

*Research Article*

## Temperaturas letales superiores para el mejillón, *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819), en la costa de Chile central

Andrés Mesas<sup>1,2,3</sup> & Eduardo Tarifeño<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas  
Universidad de Concepción, P.O. Box 160-C, Concepción, Chile

<sup>2</sup>Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas, Facultad de Ciencias  
Universidad Austral de Chile, Independencia 641, Valdivia, Chile

<sup>3</sup>Doctorado en Ciencias mención Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias  
Universidad Austral de Chile, Independencia 641, Valdivia, Chile

Corresponding author: Andrés Mesas (andresmesasp@gmail.com)

**RESUMEN.** La presencia de *Mytilus galloprovincialis*, conocido mundialmente como mejillón del mediterráneo, ha sido verificada genéticamente desde bahía Coliumo hasta el Estrecho de Magallanes, en la costa central y sur de Chile respectivamente. Para relacionar la distribución geográfica de esta especie con su tolerancia fisiológica a temperaturas altas, se realizaron experimentos con estados larvarios y adultos. Trocóforas y estados larvales velígera umbonada y premetamórficas fueron sometidas a temperaturas entre 17 y 33°C, durante 24 h para determinar el límite termal letal superior. Los experimentos de mejillones adultos fueron realizados con individuos de diferentes condiciones fisiológicas previas: aclimatados a primavera-verano (noviembre-enero) y otoño-invierno (agosto-octubre), y expuestos a un rango termal de 17-33°C por un período de 24, 48, 72 y 96 h para verificar mortalidad y presencia de biso. Los resultados indicaron que la mortalidad de larvas pre-metamórficas fue de 50% a 27°C y de 100% a 30°C. En adultos, el 55% mortalidad ocurrió en individuos expuestos por 48 h a 30°C y el 100% a 72 h a la misma temperatura. La formación del biso se debilitó sobre 27°C y cesa a 30°C.

**Palabras clave:** *Mytilus galloprovincialis*, historia de vida, ectotermo, tolerancia termal, acuicultura.

## Upper lethal temperatures for the mussel *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819), in central coast of Chile

**ABSTRACT.** The presence of *Mytilus galloprovincialis*, widely known as the Mediterranean mussel, have been genetically certified from Coliumo Bay to the Magellan Strait, in central and southern Chile, respectively. To correlate the geographic distribution of this species along the Chilean coast with its physiological tolerance to upper temperatures, experiments were carried out with adults and larval stages. Trochophore, umbonate veliger, and pre-metamorphic larvae were submitted to experimental temperatures from 17-33°C, during 24 h to determine the upper temperature limit. Meanwhile, adult experiments were carried with specimens having different previous physiological background: spring-summer acclimation (November-January), and fall-winter acclimation (August-October) and exposed to temperature range of 17-33°C for period of 24, 48, 72 and 96 h, to verify mortality and byssus formation. Results showed that at larvae stages, the 50% of mortality occurred at 27°C, with 100% mortality at 30°C. Adult stages reached the 55% mortality exposed for 48 h at 30°C and 100% mortality in 72 h at the same temperature. The byssus secretion become failing at 27°C and ceased at 30°C.

**Keywords:** *Mytilus galloprovincialis*, life history, ectotherms, thermal tolerance, aquaculture.

### INTRODUCCIÓN

Entre los factores ambientales que afectan la biología de los animales marinos, la temperatura es un factor importante, reconocido como responsable causal de la

distribución de especies (Shuchanek *et al.*, 1997; Braby & Somero, 2006); existiendo correlaciones con la latitud, batimetría y distancia a la costa (Urban, 1994; Hicks & McMahon, 2002; Cole & McQuaid, 2010). Es conocido que la temperatura del mar es uno de los princi-

pales factores ambientales que determina las tasas metabólicas en invertebrados marinos (Drinkwater, 2010), dado que los organismos responden adaptándose a los cambios de temperatura, involucrando tanto la capacidad de tolerancia a la nueva temperatura específica, como también la habilidad de hacer frente a un nuevo rango de temperatura (Newell, 1976). Esta adaptabilidad es producto de la historia de vida previa de los organismos, donde cambios en el material genético, beneficiados frente a variaciones ambientales, pudieron ocurrir durante varias generaciones, determinando los límites superior e inferior de tolerancia termal en un momento determinado (Bayne, 1976).

El mejillón *Mytilus galloprovincialis* es citado con amplia distribución y ha sido introducido en diferentes costas del mundo, por medio del agua de lastre de barcos (Branch & Steffani, 2004; Lee & Chown, 2007; Lockwood & Somero, 2011), adherido a los cascos de embarcaciones transoceánicas o incluso encontrado en cascos de buques que visitan regularmente el Océano Ártico (Lee & Chown, 2007).

*M. galloprovincialis*, se cultiva masivamente en aguas costeras de Galicia, España, donde se ha establecido una amplia y exitosa industria de mitilicultura, generando trabajo e ingresos en base al cultivo de este mejillón, situación que también está ocurriendo en China ([www.fao.org/fishery/cultured-species/Mytilus\\_galloprovincialis/es](http://www.fao.org/fishery/cultured-species/Mytilus_galloprovincialis/es)).

Para *M. galloprovincialis* la temperatura del mar y el gradiente termal son factores a considerar en la selección de un sitio apto para el cultivo con fines comerciales, junto con otros factores como la calidad y disponibilidad de alimento, corrientes marinas, oleaje y disponibilidad de oxígeno disuelto (Sicard *et al.*, 2006).

En Chile, la presencia de *M. galloprovincialis* ha sido reportada desde 1997 (Sanjuan *et al.*, 1997; Cárcamo *et al.*, 2005) y su certificación genética lo sitúa con certeza desde Bahía Coliumo (36°32'S, 72°56'W; Tarifeño *et al.*, 2012) hasta el Estrecho de Magallanes (53°35'S, 70°51'W; Toro *et al.*, 2005). Actualmente, se está evaluando su cultivo en pequeña escala en las llamadas “áreas de manejo” administradas por organizaciones de pescadores artesanales, tomando en cuenta que alcanza la talla comercial (5-6 cm) en menor tiempo (6 meses) que el mejillón chileno, *Mytilus chilensis* (12-18 meses). Esto posiciona a *M. galloprovincialis*, conocido en Chile como “choro araucano” como una interesante alternativa de cultivo en la costa norte y central de Chile, y como una especie que permitiría diversificar la matriz de cultivos de mitílidos, que hasta la fecha está basada casi exclusivamente en el mejillón chileno (*M. chilensis*).

En Bahía Coliumo y Bahía de Concepción (36°43'S, 73°03'W) de Chile central, se encuentran poblaciones naturales de *M. galloprovincialis* que están ubicadas a la menor latitud en la costa del Pacífico suroriental (Tarifeño *et al.*, 2012), experimentando notables variaciones de temperaturas del mar. Para Bahía Coliumo se dispone una base de datos de 10 años (enero 2000-noviembre 2009), con la temperatura superficial registrada tres veces al día, determinándose que la temperatura máxima registrada en dicho período ha sido 21,3°C, el 8 febrero de 2008 (Estación de Biología Marina, Universidad de Concepción; datos no publicados).

Debido al amplio rango latitudinal de la costa de Chile (18-56°S), en el extremo norte (Arica) se han registrado temperaturas de hasta 24,8°C, mientras que en la costa central (Talcahuano) se registran 18,2°C en verano (Tarifeño *et al.*, 2008). Además, se debe considerar que la costa de Chile es afectada aperiódicamente por eventos de El Niño, que puede incrementar en más de 5°C el promedio de verano, fuera de los rangos promedios en períodos neutros o más fríos (Maturana *et al.*, 2004).

Para conocer los potenciales límites termal superiores de la distribución natural, como base fisiológica para el posible cultivo comercial del “mejillón araucano”, es importante conocer sus capacidades fisiológicas frente a alta temperatura superficial del mar. El presente trabajo determina las temperaturas letales superiores de estados larvales y adultos del mejillón, *M. galloprovincialis*, en la costa central de Chile.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Obtención de ejemplares

Los experimentos para determinar la temperatura letal superior de *M. galloprovincialis* se realizaron con larvas y adultos (5-7 cm) obtenidos desde líneas de cultivos de mitílidos en la concesión de acuicultura de la Universidad de Concepción en Bahía Coliumo. En estos sistemas de cultivo, los mejillones se fijan y crecen en forma silvestre a partir de bancos naturales existentes en dicha bahía. Las larvas fueron obtenidas a partir de desoves controlados de adultos. Los experimentos se realizaron en las instalaciones de la Unidad de Producción de Semillas (UPROS), Estación de Biología Marina (Dichato) y Departamento de Zoología de la Universidad de Concepción, Chile.

### Preparación del agua

El agua de mar utilizada en los experimentos con larvas fue filtrada a 0,5 µm, esterilizada con luz UV y la

salinidad fue regulada a 30. Para los adultos, se utilizó agua de mar sin filtrar regulada a 35, asemejando las condiciones naturales o en sistemas de cultivo.

Las temperaturas experimentales se obtuvieron usando un calefactor eléctrico con control termostático, sumergido en agua de mar en estanques de 5 L con aireación constante. En todos los casos, el tratamiento control fue a 17°C, por ser la temperatura óptima para el desarrollo y crecimiento larvario del mejillón en instalaciones de incubadora (Ruiz *et al.*, 2008).

### Tratamientos de los estados larvales

Para la obtención de los estados larvales trocófora, velígera umbonda y pre-metamórfica, se seleccionaron reproductores (>5 cm) con desarrollo gonádico avanzado, para su posterior acondicionamiento e inducción a la emisión de gametos a través de la técnica de shock térmico (Bayne, 1976). Al iniciar la liberación de los gametos, los mejillones fueron trasladados a un estanque con 5.000 L de agua de mar filtrada a 17°C, dando inicio a la fecundación. Antes de iniciar los tratamientos, se evaluaron las condiciones fisiológicas, anatómicas y densidad de los cultivos larvales para asegurar condiciones adecuadas de tamaño, movimiento de la corona ciliar, morfología y movimiento del pie.

Los estadios larvales no presentan órganos ni estructuras desarrolladas que les brinden la misma tolerancia o protección frente a variables ambientales, a diferencia de individuos adultos. Por esto, se decidió que los tratamientos termales difirieran entre las etapas de desarrollo del mejillón.

Larvas trocófora y velíger umbonada se sometieron a 17, 20, 23, 25 y 27°C, mientras que a larvas pre-metamórficas se les aplicó las temperaturas anteriores, más un tratamiento a 30°C. Para cada tratamiento termal se utilizaron 400 larvas trocóforas, 600 larvas velíger umbonada y 300 larvas pre-metamórficas, en placas Petri profundas de 60 mm. Luego, cada placa Petri fue sellada y depositada en un recipiente con agua de mar calefaccionada, según el tratamiento termal. Cada tratamiento fue realizado en tres réplicas. Luego de 24 h de exposición, las placas Petri fueron removidas y se verificó el estado de condición de las larvas con un microscopio óptico.

En larvas trocófora, debido a que no presentan estructuras duras, la mortalidad fue cuantificada mediante la resta al número inicial de larvas (400) de aquellas larvas, que posterior al tratamiento, presentaron una charnela recta. En los restantes estados larvales, la mortalidad se cuantificó bajo el criterio de ausencia de natación, inmovilidad en el fondo de la placa o ausencia de actividad ciliar.

### Tratamientos del estado adulto

Los experimentos se realizaron en dos etapas de acuerdo a las temperaturas superficiales en Bahía Coliumo. En la primera etapa se recolectaron mejillones durante el período de aguas cálidas (enero a febrero) y en la segunda etapa se recolectaron en el período de aguas frías (octubre a noviembre). El objetivo de realizar experimentos con grupos de mejillones con diferente historia fisiológica previa, fue para determinar si existía un cambio en los límites letales superiores, de acuerdo a las condiciones ambientales previas. Los mejillones de la temporada cálida fueron sometidos a 17, 27, 30 y 33°C. Cada tratamiento se realizó en triplicados de 15 individuos. Luego de 24 h, los mejillones se retiraron y traspasaron al sistema de recuperación, durante 1 h a 17°C. Para determinar si el mejillón aún se encontraba con vida, se examinó la reacción a estímulos punzantes en el músculo abductor.

Debido a la pérdida total de los sistemas de cultivo e instalaciones de la Estación de Biología Marina por el maremoto del 27 febrero 2010, en la segunda etapa los mejillones se recolectaron desde un muelle de la localidad de Tomé, adyacente a Bahía Coliumo. Los mejillones de la temporada fría, al presentar menos estrés térmico, fueron sometidos a tratamientos termales con menor diferencia entre ellos, para así determinar en detalle la tolerancia termal superior del mejillón. Estos mejillones se sometieron a tratamientos de 17, 27, 28, 29, 30, 31, 32 y 33°C durante 24, 48, 72 y 96 h. Cada tratamiento se realizó en cuatro réplicas de 10 mejillones cada una. Luego de cada período de exposición, los mejillones se traspasaron al sistema de recuperación, durante 1 h a 17°C y se verificó si los individuos aún estaban vivos, mediante estímulos punzantes en el músculo abductor.

### Presencia de biso

Una parte del gasto rutinario de energía en los mejillones que se fijan al sustrato, es la formación del biso para no ser desplazados desde el punto de asentamiento. Por esta razón, la presencia de biso, puede ser considerado como un índice sub-letal de estrés en los mejillones sometidos a alguna condición ambiental fuera de sus rangos normales. Es por esto, que la presencia o ausencia de biso fue cuantificada en los mejillones de la temporada fría, luego de cada período de exposición termal.

### Análisis estadístico

Los datos se distribuyeron de forma no normal (Prueba de Shapiro-Wilk,  $P < 0,001$ ) y fueron heterocedásticos (Prueba de Levene,  $P < 0,001$ ). Como las transformaciones estadísticas no resolvieron el problema de distribución y heterocedasticidad, se realizó un análi-

sis de varianza de permutación variable PERMANOVA (Anderson, 2001).

En los análisis estadísticos de los estados larvales, la variable dependiente fue la mortalidad frente a la variable independiente temperatura. En adultos se incorporó el tiempo de exposición a las variables independientes. Los datos se analizaron convertidos en porcentaje del total de individuos de cada réplica, usando medida de disimilaridad Euclidiana y 9999 permutaciones en el programa estadístico PAST (Hammer *et al.*, 2001). Adicionalmente, a todos los resultados se les determinó el polinomio con mejor ajuste (Tabla 1) y el intervalo de confianza del 95% para la media de cada tratamiento.

## RESULTADOS

### Mortalidad de larvas trocófora

Antes de los tratamientos térmicos, todas las trocóforas presentaron un flagelo apical bien desarrollado y una natación activa, lo que indicaba condiciones normales para su pleno desarrollo. La mortalidad del estado trocófora no mostró una clara relación con la temperatura, dado que los promedios (60-75% de supervivencia) no difirieron entre sí. El análisis de PERMANOVA univariado no indicó diferencias significativas (Pseudo-F (4,2045) = 2,588;  $P = 0,799$ ; Tabla 2). Sin embargo, a 27°C se observó la menor mortalidad, pero con mayor desviación de los datos (Fig. 1).

### Mortalidad de larvas velíger umbonadas

Antes de los tratamientos, las larvas velíger umbonadas presentaron una natación disminuida a consecuencia de la normal regresión del velo y se caracterizaron por presentar una charnela semicurva, estómago bien definido y septos branquiales en desarrollo.

Se observó una baja mortalidad en todos los tratamientos (0-3%), en algunos siendo menor que la registrada en la temperatura control. Las máximas mortalidades se alcanzaron a 25 y 27°C (Fig. 2). El análisis de PERMANOVA no evidenció diferencias significativas en el efecto de la temperatura sobre la mortalidad larval (Pseudo-F (4,3045) = 2,313;  $P = 0,087$ ; Tabla 2).

### Mortalidad de larvas pre-metamórficas

Las larvas pre-metamórficas, antes de los tratamientos, no presentaron movilidad natatoria, producto de la completa regresión del velo; en cambio, el órgano pedal se encontró bien desarrollado y activo, acorde al inicio del asentamiento. En esta etapa larvaria también se observó la charnela claramente umbonada, estómago

definido, músculos abductores y septos branquiales desarrollados.

Los resultados indicaron una reducida mortalidad (1-3%) entre 17 y 25°C, pero a temperaturas mayores la mortalidad se incrementó significativamente, con una temperatura letal para el 50% (TL<sub>50</sub>) de las larvas a 27°C y una temperatura letal para el 100% (TL<sub>100</sub>) de las larvas a 30°C. El análisis de PERMANOVA evidenció la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos térmicos (Pseudo-F (5,1974) = 140,9;  $P = 0,0001$ ; Tabla 2), coincidiendo con la no existencia de sobreposición en los intervalos de confianza del 95% para la media de los tratamientos (Fig. 3).

Lo anterior indica que las temperaturas >25°C disminuyen notoriamente la supervivencia de las larvas pre-metamórficas. Posterior a la exposición a los tratamientos, las larvas sobrevivientes mantuvieron una alta actividad del órgano pedal, desplazándose activamente sobre el fondo de las placas Petri.

### Mortalidad en adultos

Los mejillones adultos (>5 cm) provenientes de un período cálido presentaron mortalidad nula entre 17 y 27°C. La mortalidad se incrementó hasta el 50% a 30°C; finalmente alcanzando el 100% de la mortalidad a 33°C (Fig. 4). El análisis de PERMANOVA evidenció diferencias significativas en el efecto de la temperatura sobre la mortalidad (Pseudo-F (3,180) = 2148;  $P = 0,0012$ ; Tabla 3), siendo reflejado en los intervalos de confianza del 95% para la media de los tratamientos (Fig. 4).

Los mejillones de la temporada fría, no presentaron mortalidad entre 17 y 28°C en todos los períodos de exposición. Luego de 48 h a 30°C, la mortalidad se incrementó al 55% (TL<sub>50</sub>) (Fig. 5). El 100% de la mortalidad se alcanzó cuando los mejillones fueron sometidos por 72 h a 30°C (Fig. 5).

El análisis de PERMANOVA evidenció un efecto significativo sobre la mortalidad por parte de la temperatura ( $P = 0,0001$ ; Tabla 4), del tiempo de exposición ( $P = 0,0001$ ; Tabla 4) y de la interacción de estos factores ( $P = 0,0001$ ; Tabla 4), coincidiendo con los intervalos de confianza del 95% para la media (Fig. 5).

### Formación de biso en adultos

La totalidad de los mejillones de la temporada fría presentaron biso a las 24 h entre 17 y 28°C, encontrándose adheridos entre sí o a las paredes del recipiente. Sin embargo, al incrementar la temperatura y el período de exposición, el porcentaje de presencia de biso disminuyó. A 27 y 28°C la presencia de biso fue de 65 y 45%, respectivamente, a las 96 h de exposición. En temperaturas mayores a 29°C no se registró presencia de biso, independiente del tiempo de exposición (Fig. 6).

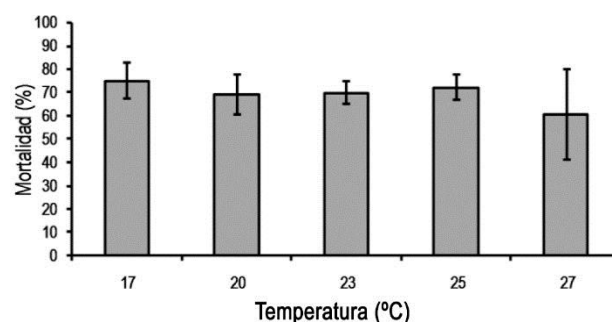
**Tabla 1.** Ecuaciones de los modelos polinomiales con mejor ajuste a los datos de mortalidad y presencia de biso en los diferentes estados de desarrollo de *M. galloprovincialis*.

Mortalidad en estados larvales					
Estados larvales	R <sup>2</sup>	Intercepto	X	X <sup>2</sup>	X <sup>3</sup>
Trocófora	0,988	100,49	-38,103	14,441	-1,684
Umbonada	0,965	3,519	4,641	1,794	-0,178
Pre-metamórfica	0,974	3,771	1,306	-4,200	1,088
Mortalidad en adultos temporada cálida					
Período	R <sup>2</sup>	Intercepto	X	X <sup>2</sup>	X <sup>3</sup>
24 h	0,992	451,91	-43,614	1,0007	
Mortalidad en adultos temporada fría					
Temperatura	R <sup>2</sup>	Intercepto	X	X <sup>2</sup>	X <sup>3</sup>
29°C	0,982	0,071	-0,037	0,001	
30°C	0,999	-0,286	-1,448	0,081	-0,00057
31°C	0,989	1,143	-1,220	0,058	-0,00036
32°C	0,987	1,786	2,924	-0,020	
33°C	0,995	0,714	5,357	-0,088	0,00045
Presencia de biso en adultos					
Temperatura	R <sup>2</sup>	Intercepto	X	X <sup>2</sup>	X <sup>3</sup>
17°C	0,545	98,125	0,078	-0,001	
27°C	1	145,000	-2,778	0,043	-0,000241
28°C	0,872	120,625	-1,068	0,003	
29°C	0,7	-8,750	0,500	-0,004	

**Tabla 2.** Análisis de PERMANOVA, con el efecto de la temperatura sobre la mortalidad de los estados larvales de *M. galloprovincialis* ( $P < 0,05$ ). El análisis se construyó en base a medidas de distancia Euclidiana. Suma total de cuadrados (StC) y suma de cuadrados intragrupo (SCintra).

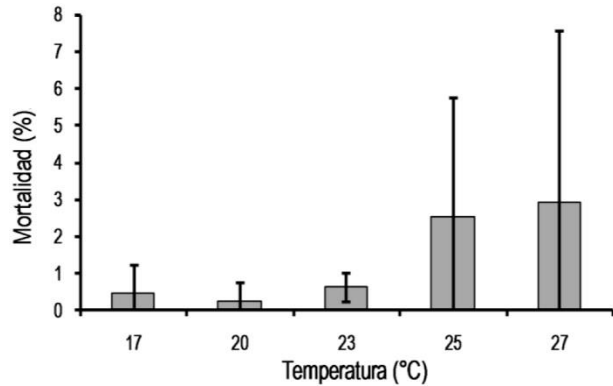
Permutaciones N: 9999		Medida de distancia Euclidiana			
Estados larvales					
Mortalidad	StC	SCintra	F	P	
Larva trocófora	569,90	248,40	2,588	0,7990	
Larva velíger umbonada	40,11	20,42	2,313	0,0870	
Larva pre-metamórfica	2,28E+04	383,00	140,90	0,0001	

El análisis de PERMANOVA evidenció efectos significativos solo de la temperatura sobre la presencia de biso ( $P = 0,001$ ; Tabla 4), no siendo significativo el efecto del período de exposición ( $P = 0,193$ ; Tabla 4), ni la interacción de ambos factores ( $P = 0,893$ ; Tabla 4). Esto es coincidente con los intervalos de confianza trazados para la media de cada tratamiento (Fig. 6).

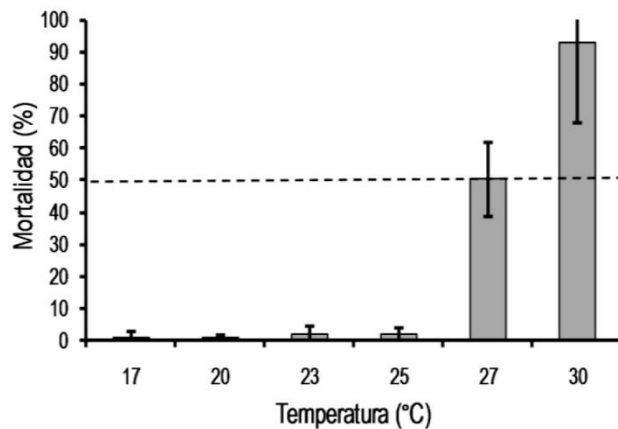
**Figura 1.** Mortalidad promedio del estado larvas, trocófora de *M. galloprovincialis*, al ser expuestas a cinco temperaturas diferentes por 24 h. Las líneas verticales son intervalos de confianza del 95% para las medias de los tratamientos.

## DISCUSIÓN

La temperatura del mar está entre los factores ambientales más influyentes del océano, ya que afecta la distribución vertical y horizontal de los organismos marinos; además influye en el metabolismo de los organismos durante su desarrollo.



**Figura 2.** Mortalidad promedio de las larvas velíger umbonada de *M. galloprovincialis*, al ser sometidas a cinco diferentes temperaturas por 24 h. Las líneas verticales son intervalos de confianza del 95% para las medias de los tratamientos.



**Figura 3.** Mortalidad promedio de la larva pre-metamórfica de *M. galloprovincialis*, al ser sometidas a seis diferentes temperaturas por 24 h. Las líneas verticales son intervalos de confianza del 95% para las medias de los tratamientos. La línea segmentada indica la TL<sub>50</sub>.

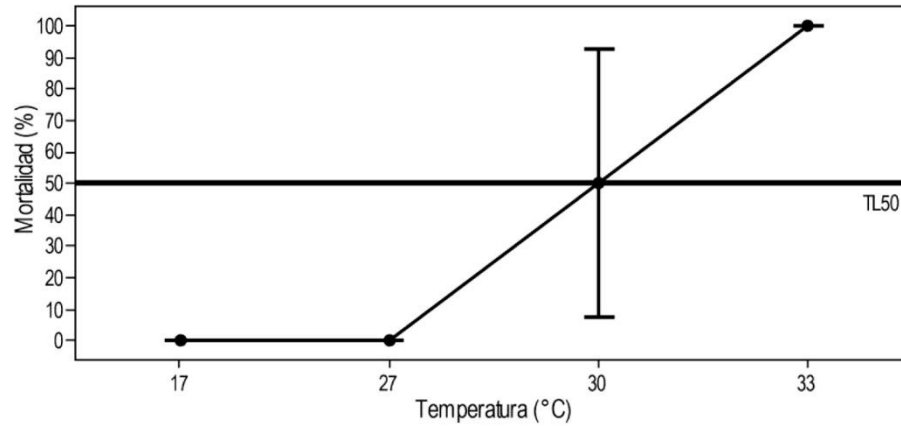
Para el mejillón, *M. galloprovincialis* presente en Bahía Coliumo, los resultados de este estudio en larvas trocófora muestran una leve disminución de la mortalidad con el aumento de la temperatura (>17°C). Sin embargo, la mortalidad fue alta (65-75%) en esta etapa larval, incluso entre 17 y 20°C, rango de temperaturas donde se registró el máximo crecimiento en cultivos masivos bajo condiciones controladas en hatchery (Ruiz *et al.*, 2008). Esta alta mortalidad se puede atribuir a la formación de la prodisoconcha-I y al cambio en la forma de movilización, desde una corona de cilios a un manto ciliado, que además cumple un rol fundamental en la alimentación (Ruiz *et al.*, 2008). Todos estos cambios anatómicos y fisiológicos incrementan el gasto energético de la larva en cortos períodos de tiempo, causando que la transición de un

estado de trocófora a velígera-D sea un punto crítico en la supervivencia larvaria, a lo que se agrega el efecto sinérgico de aumentos repentinos en la temperatura del mar.

La hipótesis de ajuste-desajuste (Match/mismatch Hypothesis) ha sido ampliamente reportado en larvas y sus efectos han sido asociados a variables ambientales (Durant *et al.*, 2007). Las altas temperaturas pueden generar desacoples entre las microalgas y larvas trocóforas, generando altas mortalidades, producto de inanición. A pesar que en este trabajo no es esperable el efecto anterior, es probable que en la naturaleza la falta de alimento endógeno o exógeno y las variaciones termales sean muy relevantes para larvas de bivalvos que comienzan su alimentación.

Las bajas mortalidades registradas en las larvas velíger umbonada (<10%) se pueden explicar por la presencia de la prodisoconcha I y II, que podrían estar actuando como una estructura de protección frente a las variaciones ambientales, manteniendo a la larva aislada del ambiente (Ruiz *et al.*, 2008). Sin embargo, debido a lo delgado de sus estructuras, no se puede considerar que las prodisoconchas sean una barrera efectiva en un gradiente térmico. Más bien, la baja mortalidad podría ser consecuencia de un mejor estado de condición fisiológica de las larvas, producto de la alimentación exógena, que les permitiría un mejor desarrollo ontogénico. En esta etapa larval no se presentan cambios anatómicos o fisiológicos importantes, y se caracteriza por el desarrollo y maduración de órganos, no esperándose gastos energéticos importantes que sean críticos en la supervivencia. En larvas velígeras, la regresión del velo de la troca ciliada provoca una reducción de la actividad de natación, pero no de la actividad ciliar (Ruiz *et al.*, 2008), por lo que la adquisición de alimento no sería afectada. Esto reduciría la energía utilizada en natación, posiblemente destinándola al desarrollo de estructuras o a mitigar efectos deletéreos de las variaciones ambientales.

En larvas pre-metamórficas, el 50 y 100% de mortalidad observada a 27 y 30°C respectivamente, se debería a que ambas temperaturas están sobre los rangos de condiciones térmicas extremas para la Bahía Coliumo, considerando que los promedios anuales en el período de 10 años están en el rango de 12-13°C y la temperatura máxima registrada en dicho período fue de 21,3°C. El aumento de mortalidad en larvas pre-metamórficas en comparación a las larvas velíger umbonadas se debería al mayor gasto energético asociado al proceso de metamorfosis que ocurre en el paso de larva pre-metamórfica a juveniles. Previo a la metamorfosis, se debe completar el desarrollo de un complejo sistema de órganos y estructuras (*e.g.*, septos branquiales, tubo digestivo, músculos aductores, órga-



**Figura 4.** Mortalidad promedio para los adultos de *M. galloprovincialis* provenientes de la temporada cálida, cuando fueron sometidos a cuatro temperaturas diferentes durante 24 h. Las líneas verticales son los intervalos de confianza del 95% para las medias de los tratamientos.

**Tabla 3.** Análisis de PERMANOVA, con el efecto de la temperatura sobre la mortalidad en adultos de *M. galloprovincialis* provenientes de la temporada cálida ( $P < 0,05$ ). El análisis se construyó en base a medidas de distancia Euclidiana. Suma total de cuadrados (StC) y suma de cuadrados intra-grupo (SCintra).

Permutaciones N: 9999	Medida de distancia Euclidiana			
Adultos temporada cálida				
Mortalidad en 24 h	StC	SCintra	F	P
	2,05E+04	22,22	2148	0,0012

no pedal), que requieren de aportes energéticos significativos y cuya disponibilidad dependerá de las condiciones fisiológicas de la larva y de las condiciones ambientales en que ocurre la metamorfosis (Helm *et al.*, 2006). Además, el estrés provocado por las altas temperaturas genera daños estructurales a las proteínas celulares (Dutton & Hofmann, 2009; Tomanek, 2010), provocando que los tejidos no puedan ejercer su rol debido a un impedimento fisiológico. Por otro lado, la desnaturalización de las proteínas activa mecanismos celulares que son demandantes de ATP (HSP) (Hofmann & Somero, 1995; Anestis, 2010; Tomanek & Zuzow, 2010), provocando que las reservas energéticas se agoten antes que el proceso metamórfico se haya completado.

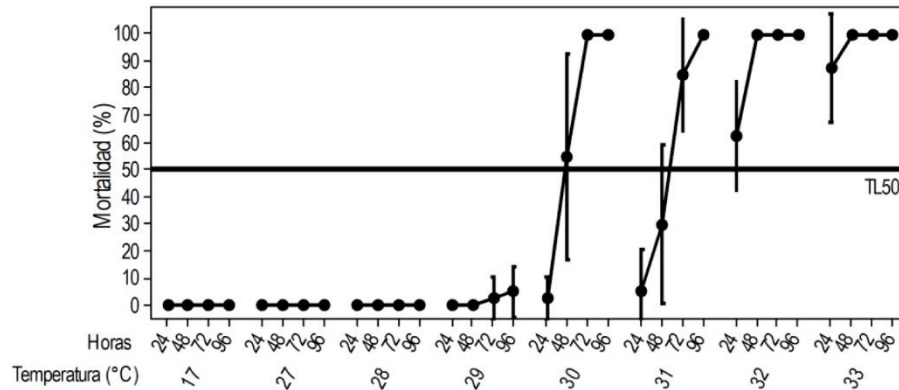
### Estado adulto

El efecto letal de las temperaturas  $>30^{\circ}\text{C}$  sobre *M. galloprovincialis* es similar a los resultados obtenidos en la almeja *Macoma balthica* y en el mejillón *Mytilus* sp. (Kennedy & Mihursky, 1971; Wallis, 1975) donde para ambas especies, el 50% de mortalidad se alcanzó

a las 24 h a  $30\text{-}31^{\circ}\text{C}$ , cuando fueron aclimatados a temperaturas de  $20\text{-}25^{\circ}\text{C}$ . En el caso de *Choromytilus chorus*, otro mejillón de amplia distribución en la costa chilena y expuesto a un fuerte gradiente térmico. Urban (1994) determinó que las  $TL_{50}$  y  $TL_{100}$  eran a  $26,5$  y  $28^{\circ}\text{C}$ , respectivamente, en un período de 24 h de exposición, cuando los mejillones fueron aclimatados previamente a  $13^{\circ}\text{C}$  durante una semana. Asimismo, se indicó que el límite de tolerancia a temperaturas altas de varias especies presentes en la costa chilena sólo variaba en  $1,2^{\circ}\text{C}$ .

Con respecto a ejemplares adultos de *M. galloprovincialis* en el Mar Mediterráneo, Anestis (2007) determinó mortalidades entre 20 y 30% luego de 5 y 30 días, respectivamente, al ser sometidos a  $28^{\circ}\text{C}$ ; aumentando la mortalidad solo cuando durante 15 días la temperatura alcanzó  $30^{\circ}\text{C}$ . Al comparar estos resultados con el presente trabajo, se debe considerar que, a pesar que ambos estudios se realizaron en la misma especie frente a un rango similar de temperatura, el tiempo de exposición y principalmente la historia de vida de las poblaciones puede ser responsable de las diferencias observadas.

La baja presencia de filamentos del biso en mitílicos puede ser considerada como una respuesta subletal a condiciones no apropiadas, dado que la secreción de las proteínas polifenólicas del biso requiere un gasto energético de síntesis que deja de ser prioritario en situaciones de estrés fisiológico y de desnaturalización de proteínas. Por otra parte, los individuos responden a este tipo de situaciones cerrando sus valvas, para evitar la exposición al ambiente inadecuado y liberan su biso para soltarse del sustrato rocoso y ser arrastrados por las corrientes marinas a otros ambientes más adecuados. Wallis (1975) determinó en *Mytilus* sp., la presencia de biso irregular y débil durante la aclimata-



**Figura 5.** Mortalidad promedio para los mejillones de *M. galloprovincialis* provenientes de la temporada fría, cuando fueron sometidos a ocho temperaturas durante cuatro períodos diferentes de tiempo. Las líneas verticales son los intervalos de confianza del 95% para las medias de los tratamientos.

**Tabla 4.** Análisis de PERMANOVA de dos factores, con el efecto de la temperatura y tiempo de exposición sobre la mortalidad y presencia de biso en adultos de *M. galloprovincialis* ( $P < 0,05$ ). El análisis se construyó en base a medidas de distancia Euclidiana. Suma de cuadrados (Sc), grados de libertad (gl) y media de cuadrados (Mc).

Permutaciones N: 9999		Medida de distancia Euclidiana				
Estado adulto						
Mortalidad en adultos		Sc	gl	Mc	F	P
Temperatura		2,06E+05	7	29382	600	0,0001
Horas		19453	3	6484,4	132	0,0001
Interacción		35322	21	1682	34,4	0,0001
Residual		4700	96	48,958		
Total		2,65E+05	127			
Biso en adultos		Sc	gl	Mc	F	P
Temperatura		2,14E+05	7	30507	164	0,0001
Horas		894,75	3	298,25	1,6	0,1927
Interacción		2326,5	21	110,79	0,6	0,8925
Residual		17850	96	185,94		
Total		2,35E+05	127			

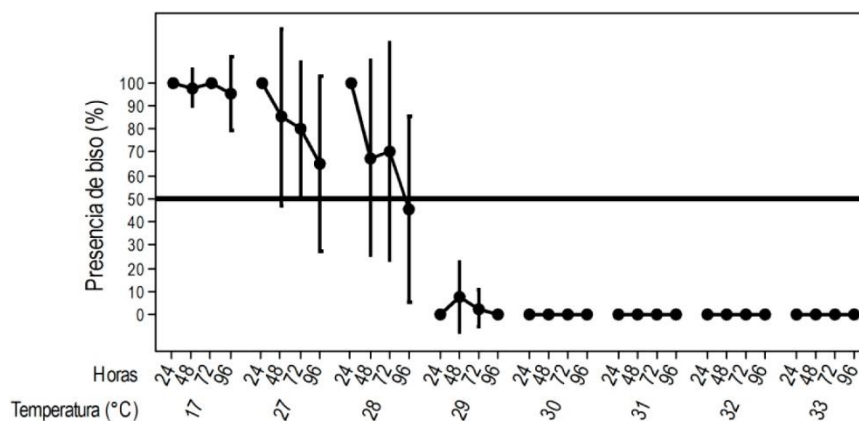
ción a 25°C, al compararse con mejillones que estaban a 20°C. La ausencia de biso se correlacionó positivamente con la mortalidad, siendo mayor a 25°C que a otras temperaturas. Adicionalmente, en el trabajo de Van Winkle (1970) se encontró que el principal factor estresante, que afectó a la formación de biso en *M. edulis*, fue precisamente la temperatura. En el presente trabajo se observó una respuesta similar a las anteriormente descritas. A 27°C el 100% de los mejillones presentaron biso, pero disminuyó a medida que se incrementó el tiempo de exposición y la temperatura, observándose un 65% de ejemplares con biso después de 96 h; coincidiendo la ausencia de biso con el 55% de mortalidad de mejillones, luego de 48 h a 30°C.

La historia térmica en el ambiente natural y actual de los organismos es un factor clave en las diferencias

encontradas en los límites superiores de tolerancia termal dentro de una especie (Hochachka & Somero, 2002; Pörter, 2002). Bayne (1976) encontró que la adaptabilidad de los organismos ante cualquier cambio ambiental es producto de diversos mecanismos determinados por series de adaptaciones genéticas efectuadas en la historia de vida de las poblaciones. Por esto que se espera que mejillones con una distribución natural en zonas de alta temperatura del mar presenten mayor tolerancia termal (Pörter, 2002; Lockwood & Somero, 2011). Por lo tanto, esto indicaría que el límite superior de tolerancia termal no es fijo dentro de una especie; sino que es propio de las poblaciones (Helmuth, 2002).

La población de *M. galloprovincialis*, presente en la costa central de Chile, se encuentra expuesta a temperaturas cálidas en verano, que fluctúan entre 15 y 16°C, y que eventualmente cada verano alcanza los 18°C. Sin





**Figura 6.** Presencia de biso promedio para los adultos de *M. galloprovincialis*, cuando fueron sometidos a ocho temperaturas durante cuatro períodos. Las líneas verticales son los intervalos de confianza del 95% para las medias de los tratamientos.

embargo, experimentalmente se demostró que pueden soportar temperaturas hasta de 28°C durante cuatro días, sin presentar mortalidades, lo que significa un rango de seguridad frente a eventuales procesos oceanográficos de aumentos repentinos de las temperaturas, como los observados durante eventos El Niño (Urban, 1994). La tolerancia térmica demostrada por esta especie sugiere que sus poblaciones naturales podrían extenderse a latitudes menores de 36°S, lo que explica la eventual presencia de ejemplares fijados en sistemas de cultivos de ostiones (*A. purpuratus*) en la bahía de Tongoy (30°25'S; 71°50'W; Tarifeño *et al.*, 2012). En el extremo norte de Chile (Arica, 18°S), el promedio anual de temperatura máxima es de ~25°C, que es cercano al límite máximo de tolerancia termal de *M. galloprovincialis*, lo que pone en duda la presencia de esta especie a esa latitud. Considerando que *M. galloprovincialis* es una especie de aguas cálidas, la cita realizada por Lancellotti & Vásquez (2000) de presencia del congénere de aguas frías *Mytilus chilensis*, “chorito chileno”, en la costa de Arica debe ser ratificada molecularmente.

#### AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro agradecimiento al personal de laboratorio y terreno de la Unidad Productora de Semillas, de la Universidad de Concepción. Al personal de la Estación de Biología Marina de la Universidad de Concepción, especialmente a José Marileo por su ayuda en este trabajo. Además, agradecemos los valiosos aportes de los revisores, que permitieron mejorar este escrito. El financiamiento para la ejecución del presente estudio fue provisto por el Proyecto FONDEF D03I-1095 e INNOVA-CORFO 10CRE8535, desarrollado

por el Grupo ProMytilus de la Universidad de Concepción.

#### REFERENCIAS

- Anestis, A., A. Lazou, H. Pörtner & B. Michaelidis. 2007. Behavioral, metabolic, and molecular stress responses of marine bivalve *Mytilus galloprovincialis* during long-term acclimation at increasing ambient temperature. *Am. Physiol. Soc.*, 293: 911-921.
- Anestis, A., H.O. Pörtner, D. Karagiannis, P. Angelidis, A. Staikou & B. Michaelidis. 2010. Response of *Mytilus galloprovincialis* (L.) to increasing seawater temperature and to martellosis: metabolic and physiological parameters. *Comp. Biochem. Physiol. A.*, 156: 57-66.
- Anderson, M.J. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Aust. Ecol.*, 26: 32-46.
- Bayne, B. 1976. Marine mussels, their ecology, and physiology. Cambridge University Press, London, 506 pp.
- Braby, C. & G. Somero. 2006. Ecological gradients and relative abundance of native (*Mytilus trossulus*) and invasive (*Mytilus galloprovincialis*) blue mussels in the California hybrid zone. *Mar. Biol.*, 148: 1249-1262.
- Branch, G. & C. Steffani. 2004. Can we predict the effects of alien species? A case history of the invasion of South Africa by *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 300: 189-215.
- Cárcamo, C., A. Comesaña, F. Winkler & A.M. Sanjuan. 2005. Allozyme identification of mussel (*Bivalvia*,

- Mytilidae) on the Pacific coast of South America. *J. Shellfish Res.*, 24: 1101-1115.
- Cole, V. & C. McQuaid. 2010. Bioengineers and their associated fauna respond differently to the effects of biogeography and upwelling. *Ecology*, 91: 3549-3562.
- Drinkwater, K.F., G. Beaugrand, M. Kaeriyama, S. Kim, G. Ottersen, R.I. Perry, H.O. Pörtner, J.J. Polovina & A. Takasuka. 2010. On the processes linking climate to ecosystem changes. *J. Mar. Syst.*, 79: 374-388.
- Durant, J.M., D. Hjermann, G. Ottersen & N.C. Stenseth. 2007. Climate and the match or mismatch between predator requirements and resource availability. *Clim. Res.*, 33: 271-283.
- Dutton, J.M. & G.E. Hofmann. 2009. Biogeographic variation in *Mytilus galloprovincialis* heat shock gene expression across the eastern Pacific range. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 376: 37-42.
- Hammer, Ø., D.A.T. Harper & P.D. Ryan. 2001. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.*, 4(1): 9 pp.
- Helm, M., N. Bourne & A. Lovatelli. 2006. Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. FAO Doc. Téc. Pesca, 471: 184 pp.
- Helmuth, B. 2002. How do we measure the environment? Linking intertidal thermal physiology and ecology through biophysics. *Integr. Comp. Biol.*, 42: 837-845.
- Hicks, D.W. & R.F. McMahon. 2002. Temperature acclimation of upper and lower thermal limits and freeze resistance in the non-indigenous brown mussel, *Perna perna* (L.), from the Gulf of Mexico. *Mar. Biol.*, 140: 1167-1179.
- Hochachka, P.W. & G.N. Somero. 2002. Biochemical adaptation: mechanism and process in physiological evolution. Oxford University Press, New York, 466 pp.
- Hofmann, G.E. & G.N. Somero. 1995. Evidence for protein damage at environmental temperatures: seasonal changes in levels of ubiquitin conjugates and HSP70 in the intertidal mussel *Mytilus*. *J. Exp. Biol.*, 198: 1509-1518.
- Jansen, J., A. Pronke, S. Kube, A. Sokolowski, J. Sola, M. Marquiegui, D. Schiedek, S. Bonga, M. Wolowicz & H. Hummel. 2007. Geographic and seasonal patterns and limits on the adaptive response to temperature of European *Mytilus* spp. and *Macoma balthica* populations. *Oecologia*, 154: 23-34.
- Kennedy, V.S. & J.A. Mihursky. 1971. Upper temperature tolerances of some estuarine bivalves. *Chesapeake Sci.*, 12: 193-204.
- Lancellotti, D. & J. Vásquez. 2000. Zoogeografía de macroinvertebrados bentónicos de la costa de Chile: contribución para la conservación marina. *Rev. Chil. Hist. Nat.*, 73: 99-129.
- Lee, J. & S. Chow. 2007. *Mytilus* on the move: transport of an invasive bivalve to the Antarctic. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 339: 307-310.
- Lockwood, B.L. & G.N. Somero. 2011. Invasive and native blue mussels (genus *Mytilus*) on the California coast: the role of physiology in a biological invasion. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 400: 167-174.
- Maturana, J., M. Bello & M. Manley. 2004. Antecedentes históricos y descripción del fenómeno El Niño, Oscilación del Sur. In: S. Avaria, J. Carrasco, J. Rutllant & E. Yáñez (eds.). *El Niño-La Niña 1997-2000. Sus efectos en Chile*. CONA, Valparaíso, pp. 13-27.
- Newell, R. 1976. Adaptation to environment: essays on the physiology of marine animals. Butterworths, London, pp. 480-150.
- Pörtner, H.O. 2002. Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 132: 739-761.
- Programa de información de especies acuáticas. *Mytilus galloprovincialis*. Programa de información de especies acuáticas. Texto de A. Figueras Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO Roma. Actualizado 1 Enero 2004. [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mytilus\\_galloprovincialis/es](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mytilus_galloprovincialis/es). Revisado: 2 Diciembre 2013.
- Ruiz, M., E. Tarifeño, A. Llanos-Rivera, C. Padget & B. Campos. 2008. Temperature effect in the embryonic and larval development of the mussel, *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819). *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 43(1): 51-61.
- Sanjuán, A., C. Zapata & G. Álvarez. 1997. Genetic differentiation in *Mytilus galloprovincialis* Lmk. throughout the world. *Ophelia*, 47(1): 13-31.
- Sicard, M.T., A.N. Maeda-Martinez, S.E. Lluch-Cota, C. Lodeiros, L.M. Roldan-Carrillo & R. Mendoza-Alfaro. 2006. Frequent monitoring of temperature: an essential requirement for site selection in bivalve aquaculture in tropical-temperate transition zones. *Aquacult. Res.*, 37: 1040-1049.
- Suchanek, T., J. Geller, B. Kreiser & J. Mitton. 1997. Zoogeographic distribution of the sibling species *Mytilus galloprovincialis* and *Mytilus trossulus* (Bivalvia: Mytilidae) and their hybrids in the North Pacific. *Biol. Bull.*, 193: 187-194.
- Tarifeño, E., M. Carmona, A. Llanos-Rivera & L. Castro. 2008. Temperature effects on the anchoveta *Engraulis ringens* eggs development: do latitudinal occur? *Environ. Biol. Fish.*, 81: 387-395.

- Tarifeño, E., R. Galleguillos, A. Llanos-Rivera, D. Arriagada, S. Ferrada, B. Canales-Aguirre & M. Seguel. 2012. Erroneous identification of the mussel, *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) as the specie, *Mytilus chilensis* (Hupé, 1854) in the Bay of Concepcion, Chile. *Gayana*, 76(2): 167-172.
- Tomanek, L. 2010. Variation in the heat shock response and its implication for predicting the effect of global climate change on species' biogeographical distribution ranges and metabolic costs. *J. Exp. Biol.*, 213: 971-979.
- Tomanek, L. & M. Zuzow. 2010. The proteomic response of the mussel congeners *Mytilus galloprovincialis* and *M. trossulus* to acute heat stress: implications for thermal tolerance limits and metabolic costs of thermal stress. *J. Exp. Biol.*, 213: 3559-3574.
- Toro, J., J. Ojeda, A. Vergara, G. Castro & A. Alcalán. 2005. Molecular characterization of the Chilean blue mussel *Mytilus chilensis* (Hupé, 1854) demonstrates evidence for the occurrence of *Mytilus galloprovincialis* in southern Chile. *J. Shellfish Res.*, 24(4): 1117-1122.
- Urban, J. 1994. Upper temperature tolerance of ten bivalve species off Peru and Chile related to El Niño. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 107: 139-145.
- Van Winkle, W. 1970. Effect of environmental factors on byssal thread formation. *Mar. Biol.*, 7: 143-148.
- Wallis, R. 1975. Termal tolerance of *Mytilus edulis* of eastern Australia. *Mar. Biol.*, 30: 183-191.

*Received: 16 March 2014; Accepted 7 January 2015*