



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS
BIOLOGÍA

REPETIBILIDAD DE LA TASA METABÓLICA DE *MYTILUS*
GALLOPROVINCIALIS (BIVALVIA: MYTILIDAE) A TEMPERATURA DE
ACLIMATACIÓN Y POST INCREMENTO AGUDO DE 5°C

Seminario de Título presentado a la Facultad de Ciencias Naturales y
Oceanográficas de la Universidad de Concepción para optar al título de Bióloga

Paulina Sobarzo Ibacache
Dr. Mauricio Urbina

Concepción, Mayo 2022

© 2022

Concepción

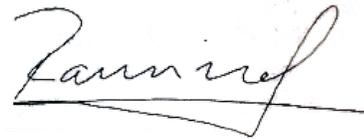
Paulina Sobarzo Ibacache

Profesor tutor:

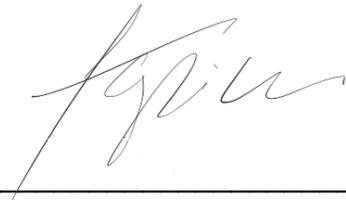


Dr. Mauricio Urbina Foneron

Comisión evaluadora:



Dr. Ramiro Riquelme



Dr. Fabián Tapia

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a mi profesor guía Mauricio Urbina por su disposición, enseñanza, conocimiento, paciencia y simpatía. También agradecer a todos mis compañeros y compañeras del laboratorio de fisiología animal comparada por su ayuda durante el periodo que duró el experimento, y por compartir sus conocimientos conmigo.

A mis padres y hermanxs que siempre me ha apoyado en todo este proceso y que me han alentado a seguir en esta linda carrera, gracias por cada abrazo y cada palabra bonita.

Agradecer igualmente a mis amigos por brindarme todo el apoyo durante estos años. Especialmente a aquellos amigos que también son compañeros/as de la universidad y que han estado muy presentes en esta última etapa. Agradecida de las juntas de estudio y las de no tanto estudio también.

Agradecer a Dios y a toda mi familia en la fe, por tenerme siempre presente en sus oraciones, por su preocupación, por su apoyo y por llenarme de amor durante todos estos años.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE CONTENIDOS	5
ÍNDICE DE TABLAS	7
ÍNDICE DE FIGURAS	8
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUCCIÓN	11
2. HIPÓTESIS	16
3. OBJETIVOS	16
3.1. <i>Objetivo general:</i>	16
3.2. <i>Objetivos específicos:</i>	16
4. METODOLOGÍA.....	17
4.1. <i>Colecta de individuos y mantención en laboratorio.....</i>	17
4.2. <i>Identificación y mediciones morfológicas.....</i>	17
4.3. <i>Tasa metabólica.....</i>	18
4.4. <i>Cálculo de la tasa metabólica</i>	20
5. RESULTADOS	22
5.1. <i>Tasas Metabólicas</i>	22
5.1.1 <i>Tasa metabólica a temperatura de aclimatación (17°C)</i>	22
5.1.2. <i>Tasa metabólica al aumentar la temperatura (22 ± 1°C)</i>	22
5.1.3. <i>Estadística descriptiva.....</i>	23
5.2. <i>Repetibilidad.....</i>	24
5.2.1. <i>Repetibilidad en temperatura de aclimatación (17°C).....</i>	24
5.2.2. <i>Repetibilidad al aumentar la temperatura (22 ± 1°C)</i>	25
5.2.3. <i>Correlación entre media de tasas metabólicas de ambas temperaturas (17°C y 22 ± 1°C)</i>	26
5.2.4. <i>Análisis de Varianza ANOVA</i>	26
6. DISCUSIÓN	28
7. CONCLUSIÓN	31

8. REFERENCIAS.....	32
ANEXO	35

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE TASA METABÓLICAS EN SUS DISTINTOS TRATAMIENTOS.....	23
TABLA 2. SIGNIFICANCIA DE LAS CORRELACIONES ENTRE MEDICIONES DE TASA METABÓLICA TEMPERATURA NORMAL (SIGNIFICATIVO<0,05). ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.	
TABLA 3. SIGNIFICANCIA DE LAS CORRELACIONES ENTRE MEDICIONES DE TASA METABÓLICA A TEMPERATURA ALTA (SIGNIFICATIVO<0,05).....	26
TABLA 4. ÍNDICE DE CORRELACIÓN SIGNIFICATIVO (CERCANO A 1) Y VALOR DE P SIGNIFICATIVO (<<0.05).....	26
TABLA 5. VALORES DE P DE PRUEBAS DE NORMALIDAD PARA LOS VALORES DE TASA METABÓLICA EN TEMPERATURA NORMAL PARA CADA MEDICIÓN. TODOS LOS GRUPOS PRESENTARON DISTRIBUCIÓN NORMAL.....	26
TABLA 6. VALORES DE P DE LAS PRUEBAS DE NORMALIDAD PARA LOS VALORES DE TASA METABÓLICA EN TEMPERATURA ALTA PARA CADA MEDICIÓN. TODOS LOS GRUPOS PRESENTARON DISTRIBUCIÓN NORMAL.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
TABLA 7. VALORES DE P DEL ANOVA PARA CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS (TEMPERATURAS). EN EL TRATAMIENTO DE TEMPERATURA ALTA EL VALOR ES SIGNIFICATIVO POR LO CUAL EXISTE UNA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA ENTRE LOS GRUPOS, ES DECIR QUE LOS VALORES DE LA TASA METABÓLICA DIFIEREN DEPENDIENDO DEL TIEMPO DE MEDICIÓN.....	¡ERR OR! MARCADOR NO DEFINIDO.

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. IMAGEN DE BAHÍA COLIUMO CAPTADA POR GOOGLE EARTH. 17	
FIGURA 2. MEDICIÓN DEL LARGO DE INDIVIDUOS DE <i>M. GALLOPROVINCIALIS</i>	18
FIGURA 3. SONDA MIDIENDO OXIGENO DISUELTO DE INDIVIDUO DE <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> DENTRO DE CÁMARA RESPIROMÉTRICA. .	19
FIGURA 4. CÁMARAS RESPIROMÉTRICAS DENTRO DE ESTANQUE CON AGUA, REGULADORES DE TEMPERATURA Y BOMBA DE AGUA.	20
FIGURA 5. TASA METABÓLICA($\mu\text{MOL O}_2$) DE 18 INDIVIDUOS DE <i>M. GALLOPROVINCIALIS</i> , MEDIDAS A 17°C.....	22
FIGURA 6. TASA METABÓLICA($\mu\text{MOL O}_2$) DE 18 INDIVIDUOS DE <i>M. GALLOPROVINCIALIS</i> , MEDIDAS A 22 \pm 5°C.....	23
FIGURA 7. GRÁFICOS DE CORRELACIÓN PARA TASAS METABÓLICAS A TEMPERATURA DE ACLIMATACIÓN.	24
FIGURA 8. GRÁFICOS DE CORRELACIÓN DE MEDICIONES DE TASAS METABÓLICAS A TEMPERATURA ALTA	25

RESUMEN

Los estudios de repetibilidad, conocido también como el coeficiente de correlación intraclase, han sido objeto de interés en diversas áreas como la fisiología y ecología, ya que permiten evaluar la variabilidad de un rasgo individual y su consistencia en el tiempo. *Mytilus galloprovincialis* es un bivalvo marino perteneciente a la familia Mytilidae, introducido en Chile desde el Mediterráneo. Por su amplia distribución latitudinal, está expuesto a diversas condiciones ambientales, lo que lo convierte en un modelo adecuado para una amplia variedad de estudios, como genética de poblaciones, monitoreo biológico, ecología, fisiología y metagenómica, entre otros. En este trabajo se estimó la repetibilidad de la tasa metabólica de *Mytilus galloprovincialis* a temperatura de aclimatación (17°C) y también al aumentar su temperatura a $22 \pm 1^\circ\text{C}$. Además, se evaluó la correlación entre ambas tasas metabólicas y ambas temperaturas, y también se evaluó si la tasa metabólica difiere dependiendo del tiempo de medición. De acuerdo con los resultados obtenidos la tasa metabólica es un rasgo repetible en ambas temperaturas. También, se obtuvo que las tasas metabólicas y las temperaturas están significativamente correlacionadas, es decir, las temperaturas se parecen, por lo cual variar la temperatura no tuvo un efecto significativo sobre las tasas metabólicas. Por otro lado, la evaluación del efecto del tiempo de medición sobre las tasas metabólicas indicó que éstas difieren dependiendo del tiempo de medición.

ABSTRACT

Repeatability studies, also known as the intraclass correlation coefficient, have been the subject of interest in various areas such as physiology and ecology since they allow evaluating the need for an individual trait and its consistency over time. *Mytilus galloprovincialis* is a marine bivalve belonging to the Mytilidae family, introduced to Chile from the Mediterranean. Due to its wide latitudinal distribution, it is exposed to various environmental conditions, which makes it a suitable model for a wide variety of studies, such as population genetics, biological monitoring, ecology, physiology, and metagenomics, among others. In this work, we estimate repeatability of the metabolic rate of *Mytilus galloprovincialis* at its acclimatization temperature (17°C) and when it was exposed to short periods of higher temperature $22 \pm 1^\circ\text{C}$. In addition, the correlation between both metabolic rates and both temperatures are evaluated, and whether the metabolic rate differs according to the measurement time is also evaluated. According to the results obtained, the metabolic rate is a repeatable trait at both temperatures. Also, it was found that metabolic rates and temperatures are significantly correlated, so temperature did not greatly influence metabolic rates, therefore, it did not influence the repeatability of this trait. On the other hand, the evaluation of the effect of the measurement time on the metabolic rates indicated that these differ depending on the measurement time.

1. INTRODUCCIÓN

La evaluación de distintos rasgos entre individuos, poblaciones y especies ha sido ampliamente utilizada en ecología y evolución. Históricamente, el término "rasgo" ha pasado naturalmente del lenguaje común a uno más científico en diferentes disciplinas como por ejemplo genética cuantitativa, ecología fisiológica, ecología funcional, demografía de poblaciones, y fisiología evolutiva, entre otras (Violle *et al.*, 2007). Un rasgo se define como una propiedad medible y bien definida de los organismos, generalmente medida a nivel individual y utilizada comparativamente entre especies (McGill *et al.*, 2006) sin referencia al ambiente o cualquier otro nivel de organización. Durante las últimas tres décadas, los desarrollos en la ecología de comunidades y ecosistemas han forzado el concepto de rasgo más allá de estos límites originales, y los enfoques basados en rasgos ahora se usan ampliamente en estudios que van desde el nivel de organismos hasta el de ecosistemas (Violle *et al.*, 2007). Trabajos recientes han reconocido la importancia de los rasgos funcionales para explicar la respuesta de especies a gradientes y cambios ambientales. Sin embargo, la mayoría de los estudios se han enfocado a nivel interespecífico (entre especies), en el que únicamente el valor promedio de los rasgos ha sido considerado, ignorando la importancia de la variabilidad individual, es decir, la variabilidad intraespecífica. En la actualidad es creciente la evidencia de la importancia de la variabilidad intraespecífica sobre la respuesta de las especies a la variación ambiental, estructuración comunitaria y los procesos de los ecosistemas (Negrete *et al.*, 2016). Estos rasgos pueden cambiar con el tiempo, ya sea porque la expresión génica cambia o porque un organismo se encuentra con un nuevo entorno o microambiente específico (es decir, localizado) (Hayes & Jenkins, 1997).

Un tema central en el estudio de la variación dentro y entre individuos es la consistencia o repetibilidad de los rasgos en el tiempo (Hayes & Jenkins, 1997). La repetibilidad (R) también conocida como coeficiente de correlación intraclase, indica la proporción de variación total en un rasgo que es propia del individuo, basándose en medidas repetidas de los mismos individuos seguidas de un análisis de varianza (Boake, 1989). Una estimación alternativa de repetibilidad, popular entre ecofisiólogos, es el coeficiente de correlación producto-momento de Pearson

(*r*), correlación entre dos mediciones consecutivas (Nespolo & Franco, 2007). La repetibilidad es utilizada a menudo para estimar la medida en que se canaliza el rendimiento o el comportamiento de un individuo (Wolak *et al.*, 2011). La capacidad de repetición tiene profundas ramificaciones ecológicas y evolutivas porque afecta cómo definimos los rasgos y cómo analizamos la variación en ellos (Hayes & Jenkins, 1997). Para que ocurra una respuesta evolutiva, la variación entre los rasgos individuales debe ser significativa y consistente a lo largo del tiempo (es decir, repetible) y entre generaciones (es decir, heredable). Si las variaciones son significativas pero inconsistentes a lo largo del tiempo, entonces habría muy poco potencial para la respuesta evolutiva al cambio porque la consistencia entre la variabilidad individual y el grado en que la selección natural impulsa la evolución de los rasgos están íntimamente relacionados (Artacho, 2009). La evidencia disponible sugiere que muchos rasgos fisiológicos y de comportamiento son de hecho repetibles, aunque la magnitud de la variación observada y el grado de repetibilidad varían entre rasgos, poblaciones, especies, etapas de la historia de vida y el entorno en el que se miden los rasgos (Wolak *et al.*, 2011).

Los bivalvos dominan la macrofauna costera en todo el mundo y se ha demostrado que desempeñan un papel ecológico importante en los ecosistemas bentónicos (Benítez *et al.*, 2018). La familia Mytilidae es un grupo importante dentro de los bivalvos marinos bentónicos, y poseen una amplia distribución geográfica. En Chile, esta familia incluye las especies *Semimytilus algosus* (Gould 1850), *Perumytilus purpuratus* (Lamarck 1819), *Brachidontes granulata* (Hanley 1843), *Mytilus chilensis* (Hupé 1854), *Choromytilus chorus* (Molina 1782), *Aulacomya ater* (Molina 1782) y *Mytilus galloprovincialis* (Tarifeño *et al.*, 2012). Este último, *Mytilus galloprovincialis*, es una especie originaria del mar Mediterráneo (UACH, 2017). Ha sido introducido en diferentes costas del mundo por medio del agua de lastre de embarcaciones transoceánicas o incluso encontrados en cascos de buques que visitan regularmente el Océano Ártico. En Chile, la presencia de *M. galloprovincialis* ha sido reportada desde 1997 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) (Mesas, 2015). Una característica importante de esta especie, es la capacidad de hibridar con otras especies del mismo género (*Mytilus trossulus*, *Mytilus edulis*, *Mytilus chilensis*). Aunque, una característica

mucho más importante de esta especie es la de haber sido declarada recientemente una de las 100 peores especies invasoras en el mundo. En la literatura científica existen claras evidencias de los efectos de la introducción accidental (a través de aguas de lastre, fouling) o deliberada (para propósitos de acuicultura) en California, Canadá, Noruega y en Sudafrica. En Sudafrica, la introducción de *Mytilus galloprovincialis*, por ejemplo, desplazó a la especie nativa *Aulacomya ater*, debido a la competencia por sustrato e invadió más de 2000 km de costa desde su introducción anterior al año 1970. En la costa de California *M. galloprovincialis* desplazó a la especie nativa *Mytilus trossulus*. En Japón *M. galloprovincialis* colonizó la costa e hibridizó con *M. trossulus*, generando también introgresión en varias localidades de la costa japonesa (UACH, 2017). Sin embargo 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 (Mesas, 2015). Las comunidades intermareales han servido como un poderoso sistema modelo para experimentos de ecología, y los mejillones juegan un papel central en la determinación de la estructura de la comunidad en este hábitat físicamente estresante. En consecuencia, nuestra capacidad para dar cuenta de las respuestas fisiológicas de los mejillones a los estresores ambientales puede ayudarnos a comprender como, por ejemplo, el clima cálido impacta este ecosistema (Moyen *et al.*, 2019). Las especies intermareales se enfrentan a múltiples factores estresantes a diario debido a su hábitat particular. La inmersión en marea alta en el medio acuático y la emersión en marea baja al medio aéreo, asociada a una amplia variación de parámetros abióticos, junto con la contaminación antropogénica son algunos de los estresores diarios a los que están expuestos periódicamente estos organismos (Andrade *et al.*, 2018). Con un entorno tan dinámico, los organismos desarrollaron estrategias que les permiten evitar o tolerar estos factores estresantes. Sin embargo, se ha demostrado que esta alta variabilidad de estresores ambientales, como la temperatura, la salinidad y los niveles de pH/pCO₂, imponen restricciones en el rendimiento del organismo (Benítez *et al.*, 2018) y pueden llegar a ser letales para los bivalvos (Helm *et al.*, 2006). Entre estas especies, los bivalvos se encuentran entre los más tolerantes a la hipoxia, siendo comúnmente utilizados como herramienta de biomonitorio debido a su capacidad

para acumular contaminantes del medio ambiente y reflejar los impactos tóxicos impuestos (Andrade *et al.*, 2018). Los bivalvos tienen una serie de rasgos de comportamiento que les permiten maximizar la supervivencia en la zona intermareal. La respiración anaeróbica se puede utilizar durante la anoxia y la adquisición de energía puede mejorarse al continuar la digestión y la absorción durante la emersión cuando se detiene la alimentación (Benítez *et al.*, 2018). La tasa metabólica comprende el total de las reacciones energéticas que se llevan a cabo en el organismo y se utiliza como indicador interno del organismo que en bivalvos depende tanto de factores endógenos (tamaño y ciclo reproductivo de los individuos), como exógenos (temperatura). Por ello, se considera termodependiente dada la condición de ectotermos de los moluscos bivalvos, incrementando con la temperatura hasta un punto en el cual se produce un rápido descenso de la tasa metabólica (Aguirre, 2016). Entre los rasgos fisiológicos, las variables metabólicas derivadas de registros respirométricos han sido ampliamente analizadas, indicando, por ejemplo, una importante repetibilidad en la tasa metabólica basal de endotermos. Sin embargo, la repetibilidad del metabolismo en los invertebrados es menos conocida y la mayor parte de este trabajo se ha centrado en los insectos (Artacho, 2009). Aún falta información acerca de la repetibilidad de la tasa metabólica en invertebrados, y también información sobre el grado en que la tasa metabólica está relacionada con los parámetros de aptitud. Si la selección natural debe funcionar sobre la tasa metabólica, se debe esperar que la tasa metabólica se correlacione con los parámetros de aptitud (Bech *et al.*, 2020). Nespolo y Franco (2007) compilaron 47 estimaciones de la repetibilidad de la tasa metabólica y concluyeron que, en promedio, la tasa metabólica es un rasgo repetible y que la repetibilidad no se ve afectada por el tiempo entre mediciones lo cual contrasta con un estudio de Norin (2011) que demuestra que la repetibilidad de la tasa metabólica disminuye con el tiempo. Las tasas metabólicas son flexibles y pueden cambiar en respuesta a la disponibilidad de alimentos, la calidad de la dieta y la temperatura, pero no se comprende bien cómo se espera que la variación ambiental afecte la repetibilidad de las mediciones de la tasa metabólica (Auer *et al.*, 2016)

En este estudio se evaluó la repetibilidad de la tasa metabólica de *Mytilus galloprovincialis* a 17°C (temperatura de aclimatación) y al realizar un alza aguda de temperatura (+ 5°C), con la finalidad de identificar si la tasa metabólica es un rasgo

repetible, y como la repetibilidad de este rasgo podría variar debido a perturbaciones puntuales del hábitat tales como la variación de temperatura del mar.

2. HIPÓTESIS

La tasa metabólica de *Mytilus galloprovincialis* es un rasgo repetible, dado que es un rasgo funcional y por ende sometida a selección. También hipotetizamos que esta repetibilidad si se verá afectada por la temperatura del medio.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general: Determinar si la tasa metabólica es repetible en individuos de *M. galloprovincialis* y su comportamiento luego de un alza aguda en la temperatura.

3.2. Objetivos específicos:

- Evaluar la repetibilidad de la tasa metabólica de *M. galloprovincialis*.
- Determinar si existe variación de la tasa metabólica a diferentes temperaturas.
- Determinar el efecto del tiempo en la repetibilidad de las tasas metabólicas.

4. METODOLOGÍA

4.1. Colecta de individuos y mantención en laboratorio

Se colectaron 18 ejemplares vivos de *Mytilus galloprovincialis* desde la Bahía de Coliumo, ubicada a 10 km de Tomé, Región del Biobío. Posterior a su extracción fueron trasladados hasta el laboratorio de fisiología animal comparada de la facultad de Cs. Naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción. En el laboratorio se aclimataron durante un mes en acuarios con agua de mar a 17°C y salinidad de 35psu, dentro de una cámara de temperatura controlada. Fueron alimentados con 1 ml de Phytogold (Fitoplancton 8-20 µm) cada cuatro días.



Figura 1. Imagen de Bahía Coliumo captada por Google Earth.

4.2. Identificación y mediciones morfológicas

Los individuos fueron numerados del 1 al 18 con marcadores de abeja pegados a sus valvas, para luego medir el largo con un pie de metro digital marca Ubermann (modelo RM813) con 0,01mm de precisión y su masa se midió con balanza de precisión marca KERN (modelo PCB).



Figura 2. Medición del largo de individuos de *M. galloprovincialis*.

4.3. Tasa metabólica

Se realizaron dos experimentos para determinar el comportamiento de la tasa metabólica de los individuos, el primero a temperatura de aclimatación (17°C) y el segundo al realizar un alza de temperatura de 5°C ($22 \pm 1^\circ\text{C}$). Para determinar la tasa metabólica fue necesario determinar el consumo de oxígeno de los individuos durante estos experimentos. En ambos experimentos se introdujo individualmente a cada uno de los 18 ejemplares de *M. galloprovincialis* a cámaras cerradas de 0,8L con agua saturada de aire (~157 mmHg). Para medir el nivel de oxígeno disuelto se utilizó una sonda óptica tipo aguja, conectada a un Firesting O2 metro (Piro Science, GmbH Alemania). Además, se midió el oxígeno disuelto de tres cámaras idénticas a las anteriormente descritas, pero sin individuos, a modo de controles.



Figura 3. Sonda midiendo oxígeno disuelto de individuo de *Mytilus galloprovincialis* dentro de cámara respirométrica.

En primer lugar, se realizaron las mediciones de los individuos a la temperatura de aclimatación (17°C). Una vez ingresados los individuos a las cámaras, se midió el oxígeno inicial, transcurrida una hora, el oxígeno final. Se realizaron en total cuatro mediciones a cada uno de los individuos con un intervalo de cuatro días entre cada medición. Cada una de estas mediciones son representadas en este trabajo como medida1 (M1), medida2 (M2), medida3 (M3) y medida4 (M4).

Transcurridos cuatro días desde las primeras mediciones a temperatura de aclimatación, se elevó la temperatura a la que se encontraban los individuos hasta los $22 \pm 1^\circ\text{C}$. Para esto se ubicó a cada mejillón en sus respectivas cámaras respirométricas y posteriormente fueron ingresadas a un contenedor con agua a $22 \pm 1^\circ\text{C}$, la cual fue regulada mediante un calentador de acuario (Modelo H-229) y se utilizó además bombas de agua para distribuir el calor. Una vez ingresados en el contenedor, se realizó la medida inicial de oxígeno disuelto y al cabo de 2 horas transcurridas se midió el oxígeno disuelto final. Luego de realizar el experimento los ejemplares fueron devueltos al acuario a temperatura de aclimatación. Del mismo modo que el experimento anterior, se realizaron cuatro mediciones en total a cada uno de los individuos, con un intervalo de cuatro días entre cada medición.



Figura 4. Cámaras respirométricas dentro de estanque con agua, reguladores de temperatura y bomba de agua.

4.4. Cálculo de la tasa metabólica

La tasa metabólica se estimó para cada una de las mediciones individuales obtenidas a temperatura de aclimatación y temperatura alta. Los cálculos se realizaron de acuerdo con la ecuación:

$$MR = \frac{\Delta O_2 \alpha V}{\Delta t m}$$

En donde, ΔO_2 , corresponde a la diferencia entre el oxígeno inicial y final; V , al volumen dentro de cámara respirométrica; Δ tiempo, al tiempo transcurrido entre la medición inicial y final de oxígeno, mientras que α corresponde al coeficiente de disolución de oxígeno, a la salinidad y temperatura de medición de diaria.

4.5. Análisis de datos.

Para evaluar si la tasa metabólica es un rasgo repetible, se calcularon correlaciones entre las cuatro mediciones realizadas en ambos tratamientos. Para determinar si las correlaciones eran significativas, se utilizó el producto momento de Pearson, que entrega un índice de correlación que puede oscilar entre 0 y 1: donde 0 indica ausencia de concordancia y 1, la concordancia o fiabilidad absoluta de los resultados obtenidos. Si bien el valor del CCI que define una fiabilidad satisfactoria es arbitrario y depende del uso que de ella se haga, en general, se ha indicado que valores del CCI por debajo del 0,4 representan baja fiabilidad, que valores entre 0,4 y 0,75 representan una fiabilidad entre regular y buena, y que valores por encima de 0,75 representan una fiabilidad excelente (Prieto, 1998). Además, el producto momento de Pearson entrega un valor de significancia p. Se consideraron valores de p menores que 0.05 como significativos.

Además, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson entre las medias de los valores de tasa metabólica entre ambos tratamientos (temperaturas), para determinar si la variación de temperatura tuvo efecto sobre la repetibilidad de las tasas metabólicas.

Ambos análisis se realizaron con el software R y se evaluó en todos los casos los supuestos de normalidad (Shapiro-wilk).

Para evaluar el efecto del tiempo sobre la tasa metabólica, se realizó un ANOVA de medidas repetidas de dos vías en la cual se compararon las medidas obtenidas con temperatura. Este análisis estadístico fue realizado en el software SigmaPlot.

5. RESULTADOS

5.1. Tasas Metabólicas

5.1.1 Tasa metabólica a temperatura de aclimatación (17°C)

Los valores obtenidos en la medición de tasa metabólica fluctuaron entre los 0.09 y 1.27 $\mu\text{molO}_2 \text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$. El valor medio de la tasa metabólica es 0.75 $\mu\text{molO}_2 \text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$ y su desviación estándar es de 0.20 $\mu\text{molO}_2 \text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$. El individuo que presentó mayor variación de su tasa metabólica fue el individuo 32 con una media 0.31 y una desviación estándar de 0.22 $\mu\text{molO}_2 \text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$. (Fig. 5).

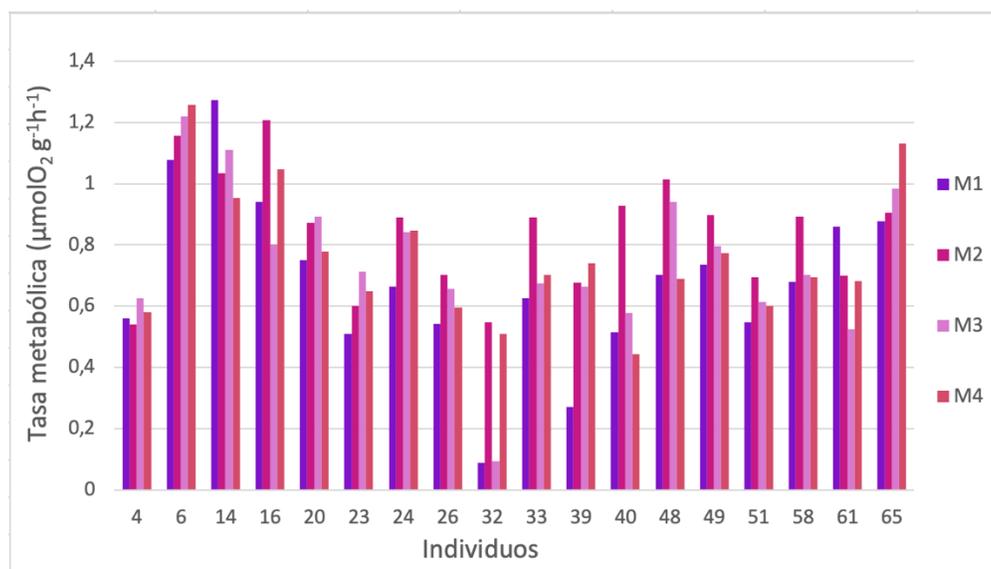
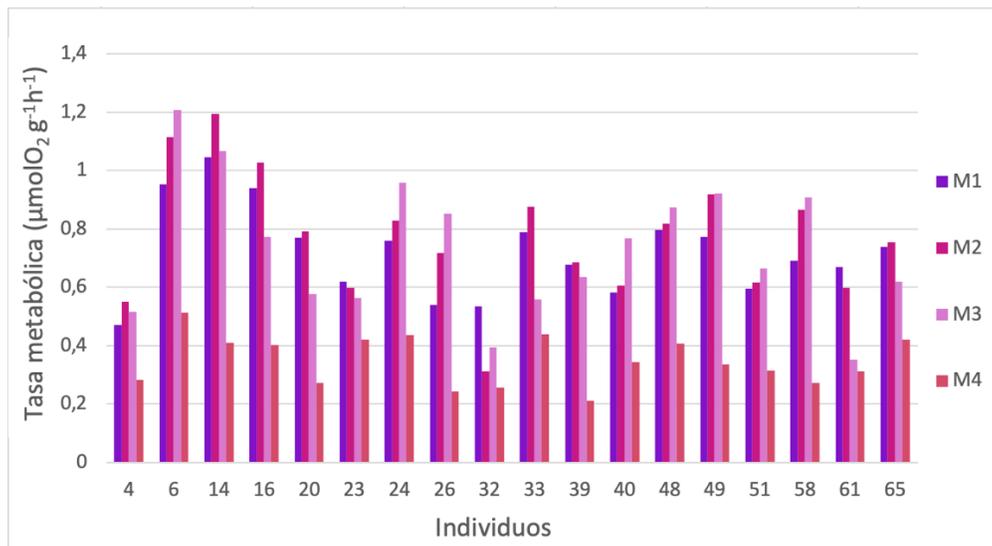


Figura 5. Tasa metabólica ($\mu\text{molO}_2 \text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$) de 18 individuos de *M. galloprovincialis*, medidas a 17°C.

5.1.2. Tasa metabólica al aumentar la temperatura ($22 \pm 1^\circ\text{C}$)

Los valores obtenidos en la medición de tasa metabólica fluctuaron entre los 0.21 y 1.20 $\mu\text{molO}_2 \text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$. Se puede observar que en las últimas mediciones de cada individuo (medición 4) las tasa metabólicas descendieron.



Tasa metabólica ($\mu\text{molO}_2 \text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$) de 18 individuos de *M. galloprovincialis*, medidas a $22 \pm 1^\circ\text{C}$.

5.1.3. Estadística descriptiva

Tratamiento	media	desviación estándar
17°C	0.75	0.20
$22 \pm 1^\circ\text{C}$	0.64	0.14

Tabla 1. Media y desviación estándar de tasa metabólicas en sus distintos tratamientos

Entre ambos tratamientos la variación de las tasas metabólicas fue mayor en el tratamiento a 17°C (0.20), resultado que puede estar influenciadas por la mayor variación observada en el individuo 32.

5.2. Repetibilidad

5.2.1. Repetibilidad de temperatura de aclimatación (17°C)

El coeficiente de correlación obtenido para las medidas de tasa metabólica realizadas a esta temperatura indicó una correlación alta y significativa para todas las mediciones, exceptuando las obtenidas entre las mediciones 3 y 4, en donde la correlación fue de 0.45 y el valor de p fue 0.057 (> 0.05) no significativo. La correlación más alta se produce entre las mediciones 1 y 2 ($R > 0$).

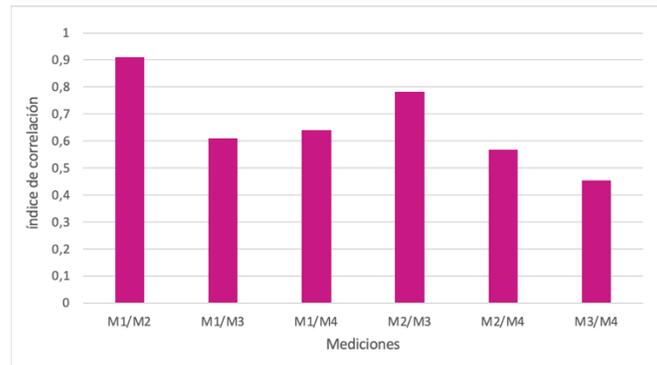


Figura 6. Gráficos de correlación para tasas metabólicas a temperatura de aclimatación.

Medidas	Repetibilidad ($R > 0$)	Significancia ($p < 0.05$)
M1/ M2	0.9	$1.721e^{-07}$
M1/ M3	0.6	0.007171
M1/ M4	0.6	0.00426
M2/ M3	0.8	0.0001245
M2/ M4	0.6	0.01371
M3/ M4	0.5	0.05793

Tabla 2. Valores de correlación y significancia entre mediciones de tasa metabólica temperatura de aclimatación (Significativo<0.05).

5.2.2. Repetibilidad al aumentar la temperatura ($22 \pm 1^\circ\text{C}$)

El coeficiente de correlación obtenido para las medidas de tasa metabólica realizadas a esta temperatura indicó una correlación alta y significativa para todas las mediciones. La correlación más alta se produce entre las mediciones 1 y 3, de 0.81 ($R>0$).

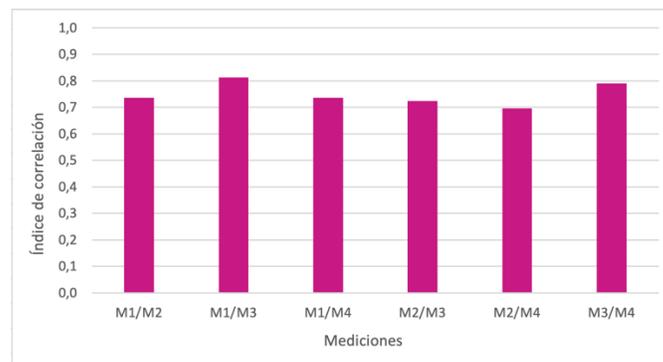


Figura 7. Gráficos de correlación de mediciones de tasas metabólicas post incremento de temperatura.

Medidas	Repetibilidad ($R>0$)	Significancia ($p<0.05$)
M1/ M2	0.7	0.0004881
M1/ M3	0.8	$4.072e^{-05}$
M1/ M4	0.7	0.0004918
M2/ M3	0.7	0.0006791
M2/ M4	0.7	0.001314
M3/ M4	0.8	0.000122

Tabla 3. Valores de correlación y significancia entre mediciones de tasa metabólica post incremento de temperatura (Valor de $p < 0.05$).

5.2.3. Correlación entre media de tasas metabólicas de ambas temperaturas (17°C y $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$)

I. de correlación	Valor de p
0.9	$2.458e^{-07}$

Tabla 4. Índice de correlación significativo (cercano a 1) y valor de p significativo ($<< 0.05$).

5.2.4. Análisis de Varianza ANOVA

Tabla 5. Valor de p de las pruebas de normalidad para los valores de tasa metabólica a temperatura de aclimatación (17°C) y post incremento de temperatura ($22 \pm 1^{\circ}\text{C}$) para cada medición. Todos los grupos presentaron distribución normal.

Mediciones	17°C	$22 \pm 1^{\circ}\text{C}$
1	0.86	0.66
2	0.37	0.91
3	0.32	0.91
4	0.17	0.43

Tabla 6. ANOVA de medidas repetidas de dos vías: Comparación factor semana (M)/ temperatura (17°C).

Medidas	Valor p	Significativo
M1/ M2	< 0.001	Si
M1/ M3	0.088	No
M1/ M4	0.041	No
M2/ M3	0.017	No

M2/ M4	0.040	No
M3/ M4	0.726	No

Tabla 7. ANOVA de medidas repetidas de dos vías: Comparación factor semana (M)/ temperatura ($22 \pm 1^\circ\text{C}$).

Medidas	Valor p	Significativo
M1/ M2	0.041	No
M1/ M3	0.726	No
M1/ M4	0.040	Si
M2/ M3	0.088	No
M2/ M4	<0.001	Si
M3/ M4	0.017	Si

6. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio indican que la tasa metabólica en *Mytilus galloprovincialis* es un rasgo repetible ya que las correlaciones que se obtuvieron fueron fuertes y significativas. En el caso de la temperatura aclimatación (17°C) las correlaciones fueron de 0,6 a 0,9 ($R > 0$) y altamente significativas, exceptuando la correlación entre las medidas 3 y 4, en donde la correlación fue de 0.45 y el valor de p fue 0.057 (> 0.05) no significativo. Al ser una medida que difiere de todas las demás, creemos que no es representativa del resto de las medidas. Así mismo para el caso de tasa metabólica al aumentar la temperatura ($22 \pm 1^\circ\text{C}$), se obtuvo correlaciones altas 0,7 a 0,8 ($R > 0$) y significativas, por lo tanto la tasa metabólica es un rasgo repetible incluso al variar la temperatura. Estos resultados son de gran importancia, ya que uno de los rasgos fisiológicos más importantes en los animales es el metabolismo animal completo porque refleja varios aspectos del presupuesto energético de un organismo. Sin embargo, para responder a la selección natural (en última instancia), esta variable debe ser consistente durante la mayor parte de la historia de vida de un individuo. Si las variaciones son significativas pero inconsistentes a lo largo del tiempo, entonces habría muy poco potencial para la respuesta evolutiva a problemáticas ambientales tales como el cambio climático porque la consistencia entre la variabilidad individual y el grado en que la selección natural impulsa la evolución de los rasgos están íntimamente relacionados. Para que ocurra una respuesta evolutiva, la variación entre los rasgos individuales debe ser significativa y consistente a lo largo del tiempo (es decir, repetible) y entre generaciones (es decir, heredable) (Artacho, 2009). Estos resultados coinciden con el trabajo realizado por Nespolo y Franco (2007) en el cuál se realizó un análisis de estudios referidos a la repetibilidad de la tasa metabólica en distintos grupos taxonómicos concluyendo que la tasa metabólica es un rasgo repetible en todos los animales y su tamaño de efecto no es estadísticamente afectado por factores como especie, tipo de metabolismo, número de individuos y tiempo entre mediciones. Además, este rasgo fue repetible incluso en escenarios con elevada temperatura, esto es importante en el marco del cambio climático global y la elevación de la temperatura. Es conocido que la temperatura del mar es uno de los principales factores ambientales que determina las tasas metabólicas en invertebrados

marinos, 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. De acuerdo a los resultados obtenidos *M. galloprovincialis*, al poseer una tasa metabólica repetible podría hacer frente a variaciones de temperatura. Estos ejemplares, específicamente, se colectaron en La bahía de Coliumo, donde se puede encontrar poblaciones naturales de *M. galloprovincialis*, de acuerdo, a una base de datos de 10 años (enero 2000 y noviembre 2009) de la temperatura superficial registrada tres veces al día en ese lugar, determinó que la temperatura máxima registrada en dicho período ha sido 21,3°C (Mesas & Tarifeño, 2015). Durante este año, no se han reportado temperaturas que superen los 20°C (temperaturas consultadas en página web “Seatemperatureinfo”). Esto no significa que no puedan subir las temperaturas por fenómenos como el Niño que podría incrementarla en más de 5°C el promedio de verano y esto podría poner en riesgo las poblaciones. En el estudio de Anestis (2007) demostró que *M. galloprovincialis* no puede sobrevivir a temperaturas del agua de mar de 26°C o más durante largos períodos de tiempo, y que la exposición a temperaturas mayores causan diversas dificultades en su organismo (problemas en la asimilación de alimentos, y la energía asociada, baja filtración, eventual muerte). Por lo cual, es importante saber si este rasgo puede ser seleccionable para predecir si con el aumento de las temperaturas podrían persistir las poblaciones.

Por último, los resultados obtenidos en el ANOVA de dos vías indican que el tiempo en el caso de los individuos a 17°C fue significativo, es decir, que afectó los valores de tasa metabólica sólo entre la primera y segunda medición, y después de eso, la tasa metabólica no varió significativamente. Esto pudo deberse a un estrés ocasionado por la manipulación de los individuos al inicio, por otro lado, en los resultados de los individuos a los cuales se les aumentó la temperatura a 22± 1°C, la tasa metabólica difiere significativamente en las mediciones 1 y 4, 2 y 4 y 3 y 4. Es decir, que las mayores variaciones se presentaron en las medidas relacionada a la cuarta y última medida.

Esto puede tener relación con la tolerancia térmica de los animales que se expresan típicamente por los límites térmicos inferior y superior, ampliamente conocidos como Mínimo Térmico Crítico (CT_{mín}) y Máximo Térmico Crítico (CT_{máx}). Estos límites por lo general revelan la ecología térmica de un organismo, por lo que se esperaría que la amplitud térmica sea mayor para poblaciones o especies expuestas a una alta variación estacional y/o diaria, típica de latitudes y altitudes altas (Simon et al., 2015). En este caso la tasa metabólica no presentó una diferencia significativa durante las tres primeras mediciones, pero en la última medición se produce un descenso de la tasa metabólica.

7. CONCLUSIÓN

De acuerdo con el conjunto de los resultados de este estudio fue posible determinar que la tasa metabólica de los individuos evaluados pertenecientes a la especie *M. galloprovincialis*, es un rasgo repetible e independiente de las temperaturas analizadas y por tanto, es posiblemente un rasgo importante que puede ser sometido a selección natural. Sin embargo, también encontramos una diferencia significativa entre mediciones de las tasas metabólicas de los individuos expuestos a alta temperatura lo cual podría indicar cierta variabilidad de este rasgo en escenarios de alta temperatura ambiental por periodos prolongados de tiempo, y por tanto, proponemos evaluar el comportamiento de la tasa metabólica por periodos más prolongados de tiempo, y además incluir distintas etapas del ciclo de vida de esta especie para evaluar su tolerancia frente al escenario de cambio climático y la posible variabilidad en la temperatura del mar.

8. REFERENCIAS

- Aguirre, J. (2016). Dependencia térmica del disponible metabólico para la actividad en bivalvos aclimatados a distintas temperaturas, Universidad del País Vasco. 22 pp.
- Andrade, M., Soares, A., Figueira, E., & Freitas, R. (2018). Biochemical changes in mussels submitted to different time periods of air exposure. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(9), 8903-8913.
- Anestis, A., Lazou, A., Portner, H. O., & Michaelidis, B. (2007). *Behavioral, metabolic, and molecular stress responses of marine bivalve Mytilus galloprovincialis during long-term acclimation at increasing ambient temperature. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 293(2).
- Artacho, P., & Nespolo, R. F. (2009). Intrapopulation variation in the standard metabolism of a terrestrial mollusc: repeatability of the CO₂ production in the land snail *Helix aspersa*. *Physiological and Biochemical zoology*, 82(2), 181-189.
- Auer, S. K., Bassar, R. D., Salin, K., & Metcalfe, N. B. (2016). Repeatability of metabolic rate is lower for animals living under field versus laboratory conditions. *Journal of Experimental Biology*, 219(5), 631–634.
- Bech, C., Christiansen, M. T., Kvernland, P., Nygård, R. M., Rypdal, E., Sneltorp, S. K., ... & Tvedten, Ø. G. (2020). The standard metabolic rate of a land snail (*Cepaea hortensis*) is a repeatable trait and influences winter survival. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 249, 110773.
- Bell, A. M., Hankison, S. J., & Laskowski, K. L. (2009). The repeatability of behaviour: a meta-analysis. *Animal behaviour*, 77(4), 771-783.
- Benítez, S., Lagos, N.A., Osoro, S., Opitz, T., Duarte, C., Navarro, J.M., & Lardies, M.A. (2018). High pCO₂ levels affect metabolic rate, but not feeding behavior and fitness, of farmed giant mussel *Choromytilus chorus*. *Aquaculture Environment Interactions*, 10, 267-278.
- Boake, C. R. B. (1989). Repeatability: Its role in evolutionary studies of mating behavior. *Evolutionary Ecology*, 3(2), 173–182.

- Hayes, J. P., & Jenkins, S. H. (1997). Individual Variation in Mammals. *Journal of Mammalogy*, 78(2), 274–293.
- Helm, M. M.; Bourne, N.; Lovatelli, A. (comp./ed.)(2006). Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. FAO Documento Técnico de Pesca. No. 471, Roma, FAO. 2006. 184 pp.
- McGill, B., Enquist, B., Weiher, E., & Westoby, M. (2006). Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution*, 21(4), 178–185.
- Mesas, A., & Tarifeño, E. (2015). Temperaturas letales superiores para el mejillón, *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819), en la costa de Chile central. *Latin american journal of aquatic research*, 43(3), 473-483.
- Moyen, N. E., Somero, G. N., & Denny, M. W. (2019). Impact of heating rate on cardiac thermal tolerance in the California mussel, *Mytilus californianus*. *Journal of Experimental Biology*, 222(17), jeb203166.
- Negret, B. E. S. (Ed.). (2016). La ecología funcional como aproximación al estudio, manejo y conservación de la biodiversidad: protocolos y aplicaciones. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.
- Nespolo, R. F., & Franco, M. (2007). Whole-animal metabolic rate is a repeatable trait: a meta-analysis. *Journal of Experimental Biology*, 210(21), 3877–3878.
- Norin, T., & Malte, H. (2011). Repeatability of standard metabolic rate, active metabolic rate and aerobic scope in young brown trout during a period of moderate food availability. *Journal of Experimental Biology*, 214(10), 1668-1675.
- Prieto, L., Lamarca, R., & Casado, A.P. (1998). La evaluación de la fiabilidad en las observaciones clínicas: el coeficiente de correlación intraclase. *Medicina Clinica*, 110, 142-145.
- Simon, M. N., Ribeiro, P. L., & Navas, C. A. (2015). Plasticidad de tolerancia térmica superior en especies de anfibios tropicales de hábitats contrastantes: implicaciones para la predicción del impacto del calentamiento. *Revista de Biología Térmica*, 48, 36–44.
- Tarifeño, E., Galleguillos, R., Llanos-Rivera, A., Arriagada, D., Ferrada, S., Canales-Aguirre, C. B., & Seguel, M. (2012). Erroneous identification of the mussel, *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck 1819) as the species, *Mytilus chilensis* (Hupe 1854) in the Bay of Concepcion, Chile. *Gayana*, 76(2), 167-172.

- UACH (2017). Caracterización genética y distribución espacial del género *Mytilus* en Chile, Valdivia. Universidad Austral de Chile.
- Violle, C., Navas, M. L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., & Garnier, E. (2007). Let the concept of trait be functional!. *Oikos*, 116(5), 882-892.
- Wolak, M. E., Fairbairn, D. J., & Paulsen, Y. R. (2011). Guidelines for estimating repeatability. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(1), 129–137

ANEXO

Repetibilidad de tasa metabólica a temperatura de aclimatación (17°C)

	Medida 1	Medida 2	Medida 3	Medida 4
Medida 1	1	0.9093416	0.6101196	0.6395857
Medida 2	0.9093416	1	0.7823778	0.5690534
Medida 3	0.6101196	0.7823778	1	0.4547767
Medida 4	0.6395857	0.5690534	0.4547767	1

Tabla anexa 1. Matriz de correlación producto-momento de Pearson para las cuatro mediciones de Tasa Metabólica de *Mytilus galloprovincialis* a temperaturas de 17°C.

Repetibilidad de tasa metabólica al aumentar la temperatura (22 ± 1°C)

	Medida 1	Medida 2	Medida 3	Medida 4
Medida 1	1	0.7367128	0.8131997	0.7364294
Medida 2	0.7367128	1	0.7241035	0.6967382
Medida 3	0.8131997	0.7241035	1	0.789893
Medida 4	0.7364294	0.6967382	0.789893	1

Tabla anexa 2. Matriz de correlación producto-momento de Pearson para las cuatro mediciones de Tasa Metabólica de *Mytilus galloprovincialis* al aumentar la temperatura (22 ± 1°C).