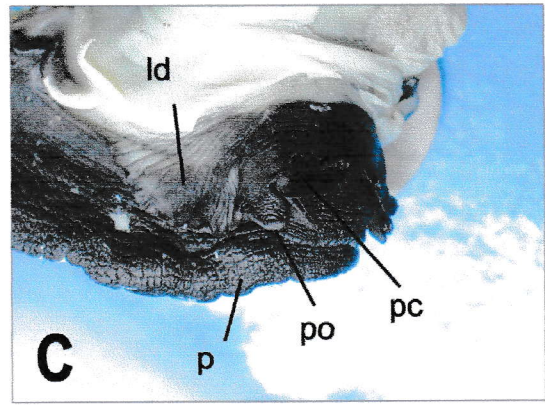
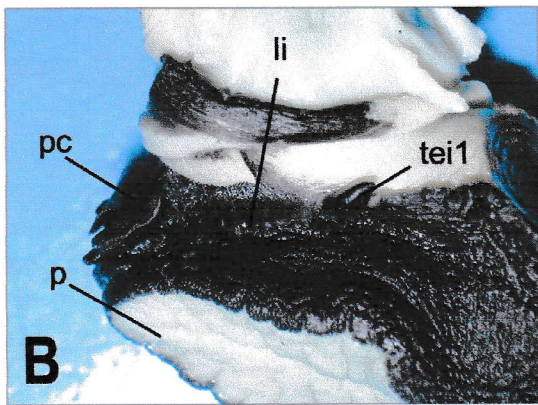
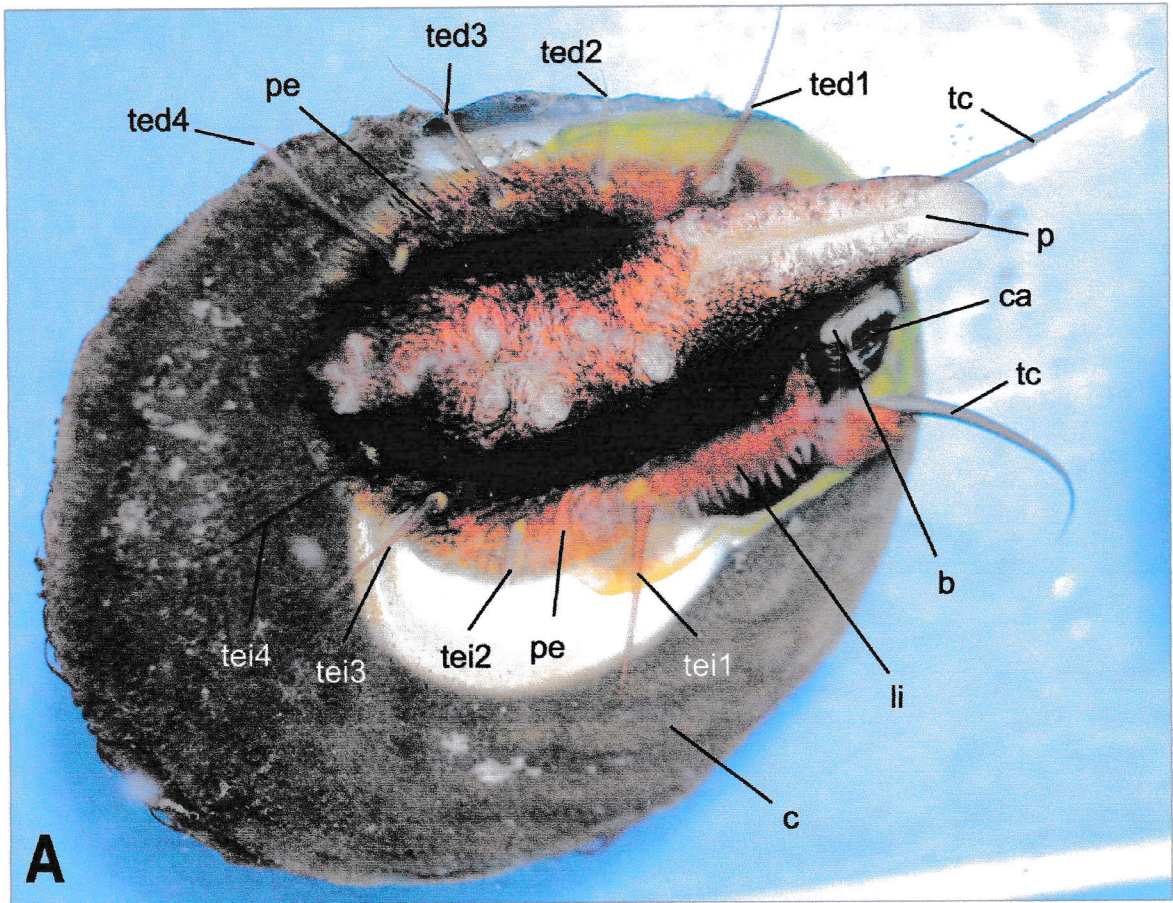
A) *Tegula ignota*. Animal vivo en vista ventral mostrando las principales estructuras epipodiales.

B) y C) *Tegula atra*. B) Animal visto desde la izquierda mostrando el lóbulo izquierdo del cuello con características dendriformes. C) Animal visto desde la derecha mostrando los tentáculos cefálicos, palmetes cefálicos y el lóbulo derecho del cuello.

D) *Tegula quadricostata*. Animal visto desde la izquierda mostrando el lóbulo izquierdo del cuello liso.

E) *Tegula euryomphala*. Animal visto desde la izquierda mostrando el lóbulo izquierdo del cuello con características dendriformes.

Abreviaciones de las figuras: b= boca; c= concha; ca= cabeza; j= ojo; ld= lóbulo derecho del cuello; li= lóbulo izquierdo del cuello; o= opérculo; p= pie; pc= palmetes cefálicos; pe= pliegue epipodial; tc= tentáculos cefálicos; td1-td4= primer a cuarto tentáculo epipodial derecho; ti1-ti4= primer a cuarto tentáculo epipodial izquierdo.



3) Morfología del epipodio en las especies de *Tegula* caracterizadas en el presente estudio.

A) *Tegula luctuosa*. Animal visto desde la izquierda, mostrando el lóbulo izquierdo del cuello con características dendriformes y el pliegue epipodial de color blanquecino.

B) *Tegula tridentata*. Animal visto desde la izquierda mostrando el lóbulo izquierdo del cuello y el pliegue epipodial de color negro.

C) *Tegula patagonica*. Animal visto desde la izquierda mostrando el lóbulo izquierdo del cuello y el pliegue epipodial de color negro grisáceo.

D) *Tegula ignota*. Animal en vista ventral mostrando los tentáculos cefálicos, el lóbulo izquierdo del cuello con características dendriformes y el pliegue epipodial de color rojo.

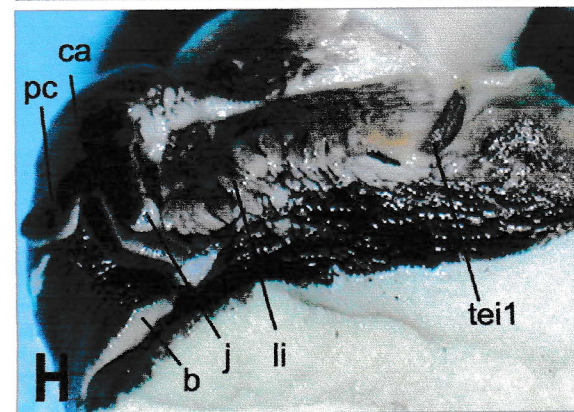
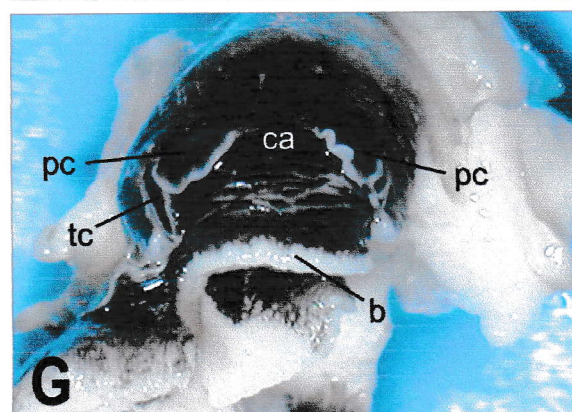
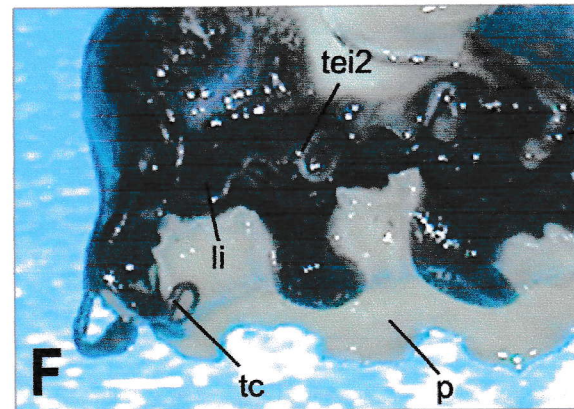
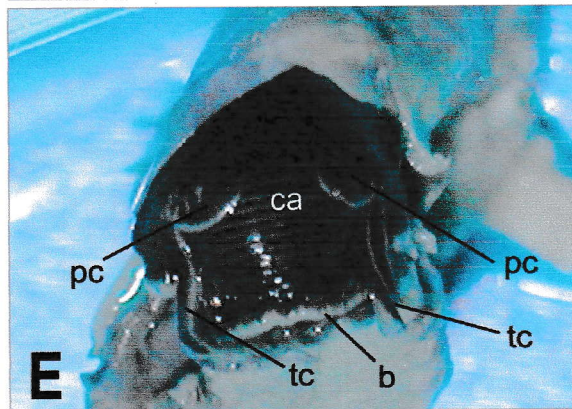
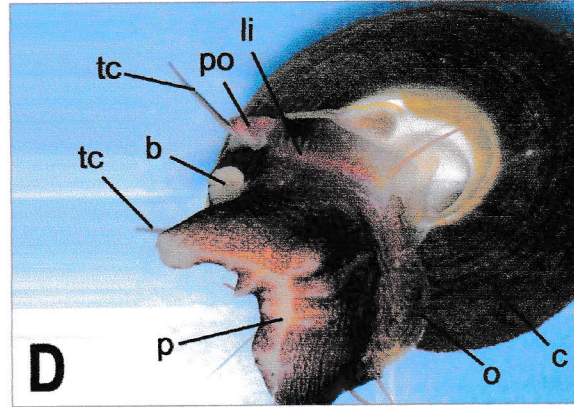
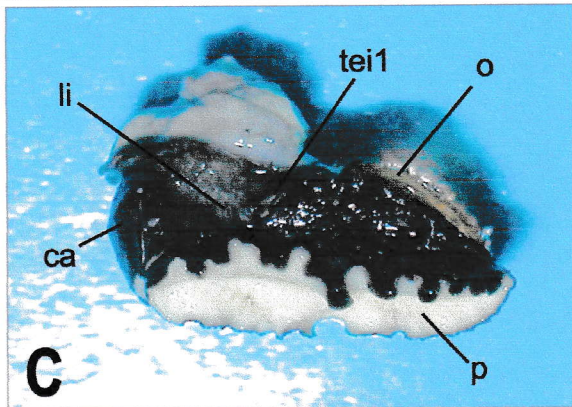
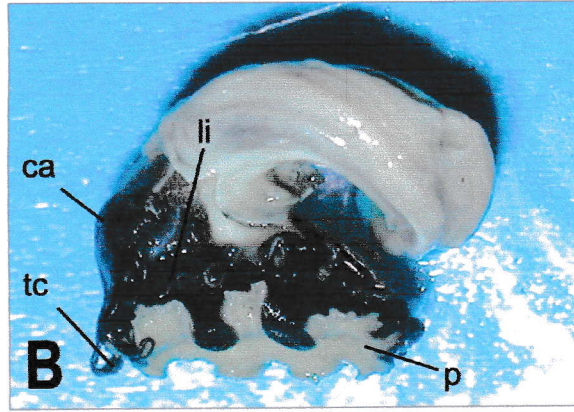
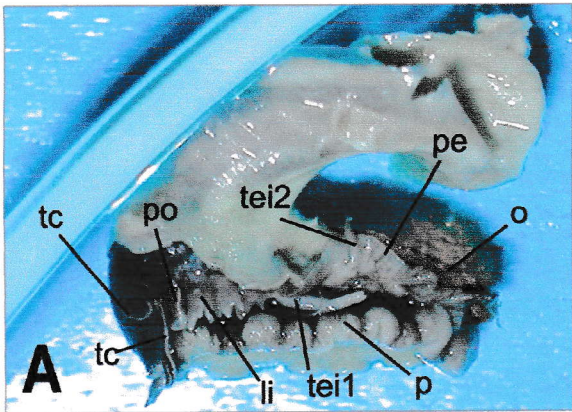
E) *Tegula luctuosa*. Animal en vista frontal mostrando los palmetes cefálicos con su borde carente de pigmentación negra y los tentáculos cefálicos con una banda blanca.

F) *Tegula tridentata*. El mismo animal de B) pero visto a mayor aumento.

G) *Tegula ignota*. Animal en vista frontal mostrando los tentáculos cefálicos y los palmetes cefálicos con su borde carente de pigmentación negra.

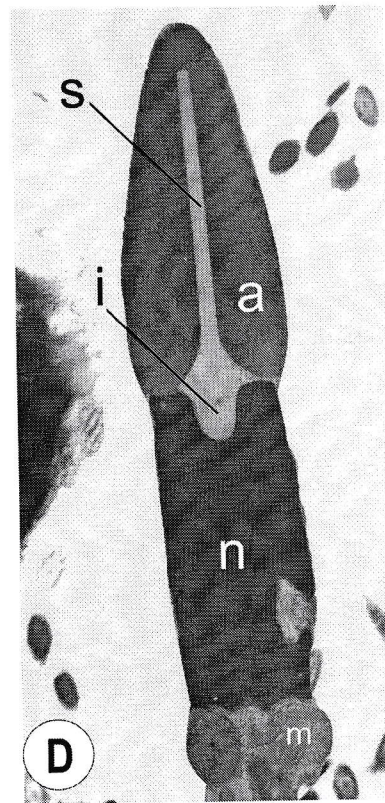
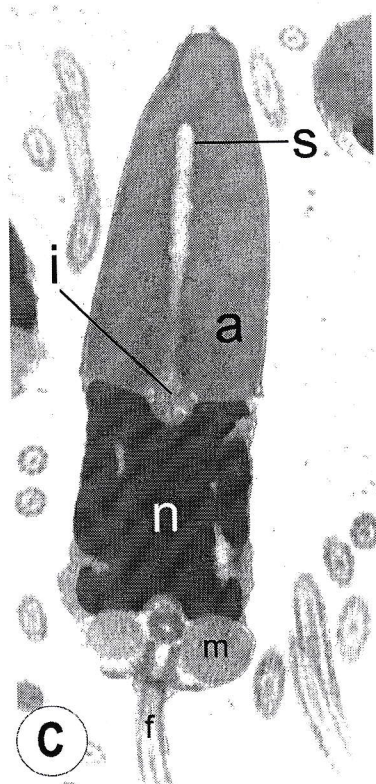
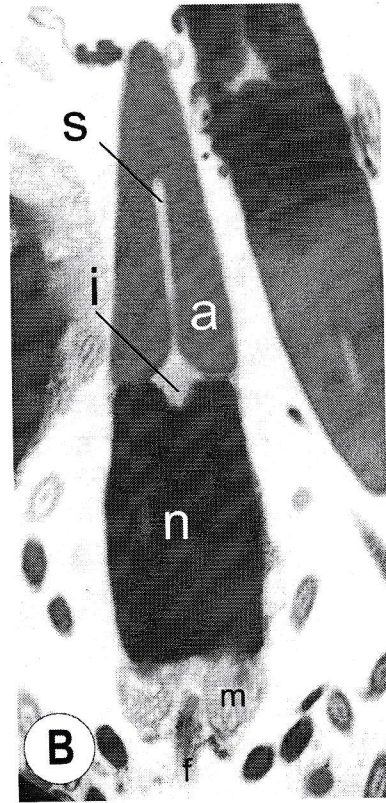
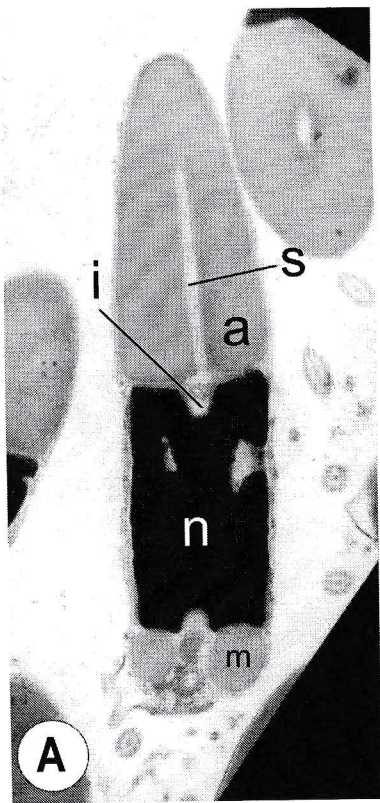
H) *Tegula euryomphala*. Animal visto desde la izquierda mostrando el borde del palmete cefálico no pigmentado, el tentáculo cefálico con banda blanca y el lóbulo izquierdo del cuello con características dendriformes.

Abreviaciones de las figuras: b= boca; c= concha; ca= cabeza; j= ojo; ld= lóbulo derecho del cuello; li= lóbulo izquierdo del cuello; o= opérculo; p= pie; pc= palmetes cefálicos; pe= pliegue epipodial; tc= tentáculos cefálicos; tei1= primer tentáculo epipodial izquierdo; tei2= segundo tentáculo epipodial izquierdo.



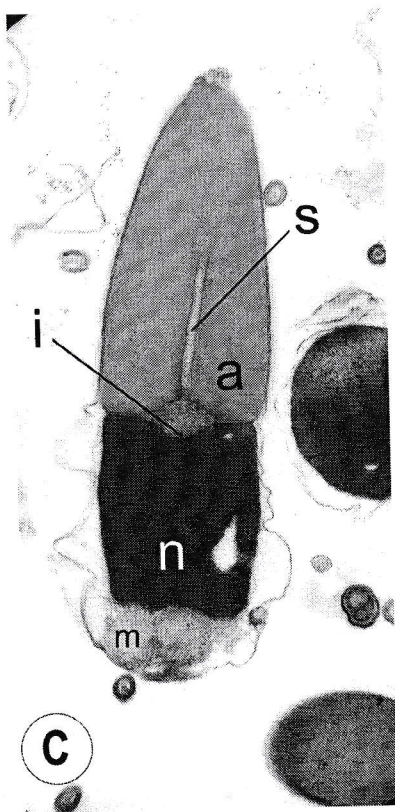
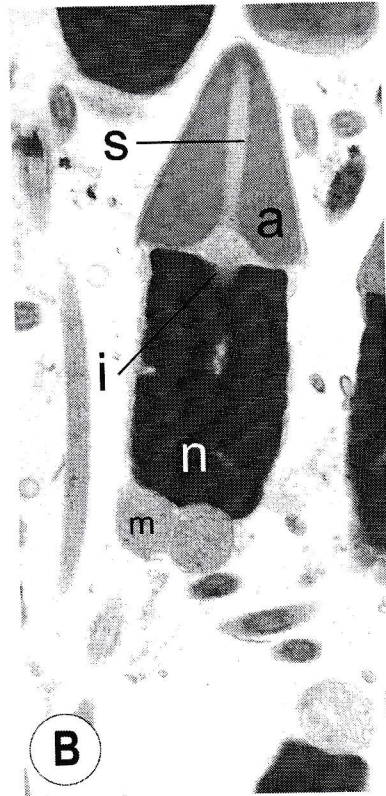
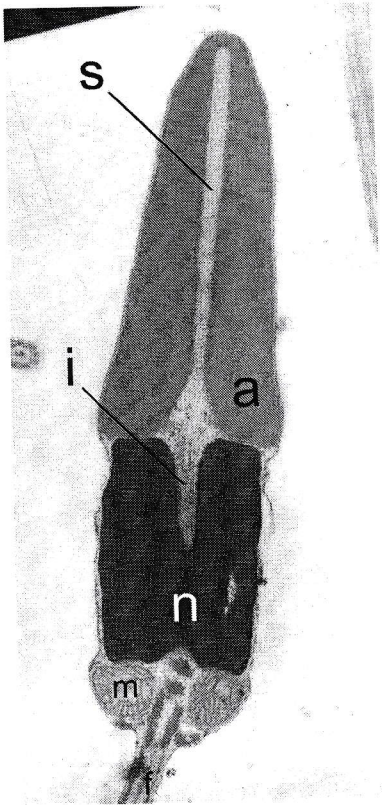
4) Ultraestructura del espermatozoide en las especies de *Tegula* caracterizadas en este estudio. A) *Tegula euryomphala*; B) *Tegula ignota*; C) *Tegula atra*; D) *Tegula quadricostata*.

Abreviaciones de las figuras: a= acrosoma; f= flagelo; i= invaginación nuclear anterior; m= mitocondria; n= núcleo; s= espacio subacrosómico.



5) Ultraestructura del espermatozoide en las especies de *Tegula* caracterizadas en este estudio. A) *Tegula tridentata*; B) *Tegula patagonica*; C) *Tegula luctuosa*.

Abreviaciones de las figuras: a= acrosoma; f= flagelo; i= invaginación nuclear anterior; m= mitocondria; n= núcleo; s= espacio subacrosómico.



6) Dimensiones de longitud total y dimensiones ultraestructurales (\pm la desviación estándar) del espermatozoide en las especies de *Tegula* estudiadas. El número de individuos fue de $n=13$ en *Tegula atra*. Para el resto de las especies $n=20$.

Especie	Longitud total	Longitud núcleo	Ancho núcleo	Longitud acrosoma	Ancho acrosoma	Longitud cabeza	L:A
<i>Tegula atra</i>	6.18 \pm 0.11	2.17 \pm 0.11	1.35 \pm 0.04	3.49 \pm 0.11	1.21 \pm 0.07	5.66	1.6
<i>Tegula euryomphala</i>	5.88 \pm 0.07	2.01 \pm 0.08	1.39 \pm 0.05	3.40 \pm 0.11	1.27 \pm 0.05	5.41	1.44
<i>Tegula ignota</i>	6.42 \pm 0.07	2.27 \pm 0.10	1.35 \pm 0.05	3.62 \pm 0.09	1.11 \pm 0.05	5.89	1.68
<i>Tegula luctuosa</i>	6.13 \pm 0.09	2.03 \pm 0.10	1.45 \pm 0.04	3.60 \pm 0.15	1.39 \pm 0.07	5.63	1.40
<i>Tegula patagonica</i>	5.08 \pm 0.07	2.48 \pm 0.07	1.27 \pm 0.04	2.05 \pm 0.12	1.10 \pm 0.05	4.53	1.95
<i>Tegula quadricostata</i>	5.92 \pm 0.04	2.56 \pm 0.07	1.14 \pm 0.05	2.76 \pm 0.08	1.03 \pm 0.04	5.32	2.24
<i>Tegula tridentata</i>	5.79 \pm 0.07	2.09 \pm 0.10	1.35 \pm 0.03	3.17 \pm 0.10	1.21 \pm 0.05	5.26	1.54

L:A= Proporción entre la longitud y ancho del núcleo.

7) Nivel de significancia para las comparaciones de la longitud total del espermatozoide en las especies de *Tegula* caracterizadas en este estudio. Se aplicó la prueba de T de Student.

Especie	<i>Tegula euryomphala</i>	<i>Tegula ignota</i>	<i>Tegula luctuosa</i>	<i>Tegula quadricostata</i>	<i>Tegula patagonica</i>	<i>Tegula tridentata</i>
<i>Tegula atra</i>	**	**	ns	**	**	**
<i>Tegula euryomphala</i>		**	**	*	**	**
<i>Tegula ignota</i>			**	**	**	**
<i>Tegula luctuosa</i>				**	**	**
<i>Tegula quadricostata</i>					**	**
<i>Tegula patagonica</i>						**

*: significativo, $p \leq 0.05$

** : significativo, $p \leq 0.001$

ns: no significativo