

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA



Facultad de Ciencias Marinas

Instituto de Investigaciones Oceanológicas

RESPUESTA DEL MEJILLÓN *Mytilus californianus* SOMETIDO A VARIACIONES DE TEMPERATURA EN CONDICIONES DE LABORATORIO Y TRASPLANTADOS EN CAMPO

TESIS

QUE PARA OBTENER GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

PRESENTA

Jimena Ortega Arana

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS
POSGRADO EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

**RESPUESTA DEL MEJILLÓN *Mytilus californianus* SOMETIDO A
VARIACIONES DE TEMPERATURA EN CONDICIONES DE LABORATORIO Y
TRASPLANTADOS EN CAMPO**

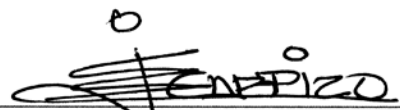
TESIS

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL
GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS
PRESENTA

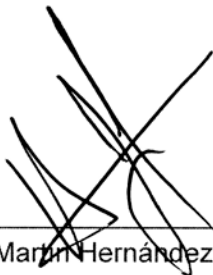
JIMENA ORTEGA ARANA

Aprobada por:



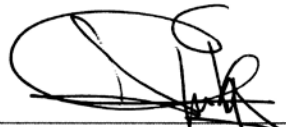
Dr. Eugenio de Jesús Carpizo Ituarte

Director de Tesis



Dr. Martín Hernández Ayón

Sinodal



Dr. Alfredo E. Salas Garza

Sinodal



Agradecimientos

Dr. Eugenio Carpizo

Por el apoyo incondicional desde el 2010, jefe, guía y amigo de aventuras en el mar, por toda la paciencia y dedicación a mi trabajo solo es el fin de una etapa, seguiremos con más... Gracias.

Dr. Martín Hernández Ayón

Por el interés mostrado en este proyecto desde sus inicios, por sus comentarios y recomendaciones, por las buenas ideas y el ánimo ante cualquier escenario, Gracias.

Dr. Alfredo Salas Garza

Por todas las pláticas acerca de mejillones, estadística y demás que van inmersos en este trabajo, y también por los incontables consejos de vida, que me llevo conmigo. Gracias.

Dr. Eduardo Santamaría del Ángel

Por darme las bases para entender cualquier problema con datos, ser siempre un buen consejero y brindarme el apoyo en el procesamiento y obtención de los datos satelitales. Gracias.

CONACYT

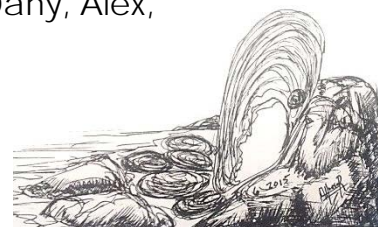
Por la beca brindada para la realización de mis estudios y proyecto de maestría.

A todas las personas que hicieron de Ensenada mi hogar y lugar de sueños cumplidos, dentro y fuera de la escuela....

Eli, Mini, Yuri, Coco, Lore, Ginger, Karlitos, Alejandro, Maritza, Viri, Santi, Quetza, Julia, Francisco, Nancy, Roberto, Javier, Marco, Julio, Huesca, Aidé, Honorio, Paulett, Rebe....y todos mis demás compañeros...

Mi familia de playitas 22, Davide, Tony, Laura, Mariana, Lyn, Laura Osuna, Luis, Alam, Osmar, Rina, Botitas☺.

Mi familia de sangre, que a pesar de la distancia siempre se hicieron presente: Abi, Jamile, Mi Madre, Mi padre, Ángeles, Rafa, Marcia, Antonio, Rodrigo, Dany, Alex, Alejandro, Yolanda, Yoly, Gaby, Cris.



Dedicatoria

Jamile Ortega

Compañera de vida e incontables historias

Profr. Antonio Ortega Salazar

Una aventura más finalizada, se te antoja otra?

Nos quedan más mares que conocer....



Índice	i
Índice de Figuras	iii
Índice de Tablas.....	v
Resumen general	vi
Abstract	vii

Índice

CAPÍTULO I. Introducción general

Introducción.....	1
Justificación.....	10
Sitios de estudio.....	11

CAPÍTULO II. Trasplante de *Mytilus californianus* en Punta Morro

Resumen	17
2.1 Introducción.....	18
2.2 Objetivo general	20
2.2.1 Objetivos particulares	21
2.3 Hipótesis	21
2.4 Materiales y Métodos	22
2.4.1 Recolecta de los organismos.....	22
2.4.2 Construcción de cajas de trasplante.....	23
2.4.3 Diseño del experimento	24
2.4.4 Biometría de los mejillones	24
2.4.5 Trasplante en el intermareal Punta Morro	25
2.4.6 Parámetros registrados en el intermareal (TSM, OD y pH)	27
2.4.7 Datos satelitales de la TSM y concentración de <i>Clorofila a</i>	27
2.4.8 Extracción de ácidos nucleicos.....	28
2.4.9 Análisis estadístico	28
2.4.9.1 Biometría	28
2.4.9.2 Análisis de regresión lineal.....	29
2.4.9.3 Relaciones biométricas	29
2.4.9.4 Relación ARN:ADN.....	30
2.4.9.5 Análisis de componentes principales (ACP)	30

2.5 Resultados	31
2.5.1 Biometría	31
2.5.2 Análisis de regresión lineal	43
2.5.3 Relaciones biométricas	45
2.5.4 Relación ARN/ADN	47
2.5.5 Temperatura superficial del mar (TSM)	50
2.5.6 Concentración de clorofila <i>a</i>	54
2.5.7 Oxígeno disuelto y porcentaje de saturación de O ₂	56
2.5.8 pH	57
2.5.9 Análisis de Componentes Principales (ACP)	57
2.5 Discusión	63
2.6 Conclusiones	72
2.7 Recomendaciones	73

CAPÍTULO III. Juveniles de *Mytilus californianus* sometidos a variaciones de temperatura

Resumen	74
3.1 Introducción	75
3.2 Objetivo general	78
3.2.1. Objetivos particulares	78
3.3 Hipótesis	78
3.4 Materiales y Métodos	79
3.4.1. Recolecta de organismos	79
3.4.2. Sistema Experimental	79
3.4.3. Índice ARN/ADN	81
3.4.4. Análisis Estadístico	81
3.5 Resultados	82
3.5.1. Crecimiento y peso ganado	82
3.5.2 Oxígeno disuelto	84
3.5.3 Índice ARN/ADN	85
3.6 Discusión	86
3.7 Conclusiones	91

Capítulo IV. Conclusiones Generales	92
Referencias	94
Anexo	102

Índice de Figuras

Figura 1.1. Curva de Keelling que indica la concentración de CO ₂	2
Figura 1.2 Cama de mejillones en la zona intermareal de Bajamar	7
Figura 1.3. Mejillón <i>Mytilus californianus</i> , molusco bivalvo de conchas azuladas	8
Figura 1.4 Mapa de la ubicación espacial de los 4 sitios de procedencia de los mejillones	12
Figura 1.5 Imagen satelital de la ubicación del intermareal rocoso de Bajamar (tomada de Google Earth©)	13
Figura.1.6. Imagen satelital de la ubicación del intermareal rocoso de Punta Morro (tomada de Google Earth©).....	13
Figura.1.7. Imagen satelital de la ubicación del intermareal rocoso de Eréndira (tomada de Google Earth©)	14
Figura.1.8. Imagen satelital de la ubicación del intermareal rocoso de Punta Baja (tomada de Google Earth©).....	14
Figura 1.7. Promedio mensual de la TSM (2003-2013)	14
Figura 2.1. Cajas de trasplante listas para la fijación de los mejillones	23
Figura 2.2. Parámetros biométricos obtenidos de la concha de los mejillones juveniles.....	25
Figura 2.3. Tablas de trasplante con los mejillones fijados en el laboratorio	26
Figura 2.4 Colocación de tablas de trasplante en el intermareal de Punta Morro	26
Figura 2.5. Distribución de frecuencias del largo inicial de la concha de los mejillones juveniles de <i>Mytilus californianus</i>	31
Figura 2.6. <i>Largo (L)</i> de la concha de los mejillones juveniles, trasplantados (BM, ERE, PB) y nativos (PM)	33
Figura 2.7. <i>Alto (Al)</i> de la concha de los mejillones juveniles, trasplantados (BM, ERE, PB) y nativos (PM)	34
Figura 2.8. <i>Ancho (An)</i> de la concha de los mejillones juveniles, trasplantados (BM, ERE, PB) y nativos (PM).....	35
Figura 2.9. <i>Peso húmedo total (Psht)</i> de los mejillones juveniles, trasplantados (BM, ERE, PB) y nativos (PM)	36
Figura 2.10. <i>Peso húmedo de la carne (Phcr)</i> de los mejillones juveniles, trasplantados (BM, ERE, PB) y nativos (PM)	37
Figura 2.11. <i>Peso seco total (Pst)</i> de los mejillones juveniles, trasplantados (BM, ERE, PB) y nativos (PM)	38
Figura 2.12. <i>Peso seco de la concha (Psch)</i> de los mejillones juveniles, trasplantados (BM, ERE, PB) y nativos (PM)	39
Figura 2.13. Incremento de los parámetros morfométricos de la concha, <i>L</i> , <i>An</i> y <i>Al</i>	40
Figura 2.14. Diferentes morfotipos del mejillón <i>Mytilus californianus</i> , en etapa adulta y juvenil.....	41
Figura 2.15. Ganancia total de peso seco y húmedo para los mejillones trasplantados y nativos	42

Figura 2.16. Pendientes de los parámetros morfométricos <i>L</i> , <i>An</i> , <i>Al</i> y <i>Pst</i> , <i>Psch</i> , <i>Pht</i> , <i>Phcr</i>	44
Figura 2.17. Relaciones biométricas ajustadas al modelo potencial, para los mejillones trasplantados.....	46
Figura 2.18. Índice ARN/ADN en etapa inicial y final del experimento para los mejillones trasplantados y nativos.....	47
Figura 2.19. ADN presente en el tejido de los mejillones trasplantados y nativos.....	48
Figura 2.20. ARN presente en el tejido de los mejillones trasplantados y nativos.....	49
Figura 2.21. Promedio mensual de la variación mensual de la TSM durante el periodo 2003 -2013.....	50
Figura 2.22. Promedio mensual de la variación mensual de la [Clor-a], durante el periodo 2003 -2013.....	50
Figura 2.23. Promedio mensual de la TSM durante los meses del estudio para los cuatro sitios de procedencia de los mejillones trasplantados y nativos.....	51
Figura 2.24. Imágenes satelitales (MODIS-AQUA) del promedio mensual de la temperatura oceánica en la zona de estudio durante los meses del experimento.....	52
Figura 2.25. Temperatura máxima y mínima del intermareal PM, registrado por medio de termógrafos durante el periodo experimental.....	53
Figura 2.26. Promedio de la concentración de la <i>clorofila-a</i> , durante los meses de muestreo y trasplante en PM.....	54
Figura 2.27. Imágenes satelitales (MODIS-AQUA) del promedio mensual de la concentración de <i>clorofila -a</i> para la zona de estudio durante los meses de duración del trasplante.....	55
Figura 2.28. Valores puntuales del OD y porcentaje de saturación de oxígeno medido <i>in situ</i> en PM, durante el experimento.....	56
Figura 2.29. Valores de pH medidos <i>in situ</i> en el intermareal PM.....	57
Figura 2.30. Proyecciones ortogonales del ACP para los mejillones de BM (A) y ERE (B).....	59
Figura 2.31. Proyecciones ortogonales del ACP para los mejillones de Punta Baja (C) y Punta Morro (D).....	60
Figura 2.32. Correlación negativa entre el OD y la TSM durante los meses del experimento.....	61
Figura 2.33. Correlación entre la relación ARN/ADN con la TSM (a) y la clorofila (b) registrada durante el experimento.....	62
Figura 3.1. Diseño experimental para evaluar el efecto de la variación de la temperatura en <i>Mytilus californianus</i>	80
Figura 3.2. Promedio del crecimiento del largo de la concha de los mejillones sometidos a variaciones de temperatura.....	82
Figura 3.3. Promedio del peso ganado para cada tratamiento para los tratamientos experimentales.....	83
Figura 3.4. Oxígeno disuelto registrado durante el periodo experimental.....	84
Figura 3.5. Índices ARN/ADN de los mejillones de PB y BM dentro de cada tratamiento a 18, 21 y 23°C.....	85

Índice de Tablas

Tabla I. Distancia en kilómetros que existe entre cada uno de los sitios de procedencia de los mejillones	11
Tabla II. Contraste de factores bióticos y abióticos entre los sitios de procedencia de los mejillones	16
Tabla III. Datos de la colecta realizada en las 4 zonas intermareales.....	22
Tabla IV. Parámetros biométricos de los juveniles de <i>Mytilus californianus</i> en la etapa inicial del experimento	32
Tabla .V. Comparación de pendientes (β) entre el aumento del parámetro estudiado y la duración del estudio.....	43
Tabla VI. Coeficientes del modelo de crecimiento potencial para los mejillones trasplantados y nativos.....	45
Tabla VII. Eigen valores, proporción y su acumulado del ACP entre variables ambientales, relación ARN/ADN y morfométricas estudiadas para cada sitio de procedencia de los mejillones trasplantados y nativos	58
Tabla VIII Ubicación y características de los sitios de recolecta	79
Tabla IX. Fecha de las seis evaluaciones realizadas en el experimento	80
Tabla X. Temperatura registrada por medio de termógrafos (Hobos [®]) durante el experimento.....	90

Resumen general

Palabras clave: *Mytilus californianus*, temperatura, trasplantes, ARN/ADN, plasticidad fenotípica.

La quema de combustibles fósiles ha producido un aumento de las emisiones de CO₂ hacia la atmósfera y hoy en día se registran 401ppm de pCO₂. El 25% de estas emisiones son absorbidas por el océano, considerado como un sumidero de carbono y que a su vez modula la química del agua de mar. De manera general, este incremento en el uso de combustibles fósiles ha ocasionado un aumento de 2°C y una disminución de 8.2 a 8.1 de pH en el océano. Las implicaciones de estos cambios influyen directamente en los organismos que viven en la columna de agua y en zonas costeras. De manera particular en el intermareal rocoso viven organismos que están sometidos a una variación de condiciones ambientales modulada por la fluctuación de las mareas. En este estudio evaluamos la respuesta del mejillón juvenil *Mytilus californianus*, especie clave del intermareal rocoso de la costa occidental de Baja California, trasplantados en el intermareal Punta Morro (PM) y sometidos a variaciones de temperatura en condiciones de laboratorio con organismos de distinta procedencia, para analizar si existe una respuesta de los organismos dependiente de su sitio de origen. En el experimento de trasplantes se utilizaron mejillones de Baja Mar (BM), Punta Baja (PB), Eréndira (ERE) y PM, mientras que en el experimento en laboratorio se trabajó con organismos provenientes de BM y PB, los cuales se sometieron a tres variaciones de temperatura 18, 21 y 23°C. En el tratamiento de 18°C se observaron los valores más altos de crecimiento de la concha y ganancia de peso de los mejillones de BM y PB, en el tratamiento de 21 y 23°C los mejillones de ambos sitios presentaron los valores más bajos de crecimiento de la concha y los más elevados en el aumento de peso. A su vez en el experimento de trasplantes se observó para los mejillones nativos de PM un crecimiento de la concha y ganancia de peso mayor, en comparación con los mejillones de los otros sitios, de los cuales, los de BM mostraron los valores menores en talla y peso. También se documentaron las diferencias morfológicas entre las cuatro poblaciones de *M. californianus*. Finalmente, el índice ARN/ADN utilizado como indicador de la condición fisiológica del mejillón en ambos experimentos, mostró un decremento en la actividad metabólica cuando las temperaturas fueron mayores a las de su sitio de origen, sin embargo, no comprometió el crecimiento de la concha y la ganancia de peso, por lo que se consideró que el índice ARN/ADN es un buen indicador de la condición fisiológica del mejillón. Ambos experimentos realizados en este trabajo nos permitieron acceder a una ventana del conocimiento de la respuesta del mejillón a las variaciones de temperatura, sin embargo, resulta imprescindible continuar con el estudio de esta respuesta, en particular con poblaciones distantes y de diferentes etapas durante su ciclo de vida y combinación de estresores, que permitan tener una respuesta más clara acerca del futuro de esta especie ícono de las costas de Baja California, en el contexto futuro de las consecuencias del cambio global y su consecuente calentamiento y acidificación del océano.

Abstract

Keywords: *Mytilus californianus*, temperature, transplantation, RNA/DNA, phenotypic plasticity.

The burning of fossil fuels has been increasing of CO₂ emissions into the atmosphere and today are pCO₂ concentration in the atmosphere 401ppm, 25% of these emissions are absorbed by the ocean, regarded as a carbon sink and which in turn modulates the chemistry of seawater. In general, this increase in the use of fossil fuels has caused an increase of 2°C and a decrease in the ocean of 8.2 to 8.1 pH. The implications of these changes directly affect organisms living in the water column and in coastal areas. Particularly in the rocky intertidal living organisms that are subject to varying environmental conditions modulated by tides fluctuating. In this study we evaluated the response of juvenile mussel *Mytilus californianus*, key rocky intertidal of the west coast of Baja California, transplanted in the intertidal Punta Morro (PM) and subjected to variations temperature in laboratory conditions with different place of origin, to analyze if there is a dependent response place of origin. In the experiment transplant mussels of Baja Mar (BM), Punta Baja (PB), Eréndira (ERE) and PM, were used and in the laboratory experiment they worked with organisms from BM and PB, which underwent to three variations of temperature 18, 21 and 23°C. Our data showed in the treatment of 18°C the highest values of shell growth and weight mussels BM and PB, in the treatment of 21 and 23°C were observed mussels from both sites had the lowest values shell growth and higher in weight gain. Turn on the transplant experiment was observed for native mussels PM shell growth and greater weight compared to the mussels of the other sites, of which the BM showed the lowest values in size and weight. Morphological differences between the four populations of *M. californianus* were also documented. Finally, the RNA/DNA index used as an indicator of physiological status of mussels in both experiments showed a decrease in metabolic activity when temperatures were higher than those of its site of origin, however, it did not compromise the growth of the shell and weight gain, so it was considered that the RNA/DNA index is a good indicator of the physiological condition of the mussel. Both experiments conducted in this study allowed us to access a window of knowledge mussel response to variations in temperature, however, it is essential to continue studying this response, particularly with distant populations and different stages during its cycle life and combination of stressors, allowing a clearer answer about the future of this iconic species off the coast of Baja California, in the future context of the consequences of global change and the consequent warming and ocean acidification.



Capítulo I

Introducción general

Los océanos comprenden tres cuartas partes de nuestro planeta, además de una alta biodiversidad lo que los convierte en una fuente muy importante de extracción de recursos para el ser humano. El aumento del CO₂ atmosférico ha influenciado directamente a los ecosistemas marinos, ocasionando el incremento en las temperaturas promedio, lo que ha inducido un efecto en la circulación y estratificación oceánica. Asimismo el incremento de CO₂ aumenta la tasa fotosintética de las algas y altera la productividad del sistema en el que se basa la red alimentaria de la biota marina. Como consecuencia del aumento de la temperatura y la productividad, disminuye la disponibilidad de oxígeno disuelto (OD) en el agua, el cual es crítico para la respiración de la mayoría de los organismos acuáticos (Chase, 2013).

En el ecosistema marino, la temperatura del agua de mar determina la temperatura corporal de las especies en función de su capacidad reguladora. En ambientes cálidos su temperatura corporal es elevada, pero más baja en los ambientes fríos, y en ambos casos los organismos no son capaces de regular su temperatura, pues dependen de la temperatura ambiental y se les clasifica como organismos *ectotermos*. (Hill y Gordon, 2006). La temperatura es el factor abiótico más influyente en la fisiología, ecología y evolución de los seres vivos (Castañeda et al., 2004). En los tejidos animales tiene dominio en los índices metabólicos, la velocidad de reacciones bioquímicas en las células, como difusión y ósmosis. La temperatura es uno de los componentes ambientales más importantes, juega un papel central en el desarrollo, supervivencia y la distribución de los organismos en los ecosistemas (Díaz-Pérez y Carpizo-Ituarte, 2011). Los ectotermos marinos que viven en la zona intermareal rocosa son organismos modelo en los cuales se pueden explorar los efectos del cambio climático, en especial sus patrones de distribución (Bertness et al., 1999).



Otra consideración importante del aumento del CO_2 en el océano está relacionada con la química del agua de mar, pues la absorción de CO_2 en la columna de agua, ocasiona la formación de ácido carbónico, libera protones de H^+ y reduce el pH oceánico (Chase, 2013). Por lo tanto puede resultar en la acidificación gradual del agua de mar, éste proceso es definido como “*acidificación del océano*” (Broecker y Clark, 2001; Caldeira y Wickett, 2003).

El comienzo de la era industrial liberó CO_2 a la atmósfera y como consecuencia ha tenido un incremento exponencial con el paso de los años. El primer registro de medición de CO_2 se llevó a cabo en Mauna Loa, Hawai, el cual fue medido como una fracción molar con el número de moléculas de dióxido de carbono divididas por el número de moléculas de aire seco multiplicado por un millón (ppm). El precursor de estas mediciones fue David Keeling del Instituto Scripps de Oceanografía en marzo de 1958, quien registró 315 ppm. Sin embargo las emisiones de CO_2 siguen en aumento, y como resultado los registros indican 401 ppm para febrero del 2015. En la figura 1.1 se puede observar la famosa curva de Keeling (SCRIPPS, 2015). También existen otras instituciones que realizan éstas mediciones, además de proyecciones futuras en distintos puntos del planeta. El Panel Intergubernamental del Cambio Climático, (IPCC, por sus siglas en inglés) ha pronosticado emisiones de CO_2 entre 730 y 1020 ppm para el 2100. El último registro es la mayor cantidad de CO_2 que la Tierra ha experimentado en sus últimos 800.000 años, y se espera aumente debido a la dependencia de la humanidad en el consumo de combustibles fósiles para obtener energía. El océano es considerado como un sumidero de carbono, ha absorbido un 25% de las emisiones de CO_2 y como consecuencia elevado su temperatura 2°C . (Sabine et al., 2004). Una temperatura elevada disminuye la solubilidad del dióxido de carbono y reduce un 10% su absorción de la atmósfera, por lo tanto, un océano más caliente tiene menos capacidad para captar el CO_2 de la atmósfera (IPCC, 2013). Las evidencias sugieren que el calentamiento global y la disminución del pH en el agua de mar, como consecuencia del aumento de emisiones antropogénicas de CO_2 , son los principales factores que inducen el cambio climático (Doney et al., 2012).

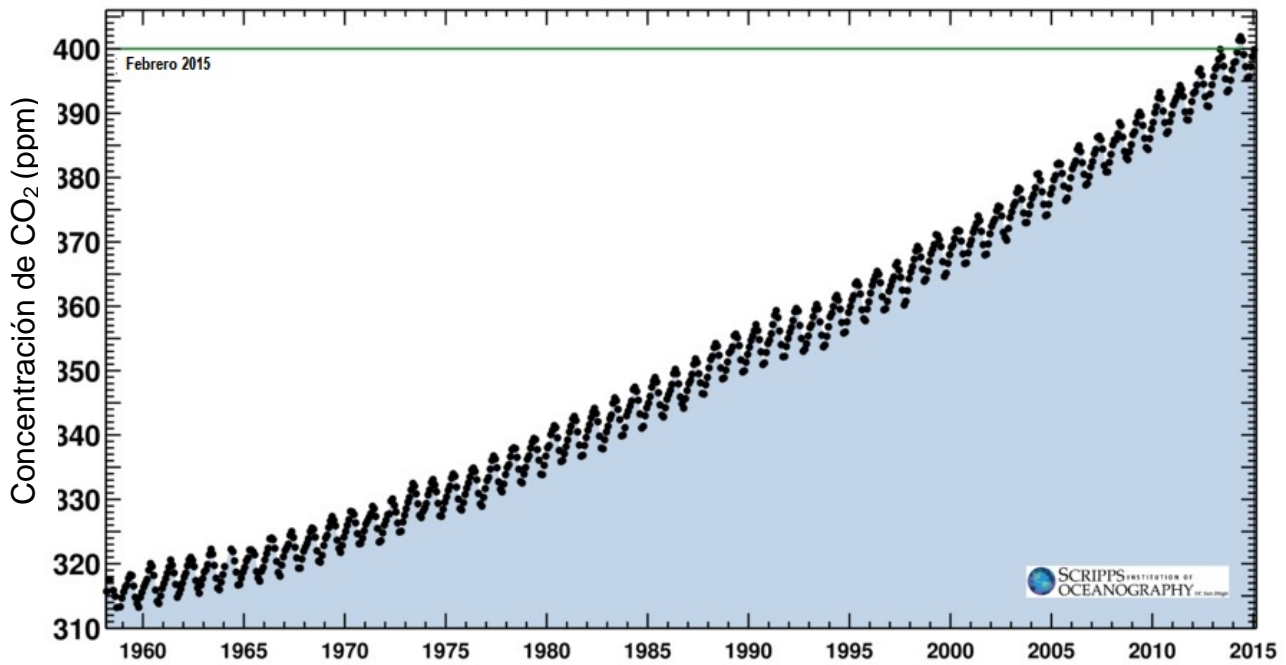


Figura 1.1. Curva de Keelling que indica la concentración de CO₂ (ppm) registrada en el observatorio de Manua Loa desde 1958, para entonces se registró 315 ppm y para el 2015 las mediciones proyectan 401 ppm (modificada de scripps.ucsd.edu).

Los estresores asociados al calentamiento y acidificación de los océanos son de los más directos y penetrantes del cambio climático para los ecosistemas marinos. Los efectos varían según las regiones, hábitat, especies y el periodo en el que se encuentren los organismos dentro de su ciclo de vida. La magnitud del cambio es modulada por la influencia de las corrientes oceánicas, las cuales están comenzando a ser modificados por el cambio global (Hobday y Lough 2011; Doney et al., 2012).

Además de la temperatura, las especies marinas pueden exponerse a condiciones extremas de pH, anoxia o concentraciones de metales pesados que pueden inducir la expresión de las proteínas chaperones de estrés que mejoran la tolerancia térmica. La inducción de las proteínas de estrés térmico (HSP por sus siglas en inglés) beneficia a los organismos mediante la mejora de su capacidad para recuperarse del estrés ambiental y para hacer frente al estrés posterior (Parsell et al., 1993). Los organismos del intermareal se someten también al estrés físico causado por las olas en marea alta, y puede llegar a limitar el tamaño máximo del cuerpo y en el caso de los mejillones, desprenderse de las rocas si el oleaje es muy fuerte (Denny y Wethey 2001).



Las especies marinas que viven en la zona intermareal rocosa experimentan una variabilidad temporal y espacial de condiciones ambientales, debido al impacto del oleaje, disponibilidad de alimento, cambios en la temperatura y la desecación (Paine 1976, Menge y Farrell 1989). Los procesos bioquímicos y fisiológicos de los organismos del intermareal pueden alterarse como respuesta a las variaciones ambientales. Esto se refleja en el crecimiento, la reproducción y movilidad, y puede modificar su respuesta a las condiciones del ambiente (Hofmann y Somero, 1995). También se ha demostrado que la temperatura y más específicamente la temperatura corporal es otro de los factores más importantes que influyen en la supervivencia, crecimiento y reproducción (Halpin et al., 2004, Helmuth et al., 2006, Menge et al., 2008). Las respuestas fisiológicas pueden tener efectos en la distribución y abundancia de una sola especie y su interacción con otras del mismo hábitat, por ende en toda la estructura de la comunidad intermareal (Menge et al., 1994). El intermareal es un ambiente con un gradiente de temperatura altamente variable, lo que provoca estrés en las especies que lo habitan (Helmuth, 1999).

Las variaciones en la disponibilidad de alimento y nutrientes tiene profundos efectos en la fisiología de los organismos del intermareal que se alimentan de materia orgánica suspendida (Bayne et al., 1993, Kreeger et al., 1995). Estudios realizados en la costa de Oregon, sugieren que la estructura y regulación del intermareal rocoso puede variar en la zona costera con la concentración de fitoplancton y la productividad primaria. La aportación de energía a la zona intermareal ocurre a través de los invertebrados marinos suspensívoros, principalmente mejillones y balanos (Menge et al., 1994). Cuando se ve modificada la productividad primaria, por cambios de origen antropogénico o climáticos, pueden ser necesarios ajustes en las tasas de los procesos fisiológicos de los organismos que conforman la comunidad. Esto para llevar a cabo la demanda metabólica requerida, en respuesta a los suministros de energía que estén disponibles (Bayne et al., 1993). Por lo tanto la variación en la disponibilidad de alimento puede verse reflejada en la variación de la actividad metabólica.



La respuesta metabólica de los individuos cuando son sometidos a condiciones extremas o cambios de las condiciones ambientales, resulta en alteraciones de la síntesis de proteínas o del metabolismo que impacta el desarrollo, crecimiento o la reproducción. Los indicadores bioquímicos de estrés o metabólicos pueden ser usados como una foto instantánea de la condición del organismo. Uno de éstos indicadores es la relación o índice ARN/ADN (Dahlhoff, 2004), este índice refleja la capacidad de síntesis de proteínas de cierto tejido, en una determinada condición y tiempo (Foster et al., 1993, Stillman et al., 1994).

El uso del índice ARN/ADN para la determinación del estado nutricional se basa en que la cantidad de ADN (el portador de la información genética) por célula es constante en los individuos de la misma especie, y esta cantidad no varía en condiciones de estrés. Por esto el ADN ha sido empleado como índice del número de células y de biomasa. Por otra parte, la mayor parte del ARN de una célula (85-90%) es ribosómico, y su concentración es función del grado de síntesis de proteínas. Por tanto el índice ARN/ADN se puede considerar como un indicador del grado de actividad metabólica de la célula. Este índice ha sido empleado por muchos autores para la estimación de la condición nutricional y el crecimiento en larvas de peces marinos (Buckley et al., 1984, Guderley et al., 1996, Carter et al., 2000), así como en bivalvos y crustáceos en acuicultura (Mayrand et al., 1994, Martínez et al., 2000).

Uno de los bivalvos marinos considerado como especie ingeniero del intermareal rocoso es el mejillón californiano o choro, *Mytilus californianus* por adherirse firmemente al sustrato en densas capas. En la costa de Baja California crean camas de mejillones es el mejillón, donde se genera un micro hábitat que alberga una gran diversidad de organismos. Durante la marea baja proveen de protección contra depredadores y en marea alta del oleaje (Fig. 1.2.a) (Suchanek 1985). Se ha considerado que las propiedades de bioingeniería del mejillón mejoran la biodiversidad local al mismo tiempo que facilitan el establecimiento y persistencia de una variedad de pequeños invertebrados en el intermareal rocoso (Arribas et al., 2013), por lo que son considerados como “*especie clave*” en el intermareal rocoso.



Los bancos de mejillones en su mayoría de la especie *Mytilus californianus* (Conrad 1837) dominan en la costa expuesta del noroeste del Océano Pacífico desde Alaska hasta Baja California (Ricketts et al. 1985). Son una comunidad ecológicamente importante de la zona y se le han asociado a las camas de mejillón más de 300 especies en una sola ubicación (Fig. 1.2 b) (Suchánek ,1992). Sin embargo, camas densamente pobladas de mejillón, tienden a tener menor diversidad que aquellas que tienen periodos de disturbio con cierta frecuencia. Las camas que forman pueden medir varios metros de ancho en la zona intermareal media y en el submareal hasta los 24 metros de profundidad. Entre las especies que albergan se encuentran diversas especies de moluscos gasterópodos y gusanos poliquetos, también acumulan una mezcla arenosa de fragmentos de concha que proporciona hogar a los mismos poliquetos, anemonas y cangrejos. Por otra parte la estrella de mar *Pisaster ochraceus* regula la abundancia de *M. californianus*. Sin embargo también es depredado por las aves playeras, cangrejos y caracoles. Los mejillones son filtradores que consumen gran cantidad de plancton y detritus. En el intermareal funcionan como enlace de energía, contribuyen como consumidores primarios y representan una fuente de alimento para un gran número de depredadores (Paine y Levin, 1981) entre los que destacan en Baja California, la estrella de mar *Pisaster ochraceus* y la langosta espinosa *Panulirus interruptus*.



Figura 1.2 a) Zona intermareal rocosa de Bajamar, expuesta al oleaje intenso. b) Cama de mejillones en la zona intermareal donde se albergan cientos de especies durante la marea baja.

El mejillón de California es un molusco bivalvo de color negro azulado con fuertes costillas radiales en su concha y líneas de crecimiento irregulares cuyo tamaño adulto oscila entre 60 y 150 mm (aunque



pueden alcanzar mayores dimensiones particularmente en el submareal) en función de su ubicación en el intermareal y la disponibilidad de alimento entre otros aspectos (Fig.1.3). A menudo la superficie de su concha está erosionada o desgastada. El interior de la concha es de color gris azulado, más oscuro en los márgenes. Los mejillones abren sus conchas ligeramente para poder comer detritus orgánico y fitoplancton suspendido en el agua de mar. Un mejillón de tamaño medio puede filtrar de dos a tres litros de agua por hora. La época de reproducción se extiende durante todo el año, aunque los picos reportados en California son en julio y diciembre. Los mejillones adultos emiten espermatozoides u óvulos en la columna de agua donde ocurre la fertilización, y el desarrollo de su etapa larval. Su fase larval culmina con el estadio de larva competente que se distingue por la presencia de una mancha ocular. Al estadio competente le continúa el asentamiento, que ocurre con la ayuda del pie, el cual le permite a la larva desplazarse, lo que indica la búsqueda del sustrato para dar inicio a la metamorfosis. Al momento de la metamorfosis, la larva comienza a generar una especie de cuerda de naturaleza proteínica compleja a la que se le denomina biso, y es generada por la glándula del mismo nombre. Esta estructura le permite a la larva fijarse en las rocas, y su secreción continua durante la vida del organismo juvenil y adulto (Morris et al., 1980). El choro ha sido utilizado como fuente de alimento en Baja California, éste fue consumido por poblaciones indígenas de la península, donde actualmente es explotado en forma artesanal.

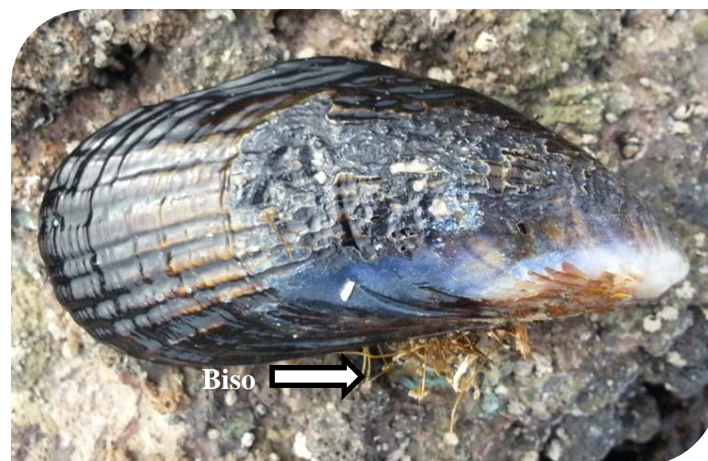


Figura 1.3.Mejillón *Mytilus californianus*, molusco bivalvo de conchas azuladas y erosionadas, con márgenes que indican su crecimiento. En la parte inferior puede apreciarse el biso, estructura para su fijación en las rocas



El ambiente pelágico del Océano Pacífico frente a la Península de Baja California forma parte del Sistema de la Corriente de California (SCC). En esta zona los florecimientos de fitoplancton soportan una red trófica compleja. Los afloramientos se caracterizan por ser estacionales y modulados por la intensidad y dirección del viento (Durazo et al., 2010). Como consecuencia se generan cambios físicos y químicos en la zona eufótica. Los nutrientes aumentan y disminuye la temperatura y el oxígeno. Éste fenómeno es conocido como surgencia, que como consecuencia eleva la productividad primaria, que incluye un complejo proceso de interacción físico-biológica en la columna de agua (Mann y Lazier, 1991). También la topografía local y el ambiente costero pueden influir en su variabilidad y dan lugar al ciclo estacional de surgencias. Las poblaciones de invertebrados y peces pelágicos que viven frente a la Península de B.C. se ven impactados en diversidad y abundancia por los eventos de surgencia (Durazo et al., 2010).

En México a partir de 1997, el Programa Oceanográfico IMECOCAL (Investigaciones Mexicanas de la Corriente de California, imecocal.cicese.mx) realiza monitoreos cuatrimestrales frente a la costa occidental de la Península. Estudian los patrones y procesos relacionados con la variabilidad climática del océano, y sus efectos en el ecosistema pelágico. Sin embargo, los datos obtenidos más cercanos a la costa se adquieren a una distancia de 11 km, por lo que aún se desconoce gran parte del comportamiento químico de la zona más cercana a la costa. Su estudio se ha vuelto fundamental y constituye una de las fronteras oceanográficas más relevantes para poder entender el impacto del cambio climático (Durazo et al., 2010). Uno de los modelos ecológicos que nos permiten estudiar procesos y patrones a diferentes escalas son las comunidades del intermareal rocoso y sus especies clave. Además de incorporar procesos oceanográficos como moduladores del ecosistema (Menge et al., 1997).



En el presente estudio se documentó la respuesta fisiológica de juveniles del mejillón *Mytilus californianus* sometidos a variaciones de temperatura del agua de mar en condiciones de laboratorio y trasplantados en campo. Para lo anterior se utilizaron mejillones provenientes de distintas comunidades intermareales de la costa de occidental de Baja California. En el capítulo 2, se incluye el experimento en campo, donde se estudió la respuesta de los mejillones trasplantados a condiciones oceanográficas contrastantes en el intermareal Punta Morro, en el cual se incluyeron tres poblaciones de mejillones de la costa de Ensenada BC, y que fueron de Bajamar, Eréndira, Punta Baja. Los mejillones provenientes de Punta Morro se consideraron como nativos, ya que no fueron trasplantados. En el capítulo 3, se aborda la temática del experimento en condiciones de laboratorio, en el que se utilizaron mejillones provenientes de Bajamar y Punta Baja (en Ensenada).



Justificación

El intermareal rocoso de la costa occidental de Baja California representa un hábitat altamente dinámico influenciado principalmente por las condiciones oceanográficas que le confiere el Sistema de la Corriente de California (SCC). Una de las especies claves es el mejillón o choro *Mytilus californianus*, por lo que estudios que proporcionen información acerca de la variabilidad de su respuesta fisiológica en condiciones de laboratorio e *in situ*, serán de gran utilidad para entender como esta respuesta se relaciona con los procesos oceanográficos a lo largo de la costa. Además ayudará a entender los efectos que puede tener en un ambiente alterado por el aumento de temperatura en la comunidad del intermareal rocoso. Asimismo se considera que las fases más vulnerables de las especies en general y del mejillón en particular, son sus primeros estadios de vida, la cual incluye su etapa juvenil. Por lo anterior, se consideró la etapa juvenil, para llevar a cabo éste estudio, además de que esta etapa del ciclo de vida resulta fácil de monitorear *in situ*.

En el contexto del cambio climático, no tenemos estudios recientes que nos indiquen como éste puede estar afectando a las poblaciones del mejillón en la costa de Baja California. Incluir en este estudio una aproximación de la respuesta del organismo a condiciones contrastantes a las de su sitio de origen puede proveernos de información de la respuesta de los organismos a las condiciones generadas por el calentamiento y acidificación futura del océano. Las consecuencias directas de la posible disminución de los bancos de mejillón a lo largo de la costa, se reflejarían principalmente en la economía de las comunidades pesqueras de la región, ya que representa una fuente de proteína de fácil acceso, además de su utilidad como carnada para otras pesquerías como la de la langosta espinosa *Panulirus interruptus*. Asimismo, su disminución traería como consecuencia una pérdida de la biodiversidad, al alterarse la trama trófica en una de las comunidades marinas del intermareal ícono en la costa occidental de Baja California.



Sitios de estudio

La costa occidente de Baja California se ubica entre las latitudes 28 y 32°N, y comprende climas templado y seco con lluvias de invierno. La temperatura media anual es de 18 a 19°C, con temperaturas máximas mayores de 30°C de mayo a septiembre, y mínimas de 5°C en enero. Las lluvias en la región son muy escasas, con alrededor de 200 mm de precipitación total anual (INEGI, 2015).

Debido a la influencia del SCC la temperatura del agua de mar varía entre los 13 y 23°C, con presencia de eventos de surgencias costeras estacionales principalmente entre los meses de abril a junio. La vegetación terrestre dominante es el matorral costero y a lo largo de toda la línea de costa se destaca la presencia de zonas rocosas, dunas costeras y playas arenosas bordeadas de acantilados. Los principales problemas ambientales y ecológicos en el área están relacionados con el suministro de agua, la contaminación de aguas costeras por desechos y descargas residuales, la alteración de ecosistemas naturales, así como la sobreexplotación de recursos marinos (Peña, 2011).

Los sitios de donde se obtuvieron los juveniles de *Mytilus californianus* fueron: Bajamar (**BM**) N32°00'52.831" y O116°52'36.482", Punta Morro (**PM**) N31°52'05.363" y O116°39'49.032", Ejido Eréndira (**ERE**) N31°19'15.782" y O116°26'11.677" y Punta Baja (**PB**) N29°56'56.817" y O115°48'46.758". La ubicación de los sitios de muestreo de norte a sur, se presenta en la Figura 1.4.



Tabla I. Distancia en kilómetros que existe entre cada uno de los sitios de procedencia de los mejillones juveniles utilizados en el experimento de trasplantes.

Sitio	Bajamar	Punta Morro	Eréndira
Bajamar			
Punta Morro	26		
Eréndira	87	64	
Punta Baja	250	226	163

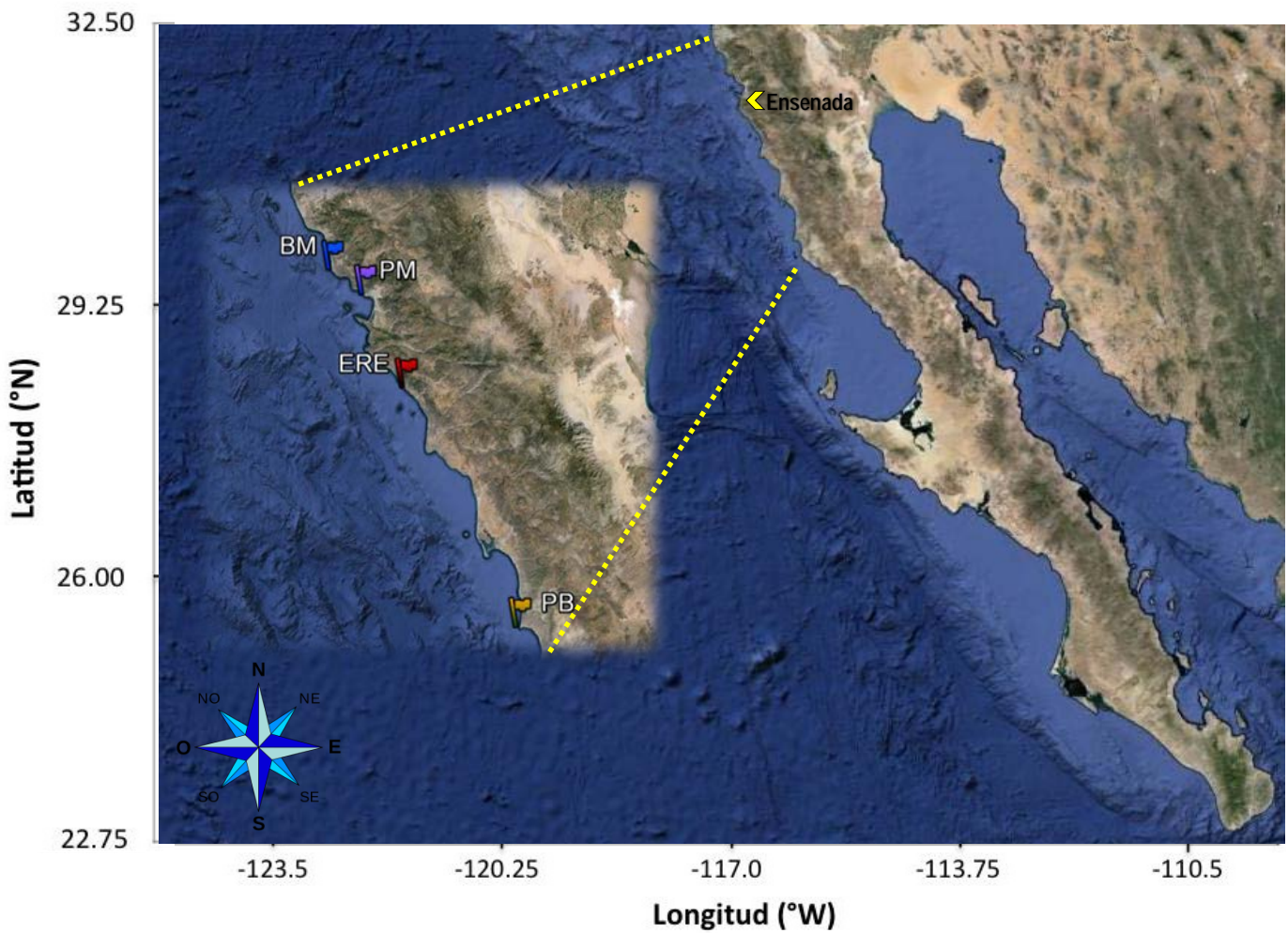


Figura 1.4 Mapa de la ubicación espacial de los 4 sitios de procedencia de los mejillones en la península de Baja California.

▪ Bajamar

Localidad situada a 25 km al norte del puerto de Ensenada, caracterizado por una terraza costera expuesta al oleaje intenso. La orientación con vista al mar es hacia el suroeste, y su intermareal se extiende por más de 40 m. A sus alrededores se encuentra una edificación turística que colinda con un campo de golf (Fig. 1.5).



Figura 1.5. a) Imagen satelital de la ubicación del intermareal rocoso de Bajamar tomada de Google Earth©. Se aprecia el color verde del campo de golf dentro de la edificación turística y b) su configuración espacial con exposición directa al oleaje, y una abundante cama de mejillones.

▪ Punta Morro

Ubicado en el extremo norte de la Bahía Todos Santos en la ciudad de Ensenada. La zona supralitoral esta interrumpida por un muro de protección que colinda con la UABC, y su zona meso litoral llega a extenderse por más 55 m (Fig.1.6)

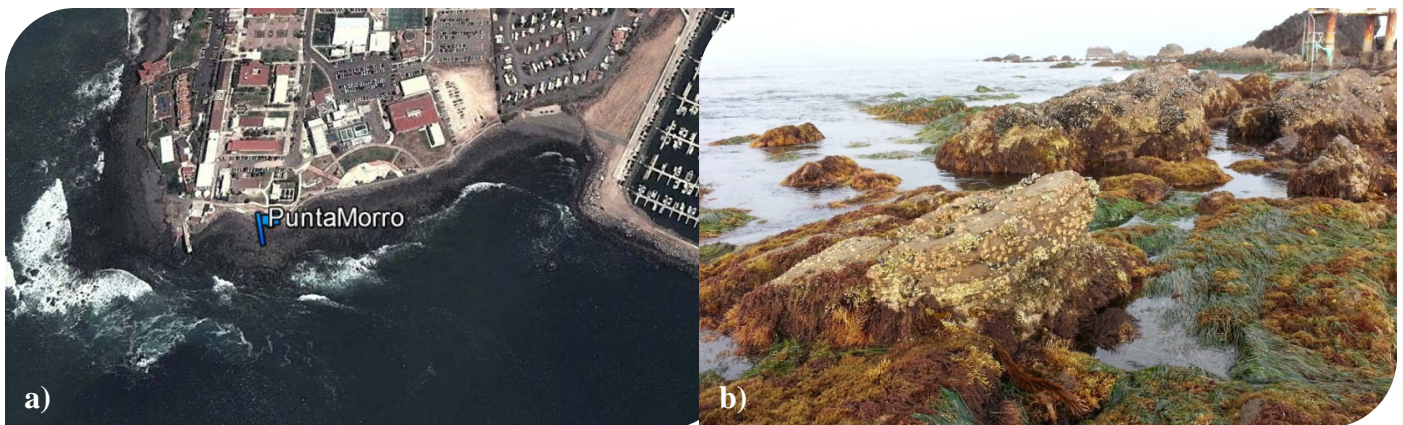


Figura.1.6. a) Imagen satelital de la ubicación del intermareal rocoso de Punta Morro tomada de Google Earth© donde se aprecia como colinda con el campus UABC. b) su configuración espacial semi expuesta al oleaje.



- Ejido Eréndira

El intermareal rocoso es una extensa terraza marina de rocas sedimentarias. Su costa está expuesta a la energía del oleaje con orientación hacia el mar suroeste. La plataforma se extiende hasta por 30 m, (Fig. 1.7). A sus alrededores se encuentra un ejido del mismo nombre con 1500, habitantes.



Figura.1.7. a) Imagen satelital de la ubicación del intermareal rocoso de Eréndira tomada de Google Earth© en una zona no habitada y b) su configuración espacial, con exposición directa al oleaje.

- Punta Baja

Está localizada a la mitad de la costa occidental de B.C., 50 km al sur de la Bahía San Quintín y 15 km al suroeste del poblado El Rosario. Es una formación de roca sedimentaria, conformada principalmente de arenisca y aportaciones de conglomerado, presenta exposición al oleaje con orientación al noroeste y su zona intermareal se extiende en ocasiones por más de 100 m de franja expuesta durante la marea baja (Fig.1.8.)

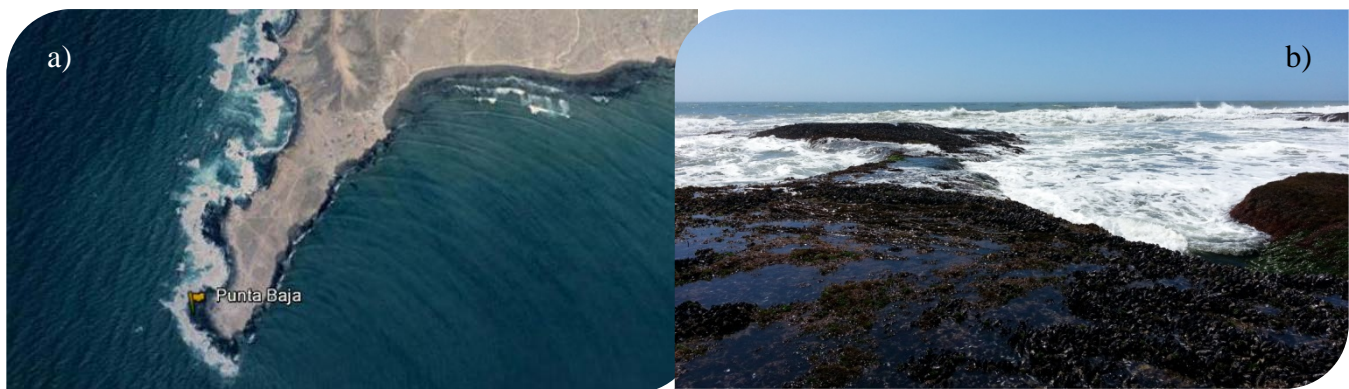


Figura.1.8. a) Imagen satelital de la ubicación del intermareal rocoso de Punta Baja tomada de Google earth© donde se observa la forma de la costa en punta y b) su configuración espacial, con una alta exposición directa al oleaje.



Las 4 localidades se encuentran influenciadas por el SCC, sin embargo cuentan con características particulares. En la tabla II se exponen algunas condiciones ambientales incluyendo fauna y flora dominante para cada sitio.

Tabla II. Contraste de temperatura anual, clorofila presente durante el periodo de surgencias, exposición oleaje, orientación, fauna y flora dominante, y poblaciones cercanas, de los sitios de procedencia de los mejillones.

Condiciones Oceanográficas	Bajamar	Eréndira*	Punta Baja	Punta Morro*	Referencia
Temperatura Invierno Primavera (Enero-Junio)	15.9±1.5°C	15.4±1.1°C	15.75±1.03°C	17.1±1.5°C	
Temperatura Verano-Otoño (Julio-Diciembre)	20.3±1.3°C	19.76±1.29°C	20.2±1.04°C	20.9±2.0°C	MODIS aqua (4km)
Clorofila (mg/m ³) durante surgencia	4.97	9.43	8.64	5.7	
Exposición al oleaje	Expuesto	Semiexpuesto	Expuesto	Semiprotegida	
Orientación	Suroeste	Suroeste	Noroeste	Sur	
Fauna dominante móviles	<i>Lottia gigantea</i> , <i>Pisaster</i> <i>ochraceus</i>	<i>Nucella sp.</i> , <i>Littorina sp.</i>	<i>Strongylocentrotus</i> <i>purpuratus</i> , cangrejos <i>ermitaños</i>	<i>Chlorostoma</i> <i>sp.</i> , Quitones y caracoles	Canales, 2012
Fauna dominante sésiles	<i>Mytilus californianus</i> , balánidos, percebes y anémonas				
Flora dominante macroalgas	Algas corticadas y calcáreas costrosas	Algas calcáreas, filamentosas, no costrosas	Algas calcáreas y costrosas	Algas corticadas y calcáreas costrosas	Peña, 2011
Población cercana	Complejo Turístico Bajamar.	Ejido Eréndira	El Rosario (15 km)	Ensenada- campus UABC	

*Nota: estos sitios de muestreo se encuentran más alterados en cuanto a la biodiversidad de flora y fauna existente en la actualidad en comparación con Punta Baja y Bajamar, por lo que la fauna y flora dominantes muy probablemente no corresponden al registro histórico de los sitios



Capítulo II.

Trasplante de *Mytilus californianus* en Punta Morro

Resumen

En este capítulo se analiza la respuesta de mejillones juveniles *Mytilus californianus* trasplantados en el intermareal de Punta Morro (PM), provenientes de 3 localidades distintas, Bajamar (BM), Eréndira (ERE) y Punta Baja (PB) ubicadas en la costa occidental de Baja California. El trasplante se realizó por medio de cajas construidas con cemento y malla de acero. El diseño experimental incluyó 3 réplicas (cajas) por sitio (BM, ERE, PB y PM) con 80 mejillones cada una, con un intervalo de talla de 15-22 mm. Los mejillones estuvieron expuestos por 3 meses durante el periodo comprendido entre mayo y agosto del 2014. Para evaluar el crecimiento se realizaron muestreos mensuales donde se registró la talla de la concha a lo largo (L), ancho (An) y alto (Al), peso húmedo total ($Psht$), peso húmedo de la carne ($Pshcr$), peso seco de la concha ($Psch$) y peso seco total (Pst). También se registró *in situ* la temperatura superficial de mar (TSM), oxígeno disuelto (OD) y pH. Adicionalmente, los valores oceánicos de TSM y concentración de Clorofila-a ([Clor-a]) de las 4 localidades se obtuvieron a partir de datos satelitales del sensor *MODIS-aqua* (a 4km de la costa). Como indicador de la capacidad de síntesis de proteínas y de actividad metabólica se utilizó el índice ARN/ADN en la etapa inicial y final del trasplante. El incremento total del largo de la concha para los mejillones trasplantados osciló entre 4.39 ± 0.66 (BM) y 5.33 ± 1.11 mm (PM), de alto entre 2.41 ± 0.31 (BM) y 2.85 ± 0.79 mm (PM) y de ancho entre 1.23 ± 0.89 (PM) a 1.71 ± 0.16 mm (PB). El peso de la concha representó el 90% del peso total del mejillón y el peso total osciló entre 0.346 ± 0.02 (ERE) y 0.575 ± 0.079 (PM) g. Mientras que el peso húmedo de la carne entre 0.159 ± 0.05 (ERE) y 0.220 ± 0.04 g (PM). La TSM *in situ* indicó un máximo de 23°C y mínimo de 18°C . El promedio de la TSM de datos satelitales osciló entre 14.2 y 22.1°C , los valores más elevados se observaron en PM durante todo el experimento. La [Clor-a] osciló entre 7.05 (ERE) y 4 mg/m^3 en el mes más intenso de surgencias (abril) y durante el trasplante fluctuó entre 5.33 y 0.46 mg/m^3 en PM se observaron los valores más elevados. El OD osciló entre 9.92 mg/l y 6.43 mg/l y tuvo una correlación negativa con la temperatura. El pH se registró en el intervalo de 7.98 - 8.33 (NBS) y no presentó correlación directa con el resto de los parámetros, aunque se relacionaron sus oscilaciones con los procesos de respiración y fotosíntesis del intermareal. El índice ARN/ADN en etapa inicial fue mayor que en la etapa final los valores calculados estuvieron en un intervalo de 0.17 ± 0.03 - 0.24 ± 0.05 (PB). A pesar de que no se encontraron diferencias significativas con excepción de PB, se presentó una correlación inversamente proporcional con [Clor-a] y la temperatura. Las relaciones biométricas *Largo-Ancho*, *Largo-Alto*, indicaron que los mejillones de BM presentan un crecimiento alométrico positivo, mientras que el resto de las poblaciones incluidas presentaron un crecimiento alométrico negativo. Sugerimos morfotipos para los mejillones de BM angostos, ERE más anchos y con un surco característico en la unión de las valvas que comparte con los de PM, para los de PB el alto de la concha se presenta en forma de “abanico” en su fase juvenil. Las asociaciones de morfotipos se realizaron con base en las características oceanográficas de los sitios. Se concluye que *Mytilus californianus* es una especie con una plasticidad fenotípica y fisiológica lo que le permite su amplia distribución en la costa occidental de Baja California, influenciada por el Sistema de la Corriente de California y posiblemente morfotipos locales, adaptados a condiciones locales a lo largo de su distribución le confieran una mejor posibilidad de adaptación a las condiciones del cambio global que se presentan actualmente en el océano.



2.1 Introducción

El estudio del intermareal rocoso por lo general se enfoca a especies clave, como los mejillones del género *Mytilus*, por ejemplo para el más común de la costa occidental de Baja California, *Mytilus californianus* se ha estudiado la distribución, abundancia, talla y reclutamiento en las costas de California, E.U. (Blanchette y Ganes 2007), los gradientes espaciales en el potencial reproductivo (Phillips, 2007) y de depredación (Bayne, 2004), la disponibilidad de alimento y cambios latitudinales de temperatura, (Helmuth et al., 2006). Asimismo se han llevado a cabo estudios de las proteínas de choque térmico (Osovitz y Hoffman, 2005; Sagarin y Somero, 2006) y proxies del estado fisiológico, como la tasa de crecimiento (Yamahira y Conover, 2002), el tamaño del cuerpo (Roy y Martien, 2001), además de micro hábitats asociados a las camas de mejillón (Helmuth y Hoffman, 2001), y la depredación (Menge y Sutherland, 1987) por mencionar algunos.

Uno de los métodos utilizados por los ecólogos marinos dedicados al estudio de las zonas intermareales *in situ* es el de trasplantes recíprocos de organismos de un sitio a otro. En cajas de trasplante los organismos son sometidos a condiciones ambientales y oceanográficas distintas a las de su sitio de origen. Así se puede evaluar la respuesta de los organismos a una condición distinta a la de su hábitat de origen (Menge et al., 1994). Con éste método Roesijadi et al. (1984), utilizaron como modelo el mejillón chileno *Mytilus chilensis* para documentar la acumulación de metales traza (Cu, Zn, Cd, Hg y Ag) que incorporan los mejillones en el momento de su alimentación. Los mejillones utilizados fueron trasplantados recíprocamente entre las localidades Sequim Bay y Tacoma, Washington.

Con el mismo método Nasci et al. (2001) estudiaron marcadores bioquímicos e índices fisiológicos como indicadores de supervivencia en marea baja del mejillón *Mytilus galloprovincialis*, trasplantados en cinco sitios contaminados de diferentes lagunas de Venecia y Pellestrina, en el Mar Adriático.

Los estudios realizados por Helmuth et al. (2002, 2006) utilizaron “*robomussels*” (sustitutos de conchas de mejillones que encierran un pequeño sensor incrustado en caucho de silicona que produce



temperaturas corporales similares a las de mejillones vivos y registra los datos) para entender la respuesta al estrés térmico en el intermareal. Sus estudios revelaron un fuerte gradiente de norte a sur en la temperatura máxima y media de las zonas intermareales a la mitad de la Isla Tatoosh, Washington y Alegria, California, EUA (~1620 kilómetros de diferencia). El máximo anual de temperaturas fueron 25.4 y 39.5°C respectivamente, y las temperaturas medias anuales fueron 9.9°C y 15.7°C. Finalmente estos autores sugieren la posibilidad de que las variaciones de temperatura entre los sitios a lo largo del amplio rango latitudinal pueden favorecer la adaptación de condiciones locales y de estrés térmico de *Mytilus californianus* (Helmuth et al., 2002, 2006).

En la costa de Oregon, EUA, Menge et al., (1994) evaluaron la tasa metabólica de *Mytilus californianus* y *M. trossulus* a lo largo de un gradiente de exposición con distintas concentraciones de fitoplancton y exposición de oleaje, además de la variación de la fuerza de interacción entre la estrella de mar *Pisaster ochraceus* y ambas especies de mejillones. Para lo anterior trasplantaron mejillones en condiciones de oleaje y en una zona protegida. Los autores concluyeron que el crecimiento *M. californianus* está directamente relacionado con la disponibilidad de alimento (Clorofila-a).

En otro trabajo Dahlhoff y Menge (1996) examinaron la relación entre la disponibilidad de alimento cerca de la costa y el estado fisiológico por medio de la relación ARN/ADNA, donde sugieren que la fisiología del mejillón es muy plástica en respuesta a las variaciones del medio ambiente.

El estudio de la zona costera de B.C. por parte del Instituto de Investigaciones Oceanológicas comenzó en 1977 con trabajos sobre la ecología del mejillón, en la zona intermareal de Eréndira, B.C. mediante el proyecto titulado “Bivalvos de Baja California“. En este proyecto se realizaron estudios de la circulación costera, se determinaron los parámetros ambientales de la zona, la composición bioquímica del agua y la biología reproductiva del mejillón californiano entre otros aspectos. Posteriormente se estudió la fijación de larvas por medio de colectores artificiales, la composición del plancton, la biología, ecología y explotación comercial de *Mytilus californianus* en la localidad de Eréndira (Olguín-Espinoza, 1983, Chí y García 1983, Salas y Oliva, 1983). También se han realizado estudios



en la Bahía Todos Santos con experimentos sobre el cultivo (Cancino-Franklin, 1985) y fijación de Mitílidos sobre colectores artificiales (Curiel, 1999).

En el 2005 se retomó el estudio del intermareal rocoso asociado a las camas de choro en Baja California, mediante el proyecto: Caracterización de las poblaciones de *Mytilus californianus* y *Pisaster ochraceus*, especies estructuradoras de la comunidad del intermareal rocoso y que son explotadas a lo largo de la costa de Baja California, en el cual se incluyó una prospección inicial del intermareal asociado a los bancos de mejillones y el monitoreo estacional durante un año a lo largo de las localidades seleccionadas que incluyeron : Bajamar, Eréndira, Punta Baja, Ojitos, Krutsio, y Esmeralda. El objetivo principal fue evaluar la abundancia y diversidad de especies en cada uno de los sitios. Asimismo analizar el sistema de acoplamiento físico-biológico que existe entre estas comunidades intermareales y la región oceánica, además de cuantificar la tasa de reclutamiento y el índice gonadal del mejillón *Mytilus californianus* y de organismos móviles (Peña 2011, Canales, 2012).

En el presente trabajo nos hemos planteado las siguientes preguntas de investigación para el estudio de juveniles de *Mytilus californianus*:

- i. ¿Cuál es la respuesta fisiológica de mejillones juveniles de distinta procedencia trasplantados en un sitio diferente al de su origen?
- ii. ¿Existe alguna diferencia asociada a las condiciones oceanográficas del sitio de origen de los mejillones?
- iii. En las condiciones del trasplante, ¿Los mejillones estuvieron sujetos a una condición de estrés térmico que pudiera reflejarse en su crecimiento y respuesta fisiológica?

2.2. Objetivo General

- ✓ Evaluar la respuesta de juveniles del mejillón *Mytilus californianus* trasplantados en un escenario local (Intermareal Punta Morro) contrastante al de su sitio de origen, incluyendo mejillones de 3 localidades distintas de la costa occidental de Baja California: Bajamar, Eréndira y Punta Baja.



2.2.1 Objetivos particulares

- ✓ Evaluar el crecimiento de los mejillones nativos y con distinta procedencia, trasplantados en el intermareal de Punta Morro.
- ✓ Contrastar la morfología de los mejillones a lo largo del experimento, para conocer la morfología típica de cada sitio.
- ✓ Analizar el estado fisiológico de los mejillones en condiciones iniciales del trasplante y al final del experimento.
- ✓ Relacionar las condiciones oceanográficas de los sitios de estudio en términos de clorofila y temperatura con la respuesta morfológica y fisiológica de los mejillones.

2.3. Hipótesis

Se espera que la respuesta de los mejillones trasplantados, provenientes de BM, ERE y PB, presenten una respuesta diferente a los mejillones nativos de PM. Lo anterior, ya que serán sometidos a condiciones distintas a las de su origen. PM es el sitio que presenta las temperaturas y concentración de clorofila más altas en todo el año con respecto al resto, sin tomar en cuenta los meses de surgencia. Además se espera observar una respuesta latitudinal de norte a sur en las variables morfométricas, relacionado con las condiciones ambientales de cada intermareal rocoso.

Por su parte, el estado fisiológico de los mejillones puede verse afectado al final del experimento en sitios con distinta procedencia, disminuyendo el índice ARN/ADN, pues serán sometidos a condiciones de temperatura más elevadas, mientras que los de PM presentaran su condición fisiológica basal.



2.4 Materiales y Métodos

2.4.1. Recolecta de los organismos

La recolecta de los mejillones se llevó a cabo en marea baja (Tabla III). En la zona media de cada uno de los sitios intermareales se recolectaron de manera aleatoria aproximadamente 100 mejillones juveniles de la especie *Mytilus californianus*, con un intervalo de talla entre 15 y 30 mm. Se extrajeron de manera manual de las camas de mejillones y se tuvo un especial cuidado para no recolectar mejillones de otra especie. Finalizado el muestreo se almacenaron en una hielera para ser transportados al Laboratorio de Ecología y Biología del Desarrollo (ECODEL), de la Universidad Autónoma de Baja California. Posterior a su llegada se trasladaron inmediatamente a contenedores de plástico los cuales se colocaron en un estanque con agua de mar y flujo abierto. Los mejillones se mantuvieron en contenedores individuales de acuerdo a su lugar de procedencia y permanecieron con un flujo de agua de mar constante y aireación a temperatura ambiente (18-19°C). Durante este periodo fueron alimentados con una combinación de *Isochrysis galbana* y *Rhodomonas sp.* 1:1 10L diarios, con el objetivo de no generar estrés por falta de alimento. El trasplante de los organismos a PM se realizó el 17 de mayo del 2014.

Tabla III. Datos de la colecta realizada en las 4 zonas intermareales. Se incluye día, hora, coordenadas, temperatura y oxígeno disuelto registrados de manera *in situ* en la superficie del agua al momento del muestreo.

Sitio	Coordenadas	Fecha	Hora	Temperatura	Oxígeno
BM	N 32°00'52.831" W 116° 52'36.482"	23/04/14	11:30	14.1°C	8.35 mg/l
ERE	N 31°19'15.782" W 116° 26'11.677"	24/04/14	12:30	15.5°C	8.30 mg/l
PB	N 29°56'56.817" W 115° 48'46.758"	01/05/14	6:30	13.0°C	8.84 mg/l
PM	N 31°52'05.363" W 116° 39'49.032"	14/05/14	5:47	16.0°C	8.65 mg/l

2.4.2. Construcción de cajas de trasplante

Para colocar los mejillones en el sitio de trasplante, monitorearlos y protegerlos de la depredación, se diseñaron cajas especiales. Éstas se construyeron con el modelo propuesto por Menge et al. (1994), con modificaciones de material de fácil acceso y recomendaciones del técnico del laboratorio Javier García Pámanes (IIO-UABC). Se construyeron cuadros de cemento de 12x12 cm, y se les colocó una malla de acero cuadriculada de 0.5 cm de luz de malla, con una altura de 7 cm de manera que quedara embebida en el cemento. A la base del cemento se le incrustó una fibra verde con la finalidad de que los mejillones tuvieran una superficie donde pudieran secretar el bisco y mantenerse adheridos. En la parte central se les colocaron taquetes para su posterior fijado en las rocas del intermareal. Para cerrar la caja, se les colocó una tapa de la misma malla unida con cinchos de plástico, para que pudiera ser fácil su apertura y sellado (Fig. 2.1). Para el registro de la temperatura, se incluyeron dos termógrafos (Hobos©) en dos de las cajas experimentales que se ubicaron en los extremos laterales de su distribución en el intermareal. Los termógrafos se fijaron a la caja de trasplante con cinchos unidos al taquete de la tabla. Después de dos días de secado del cemento, se procedió a hacer el “curado” de las tablas, dejándolas por 5 días, antes de colocarlas en el intermareal. Las tablas permanecieron en el mismo estanque donde se mantuvieron a los mejillones, previo a su colocación en las mismas.



Figura 2.1. Cajas de trasplante listas para la fijación de los mejillones. Cada caja está marcada con un cincho de color que le indica la procedencia de los mejillones, blanca (PM), azul (BM), amarillo (PB) y negro (ERE).



2.4.3. Diseño del experimento

Los mejillones recolectados de los sitios BM, ERE y PB, se consideraron como “*trasplantados*”, ya que fueron los que se extrajeron de su sitio de origen, mientras que los mejillones de PM, se les denominó “*nativos*” ya que permanecieron en el mismo intermareal donde se llevó a cabo el trasplante, por esta misma razón fueron considerados como control. Para cada sitio se realizaron 3 réplicas (3 cajas), con 80 mejillones juveniles cada una. Las 12 cajas fueron fijadas en el intermareal y 4 extras se mantuvieron de reserva en el estanque de los mejillones. A partir de la colocación de las tablas en el intermareal de PM el experimento tuvo una duración de 3 meses.

2.4.4. Biometría de los mejillones

Se realizó una selección de 80 mejillones de tallas similares, con el objetivo de disminuir la variación inicial entre cada uno de los sitios de recolecta. Se realizaron histogramas de frecuencia para verificar la variación inicial y que ésta no fuera significativa entre cada sitio. Los mejillones que se colocaron en las cajas se encontraron en un intervalo de 15-21 mm del largo de la concha (Fig. 2.2). Los parámetros biométricos de los mejillones incluidos para el estudio fueron: largo total (Lt), ancho (An) y alto (Al) de la concha en escala de milímetros (mm) medidos mediante un vernier digital Truper[®] con una precisión de 0.01mm. Las variables de peso se obtuvieron con una balanza analítica de 0.001 gr de precisión. En fresco se obtuvo el peso húmedo total (Ph_t) y peso húmedo de la carne (Ph_{cr}); el peso seco total (Pst) incluyó el peso seco de la carne del mejillón y de la concha. Sin embargo también se consideró el peso seco de la concha por separado ($Psch$). Todos los parámetros de peso se reportan en gramos (g).

En total se midieron y pesaron 960 mejillones, 240 por cada sitio. El peso seco al inicio del experimento, se obtuvo con mejillones del muestreo inicial, ya que se requirió la disección del organismo.

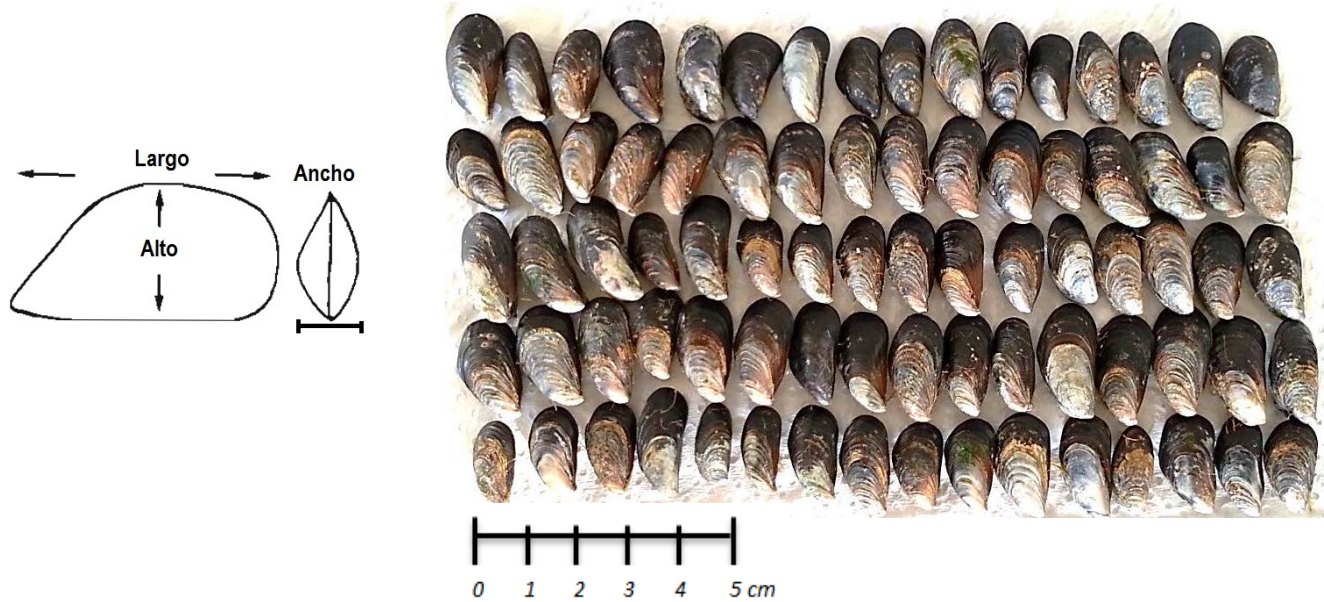


Figura 2.2. Parámetros biométricos obtenidos de la concha de los mejillones juveniles, largo, ancho y alto (izquierda). Se muestran 80 mejillones que fueron colocados en una de las cajas de trasplante, previamente medidos y pesados.

Durante el periodo experimental, se realizaron muestreos mensuales en marea baja, donde se extrajeron 5 mejillones de cada una de las cajas de trasplante. Posteriormente se guardaron en bolsas etiquetadas correspondientes al sitio de origen y se trasladaron al laboratorio ECODEL, posteriormente fueron medidos a lo largo, ancho y alto de la concha, y pesados en húmedo en la balanza. Finalmente, para el peso seco, se efectuó la disección de los mejillones para ser introducidos a la estufa a una temperatura de 60°C donde permanecieron por 48 horas. Transcurrido el tiempo en la estufa se pesaron con la balanza analítica.

2.4.5. Trasplante en el intermareal Punta Morro

Un día antes del trasplante, se colocaron los mejillones en su respectiva tabla. Cuando secretaron el biso se devolvieron al estanque donde permanecieron hasta el día siguiente para ser trasplantados (Fig. 2.3). La colocación de las tablas se llevó a cabo el 17 de mayo del 2014 durante una marea baja de 32 cm (5:49 a.m), en el intermareal de PM. En una zona de oleaje semi-expuesto se fijaron al sustrato rocoso, con tornillos de acero inoxidable de 10 cm los orificios en la roca se hicieron con un taladro con punta de diamante. La colocación de las tablas fue de manera aleatoria, no obstante

se procuró que todas quedaran a la misma altura de la zona media del intermareal en forma paralela a la costa y con una distancia aproximadamente de 50 cm entre cada una de ellas. Los termógrafos se colocaron en las 2 tablas que quedaron ubicadas en los extremos de su distribución (Fig. 2.4). Una vez que las tablas fueron colocadas se cerraron con cinchos de plástico para evitar la pérdida de los mejillones por depredación y oleaje intenso. Asimismo se registró la temperatura del agua cuando la marea subió y cubrió en su totalidad las tablas, al igual que la TSM y el OD.



Figura 2.3. Tablas de trasplante con los mejillones fijados en el laboratorio, un día antes de la colocación de las tablas en el intermareal de Punta Morro.



Figura 2.4. Colocación de tablas de trasplante en el intermareal Punta Morro. De izquierda a derecha, perforación de las rocas del intermareal mediante un taladro de gasolina, fijación al sustrato y arreglo final de las cajas en el intermareal.



2.4.6. Parámetros registrados en el intermareal (*TSM*, *OD* y *pH*)

Durante los 3 meses del experimento, se realizó un registro diario de la temperatura superficial del agua de mar (*TSM*) así como del oxígeno disuelto (*OD*) por medio de un oxímetro marca YSI[®]. El cálculo del porcentaje de saturación del oxígeno se realizó por medio de un calculador en línea. (www.hbuehrer.ch/Rechner/O2satur.html), para lo que se utilizaron los valores de temperatura y *OD* registrados *in situ*. La medición de *pH* se realizó con un potenciómetro marca HORIBA[®]. Las mediciones se llevaron a cabo diariamente a las 12:00 hrs. La toma de la muestra de agua fue cercana a las cajas de trasplante. Para el *pH* la muestra de agua del mismo sitio fue transportada al laboratorio ECODEL para llevar a cabo su medición junto con la temperatura del agua nuevamente. El potenciómetro se calibró con amortiguadores de 4, 7 y 10 de *pH*. Las mediciones se realizaron en escala NBS y a los valores obtenidos se ajustaron con una substracción de 0.13 unidades.

2.4.7. Datos satelitales de la *TSM* y concentración de *Clorofila-a*

Para poder conocer la variación de *TSM* y la concentración de *clorofila a* [*Clor-a*] de los 4 sitios de procedencia de los mejillones por un periodo de 10 años (2003-2013) y durante la recolecta y periodo experimental (abril-agosto), se utilizó la base de datos satelitales del sensor MODIS-aqua, con una resolución nominal de 4 km de distancia de la costa y con una temporalidad mensual. Se seleccionaron los pixeles correspondientes a las coordenadas de los sitios de muestreo y se promediaron los tres pixeles más próximos a la costa que cruza cada uno de los sitios con el fin de obtener datos entre 80 y 95% válidos. Las imágenes satelitales se graficaron con los valores promedio de temperatura y [*Clor-a*] obtenidos de la página web de la NASA (<http://gdata1.sci.gsfc.nasa.gov/>) para los sitios de interés durante el periodo en el que se llevó a cabo el trasplante en PM.



2.4.8 Extracción de ácidos nucleicos

Se calculó el índice ARN/ADN al inicio y al final del experimento, para poder analizar la respuesta fisiológica de los mejillones antes de ser trasplantados y la respuesta al finalizar los 3 meses del experimento. Se eligieron al azar 9 mejillones por cada sitio, adicionales a los incluidos en los 80 mejillones que se fijaron en las tablas, para llevar a cabo las extracciones al inicio del periodo experimental. Para la etapa final, en el último muestreo se extrajeron 3 mejillones extra de cada una de las cajas de trasplante. En total se realizaron 72 extracciones, 36 para la etapa inicial y 36 para la etapa final del experimento.

2.4.9. Análisis estadístico

2.4.9.1 Biometría

Se realizó el cálculo del promedio, desviación estándar, valores máximos y mínimos para cada variable en el mes inicial del trasplante (mayo) donde se incluyó el número total de mejillones por sitio. La comparación mensual (mayo, junio, julio y agosto) de los parámetros biométricos se realizó con un análisis de varianza de una vía, previa verificación de la Normalidad de los datos (prueba q-q). Consecutivamente se realizaron pruebas de homogeneidad de varianza con la prueba de *Fisher*. En los casos donde no se cumplió con la Normalidad de los datos o las varianzas no fueron iguales, se procedió a realizar un análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis (KW). La hipótesis estadística bajo la cual se trabajó en los análisis de varianza para cada parámetro fue:

$$\begin{aligned}H_0 &= BM=ERE=PB=PM \\H_a &= \text{Al menos una es } \neq\end{aligned}$$

En los casos donde la hipótesis nula (H_0) fue rechazada y se aceptó que al menos un sitio se estaba presentando diferencias estadísticas, se realizó una prueba *a posteriori*, en análisis paramétricos se usó la prueba *Tuckey* para varianzas iguales, y en el caso de las pruebas no paramétricas la prueba *a*



posteriori de Wilcoxon. Todos los análisis fueron realizados con un 95% de confianza estadística ($\alpha=0.05$). El procesamiento estadístico de los datos se llevó a cabo con la ayuda de los programas Excel, Minitab y Sigmaplot.

2.4.9.2 Análisis de regresión lineal

Con la finalidad de conocer si las variables de respuesta de los mejillones durante el experimento presentaron un cambio positivo o negativo durante los cuatro meses del experimento, se efectuó una regresión lineal para cada uno de los parámetros estudiados vs el tiempo. Se compararon las pendientes (β) obtenidas por medio de una ANOVA, previo al cumplimiento de los requisitos de la prueba, para conocer si las β de los mejillones trasplantados y nativos eran estadísticamente distintas entre sí y poder inferir en que parámetro los mejillones invierten una mayor gasto energético. Al mismo tiempo sugerir cual les supone un cambio más marcado en su morfología.

2.4.9.3 Relaciones biométricas

Las relaciones biométricas de los mejillones con distinta procedencia, se calcularon por medio del modelo de crecimiento doblemente logarítmico potencial (*ecuación 1*). Se ha documentado que se ajusta para organismos donde la proporción entre el incremento de las estructuras de diferente tamaño crece de manera constante, es decir se puede inferir el tipo de crecimiento, isométrico o alométrico y si es positivo o negativo (Sokal y Rohlf, 1995).

Ecuación 1

$$Y = \alpha X^\beta$$

Transformación

$$Z = \text{Log } Y + W = \text{Log } X$$

Modelo linealizado

$$\text{Log } Y = \text{Log } \alpha + \beta \text{Log } X$$



Para poder inferir sobre el grado de alometría e isometría, se usó una prueba “*t*” para la comparación de coeficientes de regresión o también conocida como “*pendiente*” (β). Cuando ésta es $\beta=1$ se considera una relación isométrica y cuando $\beta<1$ existe alometría negativa, es decir la variable dependiente crece más despacio que la estructura de referencia y cuando $\beta>1$ es alometría positiva, lo que indica que la variable dependiente crece más deprisa que la estructura de referencia (Sokal y Rohlf, 1981). Si se consideran parámetros con la misma magnitud, *An* y *Al* se colocaron en el eje *y* como variables de respuesta, mientras que *Lt* en el eje *x*. Sin embargo si se trabaja con variables de diferente magnitud (*mm vs g*), se deben esperar valores de $\beta=3$ (Hickman 1979).

2.4.9.4 Relación ARN:ADN

El análisis estadístico incluyó la comparación del estado inicial y final de la relación ARN/ADN. Además de cada ácido nucleico (ADN y ARN) presente en los tejidos, para los mejillones trasplantados y nativos, se utilizó el mismo método de comparación usado en las variables biométricas.

2.4.9.5 Análisis de componentes principales (ACP)

Finalmente se realizó un análisis de componentes principales con todas las variables obtenidas en el experimento: biométricas, moleculares, OD, TSM, [Clor- α] y pH, para poder correlacionarlas, y ver si existió una relación negativa o positiva. El ACP se realizó de forma individual para los mejillones por sitio, lo que permitió dar un enfoque más amplio de como los parámetros fisicoquímicos pueden estar relacionados con los biométricos y/o moleculares.



2.5 Resultados

2.5.1 Biometría

La distribución de tallas fue similar para todos los sitios al inicio del experimento, el valor más frecuente para los cuatro sitios estuvo entre 19 y 20.5 mm (Fig. 2.5).

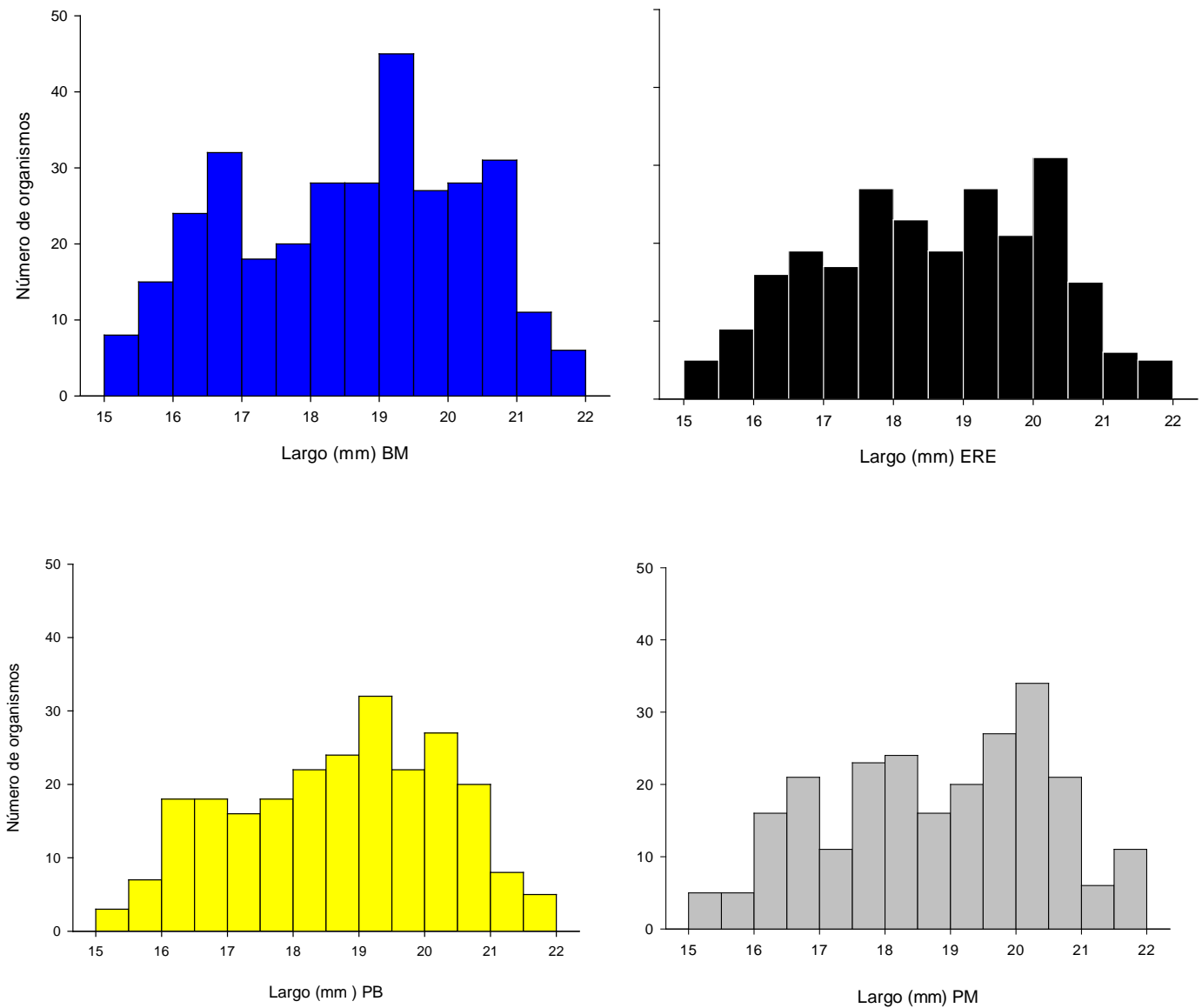


Figura 2.5. Distribución de frecuencias del largo inicial de la concha de los mejillones juveniles de *Mytilus californianus* antes de ser trasplantados en azul BM, negro ERE, amarillo PB y gris PM.



El promedio, desviación estándar, valores máximos y mínimos de los mejillones en la etapa inicial del experimento se muestran en la Tabla VII. El valor mayor del *Al* y *Pht* lo tuvieron los mejillones de PB, los de ERE los valores de concha más pesada y los de PM el *Phcrn* más elevado.

Tabla IV. Parámetros biométricos en la etapa inicial del experimento para los juveniles de *Mytilus californianus*.

<i>Parámetro</i>	<i>Procedencia</i>	<i>N</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desviación Estándar</i>	<i>Máximo</i>	<i>Mínimo</i>
<i>Largo L (mm)</i>	BM	240	18.52	1.68	21.94	15.11
	PM	240	18.78	1.67	21.92	15.02
	ERE	240	18.56	1.61	21.78	15.05
	PB	240	18.70	1.59	21.87	15.13
<i>Alto Al (mm)</i>	BM	240	9.44	0.91	11.86	7.22
	PM	240	9.95	1.04	13.95	4.49
	ERE	240	9.89	0.85	12.51	8.12
	PB	240	10.54	1.11	13.23	6.91
<i>Ancho An (mm)</i>	BM	240	7.67	0.84	10.45	5.80
	PM	240	7.80	0.87	10.09	5.53
	ERE	240	7.98	0.74	9.99	6.05
	PB	240	7.05	0.72	9.03	5.62
<i>Peso húmedo total Pht (gr)</i>	BM	240	0.910	0.246	1.510	0.234
	PM	240	0.900	0.244	1.503	0.362
	ERE	240	0.940	0.220	1.510	0.480
	PB	240	0.790	0.213	1.454	0.397
<i>Peso húmedo carne Phcrn (gr)</i>	BM	30	0.112	0.052	0.195	0.051
	PM	30	0.151	0.057	0.294	0.056
	ERE	30	0.142	0.055	0.235	0.066
	PB	30	0.129	0.049	0.218	0.052
<i>Peso seco total Pst (gr)</i>	BM	30	0.468	0.192	0.876	0.253
	PM	30	0.463	0.144	0.711	0.262
	ERE	30	0.524	0.153	0.823	0.301
	PB	30	0.415	0.142	0.717	0.250
<i>Peso seco concha Psch (gr)</i>	BM	30	0.452	0.188	0.850	0.234
	PM	30	0.428	0.160	0.672	0.250
	ERE	30	0.499	0.148	0.784	0.285
	PB	30	0.440	0.136	0.685	0.237

En la prueba de Normalidad $q-q$, el 96% de los datos se ajustaron a una distribución normal, de los cuales el 58% cumplió con homogeneidad de varianzas. En las figuras donde se graficó el promedio y la desviación estándar para cada uno de los parámetros, se incluye la significancia de las pruebas $a posteriori$ por medio de asteriscos ($p>0.1^*$, $p>0.01^{**}$, $p>0.001^{***}$).

En la comparación del largo total de la concha, para los meses de mayo, junio y agosto, no se observaron diferencias significativas, con excepción de julio, dónde los mejillones de ERE presentaron un aumento significativo, (KW, $p<0.05$, Fig. 2.6). En el anexo 3.1 se pueden consultar con más detalle los resultados de las pruebas para cada parámetro. La tasa de crecimiento mensual para los mejillones de PM fue de 1.77 mm, BM 1.46 mm, ERE 1.53 mm y PB 1.76 mm.

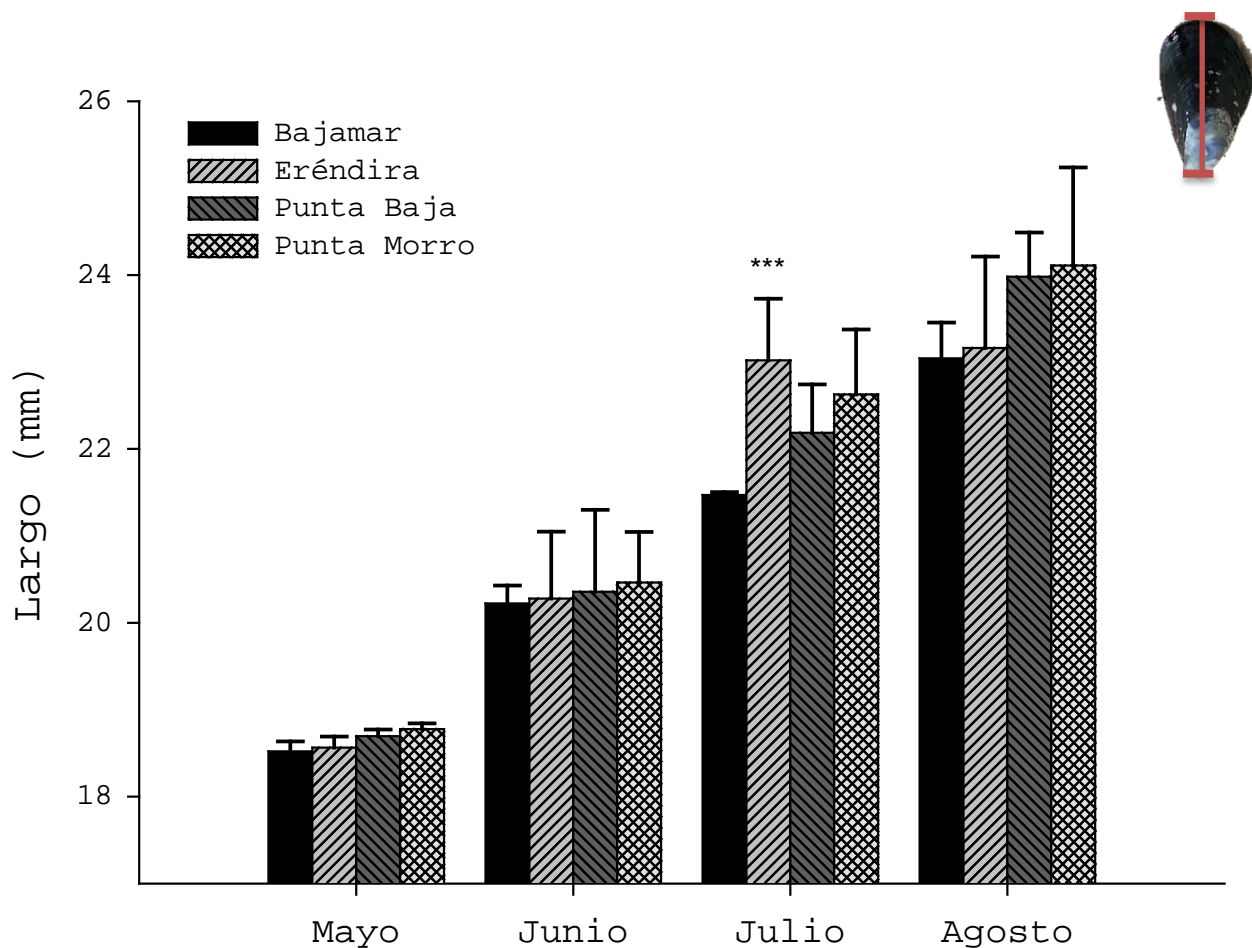


Figura 2.6. Promedio y desviación estándar del *Largo (mm)* de la concha de los mejillones juveniles de *M. californianus*, trasplantados (BM, ERE, PB) y nativos (PM). Durante el experimento, sólo se observó en julio un aumento significativo para los mejillones de ERE, en comparación con el resto de los sitios.

El alto de la concha mostró diferencias significativas entre los mejillones de distinta procedencia en todos los meses de duración del experimento. En mayo, los mejillones procedentes de BM presentaron un menor crecimiento del alto, mientras que los de PB un aumento mayor, en comparación con el resto, y los mejillones de ERE y PM mostraron un alto igual de su concha (KW, $p < 0.05$). En junio el alto de la concha exhibió nuevamente diferencias significativas ($p < 0.001$) para BM y PB con el mismo patrón anterior. En julio el menor alto de la concha lo presentaron los mejillones de BM (ANOVA, $p < 0.01$) y el resto no presentaron diferencias significativas. En agosto los mejillones de BM nuevamente presentaron un menor alto de la concha y los de PB el mayor alto, éstas diferencias fueron significativas (ANOVA, $p < 0.01$, Fig. 2.7) el resto tuvieron un alto de la concha igual.

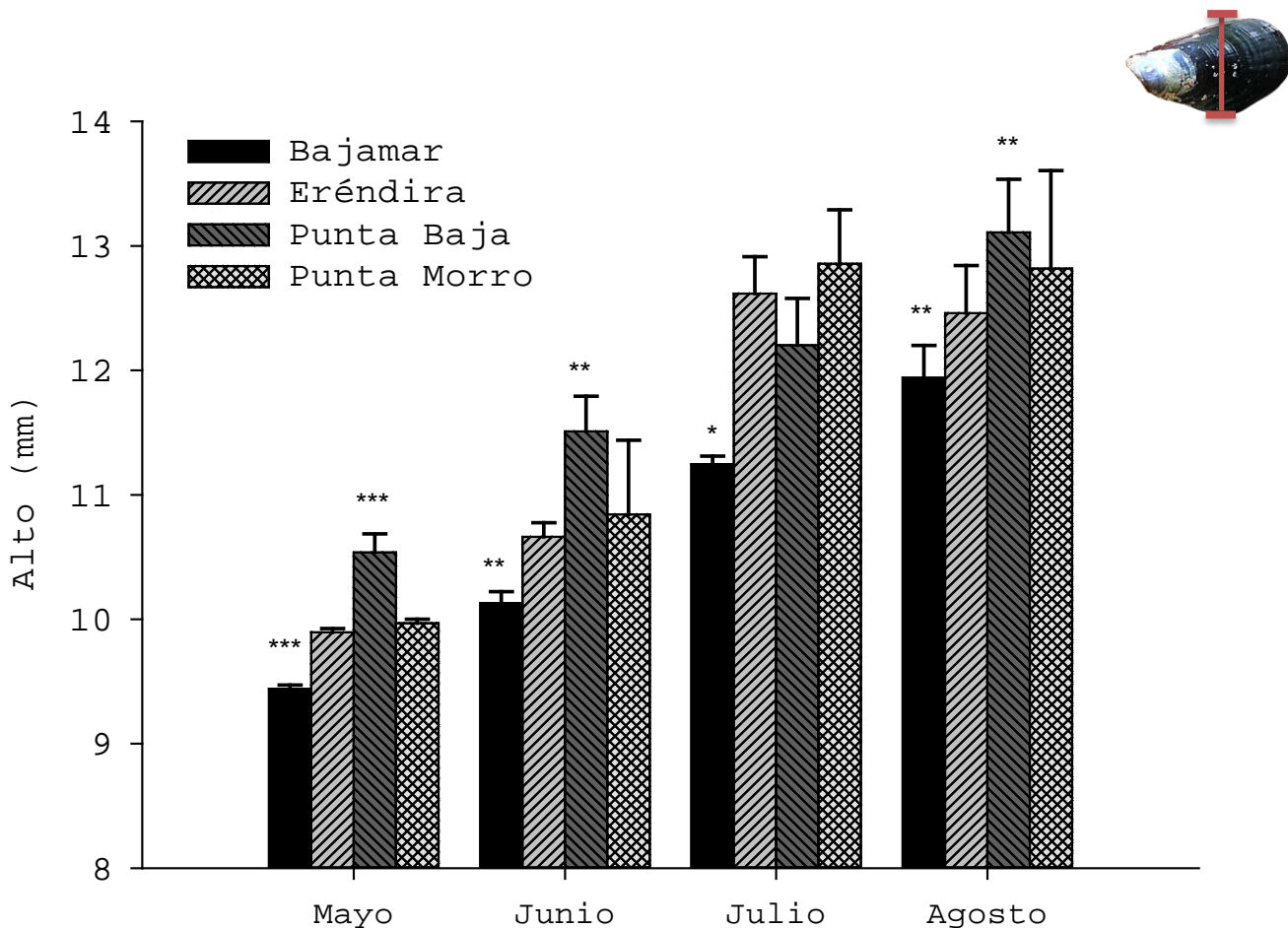


Figura 2.7. Promedio y desviación estándar del *Alto (mm)* de la concha de los mejillones juveniles, trasplantados (BM, ERE, PB) y nativos (PM). En mayo, junio y agosto los mejillones de BM y PB presentaron diferencias significativas en el aumento de la concha, BM mantuvo el alto menor y PB el mayor. En julio y agosto los mejillones de BM tuvieron diferencia significativa con un valor menor del alto de la concha. En Agosto los mejillones de PB, presentan el alto de la concha mayor.



El ancho de la concha mostró diferencias significativas en mayo para los mejillones ERE con el valor mayor y PB con el menor, (KW, $p < 0.001$). En junio sólo los mejillones de PB mostraron diferencia significativa (ANOVA, $p < 0.02$) ya que mantuvieron el menor ancho de la concha. Para julio los mejillones de ERE aumentaron significativamente, mientras que los de PB permanecieron con el menor ancho, y diferente al resto (ANOVA, $p < 0.01$). En agosto solo los mejillones de ERE presentaron diferencias significativas en comparación con el resto (ANOVA, $p < 0.03$). Los mejillones de PB igualaron en el crecimiento del alto a los de BM y PM (Fig. 2.8).

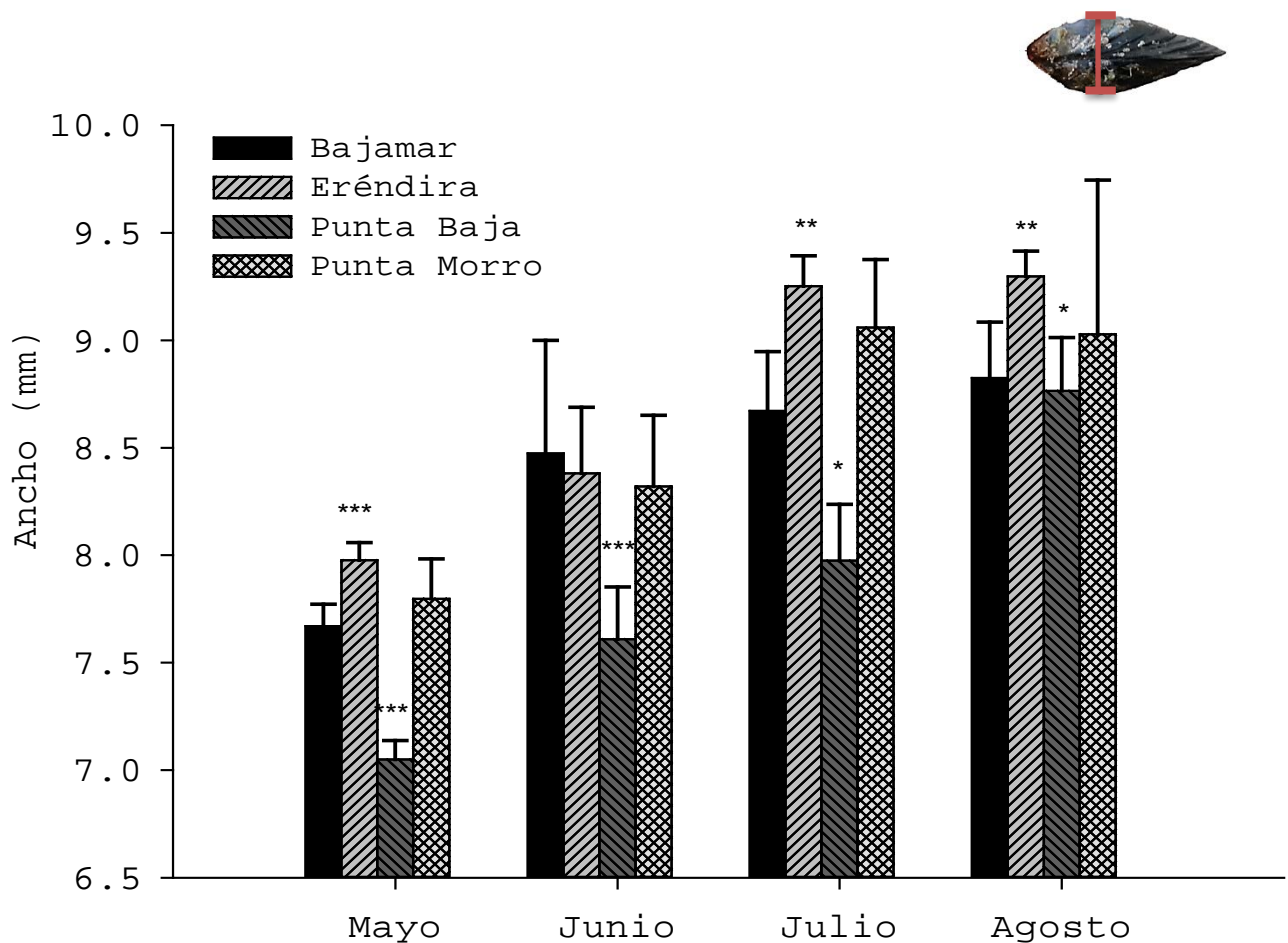


Figura 2.8. Promedio y desviación estándar de *Ancho (mm)* de la concha de los mejillones juveniles, trasplantados (BM, ERE, PB) y nativos (PM). Se puede observar que en mayo los mejillones de ERE y PB son estadísticamente diferentes. En junio los mejillones de PB, y en julio y agosto los de ERE y PB.



El peso húmedo total (*Pht*) de los mejillones tuvo diferencias significativas (KW, $p < 0.001$) en mayo para los organismos provenientes de PB, los cuales mostraron un peso menor en comparación con el resto. En junio no existieron diferencias significativas, sin embargo en julio ERE mostró un aumento significativo (KW, $p < 0.05$). Finalmente en agosto los pesos fueron estadísticamente iguales (Fig. 2.9)

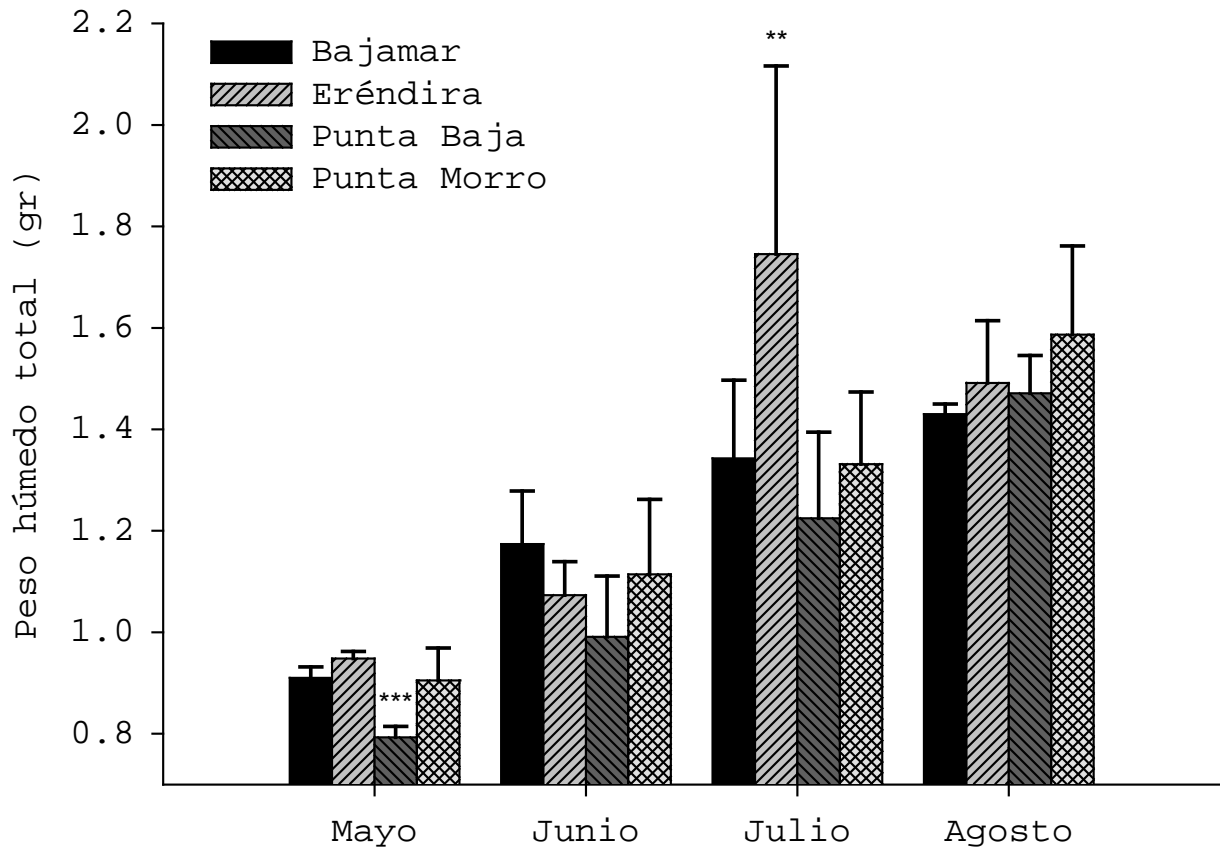


Figura 2.9. Promedio y desviación estándar del *Peso húmedo total (gr)* de los mejillones juveniles, trasplantados (BM, ERE, PB) y nativos (PM). Se observó en mayo que los mejillones de PB tienen un menor peso, y es significativo en comparación con el resto. En junio no se observan diferencias, y para agosto los mejillones de ERE presentan un peso mayor y significativo, mientras que el resto permanecen iguales.



El peso húmedo de la carne (*Phc*) de los mejillones de BM mostró para mayo el menor valor en comparación con el resto de los mejillones, y este valor resultó estadísticamente significativo (KW, $p < 0.01$), en junio no hubo diferencias significativas. No obstante en julio se observó que el aumento de peso en los mejillones de ERE fue muy significativo (ANOVA, $p < 0.001$). Sin embargo en la comparación de pesos para el mes de agosto los mejillones de ERE presentaron el peso más bajo, el cual igualmente resultó significativo en relación con el resto de los sitios (ANOVA, $p < 0.01$, Fig. 2.10).

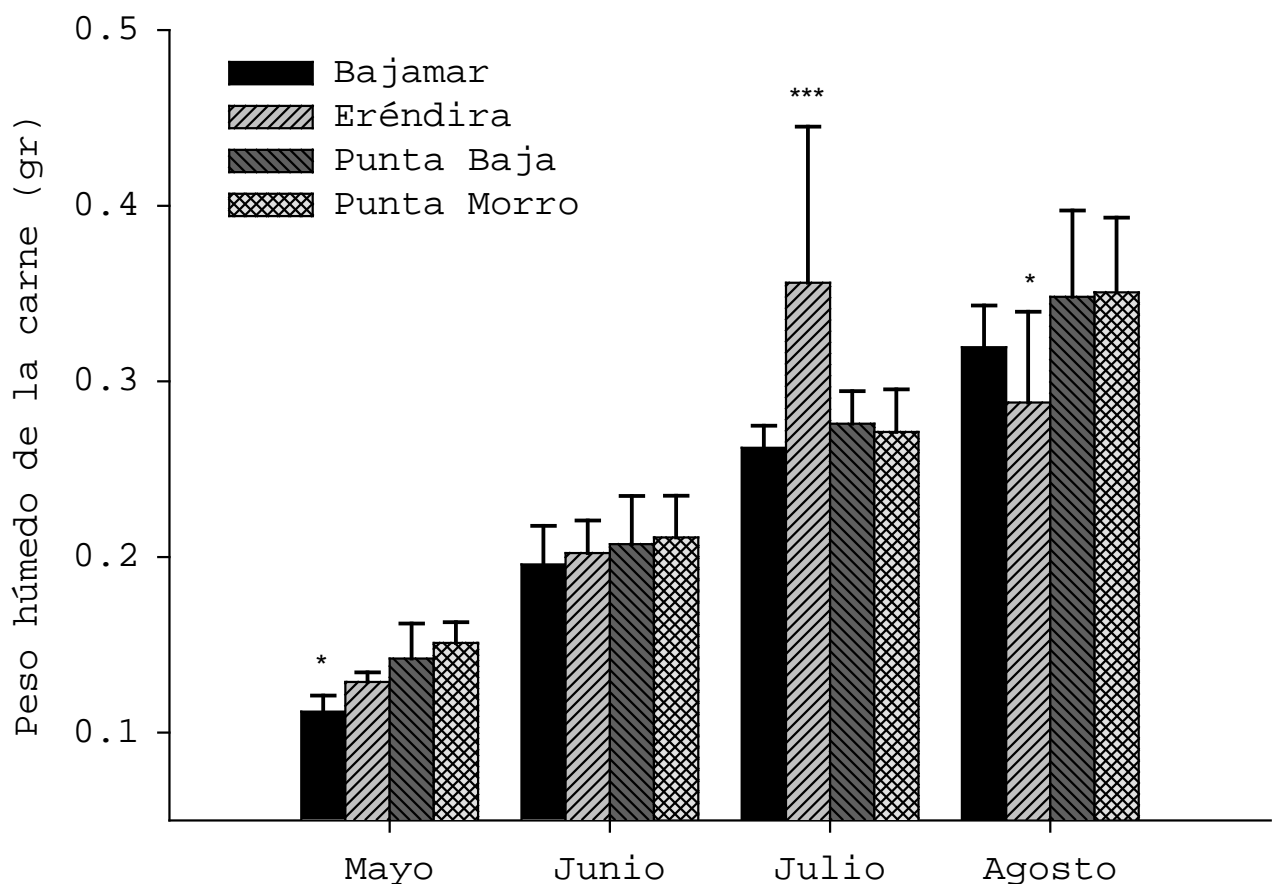


Figura 2.10. Promedio y desviación estándar del *peso húmedo de la carne* (g) de los mejillones juveniles, trasplantados (BM, ERE, PB) y nativos (PM). En mayo los mejillones de BM presentaron el menor peso y significativo en comparación con el resto. Para junio no se presentaron diferencias significativas. Mientras que en julio el aumento de peso para los mejillones de ERE fue significativo y en agosto su disminuyeron.



El peso seco total (*Pst*) al inicio del experimento fue estadísticamente igual. En junio el peso más bajo lo presentaron los mejillones de PB y fue significativo en relación con el resto (ANOVA, $p < 0.01$), y también en julio (KW, $p < 0.001$). Para agosto no hubo diferencias en el peso seco total (Figura 2.11).

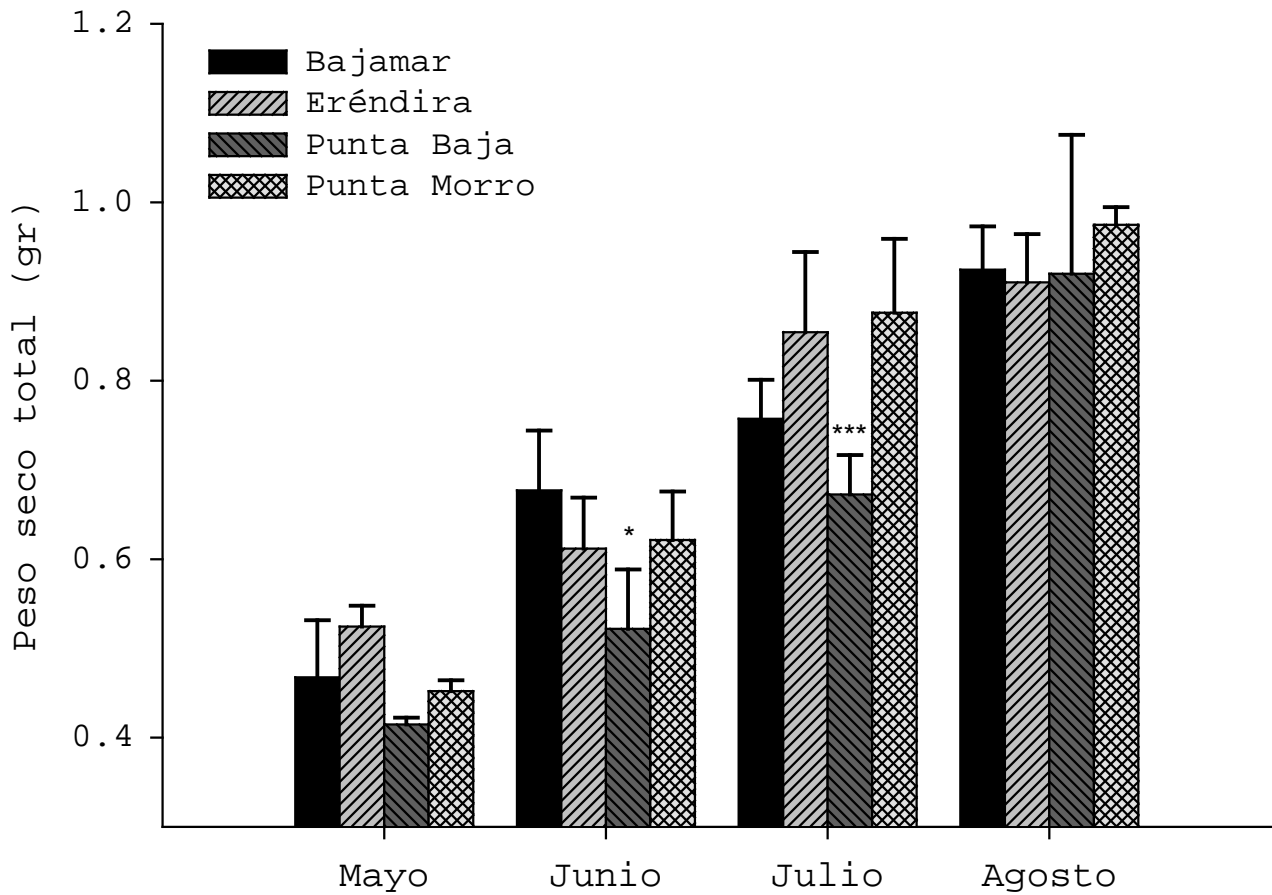


Figura 2.11. Promedio y desviación estándar del *peso seco total* (g) de los mejillones juveniles, trasplantados (BM, ERE, PB) y nativos (PM). En mayo no se presentaron diferencias, y para junio los mejillones de PB mostraron un aumento menor de peso seco y significativo. En julio los mejillones de ERE y PB presentaron el mayor y menor aumento, ambos significativos y en agosto no hubo diferencias.

El peso seco de la concha (*Psch*) mostró diferencias significativas en mayo para los mejillones provenientes de PB (ANOVA, $p < 0.01$). Para el mismo sitio en junio y julio los mejillones de ERE presentaron el mayor aumento en peso de la concha y los de PB el más bajo (ANOVA, $p < 0.05$). En agosto no se observaron diferencias significativas (Fig. 2.12).

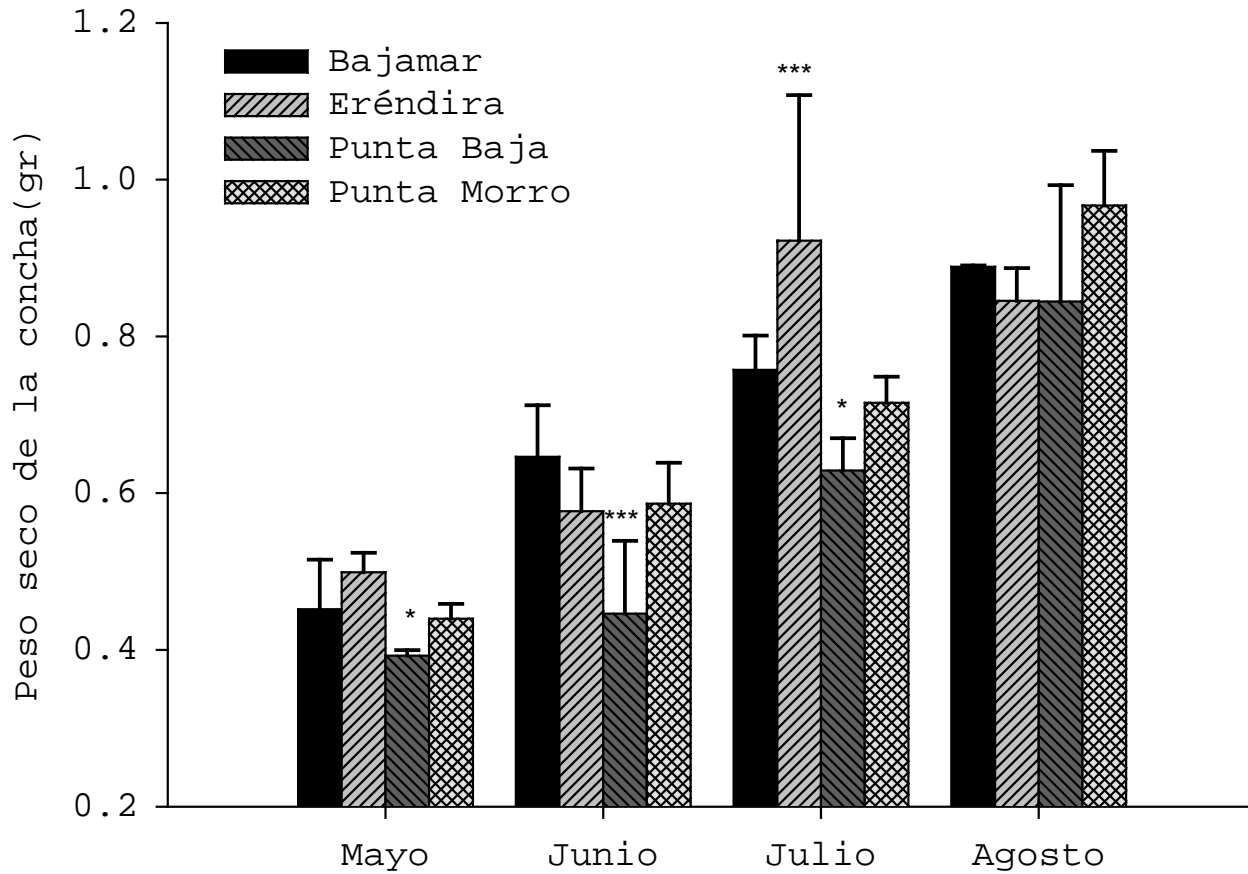


Figura 2.12. Promedio y desviación estándar del *peso seco de la concha (gr)* de los mejillones juveniles, trasplantados (BM, ERE, PB) y nativos (PM). En mayo los mejillones de PB presentaron el peso más bajo con una diferencia significativa, ésta misma respuesta se observó para los meses de junio y julio, en éste último mes los mejillones de ERE presentaron el aumento mayor y significativo. Para agosto todos los pesos fueron iguales.



El largo total de la concha fue el parámetro biométrico más representativo para explicar el crecimiento de los organismos. Constituyó para la morfología de la concha el 54% de crecimiento, mientras el alto el 30% y el ancho un 16% para los mejillones trasplantados de BM y ERE. Para los ejemplares de PB, el largo representó un 55%, el alto 27% y el ancho 18%. En el caso de los mejillones nativos un 57% el largo, 30% el de alto y 13 % el ancho.

El largo de la concha fue la variable en la que se obtuvo el mayor aumento, seguido del alto y después el ancho. Los mejillones nativos de PM presentaron el mayor aumento en *L* y *Al* de la concha con 5.33 y 2.85 mm respectivamente, éste último mostró diferencias significativas (KW, $p < 0.05$). La concha de los mejillones de PB tuvieron el mayor aumento a lo ancho y fue de 1.71 mm. Los mejillones de BM mostraron los valores menores en *Al* y *L*, (2.4 y 4.39 mm). Sin embargo los mejillones de PM tuvieron el menor *An* con un valor de 1.23 mm (Fig. 2.13).

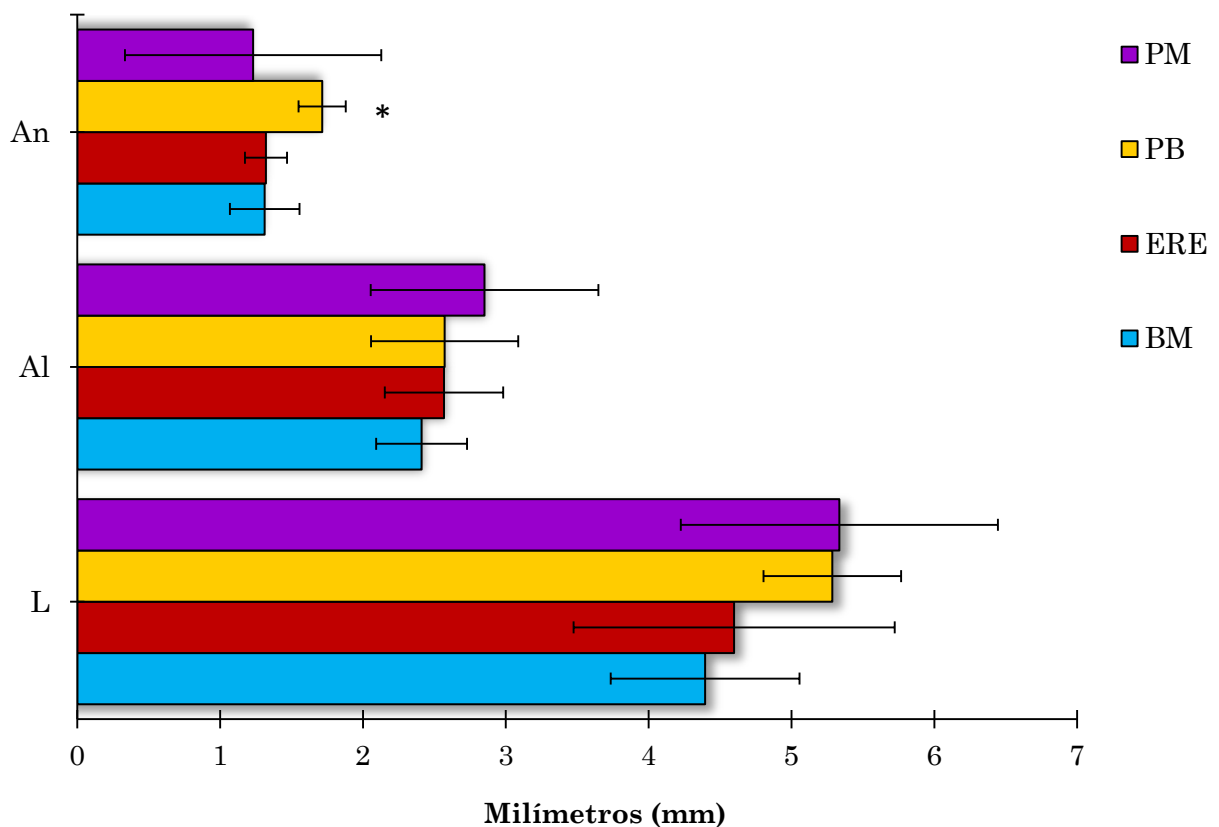


Figura 2.13. Promedio y desviación estándar del aumento total de los parámetros morfométricos de la concha, *L*, *An* y *Al*. Los mejillones de PM presentaron los valores mayores en *L* y *An*, mientras que los de PB el mayor *Al*. Los de BM presentaron los valores más bajos para *L* y *An* y PM en *Al*.



Los mejillones juveniles de PB exhibieron el mayor ancho, mientras que los mejillones de PM y ERE tuvieron un alto similar y destacando el de PM en una forma piramidal y un alto similar a los de PB. Los mejillones de BM presentan una concha estrecha en comparación con los de ERE y PM. Los mejillones de ERE y PB presentan una cresta en la unión de las valvas, característica que también se puede observar en organismos adultos (Fig. 2.14).

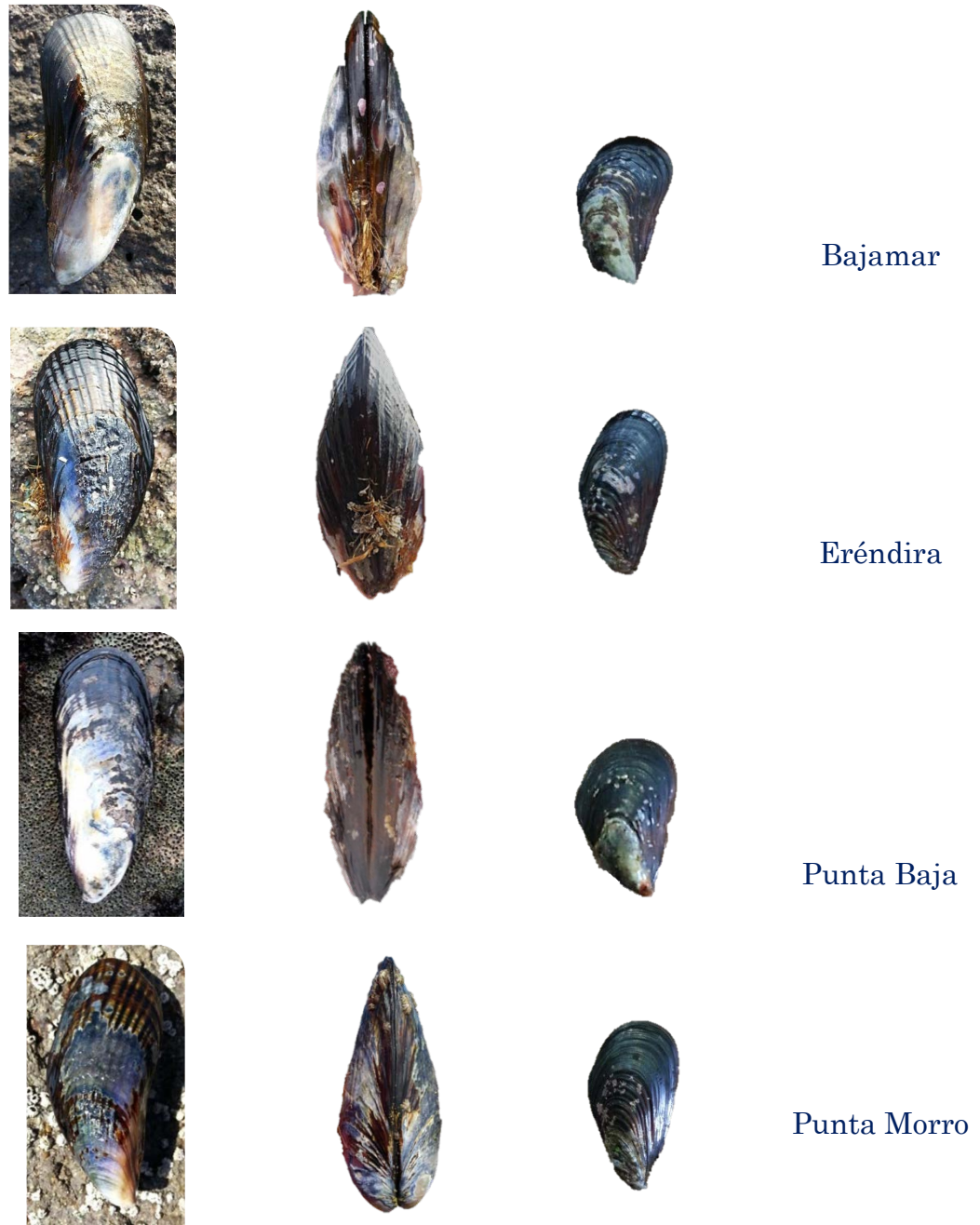


Figura 2.14 Diferentes morfotipos del mejillón *Mytilus californianus*, en etapa adulta y juvenil.



El promedio de la ganancia total de peso seco total (Pst) y de la concha ($Psch$) fue mayor para los mejillones de PM (0.519 y 0.575 g respectivamente). Los de ERE exhibieron los valores más bajos (0.386 y 0.346 g) y para las variables de Pst y $Psch$ la diferencia fue significativa ($W p < 0.05$). En el caso del peso húmedo de la carne ($Phcrn$) los mejillones de PM, PB y BM mostraron valores muy similares (0.220, 0.206 y 0.212 g) por lo que no se presentaron diferencias significativas. El valor más bajo fue para los de ERE con 0.159 g. El mayor peso húmedo total se registró para PM con 0.682 g, seguido de PB con 0.678 g, y los más bajos de BM y ERE con 0.531 y 0.543g respectivamente, donde BM es estadísticamente distinto. (Fig. 2.15).

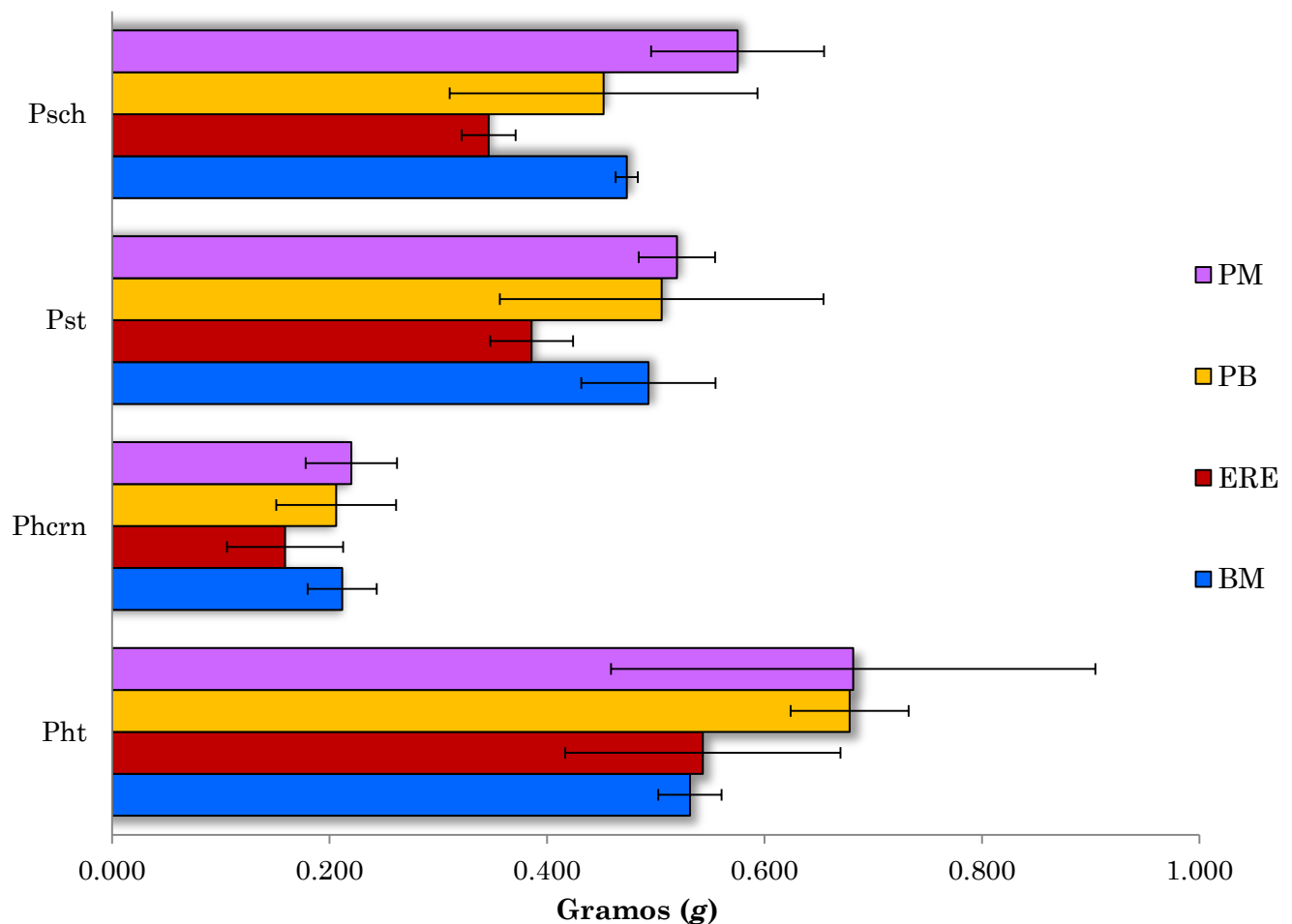


Figura 2.15. Promedio y desviación estándar de la ganancia total de de peso seco y húmedo para los mejillones trasplantados y nativos. Los mejillones nativos de PM, presentan los valores mayores para todas las variables, seguido de PB, con excepción del $Psch$. Los mejillones de ERE presentan los valores más bajos en $Psch$, Pst , y $Phcrn$.



2.5.2. Análisis de regresión lineal

Las pendientes o coeficientes de regresión (β) obtenidas para los mejillones de BM presentaron los valores más bajos en todos los parámetros con excepción del *Psch* y *Phcr*. Los valores mayores fueron para los de PM en el *L*, *An*, *Pst* y *Psch*. En la Tabla V, se muestran los valores de las β calculadas para cada una de las variables, los cuales resultaron estadísticamente igual (ANOVA, $p>0.05$). Las ecuaciones completas de donde proviene el valor de β , puede consultarse en anexo 3.2a para las variables morfológicas de la concha y en el anexo 3.2b para las variables de peso, así como el ajuste que tiene cada ecuación al modelo de la regresión lineal (R^2).

Tabla .V. Comparación de pendientes (β) obtenidas mediante una regresión lineal del aumento del parámetro estudiado vs la duración del estudio, los asteriscos muestran qué pendiente son diferentes $p<0.05$.

<i>Sitio</i>	β						
	<i>L</i>	<i>Al</i>	<i>An</i>	<i>Pst</i>	<i>Psch</i>	<i>Pht</i>	<i>Phcr</i>
Bajamar	1.44	0.83	0.39	0.14	0.14	0.17	0.06
Eréndira	1.76	0.96	0.48	0.14	0.13	0.23	0.06
Punta Baja	1.76	0.84	0.55	0.16	0.15	0.22	0.06
Punta Morro	1.81	1.05	0.44	0.18	0.17	0.22	0.06

Para cada caso en particular se analizaron gráficamente las pendientes anteriormente descritas, (Fig. 2.16). En esta figura se agrupan en las gráficas de la izquierda las variables de talla (mm) y las variables peso a la derecha.

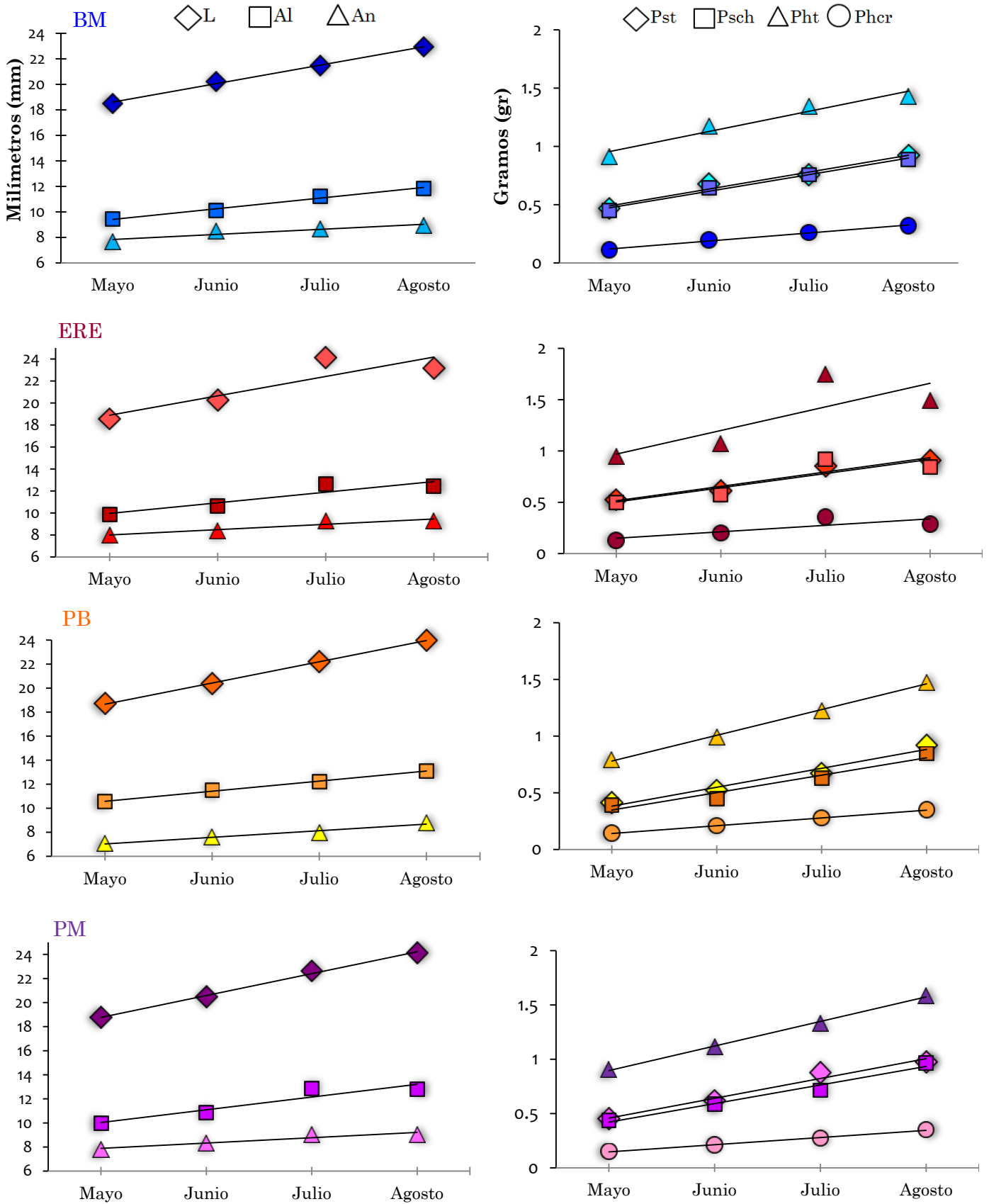


Figura 2.16. Pendientes de los parámetros morfométricos Largo (L), Ancho (An), Alto (Al) y Peso seco total (Pst), de la concha (Psch), húmedo total (Pht) y de carne (Phcr), de BM (azules), ERE (rojos), PB (amarillos) y nativos (PM, morados).



2.5.3 Relaciones biométricas.

En la comparación del Lt vs An y Al , se trabajó con la hipótesis $H_0 \beta=1$, $H_a=\beta\neq 1$. Se obtuvieron las ecuaciones de regresión, ajustada al modelo potencial para cada uno de los parámetros morfométricos, además de las curvas de crecimiento para los mejillones de cada sitio (Fig. 2.17). Consecutivamente se realizó una prueba de t para probar la hipótesis planteada. Se obtuvo un coeficiente de regresión $\beta=1.05$ $R^2 = 0.77$ para los mejillones de BM, lo que indica un crecimiento alométrico +, es decir el alto de la concha crece más rápido que el largo y el ancho, éste último (An) presentó una $\beta=0.67$ con un $R^2 = 0.47$, lo que indica que un 53% de los datos totales no se ajustaron a éste modelo. El resto de los mejillones mostraron un crecimiento alométrico -, con respecto al largo de su concha, lo que indica que el largo es el perfil de la concha que crece más rápido, mientras que el ancho y el alto lo hacen más lento, sin embargo se obtuvieron coeficientes de correlación muy bajos para éste análisis. En la Tabla VI se muestran los resultados en detalle.

Tabla VI. Coeficientes del modelo de crecimiento potencial para los mejillones trasplantados y nativos, donde R^2 es el coeficiente de correlación que indica el porcentaje de datos que se ajustan al modelo, α es la constante de regresión, β coeficiente de regresión (pendiente).

Sitio	Parámetro	R^2	$\text{Log } \alpha$	β	n	t calculada	t crítica	P	Crecimiento
Bajamar	<i>Alto</i>	0.77	0.431	1.05	53	13.29	2.005	$P>0.00$	Alométrico +**
Eréndira		0.86	0.615	0.95	61	20.04	1.99	$P>0.00$	Alométrico -***
Punta Baja		0.86	0.649	0.94	60	18.92	2	$P>0.00$	Alométrico -***
Punta Morro		0.73	0.638	0.94	51	11.67	2.007	$P>0.00$	Alométrico -***
Bajamar	<i>Ancho</i>	0.47	1.069	0.67	53	6.79	2.005	$P>0.01$	Alométrico -***
Eréndira		0.78	0.723	0.81	61	14.73	1.99	$P>0.00$	Alométrico -***
Punta Baja		0.69	0.674	0.80	60	11.38	2	$P>0.00$	Alométrico -***
Punta Morro		0.60	0.666	0.83	51	8.63	2.007	$P>0.00$	Alométrico -***

$\beta=1$ isométrico*, $\beta>1$ alométrico positivo** y $\beta<1$ alométrico negativo*** \rightarrow prueba t Hipótesis $H_0\beta=1$, $H_a=\beta\neq 1$

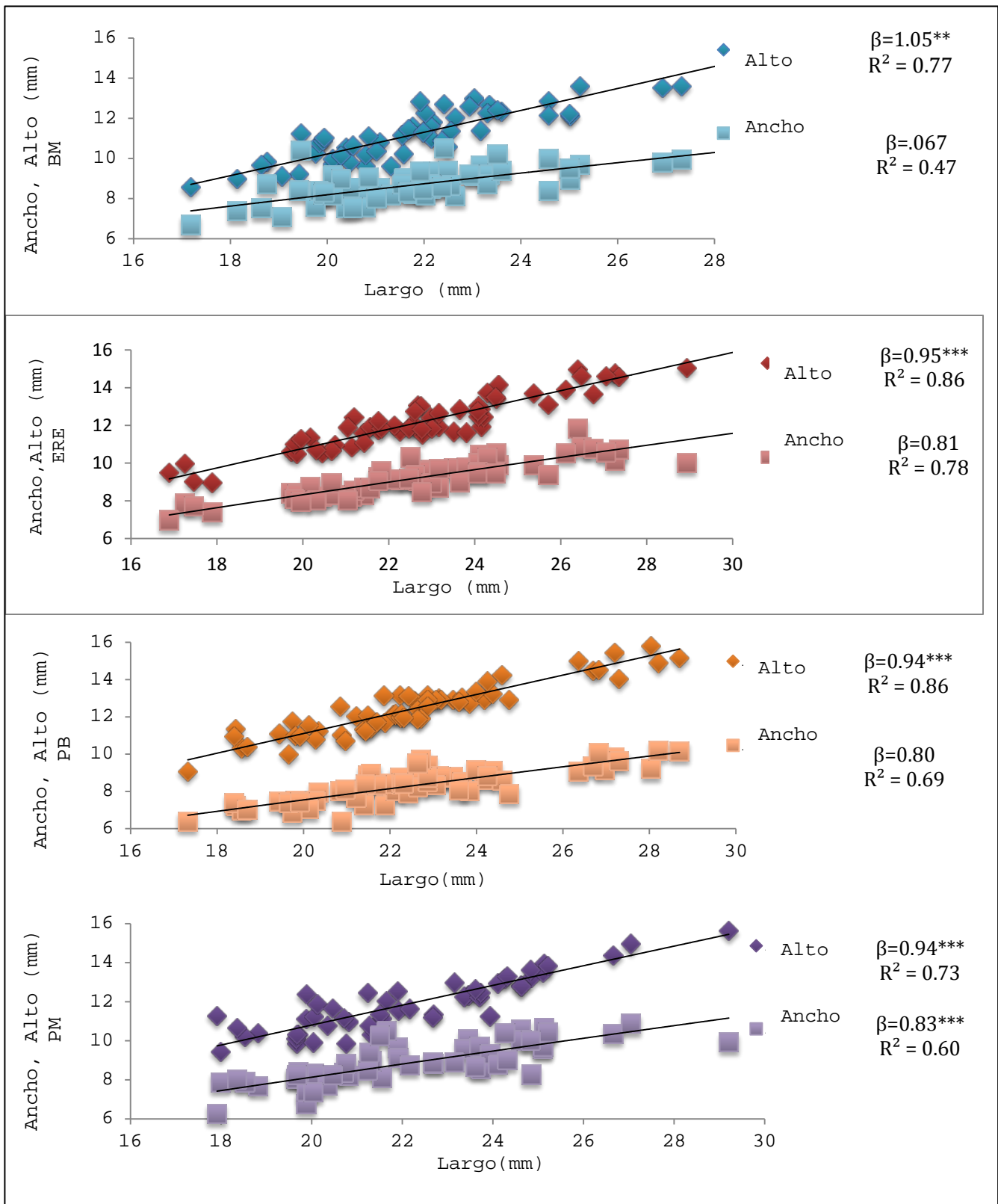


Figura 2.17 Relaciones biométricas ajustadas al modelo potencial, para los mejillones trasplantados, BM (azul), ERE (gris), PB (naranja) y los nativos de PM (morado). Del lado derecho de la figura se puede observar el coeficiente de regresión β , y el coeficiente de correlación R^2 , que corresponde a los parámetros evaluados Lt vs An y Lt vs Al . Donde $\beta=1$ isométrico*, $\beta>1$ alométrico positivo** y $\beta<1$ alométrico negativo***.

2.5.4 Relación ARN: ADN

Los valores del índice que obtuvimos en la etapa inicial y final para los mejillones de BM fueron, 0.18 ± 0.01 - 0.20 ± 0.02 , ERE 0.23 ± 0.02 - 0.20 ± 0.02 , PB 0.24 ± 0.05 - 0.17 ± 0.03 y PM 0.22 ± 0.03 - 0.15 ± 0.02 respectivamente. En la etapa inicial y final, no se encontraron diferencias significativas entre los mejillones trasplantados y nativos, (ANOVA, $p=0.104$, $p=0.329$, respectivamente). No obstante pudo observarse que al inicio los valores del índice fueron más elevados que los de la etapa final a pesar de que sólo se encontró diferencia significativa para los mejillones de PB (ANOVA, $p=0.018$). Sólo se presentó un incremento del índice en la etapa final para los mejillones de BM, aunque no fue significativo (Fig. 2.18).

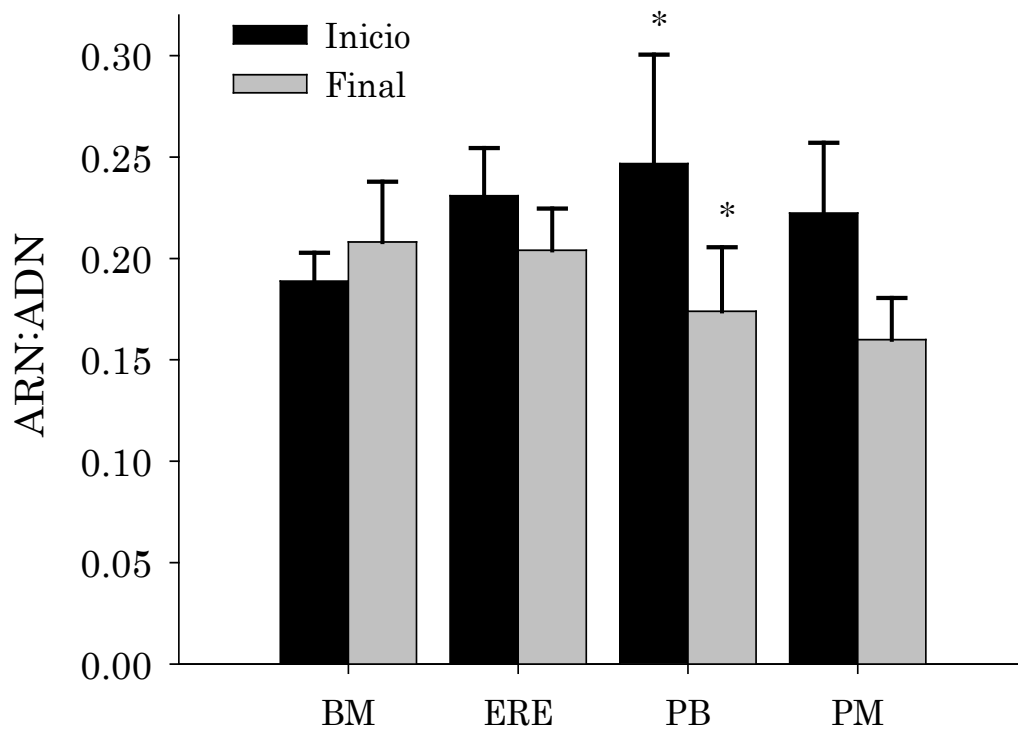


Figura 2.18. Índice ARN/ADN en etapa inicial y final del experimento para los mejillones trasplantados y nativos. En la figura se observa el promedio \pm desviación estándar. Sólo se observaron diferencias en las etapas para los mejillones de PB, mientras que en la comparación por sitios en ambas etapas fueron iguales. Sin embargo se observa el aumento del índice en la etapa final para los mejillones de BM y un descenso para el resto.



Cuando se evaluó solamente el ADN no se encontraron diferencias significativas en la etapa inicial y final del experimento entre los mejillones trasplantados (BM, ERE y PB) y nativos (PM) (ANOVA, $p=0.322$, $p=0.344$). Sin embargo el contraste del ADN en el tejido de mejillones del mismo sitio al inicio y al final del experimento si fue diferente significativamente para los cuatro sitios (ANOVA, $p=0.001$). Los mejillones de PB exhibieron los valores más bajos para la etapa final. En ambas etapas puede notarse que los valores de ADN se mantienen constantes y similares para los mejillones de los 4 sitios. Los valores de ADN para la etapa inicial oscilaron entre 5.16 ± 0.7 (PM) y 6.64 ± 2.5 $\mu\text{g}/\text{mg}$ (PB) y para la etapa final 2.90 ± 0.2 (PB) y 3.55 ± 0.9 $\mu\text{g}/\text{mg}$ (Fig. 2.19).

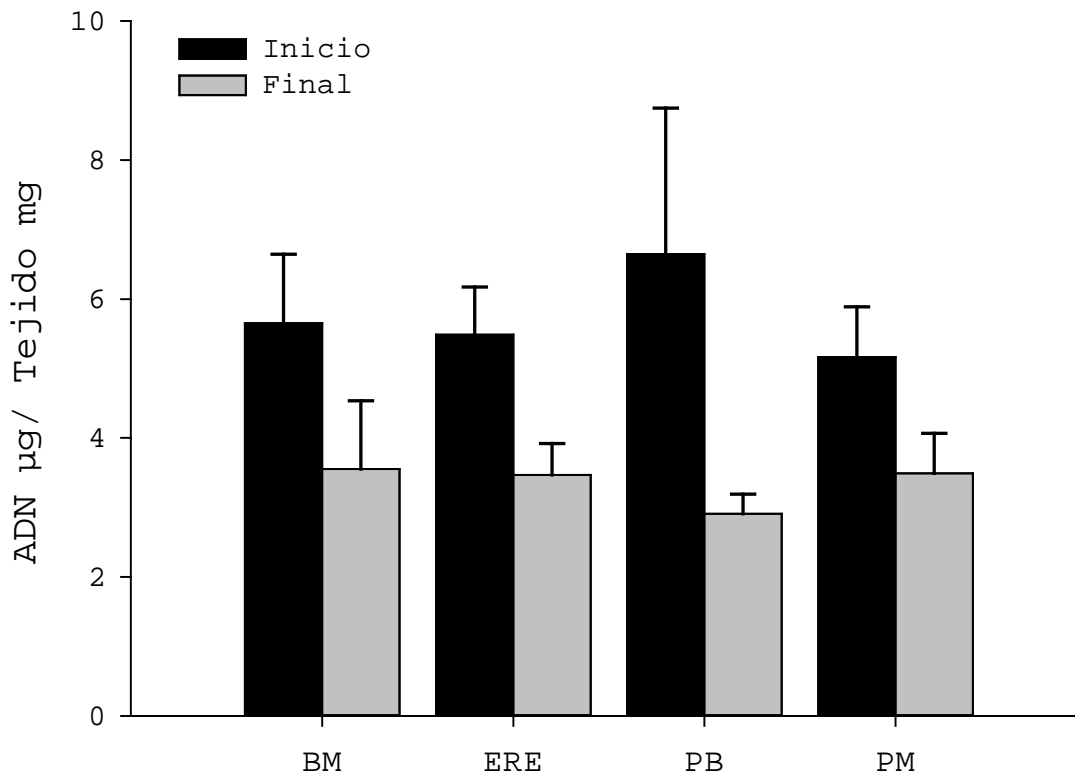


Figura 2.19. ADN presente en el tejido de los mejillones trasplantados y nativos. En la figura se observa el promedio \pm desviación estándar. No se observaron diferencias en la comparación de los 4 sitios en ambas etapas, sin embargo en el contraste individual la disminución ADN en la etapa final es significativa en todos los casos ($p<0.001$). Además se observa que se mantiene en las mismas proporciones en cada una de las etapas para los mejillones de los 4 sitios.



Para el caso del ARN, los mejillones provenientes de PB presentaron una diferencia significativa (ANOVA, $p=0.004$) en comparación con el resto, además de mostrar el valor inicial más alto. En la etapa final los mejillones de ERE y BM exhibieron una mayor cantidad de ARN. Mientras que los de PB y PM una menor, ésta diferencia fue significativa (ANOVA, $p<0.001$). Cuando se compararon los valores de ARN para la etapa inicial en relación con la etapa final para cada sitio, se encontró que estos fueron todos significativamente diferentes (*prueba t*, $p<0.001$). Los mejillones de PB presentaron la disminución más abrupta del ARN en tejido (1.5 ± 0.2 a $0.49 \mu\text{g}/\text{mg}$), seguidos de ERE (1.23 ± 0.21 a 0.69 ± 0.03 (1.5 ± 0.2 a $0.49 \mu\text{g}/\text{mg}$)) y PM (1.10 ± 0.11 a $0.53\pm 0.06 \mu\text{g}/\text{mg}$), ya que BM presentó la menor disminución de 1.04 ± 0.12 a $0.72\pm 0.21 \mu\text{g}/\text{mg}$ (Fig. 2.20).

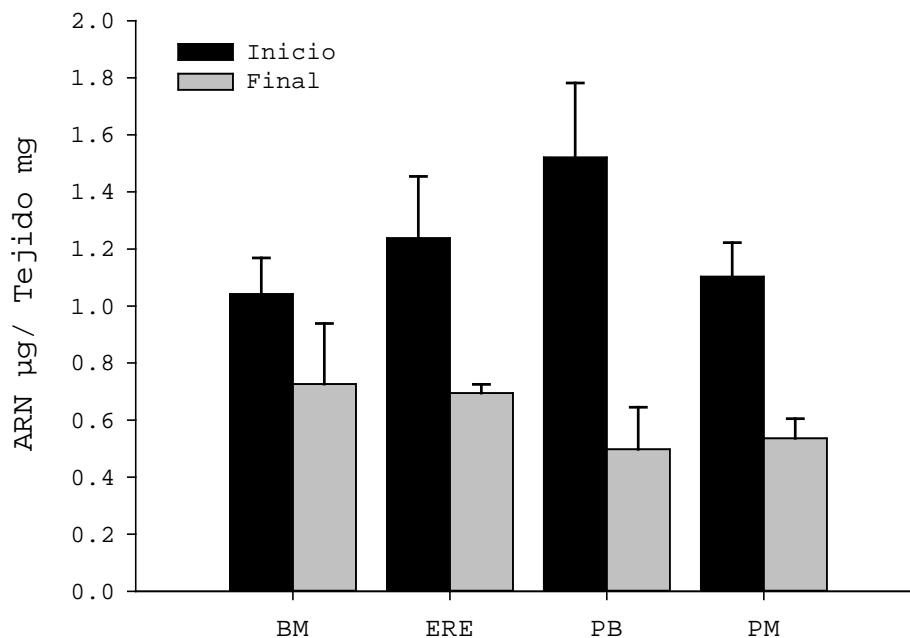


Figura 2.20. ARN presente en el tejido de los mejillones trasplantados y nativos. En la figura se observa el promedio \pm desviación estándar. La comparación de los 4 sitios para la etapa inicial, PB presentó la mayor cantidad de ARN en tejido ($p=0.004$), y en la etapa final BM y ERE tuvieron los valores más altos, mientras que PB y PM los más bajos ($p<0.001$). En el contraste por etapas la disminución de ARN en la etapa final es significativa en todos los casos ($p<0.001$). Para el caso de PB, los mejillones presentaron la disminución más abrupta.



2.5.5 Temperatura superficial del Mar (TSM)

El promedio mensual de la TSM para los sitios de muestreo durante el periodo 2003-2013 fluctuó entre los 14 y 24°C. Las temperaturas más elevadas se observan en PM de julio a septiembre (22, 23 y 22.4°C) y en ERE la temperatura más baja para los meses de marzo, abril y mayo (14.1, 14.5 y 15.6 °C), los cuales corresponden a la temporada de surgencias en la zona (Fig. 2.21). La serie de tiempo detallada para cada año puede consultarse en anexo 3.4a.

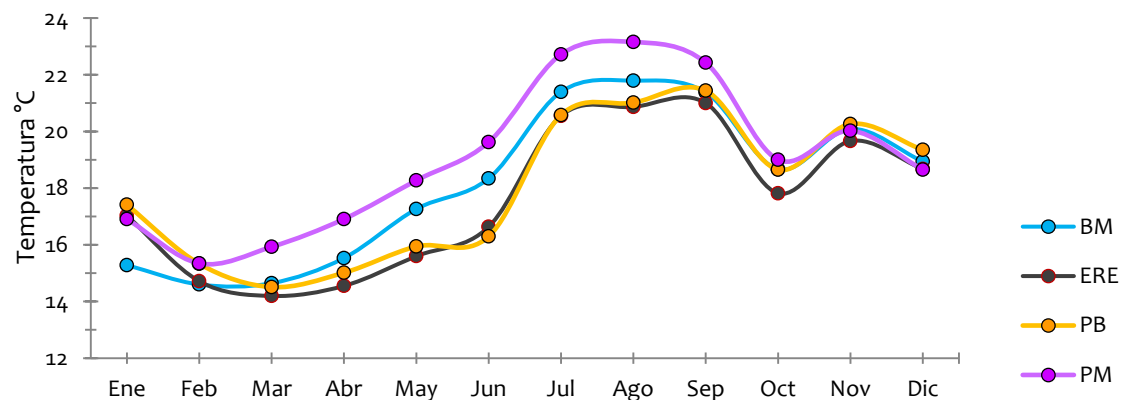


Figura 2.21. Promedio mensual de la TSM (2003-2013), el sitio PM presenta las temperaturas más altas, seguido de BM y PM, mientras que ERE, tiene las temperaturas más bajas, particularmente en los meses donde se presentan surgencias en la zona, marzo y abril.

El promedio de la concentración de clorofila- α de los sitios osciló entre 1.22 y 10.64 mg/m³, el valor más elevado se observó en ERE durante marzo. El resto del año la concentración más elevada se ubicó en PM, con excepción de febrero y noviembre. BM cuenta con los valores más bajos para todos los meses (Fig. 2.22) En el anexo 3.4b, se puede observar la serie de tiempo detallada para cada año.

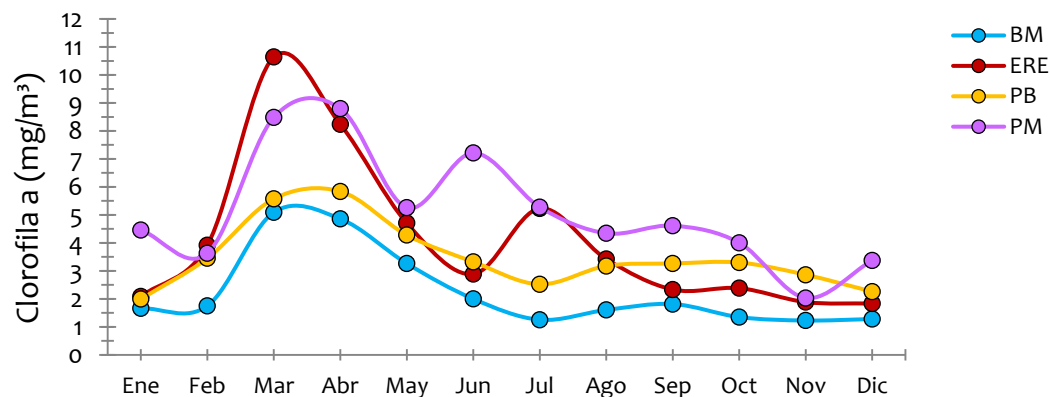


Figura 2.22. Promedio de la variación mensual de la [Clor-a], durante el periodo 2003 -2013. ERE presenta el valor promedio más elevado para marzo con (10.64 mg/m³), con excepción de este mes, PM presentó los valores más elevados y los valores más bajos en BM (1.22 mg/m³).



El promedio de los valores mínimos y máximos de la TSM, obtenida para los meses del estudio osciló entre los 14.2 y 22.1°C respectivamente. Los valores promedio de temperatura para PM fueron los más elevados durante todo el experimento. El resto de los sitios presentaron valores más bajos, en abril, BM, ERE y PB mostraron una temperatura promedio de 14°C, considerada temperatura de surgencia, y PM se mantuvo con 16.9°C. (Fig. 2.23). Los datos de temperatura se complementan con imágenes satelitales dónde se observa la zona de estudio que incluye los 4 sitios y el cambio de temperatura mensual cercano a la costa (Fig. 2.24).

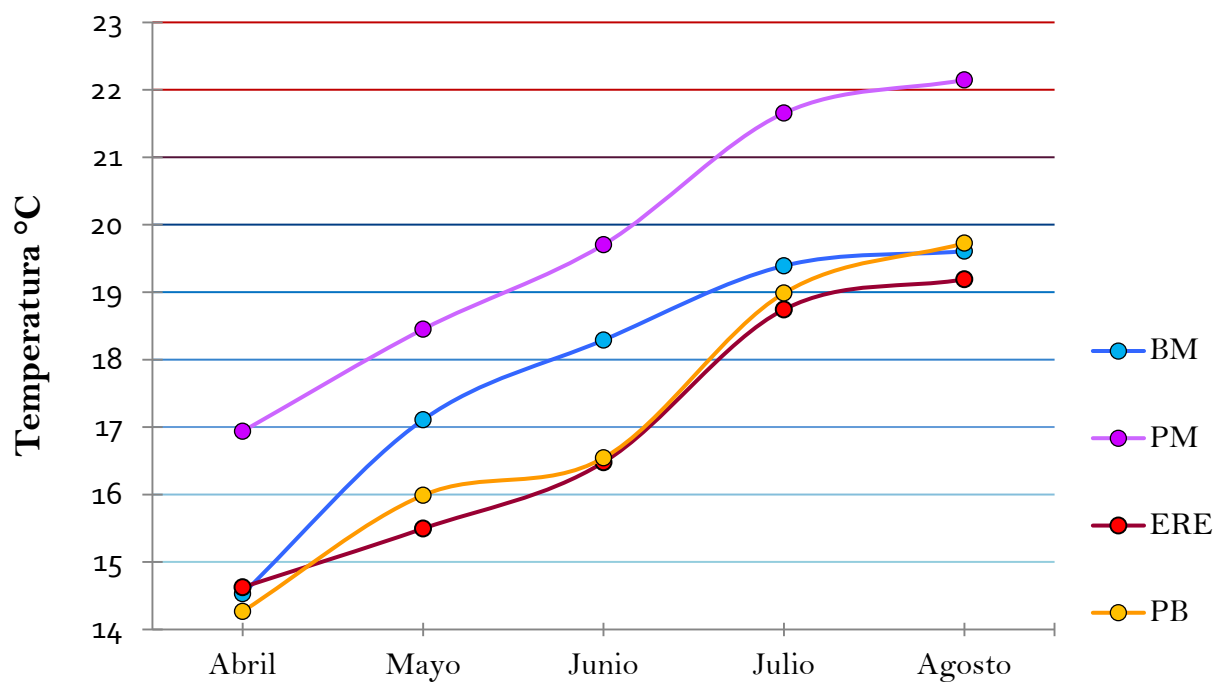


Figura 2.23. Promedio mensual de la TSM durante los meses del estudio para los cuatro sitios de procedencia de los mejillones trasplantados y nativos. El sitio PM presentó las temperaturas más altas durante todo el experimento, seguido de BM. PB y ERE mostraron las temperaturas más bajas. En los meses donde se presentan surgencias en la zona BM, ERE y PB presentaron temperaturas que oscilaron en los 14°C.

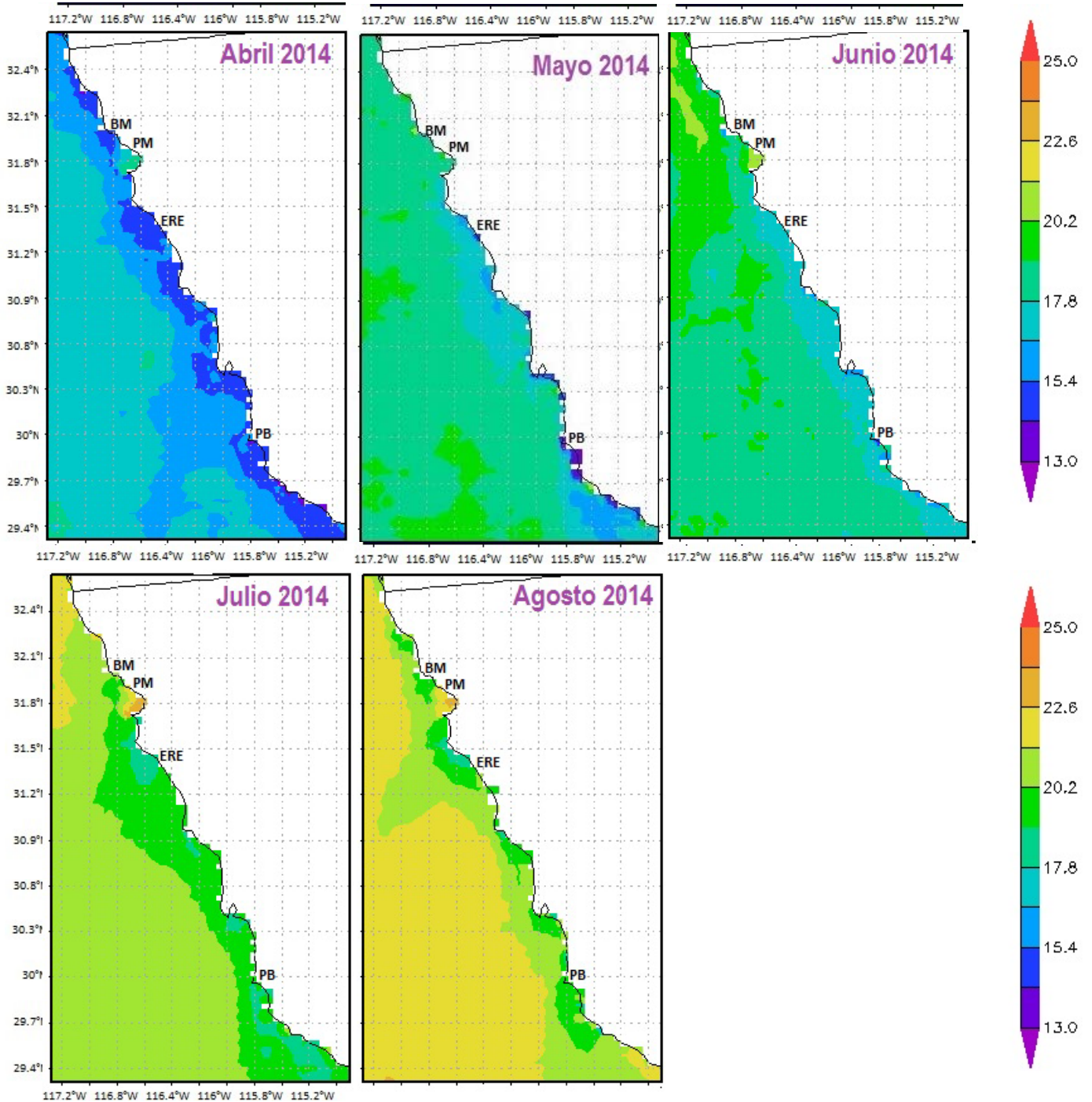


Figura 2.24. Imágenes satelitales de la temperatura promedio de la zona oceánica y costera de los 4 sitios de procedencia de los mejillones, BM, PM, ERE y PB. Durante el muestreo realizado en abril y los meses del experimento mayo-agosto 2014. Se puede observar claramente el incremento de temperatura en la zona oceánica, mientras que en la costera permanece la temperatura más baja.



Los valores de la temperatura máxima y mínima registrada diariamente por medio de los termógrafos en el intermareal de PM fluctuaron entre 15.9 y 25.8°C. En el mes de junio se registró la temperatura más baja, y en julio la más elevada. Para agosto se registraron temperaturas promedio de 23°C (Fig. 2.25). Se observó una tendencia de aumento de temperatura asociada a la estacionalidad de verano. La TSM indicó valores máximos que oscilaron entre 21 y 23°C durante el periodo experimental y las mínimas oscilaron entre de 18 y 20°C.

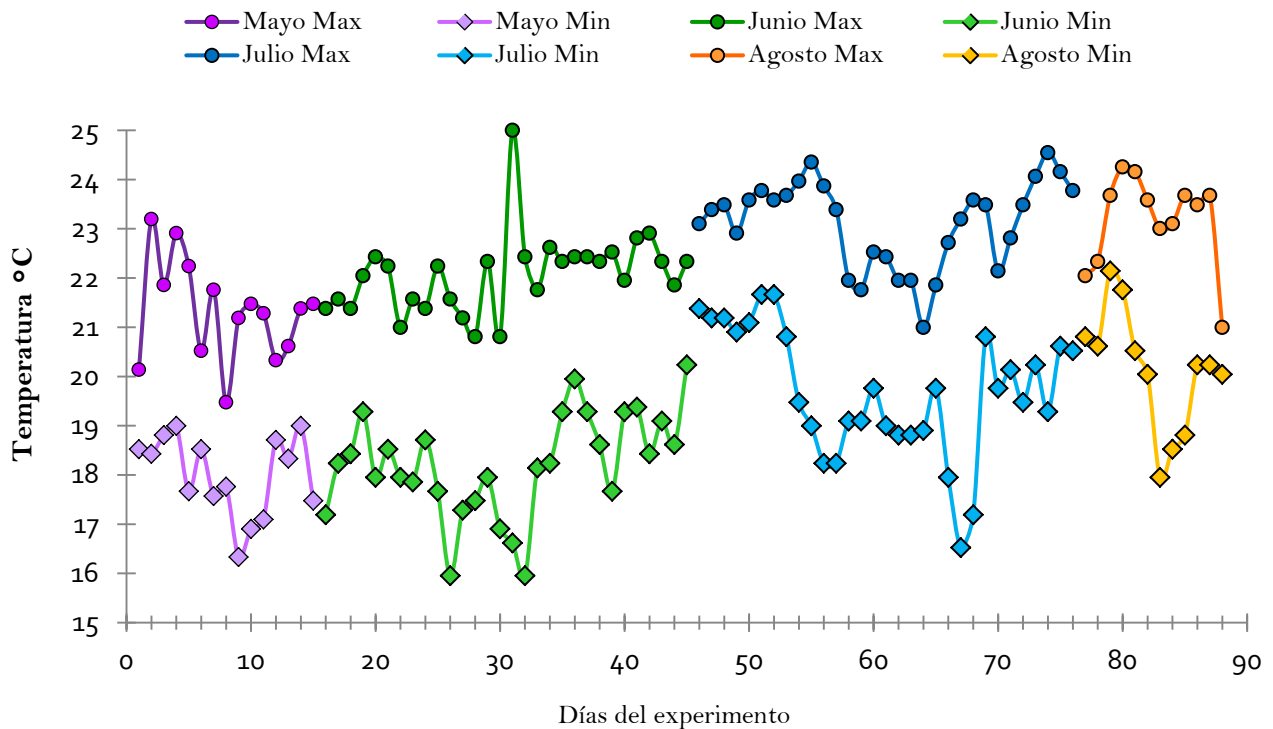


Figura 2.25. Temperatura máxima y mínima del intermareal de PM, registrado por medio de termógrafos, durante los días del experimento. La temperatura corresponde a las horas del día que los mejillones permanecieron sumergidos en el agua, es decir en marea alta. La temperatura mínima registrada es para el mes de mayo y fue 15.4°C y la más alta para junio con 25.8°C.



2.5.6. Concentración de *Clorofila a*

El promedio de la [Clor- α] durante el experimento mostró en el mes de abril el valor más elevado para ERE con 7.05 mg/m³. El resto de los sitios mostraron valores promedio de 4 mg/m³. Los demás meses PM presentó los valores más elevados en comparación con los otros sitios. Se pudo observar el decremento de la concentración de [Clor- α] con el transcurso de los meses (Fig.2.26). En agosto los 4 sitios presentaron valores promedio por debajo de 1. También se muestran las imágenes satelitales correspondientes a los meses de estudio donde se presenta la concentración de clorofila mensualmente para los 4 sitios (Fig.2.27).

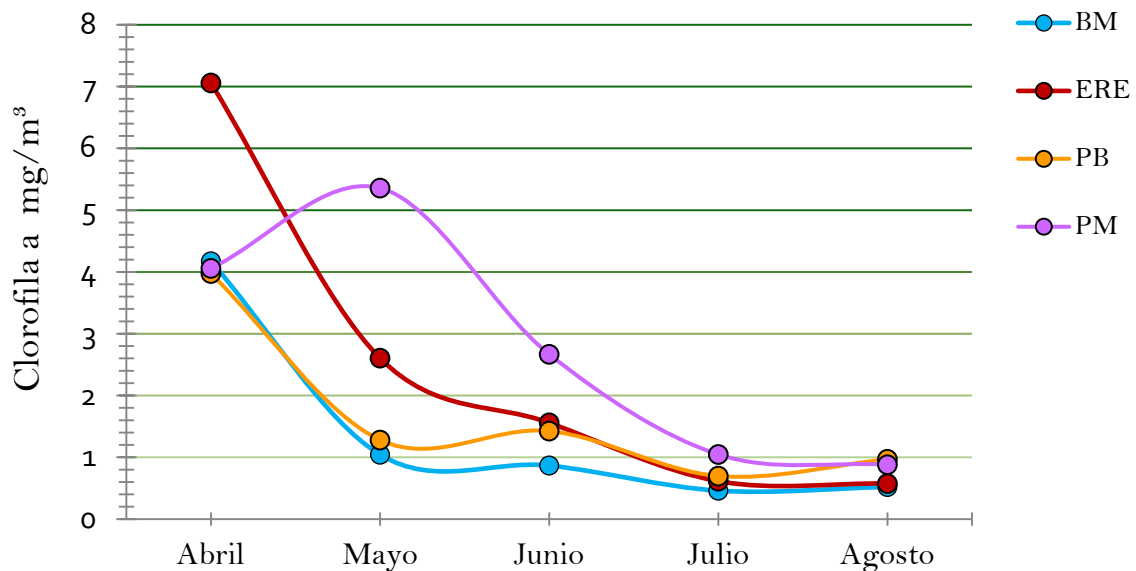


Figura 2.26. Promedio mensual de la concentración de la *clorofila-a*, durante el mes de muestreo abril y de mayo a agosto durante el trasplante en PM. El valor más elevado se presentó en mayo para ERE con 7.05 mg/m³, y el más bajo en BM durante agosto con 0.52 mg/m³, de mayo a julio en PM se presentaron los valores más elevados y para agosto el valor promedio para los 4 sitios osciló en 0.5 -0.9 mg/m³.

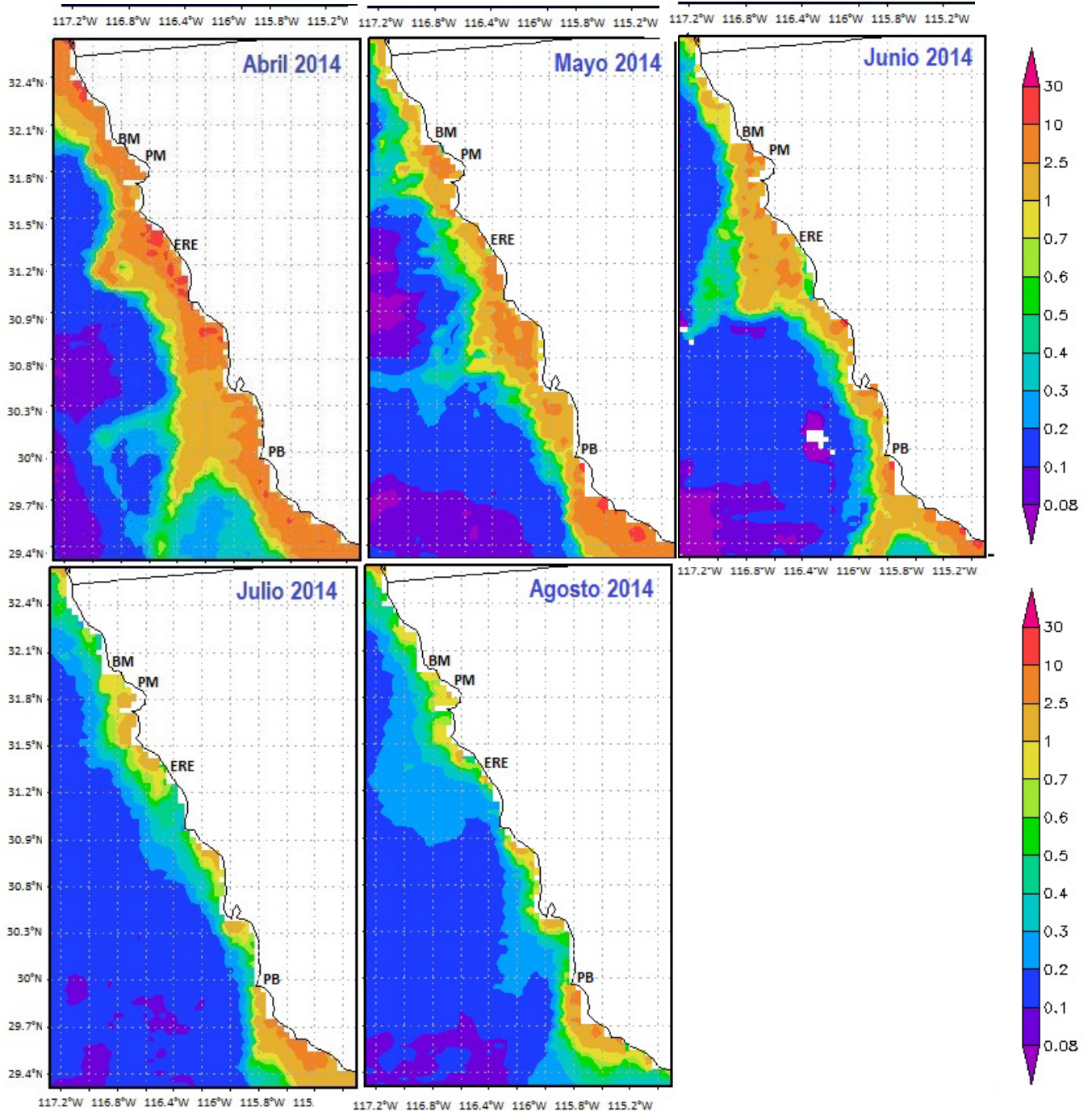


Figura 2.27. Imágenes satelitales (MODIS-AQUA) del promedio mensual de la concentración de *clorofila -a*, para la zona de estudio durante los meses de duración del estudio. El mes de abril corresponde al muestreo realizado, dónde se observan los valores más elevados, y progresivamente se muestra el decremento en los valores promedio.



2.5.7 Oxígeno Disuelto y % de saturación de O₂

El valor puntual de cada medición realizada del OD *in situ* en PM, presentó una tendencia a la baja de sus valores, acorde al aumento de la temperatura que se observó durante el periodo experimental (Figura 2.28). En mayo se presentó el valor más elevado con 9.92 mg/l y en agosto el más bajo con 6.43 mg/l. El porcentaje de saturación de Oxígeno, resultó con la misma tendencia que el OD el valor más elevado fue de 108.6% y el menor 76.7% con disminuciones en agosto, es decir cuando aumentó la temperatura.

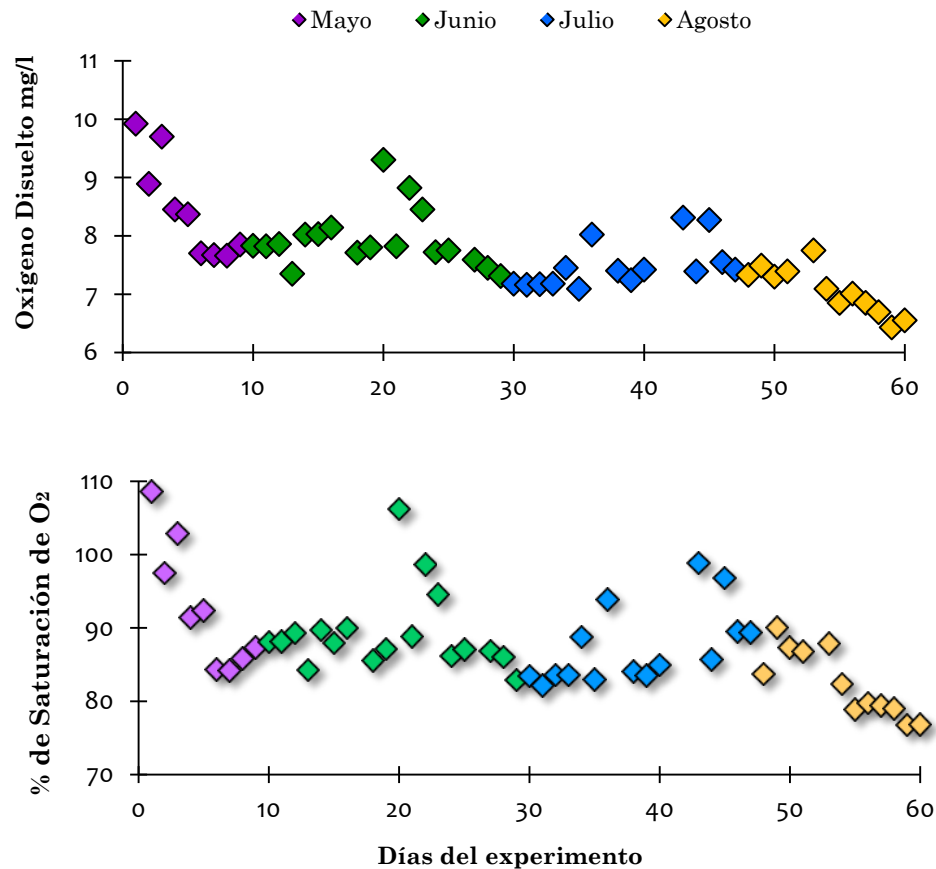


Figura 2.28. Valores puntuales del OD y % de saturación de Oxígeno medido *in situ* en PM, durante el experimento, se puede observar la tendencia de los valores a disminuir. En color morado se puede observar los valores de mayo, en verde los de junio, azul los de julio y amarillo los de agosto.



2.5.8 pH

Las mediciones de pH *in situ* en PM, oscilaron entre 7.83 registrado para el mes de mayo y 8.33 para el mes de julio, y los valores más bajos en el mes de agosto (Fig. 2.29). Se pudo observar el resto de los valores de pH registrados en la zona intermareal para cada mes del experimento con un ligero decremento con los días transcurridos.

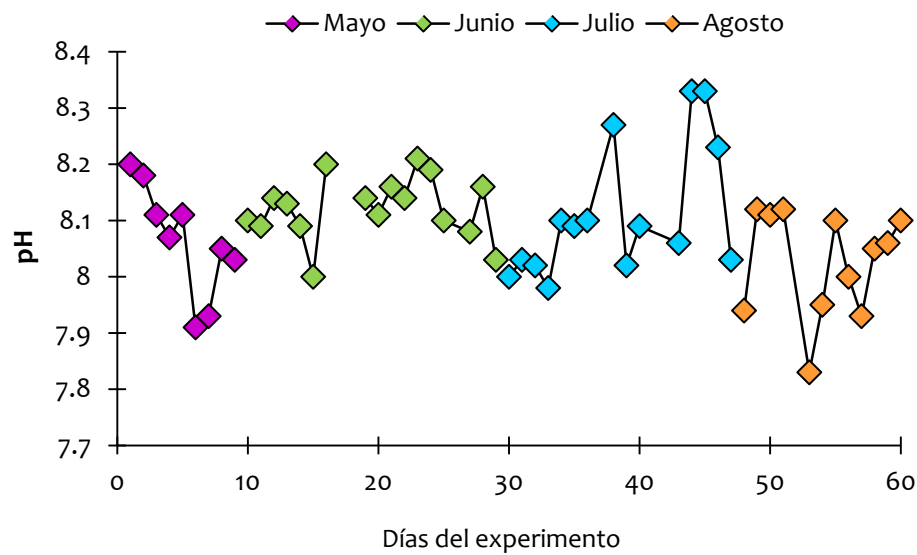


Figura 2.29. Valores de pH medidos *in situ* en el intermareal PM. Se puede observar el valor puntual por día, según corresponde al mes en el que se encontraba el experimento. El pH más bajo se registró en mayo con 7.83, y en julio el más elevado con 8.33.

2.5.9 Análisis de componentes principales (ACP)

El resultado del ACP para los mejillones trasplantados y nativos se muestra en la Tabla VII, donde se presenta el Eigen valor obtenido para cada sitio de procedencia, la proporción y porcentaje acumulado que éste representó. Los mejillones trasplantados y nativos se asociaron con 3 componentes principales, sin embargo sólo 2 fueron significativos. El promedio de la proporción explicada por el componente 1 (CP1) para todos los casos fue de 88%, mientras que el 10% fue para el componente 2 (CP2).



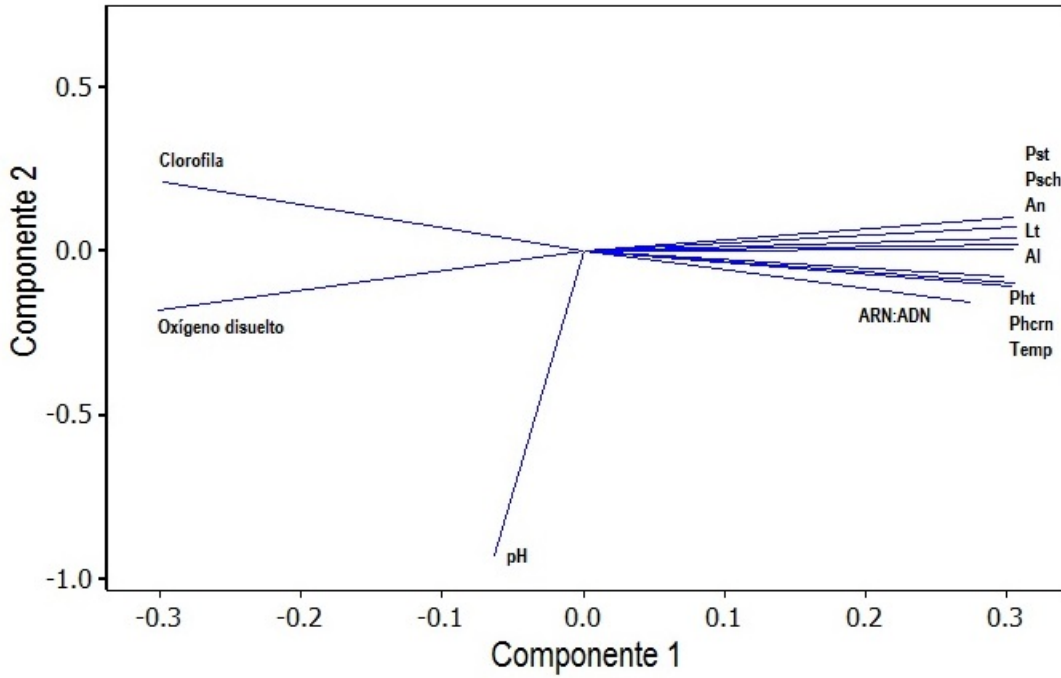
Tabla VII. Eigen valores, proporción y su acumulado del ACP entre variables ambientales, relación ARN/ADN y morfométricas estudiadas para cada sitio de procedencia de los mejillones trasplantados y nativos

Procedencia		CP 1	CP 2	CP 3
<i>Bajamar</i>	Eigen Valor	10.56	1.11	0.316
	Proporción (%)	88.1	9.3	2.6
	Acumulado (%)	88.1	97.4	100
<i>Eréndira</i>	E. V	10.36	1.381	0.259
	%	86.3	11.5	2.2
	%	86.3	97.8	100
<i>Punta Baja</i>	E. V	10.58	1.18	0.259
	%	88.2	9.9	1.9
	%	88.2	98.1	100
<i>Punta Morro</i>	E. V	10.49	1.3	0.2
	%	87.5	10.8	1.7
	%	87.5	98.3	100

Los mejillones de BM proyectaron todas las variables en el CP1 con excepción del pH, que se observó en el CP2. Las variables correlacionadas negativamente con los parámetros morfométricos fueron la clorofila, OD y el pH. Los mejillones de ERE también ubicaron todas sus variables en el CP1 y el pH en el 2. Se correlacionó negativamente la clorofila, OD y en el primer componente las variables morfométricas. La correlación del ARN/ADN, clorofila, OD y pH para los mejillones de PB se observaron asociadas con el CP2 y el resto en el CP1. La correlación negativa se presentó en el pH, OD y relación ARN/ADN. Por último para los mejillones nativos de PM se observó solo en el CP2 el pH, el resto en el CP1, y las variables correlacionadas negativamente fueron la clorofila, OD, ARN:ADN y el pH. También se realizaron las proyecciones ortogonales del ACP para mejillones trasplantados y nativos (Figs.2.30 y 2.31). Los valores de cada CP pueden observarse en el anexo 3.3.



A)



B)

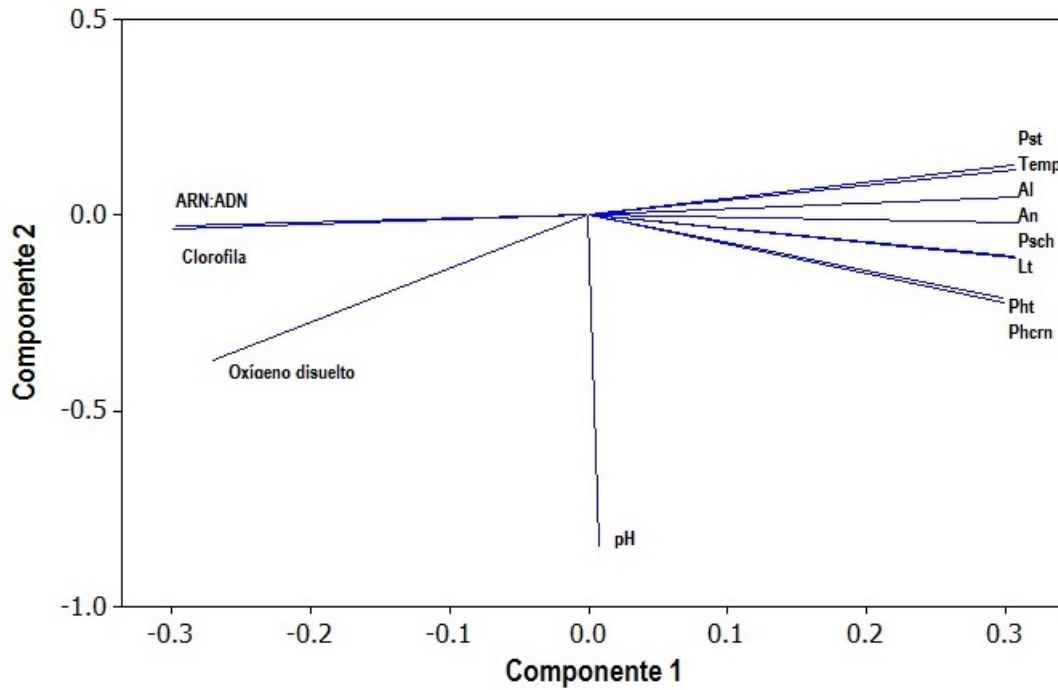


Figura 2.30. Proyecciones ortogonales del ACP para los mejillones de BM (A) y ERE (B), para ambos casos se puede observar las correlaciones negativas que se ubican opuestas a las variables morfológicas. Los mejillones de BM ubican en el CP2 el pH y los de ERE el pH y el OD, el resto de las variables para ambos sitios se encuentra en el CP1.

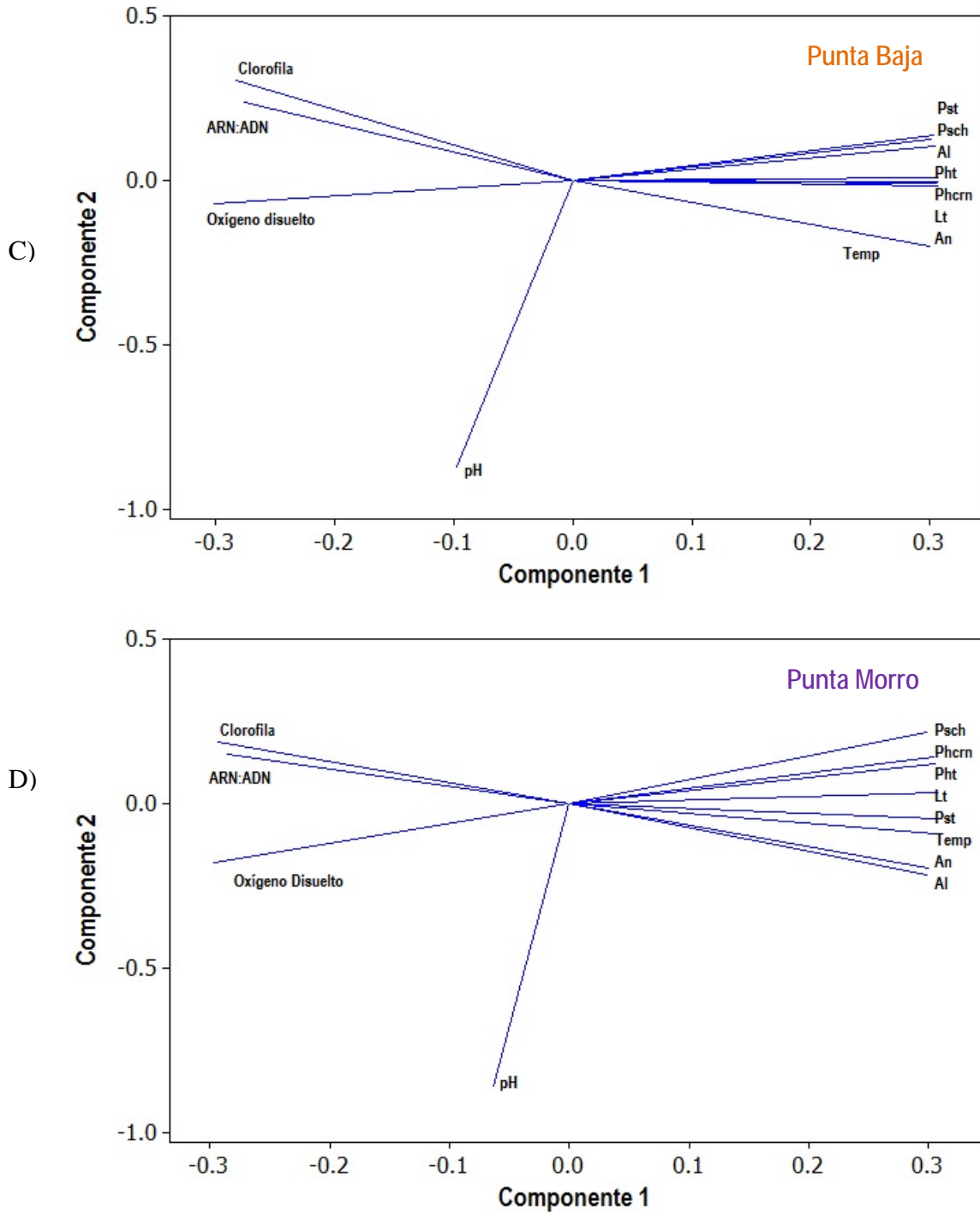


Figura 2.31. Proyecciones ortogonales del ACP para los mejillones de PB (C) y PM (D), para ambos casos se observan las correlaciones negativas que se ubican opuestas a las variables morfométricas y la temperatura. PB ubica en el CP2 la clorofila y el pH mientras que PM sólo el pH . El resto de las variables de ambos sitios se encuentra en el CP1



En la correlación negativa entre el oxígeno disuelto y la temperatura de los datos registrados en el intermareal PM, se observó el decremento de OD mientras aumenta la temperatura. El valor de OD más bajo registrado es de 6.43 mg/l, el cual no es considerado como nivel que compromete el metabolismo de los organismos y se correlaciona con una temperatura de 24.3 °C (Fig. 2.32).

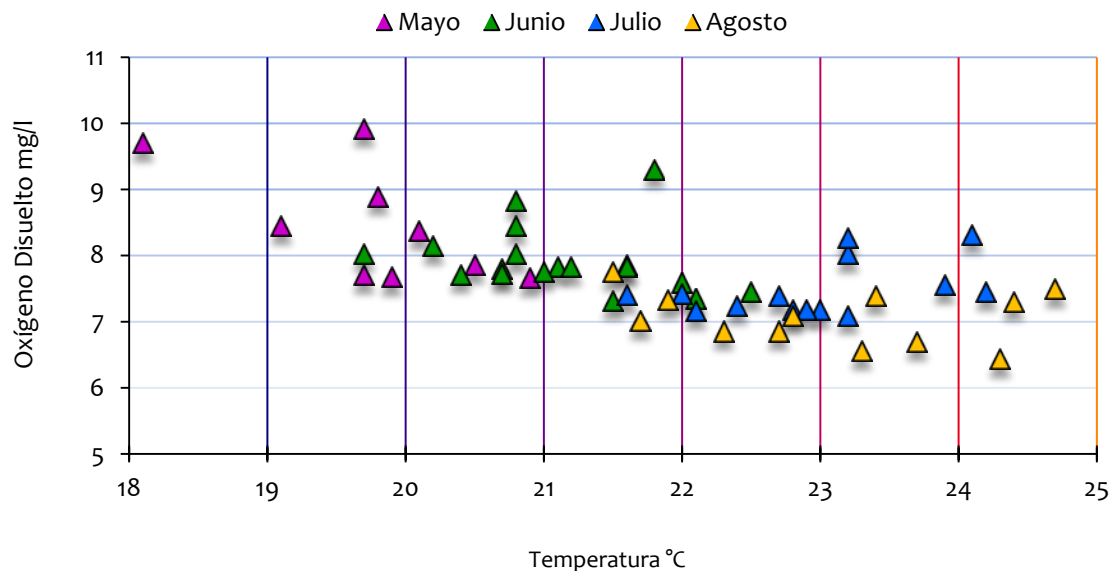


Figura 2.32. Correlación negativa entre el oxígeno disuelto y la temperatura durante los meses del experimento. En la gráfica se observa el OD registrado para mayo (morado), junio (verde), julio (azul) y agosto (amarillo), y cómo este disminuye con el aumento de la temperatura.

Finalmente la [Clor-a] se correlacionó negativamente con el índice ARN/ADN de los mejillones de PM, ERE, y PB, mientras que positivamente con los de BM. En la Fig. 2.33 observamos claramente como la [Clor-a] disminuye durante el periodo experimental junto con los valores promedio de la relación ARN/ADN de la etapa final.

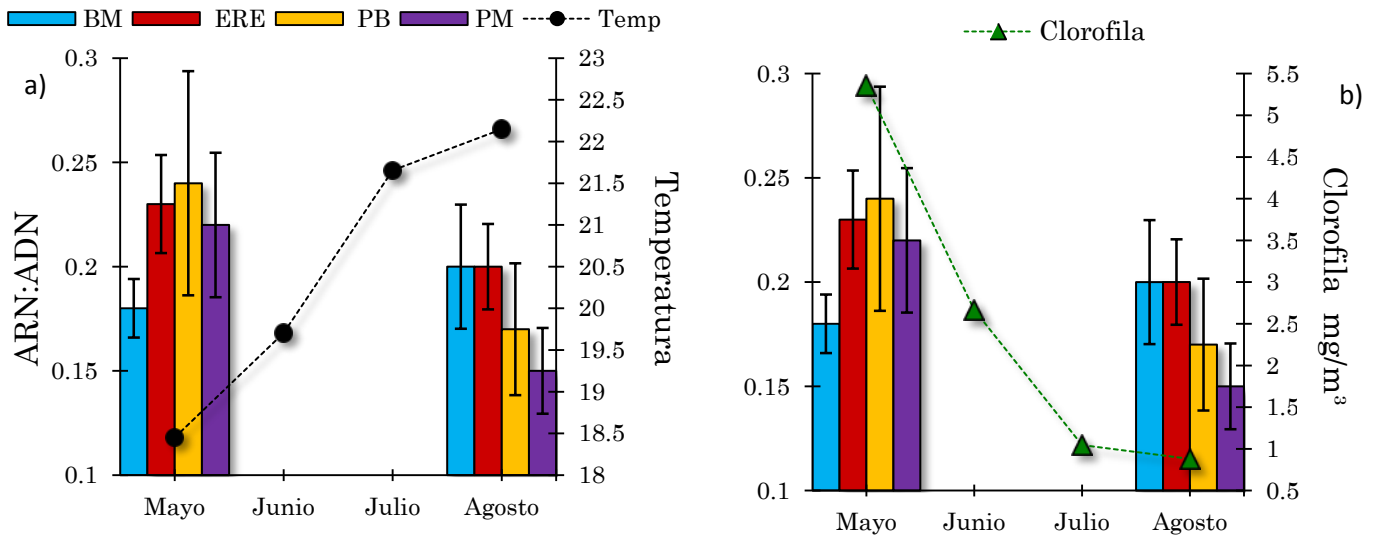


Figura 2.33. Correlación entre la relación ARN/ADN con la temperatura (a) y con la clorofila (b) registrada durante el experimento, en el primer caso se puede observar el aumento de la temperatura y la disminución del índice, con excepción de los mejillones de BM, dónde la correlación se da de manera positiva, y para la gráfica b, la disminución de la clorofila y del índice en la etapa final, con excepción de los mejillones de BM, dónde la correlación se da de manera negativa.

La mortalidad de los mejillones, no pudo cuantificarse con precisión, solo se pudo observar un mejillón muerto en la caja de trasplante de ERE réplica 2, durante el muestreo 1. En el muestreo 2 no se observaron pérdidas, sin embargo en el muestreo 3 las tapas de las cajas no resistieron, ya que no eran de acero inoxidable, y se presentaron pérdidas del 80% de los mejillones en la mayoría de las cajas. En la réplica 1 de PM y BM pérdida total. No obstante se usaron para el muestreo 3, el número restante de mejillones, y se completó como mínimo un n=10 para cada uno de los sitios de procedencia de los mejillones.



2.6 Discusión

El presente estudio nos mostró para las poblaciones de mejillones juveniles de *Mytilus californianus* trasplantados y nativos, patrones de crecimiento similares durante el experimento. No obstante, se observó un mayor aumento en las variables morfométricas y de peso en los mejillones de PM. Lo cual concuerda con la hipótesis planteada, pues los mejillones nativos presentaron una respuesta distinta a los mejillones trasplantados, sin embargo, éstos también respondieron de manera favorable a las condiciones ambientales del intermareal PM, en el cual se registraron los valores más elevados de temperatura y clorofila-a durante el experimento, lo que lo convierte en un sitio con condiciones oceanográficas favorables para los mejillones. Diversos autores consideran que los factores ambientales, como la temperatura, salinidad, oxígeno y disponibilidad de alimento tienen una influencia directa en la tasa de crecimiento de los mejillones que viven en la zona intermareal (Dehnel, 1956, Kautsky et al., 1990, Menge et al., 1997), además de la influencia que representa el tiempo de inmersión y la exposición al oleaje (Connor y Robles 2015).

Las tasas de crecimiento reportadas para mejillones *M. californianus* en vida silvestre dependen de la latitud donde se encuentren, así como las condiciones ambientales del hábitat. En el estudio realizado por Dehnel (1956), reportó para dos poblaciones de *M. californianus*, una proveniente de Alaska y otra del sur de California, un aumento mensual del largo de la concha de 0.33 y 0.96 mm respectivamente, lo que indica valores más elevados para los mejillones del sur de California. En contraste con nuestros resultados, la tasa mensual del crecimiento del largo de la concha que observamos fue mayor (PM 1.77 mm, BM 1.46 mm, ERE 1.53 mm y PB 1.76 mm). Lo cual puede deberse a que las condiciones ambientales son distintas, como la temperatura, debido a ubicación geográfica de nuestro sitio de trasplante, pues éste se encuentra más al sur, con temperaturas más elevadas, en comparación con los sitios de estudio de Dehnel (1956) en este estudio, se indica una diferencia de 7°C entre Alaska y el sur de California para los meses de verano. En el presente estudio, entre PM y BM reportamos una



diferencia promedio de 3°C, y entre PM y ERE-PB de 4°C. Por lo que el intervalo de temperatura fue más reducido en el presente estudio y asociado con temperaturas más elevadas puede contribuir a una tasa de crecimiento más elevada. Finalmente, Dehnel (1956), sugiere que la concha de las poblaciones crece de forma distinta.

En estudios anteriores se ha documentado, la variabilidad morfológica de la concha de *Mytilus californianus*, la cual se correlaciona con la temperatura, su distribución espacial a lo largo del intermareal y los patrones de la morfología de la concha asociados a gradientes biogeográficos (Dodd 1964). Las variaciones de temperatura, exposición al oleaje y disponibilidad de alimento, se modifican con la elevación de cada una de las zonas del intermareal rocoso, lo que tiene un efecto en el crecimiento y forma de la concha de los mejillones (Kopp 1979). También se han reportado diferencias morfológicas entre dos poblaciones de *Mytilus edulis*, ubicadas en sitios contrastantes de salinidad y oxígeno disuelto por Kautsky et al. (1990) quienes sugieren que es probable que estén genéticamente determinadas. La alternativa a una explicación genética podría ser la posibilidad de un lento proceso de aclimatación. Lo anterior también ha sido documentado para otros moluscos bivalvos, como lo indican Cisneros et al. (2008), quienes sugieren que las diferencias morfológicas y de crecimiento observadas en *Argopecten purpuratus* con diferente origen, sometidos a las mismas condiciones de temperatura y oxígeno, no están dadas por factores ambientales, sino por factores genéticos.

En el presente estudio, los mejillones provenientes de BM y PB, presentaron morfologías diferentes, y los de ERE y PM morfologías con características similares que se ven reflejadas en el crecimiento de la concha en cada uno de los parámetros, a pesar de que fueron trasplantados a un mismo sitio. Lo cual se corrobora con el análisis de regresión lineal para los parámetros morfométricos donde los mejillones nativos de PM obtuvieron la pendiente más pronunciada con valor de 1.81 ($R^2=.99$) para el largo de la concha y la más baja para los mejillones de BM con 1.44 ($R^2=.99$). Inferimos que el crecimiento del largo de la concha fue mayor en los mejillones nativos. El resto de los datos posiciona a los mejillones de BM con el menor crecimiento, en comparación con ERE y PB. En contraste con otros Mitílidos, por



ejemplo para el mejillón venezolano *Perna perna*, Arrieche et al. (2002), reportaron que la longitud total de la concha fue el parámetro que mejor explicó la variabilidad del resto de parámetros biométricos ($R^2=0.87$), éste resultado es consistente con los resultados obtenidos en el presente estudio. También contrastamos la morfología de los mejillones juveniles de los 4 sitios con adultos, ya que muestran las características de la concha más marcadas. Nuestra inferencia acerca de la variedad morfológica se puede corroborar por medio del modelo de crecimiento logarítmico, el cual indica el tipo de crecimiento alométrico en los mejillones, éste método ha sido ampliamente utilizado para los Mytilidos, (Chi-Barragán y Pámanes, 1983, Salas y Oliva, 1983, Arrieche et al., 2002, Bruscia et al., 2001, Stefanni y Branch, 2003, Cisneros et al., 2008).

En nuestros resultados de la relación biométrica *Largo-Alto* para los mejillones de BM, indicó que el alto crece más rápido que el largo ($\beta=1.05$), y para el resto de los mejillones el largo de la concha crece más rápido que el alto, y en la relación *Largo –Ancho* el largo crece más rápido que el ancho para todos los mejillones. En el estudio realizado por Cancino-Franklin (1985), reportó para la relación biométrica *Largo-Alto* $\beta=0.92$ y para *Largo-Ancho* $\beta=0.91$, para mejillones de *Mytilus californianus* adultos cultivados en la Bahía Todos Santos, con un crecimiento de tipo alométrico negativo. En nuestro estudio obtuvimos para los mejillones nativos de PM $\beta=0.94$ y $\beta=0.83$. En comparación con el estudio de Cancino-Franklin (1985), nuestros valores de la relación *Largo-Ancho* fueron menores, lo cual puede deberse a que los organismos que utilizamos fueron juveniles, sin embargo coincidimos en el tipo de crecimiento. Otra característica de los mejillones del estudio de Cancino-Franklin (1985) es que fueron cultivados en líneas “*Long line*”, por lo que el grosor y peso de la concha puede ser menor en comparación con los mejillones que se encuentran en el intermareal expuestos en una zona de alta energía, como en el caso de la procedencia de los mejillones de este estudio.

En mejillones *Mytilus galloprovincialis* se ha documentado que tienen un crecimiento alométrico positivo para la relación *Largo-Alto* y alométrico negativo para la relación *Largo–Ancho*. Éstos



resultados fueron comparados con la influencia que tienen los mejillones a la exposición del oleaje, el cual tiene una relación con la tasa de crecimiento del ancho de la concha (Steffani y Branch, 2003).

Se han propuesto diversas hipótesis acerca de las funciones del alto y ancho de la concha de los mejillones, por ejemplo, se ha observado que la biomasa de la concha puede ser explicada por su correlación con su ancho (Arrieche et al., 2002). Según Dahlhoff y Menge (1996) la tasa de filtración individual podría estar asociada con el alto de la concha y podría determinar la talla relativa del órgano filtrador, por lo tanto la disponibilidad de alimento afecta directamente la tasa de crecimiento. Se cree que el ancho de la concha contribuye al metabolismo basal de los organismos, pues los mejillones con una concha más ancha, tienen más tejido que confiere un mayor costo metabólico. Debido a este incremento metabólico, el estrés térmico al que están expuestos puede ser mayor y está parcialmente determinado por su morfología, ya que al incrementar el ancho, se incrementa la tasa de absorción de luz con el aumento del área superficial de la concha, como resultado de una mayor incidencia de la radiación solar en su superficie (Helmuth y Hofmann, 2001).

Por su parte, Blythe y Lea (2008) proponen que las dimensiones del alto y ancho están relacionadas con funciones metabólicas en los mejillones de manera individual, y de manera particular la modificación del ancho de la concha puede estar influida por parásitos como copépodos y turbelarios pues son abundantes en las poblaciones de mejillón. La depredación también puede ser un factor que interviene en la forma de la concha; Paine (1976) sugiere que los mejillones más largos pueden refugiarse debido a su gran tamaño y que el aumento del grosor de la concha puede contribuir a la dimensión del ancho de la concha. Otro factor que puede influir en la morfología de los mejillones es la posición en la zona intermareal y la abundancia de organismos en las camas de mejillón (Bruscia et al., 2001).

El peso húmedo de la carne (*Phcr*) utilizado en este estudio, incluyó el componente blando del mejillón sin concha y representó un 25% del peso húmedo total, este indica el crecimiento somático del tejido blando. En otro trabajo se ha documentado que la producción de tejido somático en mejillones *Mytilus edulis* excede la producción de gametos en los primeros dos años de vida, después la producción del



tejido somático declina y excede la producción del tejido reproductivo (Roesijadi et al., 1984). Por ende, en este trabajo no consideramos la influencia que puede tener la maduración de las gónadas en el crecimiento y desarrollo de los organismos, ya que utilizamos ejemplares juveniles en un intervalo de talla de 15 - 27 mm.

Con las evidencias mostradas de las diferencias morfológicas y tasas de crecimiento, sugerimos que los mejillones trasplantados y nativos muestran una forma de la concha típica para cada sitio de procedencia. El alto de la concha fue muy particular en los mejillones juveniles de PB y PM, en su mayoría presentaron un alto muy amplio similar a un “abanico”, característica que puede estar dada por la cantidad de tejido interno y la tasa de alimentación, según lo sugerido por Dahlhoff y Menge (1996). No obstante esta cualidad se desvanece cuando son adultos, en el caso de los mejillones de PB, la forma adulta es menos amplia, incluso los surcos que presentan en la concha son los menos marcados, y los que pueden observarse con mayor facilidad son los surcos verticales en forma de curva, además de que presentan el ancho de las valvas más pequeño. La morfología típica que se observó en este trabajo para mejillones trasplantados y nativos, puede ser explicada por medio de la plasticidad fenotípica, pues es una propiedad del genotipo de los organismos para producir fenotipos diferentes cuando están expuestos a presiones ambientales (Pigliucci et al., 2006). En el trabajo de Logan et al. (2012) sugieren que las poblaciones de *M. californianus* separadas latitudinalmente exhiben diferencias en la tolerancia termal y la adaptación a condiciones ambientales locales pueden ser diferencias genéticas, dada por efectos maternos. Si tomamos en cuenta que cada una de los sitios de procedencia de los mejillones tiene características térmicas y de disponibilidad de alimento distintas, podemos inferir que el mejillón *M. californianus* distribuido en la costa occidental de Baja California, es una especie con una plasticidad fenotípica y genotípica que ha logrado consolidar su distribución en una zona bajo condiciones oceanográficas contrastantes.

Los cuatro sitios de procedencia de los mejillones son contrastantes debido a su ubicación a lo largo de la costa occidental de la península, además de estar expuestos a los fenómenos de surgencia causados



por los vientos provenientes del noroeste, siendo más intensos en primavera y verano (Durazo et al., 2010). El sitio de trasplante PM se encuentra dentro de la Bahía Todos Santos (BTS), la cual se caracteriza por ser una bahía semi-cerrada, en esta región del Océano Pacífico. La bahía se caracteriza por aguas más calientes y un tiempo de residencia más elevado que las del océano adyacente. En las aguas adyacentes a la bahía, el promedio de la temperatura superficial mínima es de 11y15°C durante el invierno y primavera respectivamente, y las temperaturas máximas superficiales de 22°C, mientras que la temperatura anual reportada dentro de la bahía es de 17.74 ± 0.42 °C y en zonas expuestas adyacentes a las costas del pacífico de 14.67 ± 0.52 °C, (Delgadillo-Hinojosa et al., 2014), es decir más de 3°C de diferencia. Nuestros datos promedio de TSM máxima registrada en la zona intermareal de PM durante el periodo mayo-agosto el intervalo de temperatura máximas registradas estuvo entre 21-23°C y las mínimas de 18-20°C, lo que coincide con los datos registrados para temperaturas altas dentro de la BTS. El hecho de que las temperaturas mínimas no concuerden puede deberse a que nuestros datos fueron registrados en la zona intermareal, en donde la dinámica de la rompiente aunada a lo somero del área, pudieron contribuir a que no se alcanzarán los valores mínimos registrados por Delgadillo-Hinojosa et al. (2014) en la columna de agua dentro de la BTS. No obstante la comparación de datos de TSM, con el resto de los sitios nos indica una diferencia entre 3 y 4°C, es decir PM es el sitio con las temperaturas más altas, lo cual puede deberse principalmente a que se encuentra dentro de la BTS y las características particulares que esto le confiere. La circulación interna dentro de la BTS consiste en remolinos ciclónicos y anticiclónicos influenciados por la interacción de las corrientes fuera de la bahía, la fuerza del viento y la forma C invertida de la Bahía (Mateos et al., 2009), por lo que es considerada como una corriente de retención RC (por su siglas en inglés). Este tipo de corrientes se caracterizan por estar en secciones de la costa donde el viento es reducido, aguas de surgencia, temperatura elevada, y crean un frente termal entre el centro de retención y el océano abierto (Delgadillo-Hinojosa et al., 2014). Por lo anterior podemos considerar que el sitio de trasplante representó la zona con temperaturas más elevada junto con una alta disponibilidad de alimento, pues es



consistente con los datos de [Clor-a] que reportamos, ya que en los meses de mayo-julio en PM se presentaron los valores más elevados en comparación con el resto. En este trabajo se observó para los sitios de BM, ERE y PB las temperaturas más bajas en comparación con PM, y ERE el sitio que exhibió los valores más altos de concentración de clorofila a para el mes de abril, mientras que PM en primavera y verano. De acuerdo con Escamilla-Espinoza (2015), reportó el sitio de ERE como una zona con mayores eventos de surgencia y más intensos en comparación con los sitios BM y PB en época de surgencias, lo que coincide con nuestros resultados. El viento es uno de los factores principales que inducen los eventos de surgencia en la costa de occidental de Baja California, por lo que éste fomenta la alta productividad en el océano. El viento paralelo a la costa causa transporte de Ekman a la derecha del viento y produce surgencias costeras, si es positivo bombea aguas subsuperficiales a la superficie, contribuyendo a la intensidad de la surgencias (Castro y Martínez, 2010).

Finalmente el análisis de componentes principales indicó una correlación inversamente proporcional entre las variables morfométricas y la temperatura con la [Clor-a] y el oxígeno disuelto, es decir la temperatura aumentó, mientras que los valores de clorofila y OD disminuyeron, éste descenso de [Clor-a] fue gradual a lo largo del experimento lo que pudo deberse a la ausencia de eventos de surgencia en la BTS, lo que también puede explicar los valores de correlación inversos que obtuvimos entre las variables morfométricas y los valores de clorofila. No obstante, PM mantuvo los valores más elevados de temperatura, esto puede deberse a las condiciones oceanográficas que le confiere la corriente de retención “RC”. Por lo tanto inferimos que los mejillones trasplantados se expusieron a temperaturas más elevadas y una alta disponibilidad de alimento mayores a la que tienen en su zona de origen durante los meses de mayo a julio, lo que se vio reflejado en su tasa de crecimiento, en particular para los mejillones nativos de PM que presentaron los valores promedio más altos en talla y peso.

La disminución del oxígeno se debe principalmente a la solubilidad de los gases que generalmente disminuye con el aumento de temperatura, el cual es suministrado a la superficie del océano a través de



la fotosíntesis y la disolución de O_2 atmosférico a través de la interface aire-océano (Libes, 2009). El proceso de fotosíntesis además de proveer de O_2 a la columna de agua, consume CO_2 lo que causa un decremento en la $[H^+]$, por lo que el pH aumenta, y cuando aumenta el CO_2 por respiración o por aporte externo (antropogénico), la $[H^+]$ se eleva y el pH también en condiciones de luz. Nuestros datos de pH se encontraron en el intervalo de 7.8 a 8.3, en contraste con los valores reportados para el agua de mar, que son entre 8.1 y 8.3 (Álvarez-Borrego, 2007). El dato más elevado puede deberse a procesos fotosintéticos intensos, pues los datos provienen de la zona intermareal donde se encuentran una gran cantidad de organismos fotosintéticos, aunado al fitoplancton presente. En el ACP, el pH se ubicó en el CP2, correlacionado negativamente con las variables morfométricas y con el OD, lo que puede estar asociado directamente a los procesos fotosintéticos de la zona. En contraste con una zona intermareal en Monterey Bay, se han reportado aguas bajas en pH asociadas a masas de agua bajas en oxígeno que alcanzan aguas poco profundas en regiones cercanas a la costa (Booth et al., 2012).

Por otro lado la temperatura se correlacionó negativamente con la relación ARN/ADN en el CP 1, para todos los mejillones. Los valores de la temperatura aumentan mientras que los de la relación ARN/ADN disminuyen en el último mes del experimento. Nuestros resultados de manera general son consistentes con los reportados para invertebrados marinos sometidos a estrés térmico por ejemplo, para la galleta de mar *Dendraster excentricus*, en donde el mismo índice fue utilizado como biomarcador de una respuesta al estrés térmico y condiciones de oxígeno el intervalo de valores de la relación ARN/ADN para esta especie fue de 0.210 a 1.667, siendo los valores más bajos para condiciones de bajo oxígeno (Olivares-Bañuelos et al., 2014). En nuestro estudio las condiciones de oxígeno disminuyeron, cuando la temperatura se elevó, por lo cual también podemos inferir el decremento del índice en nuestros resultados. Los valores reportados en el presente estudio del índice ARN/ADN para juveniles de *M. californianus* fueron de 0.18 a 0.23, los cuales están entre los valores más bajos reportados para la galleta de mar por Olivares-Bañuelos et al. (2014). En contraste, valores reportados del índice para mejillones adultos de la misma especie, oscilan entre 2 y 7 (Dahlhoff y



Menge 1996). Estas variaciones pueden deberse a que se utilizaron ejemplares adultos y para las extracciones de ácidos nucleicos el tejido del músculo aductor u otros tejidos de interés, mientras que nosotros utilizamos el cuerpo blando del mejillón completo para realizar la extracción del ARN y ADN. La sinergia entre el índice ARN/ADN y la [Clor-a] se ha observado para el mejillón *Mytilus californianus* en las costas de Oregón, el incremento del índice se correlacionó con el aumento de la [Clor-a], por lo que sugieren un fuerte vínculo entre la zona costera, la disponibilidad de alimento y la fisiología del mejillón (reflejado el índice como la capacidad de síntesis de proteínas y de actividad metabólica), el cual depende de las condiciones oceanográficas del sitio. También proponen que los mejillones tienen un alto grado de plasticidad fisiológica en respuesta a las variaciones ambientales, pues los cambios en la fisiología del mejillón pueden ocurrir rápidamente en respuesta a la variación de la productividad primaria de la zona costera (Dahlhoff y Menge 1996). Por lo tanto la correlación positiva que observamos en nuestros datos, sugiere un decremento de la actividad metabólica de los mejillones, ocasionada por la disminución de la [Clor-a]. A pesar de que sólo existieron diferencias significativas entre los índices de ARN/ADN iniciales y finales de los mejillones de PB, los datos indicaron una tendencia a disminuir con excepción de los mejillones de BM, esto puede deberse a que redujeron su metabolismo basal, por la disminución del alimento, además de los incrementos de temperatura.

Los resultados del experimento de trasplante indicaron que los mejillones de BM, ERE y PB estuvieron sometidos a una temperatura más elevada, en comparación con la de su sitio de origen, sin embargo, no representó una condición de estrés térmico. Con todas las variables de respuesta evaluadas en los organismos trasplantados y nativos, podemos inferir que los mejillones de *Mytilus californianus* tienen una amplia tolerancia a condiciones ambientales y que pueden aclimatarse a condiciones distintas de su ambiente a corto plazo, lo que indica su plasticidad fenotípica. Estas variantes locales, le confieren como especie una amplia posibilidad de que algunas de sus poblaciones, sean capaces de adaptarse a escenarios del cambio climático global.



2.7 Conclusiones

- ❖ Los mejillones nativos de PM presentaron un crecimiento de la concha y ganancia de peso más elevado en comparación con los mejillones trasplantados, de los cuales, los de BM mostraron los valores menores del crecimiento de la concha y los de ERE el menor aumento de peso.
- ❖ Se sugieren tres morfotipos diferentes para las poblaciones de mejillones provenientes de BM, ERE y PB, y una combinación de características para los mejillones de PM.
- ❖ El índice ARN/ADN exhibió un decremento de la etapa inicial a la final, lo que se asoció con la disminución de la clorofila y oxígeno, además del aumento de temperatura y como consecuencia, una disminución del metabolismo de los mejillones reflejado en el índice.
- ❖ Los mejillones trasplantados no fueron sometidos a condiciones de estrés térmico a pesar de que las temperaturas del sitio de trasplante fueron más elevadas que las de su sitio de origen.
- ❖ Las poblaciones de *Mytilus californianus* distribuidas en la costa occidental de Baja California presentan una plasticidad fenotípica que les confiere la capacidad de consolidar una amplia distribución en las zonas intermareales en condiciones oceanográficas contrastantes.



2.8 Recomendaciones

- ✓ Aumentar el tiempo de trasplante, como mínimo un año para poder observar el ciclo anual de los parámetros ambientales así como la tasa anual de crecimiento de los mejillones.
- ✓ Considerar diferentes intervalos de tallas durante los experimentos de trasplante.
- ✓ Hacer uso del índice de condición y rendimiento para moluscos bivalvos.
- ✓ En caso de usar el índice ARN/ADN, realizar extracciones con mayor frecuencia (ej. quincenalmente) para obtener resultados con mayor resolución de la condición metabólica de los organismos.
- ✓ Realizar en la medida de lo posible trasplantes recíprocos para evaluar respuestas fenotípicas completas en sitios con condiciones inversas.
- ✓ Generar series de tiempo de cada uno de los sitios, de los parámetros ambientales estudiados con datos registrados *in situ*.



Capítulo III

Juveniles de *Mytilus californianus* sometidos a variaciones de temperatura

Resumen

Los organismos que habitan en el intermareal rocoso son expuestos al aire durante marea baja, mientras que en marea alta, la temperatura superficial del mar es la que influye directamente en su temperatura corporal. En este estudio evaluamos la respuesta del mejillón juvenil *Mytilus californianus* (especie clave del intermareal rocoso), sometido a variaciones de temperatura en condiciones de laboratorio, con la finalidad de observar si su respuesta presenta una relación latitudinal modulada por las condiciones oceanográficas de cada sitio. Para esto, se eligieron mejillones de dos localidades Bajamar (BM) y Eréndira (ERE), ubicadas en la costa occidental de Baja California. En él se incluyeron dos tratamientos con 21 y 23°C y un control con 18°C. El experimento tuvo una duración de dos meses. Se evaluó semanalmente, la talla y peso húmedo de los organismos, además del oxígeno disuelto (OD), temperatura y como bioindicador de la condición metabólica el índice ARN/ADN. El crecimiento total de la concha osciló entre 0.04 y 0.2 mm, los mejillones de BM y PM tuvieron un aumento mayor de talla en el tratamiento control (0.14 ± 0.50 y 0.22 ± 0.5 mm) y los valores más pequeños fueron para los de PB en 21 y 23°C. El peso ganado varió entre 0.008 y 0.0126 g. Los mejillones de PB presentaron los valores más elevados en los 3 tratamientos. El análisis Kruskal Wallis no mostró diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos y los sitios. El OD presentó los valores más bajos (5.39 mg L^{-1}) con el aumento de la temperatura (23°C). Sin embargo, representaron condiciones normóxicas. El índice ARN/ADN obtenido para la etapa final osciló entre 0.2 y 0.08, el cual indicó para los mejillones de BM una actividad metabólica más baja en comparación con los de PB en los tres tratamientos, no obstante no comprometió el aumento de talla y ganancia de peso, por lo que concluimos que los mejillones de BM pueden desarrollarse favorablemente en condiciones de laboratorio en un intervalo de temperatura de 18 a 23°C. Consideramos que la temperatura a la que se sometieron los organismos no implicó un estrés térmico propiamente y sugerimos realizar más estudios acerca de las condiciones termales de los mejillones de la costa occidental de B.C., así como de la temperatura corporal, durante marea alta y baja para poder conocer la respuesta de éstos organismos en escenarios futuros modulados por el cambio climático.



3.1 Introducción

Cuando los organismos intermareales sufren de exposición aérea en marea baja, su temperatura corporal está íntimamente relacionada con la temperatura del ambiente aéreo. Los mecanismos de flujo de calor dependerán de que tan grande sea su morfología y coloración y por ende si se exponen dos organismos morfológicamente distintos a condiciones climáticas iguales pueden mostrar temperaturas distintas. Sin embargo, para los organismos del intermareal, se ha documentado que las temperaturas corporales son más altas durante la exposición aérea en marea baja, que durante la inmersión en mareas altas. Como consecuencia, los organismos se someten a un estrés térmico y responden de diversas maneras, un ejemplo es el daño termal de las proteínas que ocurre exclusivamente durante la exposición aérea. El estrés térmico es la alteración que sufren los organismos debido a cambios en la temperatura de su ambiente, como una consecuencia de diversos factores, incluido el calentamiento global. Incluso, puede llegar a ocasionar cambios en los patrones de distribución de las especies (Helmuth y Hofmann, 2001).

Uno de los organismos modelo del intermareal principalmente estudiados desde el siglo pasado es el mejillón del género *Mytilus*. Uno de los primeros estudios acerca de la biología del mejillón *Mytilus californianus* lo realizaron Coe y Fox en 1942, en las costas de California EUA, donde reportan su tasa de crecimiento anual y sugieren una temperatura entre 15 y 19°C para su óptimo crecimiento y un decremento de la tasa de crecimiento a partir de los 20°C. Posteriormente Behrens y Dunham (1989), proponen la acuicultura del *M. californianus*, para lo cual realizaron estudios de crecimiento de los mejillones ubicados en el submareal e intermareal a lo largo de la costa de California, reportando un patrón latitudinal en el crecimiento influenciado por la temperatura. Schneider (2008), estudió los efectos fisiológicos del estrés termal en condiciones de marea baja y alta, y comparó ente el mejillón invasor *Mytilus galloprovincialis* y su especie hermana *Mytilus trossulus*. Los mejillones fueron expuestos a tratamientos de temperatura aérea (20,25 y 30°C) con dos temperaturas de agua de mar (18



y 12 °C). Este autor reportó que no se afectó el crecimiento y supervivencia de los mejillones en el tratamiento de 18°C, mientras que en el de 12°C el crecimiento de ambas especies fue negativo. No obstante *M. galloprovincialis* presentó tasas de crecimiento más elevadas en todos los tratamientos con respecto a *M. trossulus*, por lo que Schneider (2008), sugiere que la especie *M. galloprovincialis* está mejor adaptada al estrés termal que la marea baja le confiere. En el contexto del calentamiento global, el aumento de las temperaturas puede favorecer la distribución de *M. galloprovincialis*.

En otro estudio, Fitzgerald-Dehoog et al., (2012), examinaron la relación entre el promedio máximo diario de la temperatura ambiental y el crecimiento de los mejillones en un gradiente de exposición al oleaje en marea alta en el campo, complementado por un experimento en laboratorio donde manipularon la disponibilidad de alimento y el estrés a la temperatura diaria (36, 39 y 42°C) de los mejillones. Ellos sugieren que los individuos con acceso limitado a los recursos están en mayor riesgo porque son menos capaces de mitigar los costos potenciales de estrés térmico a través de mecanismos fisiológicos.

En Baja California, se han realizado diversos estudios acerca de la respuesta de los invertebrados marinos en distintas etapas de su ciclo de vida, que viven sometidos a la fluctuación de la marea y soportan el estrés térmico. Díaz-Pérez y Carpizo-Ituarte, (2011) estudiaron el efecto del estrés térmico en la supervivencia de estadios larvarios avanzados del erizo morado *Strongylocentrotus purpuratus* en éste estudio reportaron que se compromete el inicio de la metamorfosis y afecta en el asentamiento y los patrones de reclutamiento del erizo morado, particularmente en sitios del intermareal expuestos a altas temperaturas durante el verano.

Recientemente, Olivares-Bañuelos et al. (2014), utilizaron la galleta de mar *Dendraster excentricus*, para evaluar la respuesta al estrés térmico en condiciones normales y de oxígeno reducido, mediante la relación ARN/ADN y la expresión del gen *hsp70*. Según sus resultados, el estrés térmico y por oxígeno reducido induce una disminución general del metabolismo de los organismos. Estos cambios



metabólicos se observaron en el decremento del índice ARN/ADN y en los niveles de la expresión de *hsp70* (a altas temperaturas). Concluyeron que los índices de ARN/ADN son una herramienta útil para entender la respuesta ecofisiológica en *D. excentricus*.

Para complementar el entendimiento de los cambios en la temperatura local a la que se someten los organismos del intermareal, Escamilla-Espinoza (2015), analizó la temperatura superficial del agua de mar (TSM) a 4km de la costa occidental de Baja California, utilizando información obtenida de los sensores remotos AVHRR y MODISaqua. La serie de tiempo incluyó de 1983-2013 para 2 localidades, Bajamar (BM) y Punta Baja (PB). Para BM reportó una media mensual de $17.4 \pm .53^{\circ}\text{C}$, con una temperatura mínima de 15.19°C y una máxima de 20.20°C . En PB la media mensual fue $18.8^{\circ}\text{C} \pm .54$, una mínima de 15.95°C y máxima de 21.34°C , por lo que concluyó que los valores de temperatura alcanzan gradientes de variación similares influenciados por los mismos procesos oceanográficos de la costa, ya que se encuentran dentro del Sistema de la Corriente de California.

Por lo tanto, con los datos reportados por Escamilla-Espinoza (2015) de la TSM de BM y PB, nos propusimos analizar la respuesta de mejillones juveniles de *Mytilus californianus* sometidos a variaciones de temperatura con 2 y 3°C por arriba del promedio de TSM reportada para su sitio de origen.



3.2. Objetivo general

- ♣ Analizar la respuesta de mejillones juveniles de *Mytilus californianus* sometidos a variaciones de temperatura, provenientes de dos comunidades intermareales, Bajamar y Punta Baja.

3.2.1. Objetivos particulares

- Analizar el crecimiento de los mejillones en función de su talla y peso.
- Determinar el índice ARN/ADN de los mejillones para evaluar su respuesta metabólica.
- Comparar los resultados obtenidos entre los mejillones de ambos sitios, para analizar si existe una respuesta diferente según su sitio de origen.

3.3. Hipótesis

Se espera que los mejillones de BM, que es el sitio con TSM más baja ($17.4^{\circ}\text{C} \pm .53$) presenten un crecimiento menor en talla y peso a las variaciones de temperatura. Mientras que los del sitio con una TSM más elevada ($18.8^{\circ}\text{C} \pm .54$), correspondientes al sitio sureño PB tengan una respuesta con un impacto menor, o nulo en las variables de respuesta analizadas.

Hipótesis Estadística

$$H_0 = \text{BM} = \text{PB}$$

$$H_a = \text{BM} \neq \text{PB}$$



3.4 Materiales y Métodos

3.4.1. Recolecta de organismos

La recolecta de mejillones se realizó en enero del 2014 en BM y PB, con un día de diferencia entre cada sitio. Se recolectaron mejillones juveniles de *M.californianus* con un intervalo de talla entre 10 y 20 mm, extrayéndolos manualmente de la zona intermareal media durante marea baja. En cada sitio de muestreo se registró temperatura y OD (Tabla VIII). Los mejillones se transportaron al Laboratorio de Ecología y Biología del Desarrollo, del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la UABC, Ensenada. Los organismos se aclimataron por un periodo de 1 semana en acuarios con capacidad de 20L a una temperatura de 18°C, y se les proporcionó como alimento la microalga *Isochrysis galbana* una vez al día.

Tabla VIII. Ubicación y características de los sitios de recolecta. OD (oxígeno disuelto) y temperatura registrados *in situ*.

Colecta	Sitio	Coordenadas	Temperatura	OD
29/1/14	Baja Mar	N 32°00'52.831" W 116° 52'36.482"	16.1°C	7.69 mg/l
30/1/14	Punta Baja	N 29°56'56.817" W 115° 48'46.758"	15.6°C	7.40 mg/l

3.4.2. Sistema Experimental

Se definieron dos tratamientos experimentales con temperaturas de 21 y 23°C y un tratamiento que fue considerado como control a 18°C, estas consideraciones se hicieron tomando en cuenta lo reportado por Escamilla-Espinoza (2015) para los sitios de procedencia de los mejillones. Para cada tratamiento se colocaron bandejas de agua de 10L, en las cuales se colocaron los recipientes experimentales. Para mantener las temperaturas experimentales se le colocó en cada una de las bandejas un calentador para acuario regulado para mantener la temperatura experimental correspondiente. Además se instalaron termógrafos (Hobos©) para registrar cada 30 minutos la temperatura durante el periodo experimental. En cada bandeja se ubicaron en frascos con capacidad de

100 ml en forma individual y de manera aleatoria, 10 mejillones juveniles, de los cuales 5 provenían de Bajamar y 5 de Punta Baja, con una talla inicial de 12.2 ± 0.94 mm los de BM y 12.07 ± 1.01 mm para los de PB. (Fig. 3.1). La talla y peso húmedo inicial se obtuvieron antes de iniciar el periodo experimental. Cada uno de los frascos en donde se colocaron los mejillones contenía 100 ml de agua de mar filtrada hasta $1 \mu\text{m}$ e irradiada con luz ultravioleta (UV), los recipientes se mantuvieron sin tapa. Se alimentó a cada uno de los mejillones con 5 ml de *Isochrysis galbana*, diariamente. El recambio del agua de mar de cada frasco se realizó en su totalidad cada dos días y la evaluación de los mejillones cada en 10 días (Tabla IX). Los mejillones se midieron con ayuda de un vernier digital y se obtuvo el largo, ancho y alto de la concha, además del peso húmedo con una balanza granataria. Las evaluaciones de oxígeno se llevaron a cabo dos veces a la semana en cada uno de los frascos durante la duración del experimento, por medio de un oxímetro YSI. El experimento tuvo una duración de 2 meses (15 de marzo al 15 de mayo del 2014).

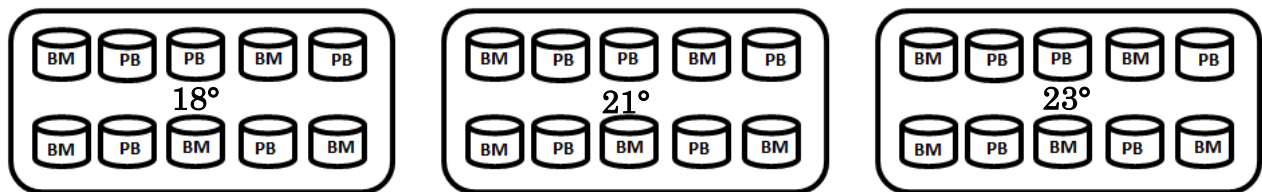


Figura 3.1. Esquema del diseño experimental para probar el efecto de la variación de la temperatura en juveniles de *Mytilus californianus*. En 3 bandejas de plástico se mantuvieron los 30 mejillones de manera individual en frascos de 100 ml distribuidos al azar, 10 organismos en cada bandeja, 5 de BM y 5 de PB con su temperatura correspondiente.

Tabla IX Fecha de las seis evaluaciones realizadas durante el experimento.

#Evaluación	Fecha
Inicio	15 de Marzo
1	22 de Marzo
2	2 de Abril
3	12 de Abril
4	22 de Abril
5	2 de Mayo
6	12 de Mayo

Para mantener la homogeneidad de la temperatura en cada una de las bandejas, estas se mantuvieron con agua de mar filtrada hasta $1 \mu\text{m}$ y pasada por UV. También se adicionó aireación en las bandejas con la finalidad de mantener la circulación del agua para conservar la temperatura experimental.



3.4.3. Índice ARN/ADN

Concluido el experimento y realizada la última evaluación se extrajeron los ácidos nucleicos por medio del método TRIzol, de acuerdo a lo descrito por Olivares-Bañuelos et al. (2014), con modificaciones debido a la naturaleza del tejido del mejillón. El protocolo detallado de la extracción se encuentra en el Anexo 2.1. La cuantificación de ácidos nucleicos se midió por medio del espectrofotómetro NanoDrop a una absorbancia de 260 nm y la pureza de las extracciones se analizó con el índice de absorbancia 260/280 nm. Se realizaron diluciones del ARN (1:10) y ADN (1:5) para poder calcular el índice ARN/ADN $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ según Delgadillo-Nuño (2015), mediante la fórmula:

$$ARN:ADN = \frac{\left[\frac{ARN \text{ ng}}{ul} (Fd) \right] (Vol)}{\left[\frac{ADN \text{ ng}}{ul} (Fd) \right] (Vol)}$$

Dónde:

ng/ul = Concentración de ácidos nucleicos proporcionada por el espectrofotómetro

Fd = Factor de dilución, según corresponde: 1:10 \rightarrow 10 y 1:5 \rightarrow 5

Vol = Volumen final de resuspensión, H_2O libre de RNasa (RNA) y 8mM de NaOH (DNA)

El RNA fue almacenado a -80°C .

3.4.4. Análisis Estadístico

La comparación de tallas, peso e índice ARN/ADN se realizó para cada tratamiento (N=3 - n=10) y dentro de cada tratamiento para cada sitio (N=2, n=5). Las comparaciones se hicieron mediante un análisis Kruskal Wallis (KW), ya que los datos no se ajustaron a una distribución normal. Las pruebas *a posteriori* se realizaron mediante pruebas Wilcoxon para dos muestras cuando hubo diferencias significativas. Se utilizó el programa Minitab y Excel, y todas las pruebas con un α de 0.05.



3.5 Resultados

3.5.1 Crecimiento y peso ganado

El crecimiento total de la concha osciló entre 0.04 y 0.2 mm. Mediante el análisis KW se observó que todas las tallas finales fueron estadísticamente iguales ($p > 0.05$). Sin embargo el aumento más elevado de talla para los mejillones de PB y BM se presentó en el tratamiento control de 18°C y el menor aumento en PB para los tratamientos del 21 y 23°C (Fig. 3.2). El resto de los parámetros morfométricos, ancho y alto, no presentaron diferencias significativas ni una tendencia clara, por tal motivo solo se consideró el crecimiento total con el largo de la concha.

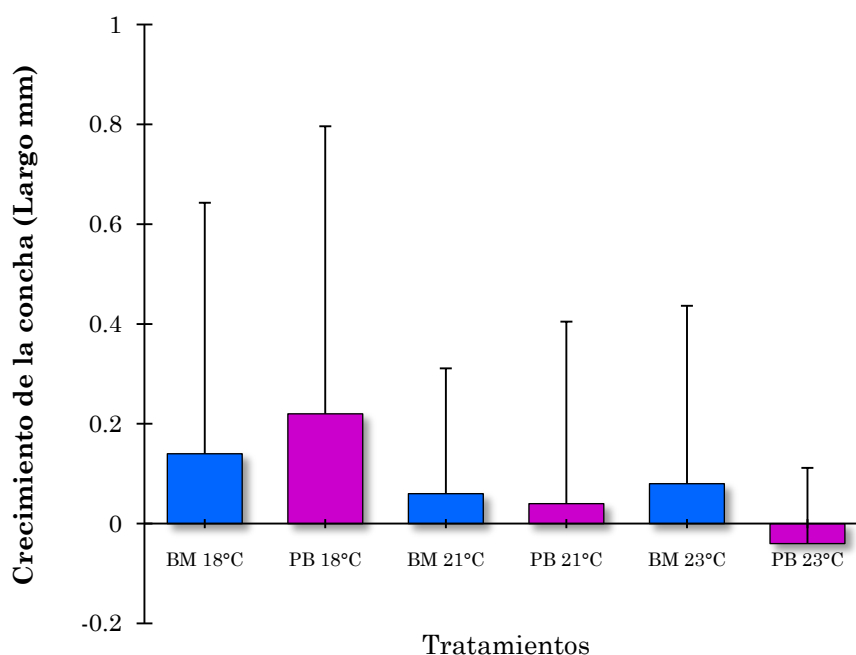


Figura 3.2. Promedio y desviación estándar del crecimiento total del largo de la concha de los mejillones sometidos a variaciones de temperatura. En color azul se representan los mejillones de BM y con morado los de PB. No presentaron diferencias significativas. Sin embargo, se observa una tendencia de valores mayores de crecimiento para los mejillones del tratamiento control con 18°C, y el menor para los mejillones de PB en el tratamiento de 21 y 23°C.



El peso total ganado fluctuó entre 0.008 y 0.0126 g y no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y entre los sitios BM y PB, según el análisis de KW ($p > 0.05$). No obstante se puede observar un mayor aumento de peso en los mejillones de PB en el tratamiento de 21°C, en comparación con los mejillones de BM, y el resto de los tratamientos (Fig. 3.3). En los tratamientos de 18 y 23°C los mejillones con distinta procedencia presentaron un aumento de peso similar.

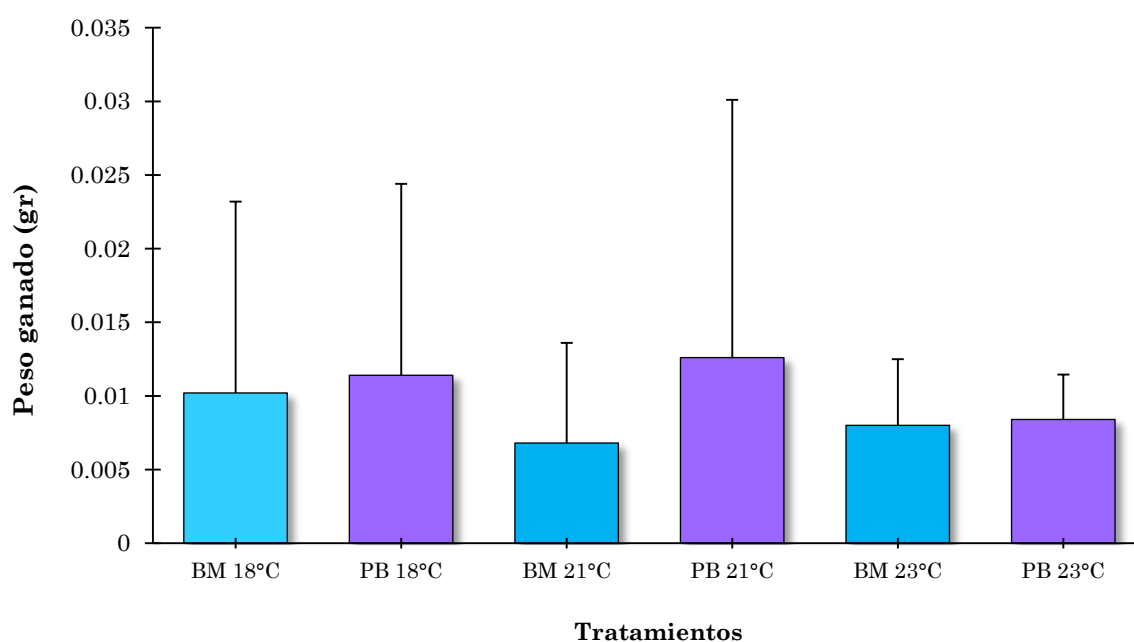


Figura 3.3 Promedio y desviación estándar del peso total, para cada tratamiento. Los mejillones de BM se representan en azul y los de PB en morado. No se observaron diferencias significativas entre tratamientos y entre sitios. Sin embargo, solo se puede observar un mayor aumento para los mejillones de PB en el tratamiento 18 y 21°C.



3.5.2 Oxígeno disuelto

Las variaciones de OD, estuvieron relacionadas directamente con la temperatura de los tratamientos. No se observaron diferencias significativas entre los sitios. En el tratamiento control, el OD fluctuó entre 6.88 y 5.8 mg L⁻¹, en el tratamiento de 21°C entre 6.4 y 5.5 mg L⁻¹ y para el de 23°C entre 6.1 y 5.3 y mg L⁻¹ (Fig.3.4). A partir del día 19, los valores de los tres tratamientos disminuyeron para mejillones de ambos sitios.

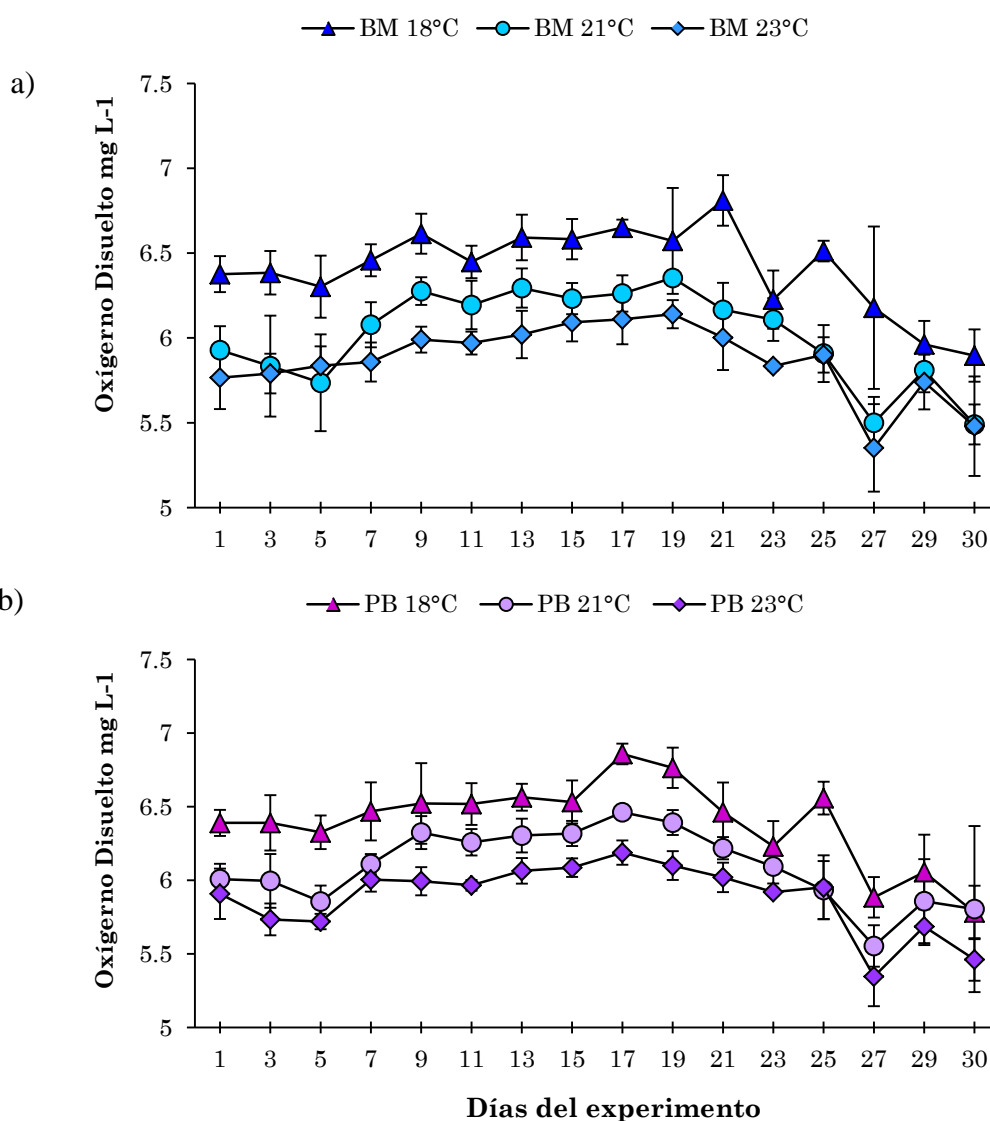


Figura 3.4. Valores promedio y desviación estándar del Oxígeno Disuelto evaluado durante el experimento. La gráfica a) muestran los valores para los mejillones de BM, y la b) los de PB. En ambos casos el OD tuvo la misma respuesta y no se observaron diferencias significativas. El tratamiento con 18° presentó los valores más elevados, mientras que el de 23°C los más bajos.



3.5.3 Índice ARN/ADN

Los valores del índice ARN/ADN tuvieron valores entre 0.07 y 0.14. Los valores más bajos se observaron en el tratamiento control de 18°C para los mejillones de BM, en el tratamiento de 21°C en ambos. Los valores más altos se observaron para los mejillones de PB en el tratamiento de 18 y 23°C (Fig. 3.5). No se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos (KW, $p > 0.05$).

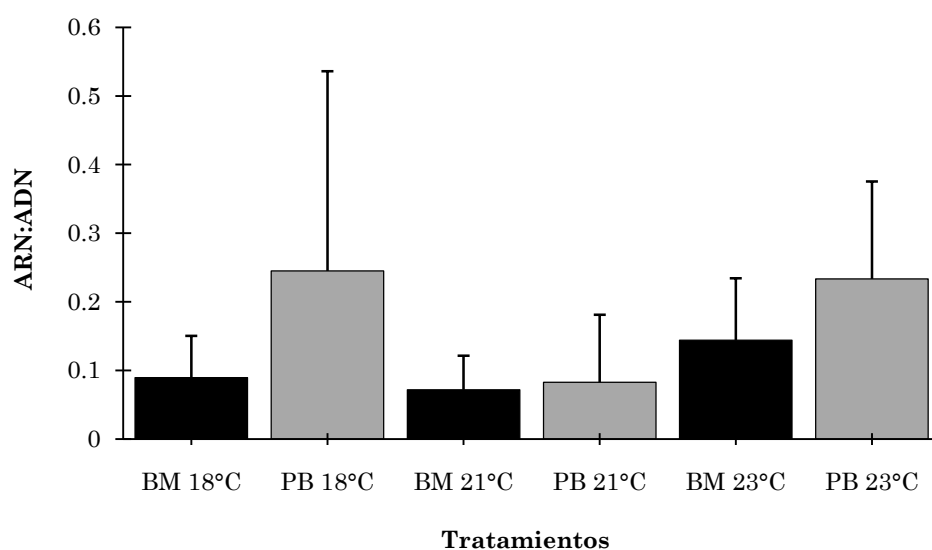


Figura 3.5. Valores promedio y desviación estándar de los índices ARN/ADN, para cada sitio. Existió un ligero aumento en el tratamiento de 18 y 23°C para los mejillones de PB, sin embargo, las diferencias no fueron estadísticamente significativas.



3.6. Discusión

Los resultados obtenidos fueron distintos a los esperados en la hipótesis inicial del trabajo, donde se esperaban los valores más bajos en talla y peso para la localidad con temperaturas más bajas, que en este caso era BM. No se presentaron diferencias significativas en el aumento del largo de la concha y en el peso ganado. No obstante, los mejillones sometidos a 18°C obtuvieron los valores promedio más altos en comparación con el tratamiento de 23°C. En contraste, se ha reportado para el mejillón *Mytilus galloprovincialis*, una tasa óptima de crecimiento en etapa larval de hasta 9.1 $\mu\text{m}/\text{día}$ a una temperatura a 20°C (Maryori *et al.*, 2008). Lo anterior nos da una idea del intervalo de temperatura a los que los mejillones del género *Mytilus* pueden estar adaptados, no obstante la diferencia entre especies puede ser grande. Los mejillones juveniles de *M. californianus*, pueden estar dentro de un óptimo de crecimiento en condiciones controladas de laboratorio, pues el intervalo de temperaturas al que se sometió en el laboratorio es similar a la TSM reportada para su sitio de origen. Sin embargo, debemos de tomar en cuenta que la referencia anterior trabajó con los mejillones en etapa larval y con diferente especie.

En el análisis del crecimiento por sitio, los mejillones de BM (sitio al que se le atribuyó una TSM más baja), presentaron un aumento de peso en el tratamiento control de 18°C. No obstante los de PB obtuvieron una ganancia de peso mayor, pero las diferencias no fueron lo suficientemente amplias para poder llegar a una interpretación concluyente. Sin embargo, nuestros resultados son similares a la temperatura experimental propuesta por Schneider (2008), donde sugiere 18°C como temperatura óptima para el crecimiento positivo de *M.galloprovincialis*.

En el estudio realizado por Behrens y Dunham (1989) observaron un patrón de disminución en el crecimiento de sur a norte a lo largo de la costa oeste de Estados Unidos, posiblemente, por las temperaturas menores registradas en las regiones del norte. Lo anterior sugiere para nuestro caso de



estudio, que los mejillones del sitio más sureño (PB), deberían presentar una tasa de crecimiento más alta con respecto a BM, hecho que pudimos observar sólo en el peso ganado.

A pesar de que nuestros resultados no mostraron diferencias significativas, la tendencia de los datos mostró que los mejillones de PB, obtuvieron valores más altos en la ganancia de peso en los tres tratamientos, sin embargo fueron los que presentaron valores de crecimiento de la concha menores en el tratamiento de 21 y 23°C. Con base a lo anterior podemos inferir que la estrategia de crecimiento de los mejillones de PB, invierten más energía metabólica en aumentar el cuerpo blando del mejillón que el tamaño de la concha. Éste argumento es soportado por la investigación de Coe y Fox (1942) quienes sugieren que el crecimiento de la masa fresca del mejillón debe aumentar en un intervalo de temperatura entre 14 y 20°C y el agua de mar por encima de 20°C puede ser perjudicial para las tasas de crecimiento en sus primeras etapas.

La respuesta observada en los mejillones de PB, caracterizada por no crecer al inicio del experimento, un aumento a la mitad del experimento y una disminución al final, puede deberse a que los mejillones de PB se expusieron dentro de dicho tratamiento a las condiciones similares a las de su sitio de origen. Escamilla-Espinoza (2015), reportó un máximo de TSM para PB de 21.34°C, temperatura que resulta equivalente a la que se encontraron sometidos experimentalmente los mejillones, por lo que se puede considerar que no estuvieron sometidos a un estrés térmico. Las consideraciones realizadas para la elección de la temperatura experimental estuvieron sujetas a datos de TSM, sin hacer consideraciones adicionales de la exposición aérea a la cual se ven sometidos los organismos del intermareal (Helmuth et al., 2002). En las zonas rocosas de la costa se pueden alcanzar temperaturas más elevadas por la incidencia de los rayos solares, que por temperaturas del agua que se registran en la zona. Por lo que inferimos que mientras los mejillones se encuentren bajo el agua, pueden experimentar un amplio intervalo de temperatura en el cual no se verá comprometida su supervivencia y el cual es diferente al correspondiente de exposición aérea en donde la desecación y respiración anaerobia juegan un papel importante.



El intervalo de temperatura sugerido para crecimiento óptimo en experimentos en laboratorio de *M. californianus* es de 13 a 17.5°C (Bayne et al., 1976). Sin embargo es importante considerar que los mejillones de la región de la costa de California en EUA propuesta por Bayne, están sometidos a temperaturas usualmente más bajas que los distribuidos en la costa occidental de Baja California.

El fotoperiodo ha demostrado ser el estímulo regulador o disipador de aspectos fisiológicos de diversos organismos (Odum, 1983). Algunos organismos marinos responden al ciclo circadiano, cambios estacionales de fotoperiodo y a la periodicidad lunar (Rodríguez, 1986). La falta de fotoperiodo en el sistema experimental, pudo haber influenciado la condición fisiológica de los mejillones, ya que de manera natural regula gran parte de los procesos fisiológicos. Es necesario contar con una referencia de las condiciones lumínicas a las que los mejillones se exponen en condiciones naturales, para que pueda ser simulado en condiciones experimentales la intensidad de luz.

Los valores menores de oxígeno registrados conforme aumentó la temperatura en los tratamientos, concuerda con el principio básico establecido entre la relación oxígeno-temperatura, la cual es inversamente proporcional. Las aguas más frías tienen una mayor capacidad de OD que las aguas más cálidas (Pörtner et al., 2000).

El valor de OD más bajo fue de 5.39 mg L⁻¹ por lo que no se consideraron condiciones reducidas en oxígeno. Según lo reportado para experimentos de laboratorio con galleta de mar *Dendraster excentricus*, el valor de OD fue de 3.65 - 2.03 mg L⁻¹, considerado como condición de reducción de disponibilidad de oxígeno por los autores (Olivares-Bañuelos et al., 2014). Por lo anterior que podemos considerar que nuestros valores no representaron una condición que comprometiera a los organismos por niveles de OD bajos. También pudimos observar que el OD se redujo considerablemente a partir del día 19 del experimento en todos los tres tratamientos. La menor cantidad de OD en el agua pudo deberse a una mayor actividad metabólica en los mejillones, lo que pudiera ocasionar una mayor tasa de respiración, y por ende una depresión en los niveles de OD en los últimos días del experimento.



Nuestros valores promedio del índice ARN/ADN presentaron valores muy bajos. Los valores reportados para *Mytilus californianus* (Helmuth y Hofmann, 2001, Dahlhoff, 2004, Chícharo y Chícharo, 2008) oscilan entre 1-7. No obstante, consideramos que sus estudios fueron realizados en campo y con mejillones maduros sexualmente (a partir de 55-60 mm, con la gónada madura). Nuestro estudio se realizó con mejillones juveniles en un intervalo de talla de 11-12 mm. En el caso de otras especies sometidas a condiciones de estrés en laboratorio los índices han sido más bajos, estos valores corresponden dentro del intervalo que obtuvimos en nuestra investigación (0.02-1). Diversos autores reportan para condiciones experimentales rangos diferentes en el índice, por ejemplo, un intervalo del índice ARN/ADN de 0.210-1.667 en *Dendraster excentricus* (Olivares-Bañuelos et al., 2014), 0.252-5.33 en el copépodo *Calanus finmarchinus* (Wagner et al., 1988), crustáceos sometidos a estrés por alimentación 1.5 (Dahlhoff, 2004), 1.28 ± 0.13 para larvas de peces (Clemmesen 1993) y 1.33 -0.52 en coral *Pocillopora capitata* (Delgadillo-Nuño, 2014). Estos autores proponen que en condiciones de estrés los organismos tienden a disminuir sus tasas metabólicas, lo que se ve reflejado en un índice más bajo. Los valores del índice ARN/ADN que obtuvimos se observaron en un intervalo entre 0.08 y 0.2. Los valores mayores se presentaron en el tratamiento de 18 y 23°C para PB. Esta respuesta puede asociarse a un aumento de actividad metabólica, lo que concuerda con la disminución del OD mencionado con anterioridad. A pesar de que las diferencias de los índices no fueron estadísticamente significativos y la interpretación se basa en la tendencia de los valores.

Para que nuestro índice ARN/ADN pudiera proporcionarnos mayor información del comportamiento fisiológico y metabólico de los mejillones se requiere al menos que las extracciones de ácidos nucleicos se realicen con la mayor frecuencia posible, para poder obtener una respuesta sólidamente representada, además de incrementar el número de réplicas para cada tratamiento. Nuestros datos solo permitieron observar la última fase del experimento por lo cual fue más complejo integrar e interpretar la información.



Para poder someter a un mejillón a condiciones de estrés térmico real y poder evaluar la respuesta fisiológica es necesario primero conocer la tolerancia térmica del organismo, tanto en agua cómo en condiciones de exposición aérea, además de considerar que estos factores son distintos a lo largo de su zona de distribución. En el trabajo descrito por Logan et al., (2012), reportó el punto crítico de tolerancia térmica de $37.8 \pm 0.9^\circ\text{C}$ para *Mytilus californianus* con un intervalo de talla de 5-7 cm con mejillones recolectados en Punta Morro. Lo que nos puede dar una idea de la amplia tolerancia de esta especie al aumento de temperatura y así, poder inferir que los tratamientos experimentales a los que sometimos a los mejillones no representaron condiciones de estrés térmico. Es importante resaltar que la obtención del crecimiento total de la concha nos proporcionó un panorama morfológico, y en caso de que el cuerpo del mejillón inmerso en la cocha hubiese presentado un aumento de peso mayor que el de la concha, no nos fue posible observarlo pues el peso que incluimos como variable de respuesta incluye las valvas.

El valor promedio de temperatura y los valores extremos registrados para los tratamientos se muestran en la Tabla X. Los valores extremos pueden deberse a oscilaciones en el sistema de aire acondicionado del laboratorio donde se encontraba en proceso el experimento, sin embargo la temperatura promedio se mantuvo en el intervalo de la temperatura experimental propuesta.

Tabla X. Promedio y desviación estándar de la temperatura registrada por medio de termógrafos, durante todo el experimento. También se muestran los máximos y mínimos para cada tratamiento.

Tratamiento	Temperatura promedio $^\circ\text{C}$	Mínima $^\circ\text{C}$	Máxima $^\circ\text{C}$
18$^\circ\text{C}$	18.0 \pm 0.76	14.3	19.4
21$^\circ\text{C}$	21.6 \pm 0.68	18.8	23.8
23$^\circ\text{C}$	23.0 \pm 0.98	17.1	24.2

La sobrevivencia de los mejillones durante el experimento fue del 96% y solo un mejillón del tratamiento de 21 $^\circ\text{C}$ de PB murió después de un mes de transcurrido el experimento. Lo anterior nos indicó que las condiciones a las que estuvieron sometidos no les representaron riesgo para su supervivencia.



2.7. Conclusiones

- ♣ En el tratamiento control de 18°C se observaron los valores más altos en el crecimiento de la concha y ganancia de peso de los mejillones de BM y PB, en comparación con el resto de las temperaturas experimentales.
- ♣ En el tratamiento de 21°C los mejillones de PB presentaron los valores más altos en la ganancia de peso total, pero los valores menores en el crecimiento del largo de la concha, sin embargo, se consideró que la temperatura experimental pudo ser favorable para la ganancia de peso.
- ♣ Los mejillones de PB y BM presentaron los valores menores en el crecimiento de la concha en el tratamiento de 23°C, sin embargo los valores mayores en la ganancia de peso, y el valor del índice ARN/ADN más elevado que el resto de los tratamientos lo que se asoció con un aumento del metabolismo.
- ♣ En el índice ARN/ADN indicó para los mejillones de BM una actividad metabólica más baja en los tres tratamientos, no obstante no comprometió el aumento de talla y ganancia de peso, mientras que los de PB los valores más altos del índice, en ambos casos lo que se asoció a una actividad metabólica elevada por los valores más elevados de la ganancia de peso.



2.8. Recomendaciones

- ✓ Realizar estudios de la temperatura corporal, durante marea alta y baja en mejillones provenientes de poblaciones localizadas a diferentes latitudes para poder conocer la respuesta de éstos organismos en escenarios futuros modulados por el cambio climático.
- ✓ Se sugiere estudiar la tolerancia al estrés térmico, para conocer mejor la fisiología de *M. californianus*, distribuidos en la costa occidental de Baja California.
- ✓ Considerar estudios futuros en condiciones experimentales de laboratorio en los que se incluyan distintas etapas del desarrollo del mejillón.
- ✓ Tomar en cuenta otras variables de respuesta, dónde pueda observarse con mayor claridad la respuesta morfológica del mejillón, como el índice de condición y rendimiento.
- ✓ Evaluar la respuesta de los mejillones sometidos a estrés térmico aéreo, simulando condiciones de marea baja y de marea alta, mediante estrés térmico del agua.
- ✓ Aumentar el número de réplicas en el experimento para disminuir la desviación estándar.
- ✓ Establecer un sistema de fotoperiodo que simule las condiciones naturales de los organismos.
- ✓ En caso de utilizar el índice ARN/ADN como bioindicador, realizarlo con la mayor frecuencia posible durante el periodo del experimento, para tener información más continua de la variabilidad de su respuesta.



Capítulo IV

Conclusiones Generales

La distribución del mejillón *Mytilus californianus* en la costa occidental de Baja California está influenciada por el Sistema de la Corriente de California, el cual le confiere características oceanográficas particulares a la costa, y por ende a los intermareales rocosos dónde habita esta especie. Principalmente los mejillones se someten a variaciones de temperatura y disponibilidad de alimento, es decir a eventos de surgencias.

El resultado de esta investigación, donde se sometió a mejillones juveniles de *M.californianus* a variaciones de temperatura en laboratorio y campo, evidenció su capacidad para soportar temperaturas más elevadas a las de su sitio de origen. Sin embargo, el índice ARN/ADN, utilizado como indicador de la condición fisiológica del mejillón, mostró un decremento en la actividad metabólica cuando las temperaturas fueron mayores a las de su sitio de origen, no obstante eso no comprometió el crecimiento de la concha y la ganancia de peso. En ambos experimentos consideramos que el índice ARN/ADN es un buen indicador de la condición fisiológica del mejillón.

El experimento realizado en laboratorio nos permitió evaluar la condición del mejillón a nivel micro escala con la temperatura controlada, con lo que concluimos que se necesita conocer el punto crítico de la tolerancia máxima a la temperatura de un mejillón, es decir, someterlo a temperaturas más elevadas que las de su sitio de origen, hasta que su condición fisiológica decaiga completamente, con la finalidad de conocer sus límites de tolerancia térmica. Además de que las fluctuaciones de la marea le confieren exposición a la temperatura ambiental durante marea baja y exposición a la temperatura superficial del mar en marea alta, ésta última condición fue en la que se centró nuestro trabajo.



En el experimento de trasplantes observamos una aproximación a nivel mesoescala, permitiéndonos analizar *in situ* el comportamiento de las variables ambientales del sitio de trasplante y su influencia en el crecimiento y fisiología del mejillón, en el cual observamos una marcada diferencia entre el crecimiento y ganancia de peso de mejillones nativos y trasplantados, lo que nos indicó una respuesta asociada a las condiciones ambientales. Lo anterior también puede considerarse un evento de aclimatación para los organismos. Por ende, podemos inferir que *Mytilus californianus* es una especie con una alta plasticidad fenotípica que le confiere la capacidad de vivir en ambientes con condiciones oceanográficas versátiles y muy posiblemente, habilitar a algunas de sus poblaciones a responder al cambio global que sufre el planeta

Ambos experimentos realizados en este trabajo permitieron acceder a una ventana del conocimiento de la respuesta del mejillón a las variaciones de temperatura, sin embargo aún queda mucho trabajo por realizar a diferentes escalas, para poder tener una respuesta más completa y clara acerca del futuro de esta especie ícono de las costas de Baja California, en escenarios futuros del calentamiento global y Acidificación del Océano.



Referencias

- Álvarez-Borrego S., 2007. Generalidades del CO₂ en el océano y en la atmósfera. En: Hernández-de la Torre B, Gaxiola-Castro G (eds.), Carbono en Ecosistemas Acuáticos de México. *INE, CICESE*. pp. 11-28.
- Arribas L.P., Bagur M., Klein E., Penchaszadeh P., Palomo M.G., 2013. Geographic distribution of mussel species and associated assemblages along the northern Argentinian coast. *Aquat Biol* 18:91–103.
- Arrieche D., Licet B., García N., Lodeiros C. y Prieto A. 2002. Índice de condición, gonádico y de rendimiento del mejillón marrón *Perna perna* (Bivalvia: Mytilidae), del Morro de Guarapo, Venezuela. *Interciencia Vol 27: 11*.
- Bayne B.L. 1976. Marine Mussels: Their Ecology and Physiology. Cambridge Univ. Press. UK. 293-356.
- Bayne B.L., Iglesias J.P., Hawkins I., Navarro E., Heral M., Deslous-Paoll M.J., 1993 Feeding behavior of the mussel. *Mytilus edulis*: responses to variations the quantity and organic content of the seston. *J Mar Biol Ass UK* 73: 813-829.
- Bayne, B.L., 2004. Phenotypic flexibility and physiological tradeoffs in the feeding and growth of marine bivalve mollusks. *Integr. Comp. Biol.* 44:425–432.
- Behrens S.Y., Dunham J.B., 1989. *Mytilus californianus*, a new aquaculture species. *Aquaculture* 81: 75–284.
- Bertness M.D., Leonard G. H., Levine J. M., Bruno J. F., 1999, Climate-driven interactions among rocky intertidal organisms caught between a rock and a hot place, *Oceanology* 120:446-450.
- Blanchette C.A. y Gaines S.D., 2007. Distribution, abundance, size and recruitment of the mussel, *Mytilus californianus*, across a major oceanographic and biogeographic boundary at Point Conception, California, USA *J. Exp. Mar Biol and Ecol* 340:268–279.
- Blythe J.N. y Lea D.W. 2008, Functions of Height and Width dimensions in the intertidal mussel, *Mytilus californianus*, *Journal of Shellfish Research*, 27:385-392.
- Booth J. A. T., McPhee-Shaw E. E., Chua P., Kingsley E., Denny M., Phillips R., Bograd S. J., Zeidberg L. D., and Gilly W. F.: Natural intrusions of hypoxic, low pH water into nearshore marine environments on the California coast, *Cont. Shelf Res.*, 45:108–115.
- Buckley L.J., 1984. RNA-DNA ratio: an index of larval fish growth in the sea. *Mar. Biol.* 80:291–98



- Bruscia A. M., Bourget E., Fréchette M. 2001. Shell allometry and length-mass-density relationship for *Mytilus edulis* in an experimental food-regulated situation. *Mar Ecol Prog Ser* 219:177-188.
- Broecker W. and E. Clark, 2001: A dramatic Atlantic dissolution event at the onset of the last glaciation. *Geochem. Geophys. Geosyst*, 2:185.
- Caldeira K., and Wickett M. E., 2003: Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature*, 425: 365–365.
- Canales-Gómez E.P., 2012. Estructura de la comunidad de macroinvertebrados móviles y análisis poblacional de la estrella de mar *Pisaster ochraceus* (Brandt, 1835) del intermareal rocoso de Baja California. Tesis de Maestría en Oceanografía Costera ESCM-UABC. 126 pp.
- Cancino-Franklin J.L., 1985. Experimentos sobre el cultivo del mejillón *Mytilus californianus* en la Bahía Todos Santos B.C., México. Tesis de Licenciatura en Oceanología ESCM-UABC. 100 pp.
- Castañeda L. E., Lardies M. A., Bozinovic F., 2004. Adaptive latitudinal shifts in the thermal physiology of a terrestrial isopod, *Evolutionary Ecology Research*, 2004, 6: 1 -15.
- Castro R., Martínez J.A., 2010, Variabilidad espacial y temporal del campo de viento, En: Gaxiola-Castro G, Durazo R. (eds.), Dinámica del Ecosistema Pelágico frente a Baja California, 1997–2007: Diez años de Investigaciones Mexicanas de la Corriente de California. pp 129-147.
- Carter C.G., Houlihan D.F., He Z.Y., 2000. Changes in tissue free amino acid concentrations in Atlantic salmon, *Salmo salar*, after consumption of a low ration. *Fish Physiol. Biochem.* 23:295–306.
- Chase J., 2013, A sea of Change, *PLoS Biol* 11:10.
- Chi-Barragán G. y García-Pámanes F. 1983. Estudios preliminares sobre la biología, ecología y explotación comercial de *Mytilus californianus* en Baja California. Tesis de Licenciatura en Oceanología. ESCM-UABC 180pp.
- Chícharo M.A. y Chícharo L., 2008. RNA:DNA Ratio and Other Nucleic Acid Derived Indices in Marine Ecology, *Int. J. Mol. Sci.* 9:1453-1471.
- Cisneros R., Bautista J., Argüelles J., 2008. Crecimiento comparativo de la concha de abanico (*Agropecten purpuratus*) En sistemas suspendidos. *Ecología Aplicada*, 7:1726-2216.



- Clemmesen C. 1993. Improvements in the fluorimetric determination of the RNA and DNA content of individual marine fish larvae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 100: 177–183.
- Coe W., Fox, D., 1942. Biology of the sea mussel (*Mytilus californianus*) Influence of temperature, food supply, sex and age in the rate of growth. *J. Exp. Zool.* 99:1–14.
- Connor K. M. y Robles C. D., 2015. Within-Site Variation of Growth Rates and Terminal Sizes in *Mytilus californianus* Along Wave Exposure and Tidal Gradients. *Biol. Bull.* 228: 39–51.
- Dahlhoff, E. P., Menge, B. A. 1996 Influence of phytoplankton concentration and wave exposure on the ecophysiology of *Mytilus californianus*, *Mar Ecol Progr Ser* 144:97-107.
- Dahlhoff E.P., 2004. Biochemical indicators of stress and metabolism: Applications for Marine Ecological Studies. *Annu. Rev. Physiol.* 66:183-207.
- Dehnel, P. A. 1956. Growth rates in latitudinally and vertically separated populations of *Mytilus californianus*. *Biol. Bull.* 110: 43–53.
- Delgadillo-Hinojosa F., Camacho-Ibar V., Huerta- Díaz M.A., Torres-Delgado V., Pérez-Brunius P., Lares L., Marinone S.G., Segovia J.A., Peña-Manjarrez J.L., García-Mendoza E., Castro R. 2014. Seasonal behavior of dissolved cadmium and Cd/PO₄ ratio in Todos Santos Bay: A retention site of upwelled waters in the Baja California peninsula, Mexico. *Marine Chemistry* 168: 37-48.
- Delgadillo-Nuño M.A, Liñán-Cabello M.A., Reyes-Gómez J., Soriano-Santiago O., 2014. Response to pH stress in the reef-building coral *Pocillopora capitata* (Anthozoa: Scleractinia), *Rev. Biol. Mar. y Ocean.* Vol. 49: 449-459
- Delgadillo-Nuño M.A., 2015. Cambios estacionales en expresión génica, metabolismo y simbiosis en el coral escleractinio *Pocillopora verrucosa* asociados a la respuesta de estrés en la costa de Colima, México. Tesis de Maestría en Oceanografía Costera ESCM-UABC. 89 pp.
- Denny M y Wethey D. 2001. Physical processes that generate patterns in marine communities. In: Bertness MD, Gaines SD, Hay ME (eds) *Marine community ecology*. Sinauer, Sunderland, pp 3–37
- Díaz-Pérez L., Carpizo-Ituarte E., 2011. Efecto del estrés térmico en la supervivencia y el retraso de la metamorfosis en larvas del erizo morado *Strongylocentrotus purpuratus*, *Ciencias Marinas*, 37:403-414.



- Dodd, J. R. 1964. Environmentally controlled variation in the shell structure of a pelecypod species. *J. Paleontol.* 38:1064–1071.
- Doney S.C., Ruckelshaus M., Duffy J.E., Barry J.P., Chan F., English CA, Galindo H.M., Grebmeier J.M., Hollowed A.B., Knowlton N., 2012. Climate change impacts on marine ecosystems. *Ann Rev Mar Sci* 4:11–37.
- Durazo, R., Ramírez, A.M., Miranda, L.E., Soto-Mardones, L. 2010. Climatología de variables hidrográficas. En: Gaxiola-Castro G, Durazo R (eds.), *Dinámica del Ecosistema Pelágico frente a Baja California, 1997–2007: Diez años de Investigaciones Mexicanas de la Corriente de California*. Pp. 25–57.
- Escamilla- Espinoza M., 2015, Repercusiones de los eventos de surgencia en las poblaciones de mejillón *Mytilus californianus* a lo largo de la costa occidental de Baja California, Tesis de Maestría en Oceanografía Costera ESCM-UABC. 81 pp.
- Feely R. A., Doney S. C. and Cooley S. R., 2009. Ocean acidification: Present conditions and future changes in a high-CO₂ world. *Oceanography*, 22: 36–47.
- Fitzgerald-Dehoog L., Browning J., Allen B.J., 2012, Food and Heat Stress in the California Mussel: Evidence for an Energetic Trade-off between Survival and Growth. *Biol. Bull.* 233: 205-216.
- Foster A.R., Houlihan D.F., Hall S.J., 1993. Effects of nutritional regime on correlates of growth rate in juvenile *Gadus morua*: comparison of morphological and biochemical measurements. *Can J Fish Aquat Sci* 50:502-512
- Guderley H, Dutil J.D., Pelletier D. 1996.The physiological status of Atlantic cod, *Gadus morhua*, in the wild the laboratory: estimates of growth rates underfield conditions. *Can.J. Fish. Aquat. Sci.*53:550–57.
- Halpin P.M., Strub P., Petersen W.T. y Baumgartner T.R. 2004 An overview of interactions among oceanography, marine ecosystems, climatic and human disruptions along the eastern margins of the Pacific Ocean. *Revista Chilena de Historia Natural*, 77:371–409.
- Helmuth B.S.T., 1999, Thermal Biology of Rocky Intertidal Mussels: Quantifying body temperatures using climatological data. *Journal: Ecology*, 80:15–34.
- Helmuth, B.S.T. y G.E. Hofmann. 2001. Microhabitats, thermal heterogeneity, and patterns of physiological stress in the rocky intertidal zone. *Biol. Bull.* 201: 374-384.



- Helmuth B., Harley C. D. G., Halpin P. M., O'Donnell M., Hofmann G. E., Blanchette C., 2002, Climate change and latitudinal patterns of intertidal thermal stress., *Journal: Science* 298: 1015-7.
- Helmuth B., Broitman B.R., Blanchette C.A., Gilman S., Halpin P., Harley C.D.G., O'Donnell M.J., Hofmann G.E., Menge B. y Strickland D., 2006 Mosaic patterns of thermal stress in the rocky intertidal zone: implications for climate change. *Ecological Monographs*, 76:461–479.
- Hickman R.W. 1979. Allometry and growth of the green lipped mussel *Perna canaliculus* in New Zealand. *Mar Biol.* 51:311-327.
- Hill R.W, Gordon A.W., 2006. Fisiología Animal, Edit. Panamericana S.A. Capítulo 4, Relaciones térmicas, pp.230-243.
- Hobday A.J., Lough J.M., 2011. Projected climate change in Australian marine and freshwater environments. *Mar Freshw Res* 62:1000–14
- Hofmann G.E., Somero G.N., 1995. Evidence for protein damage at environmental temperatures: seasonal changes in levels of ubiquitin conjugates and hsp 70 in the intertidal mussel *Mytilus trossulus*. *J Exp Biol* 198:1509-1518.
- INEGI, 2015. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, portal web:<http://www.inegi.org.mx/>
- IPCC, 2013: Workshop Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change Workshop on Impacts of Ocean Acidification on Marine Biology and Ecosystems [C. B. Field, V. Barros, T. F. Stocker, D. Qin, K. J. Mach, G.K. Plattner, M. D. Mastrandrea, M. Tignor and K. L. Ebi (eds.)]. IPCC Working Group II Technical Support Unit, Carnegie Institution, Stanford, CA, USA 164 pp.
- Kreeger D.A., Hawkins A.J.S., Bayne B.L., Lowe D.M., 1995. Seasonal variation in the relative utilization of dietary protein for energy and biosynthesis by the mussel *Mytilus edulis*. *Mar Ecol Prog Ser* 126:177-184.
- Kautsky, N., Johannesson K., Tendengren M., 1990. Genotypic and phenotypic differences between Baltic and North Sea population of *Mytilus edulis* evaluated through reciprocal transplantations. I. Growth and morphology. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 59: 203-210.
- Kopp, J. C. 1979. Growth and the intertidal gradient in the sea mussel *Mytilus californianus* Conrad, 1837. *Veliger* 22:51–56.



- Libes S. M., 2009. Introduction to Marine Biogeochemistry, John Wiley & Sons, New York. pp 147.
- Logan CA. L., Kost L.E., y Somero G.N., 2012. Latitudinal differences in *Mytilus californianus* thermal physiology, *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 450:93-105.
- Mann K.H. y Lazier J.R.N., 1991. Dynamics of marine ecosystems. Blackwell Scientific Publications, Inc. Oxford.
- Mateos E., Marinone S.G., Parés-Sierra A., 2009. Towards the numerical simulation of the summer circulation in Todos Santos Bay, Ensenada, B.C. Mexico. *Ocean Model.* 27:107–112.
- Martinez G., Brokordt K., Aguilera C., Soto V., Guderley H., 2000. Effect of diet and temperature upon muscle metabolic capacities and biochemical composition of gonad and muscle in *Argopecten purpuratus* (Lamarck 1819). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 247:29–49.
- Maryori R., Tarifeño E., Llanos-Rivera A., Padget C. y Campos B., 2008. Efecto de la temperatura en el desarrollo embrionario y larval del mejillón, *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819), *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 43: 51-61.
- Mayrand, E., J. Pellerin-Massicotte, and B. Vincent. 1994. Small scale variability of biochemical indices of growth in *Mya arenaria* (L.). *J. Shellfish Res.* 13:199–205.
- Menge B.A. y Sutherland J.P., 1987. Community regulation: variation in disturbance, competition, depredation relation to environmental stress and recruitment *Am Nat* 130:730-757.
- Menge B.A. y T.M. Farrell. 1989. Community structure and interaction webs in shallow marine hard-bottom communities: tests of an environmental stress model. *Adv.Ecol. Res.* 18:189–26
- Menge B.A., Berlow E.L., Blanchette C.A., Navarette S.A., Yamada S.B., 1994. The keystone species concept: variation in interaction strength in a rocky intertidal habitat. *Ecol Monog* 64:249-286.
- Menge B.A., Daley, B.A., Wheeler, P.A., Dahlhoff, E., Sanford, E. y P.T. Strub. 1997, Benthic–pelagic links and rocky intertidal communities: bottom-up effects on top-down control? *Proc Natl Acad Sci USA* 94:14530–14535.
- Menge B.A., Chan, F. y Lubchenco, J. 2008 Response of a rocky intertidal ecosystem engineer and community dominant to climate change. *Ecology Letters*, 11:151–162.



-
- Morris R., Abbott P. y Haderlie E. (1980) Intertidal Invertebrates of California. Stanford University Press, Stanford, California. 690 pp.
- Nasci C., Nesto N., Monteduro R.A., Da Ros L., 2002. Field application of biochemical markers and a physiological index in the mussel, *Mytilus galloprovincialis*: transplantation and biomonitoring studies in the lagoon of Venice (NE Italy) *Marine Environmental Research* 54:811–816.
- Odum, E.P. 1983, Ecología: El vínculo entre las ciencias naturales y las sociales. CECOSA, México.
- Olguín-Espinoza I., 1983. Descripción de la larva del mejillón *Mytilus californianus* y estudio de su abundancia y distribución en la costa del ejido Eréndira, Baja California. Tesis de Licenciatura en Oceanología ESCM-UABC. 73 pp.
- Olivares-Bañuelos T., Figueroa-Flores S., Carpizo-Ituarte E., 2014. Efecto del estrés en la respuesta ecofisiológica de la galleta de mar *Dendraster excentricus* en el noroeste de México.
- Orr J. C., Pantoja S., and Pörtner H. O., 2005. Introduction to special section: The ocean in a high-CO₂ world. *J. Geophys. Res. Oceans*, 110, C09S01.
- Osovitz, C.J. y Hofmann, G.E. 2005 Thermal history-dependent expression of the hsp70 gene in purple sea urchins: biogeographic patterns and the effect of temperature acclimation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 327:134–143.
- Paine, R. T. 1976. Size-limited predation: an observational and experimental approach with *Mytilus-Pisaster* interaction. *Ecology* 57:858–873.
- Paine, R.T. y Levin S.A. 1981 Intertidal landscapes: disturbance and the dynamics of pattern. *Ecol Monogr* 51:145–178.
- Parsell D.A., Taulien J., Lindquist S. 1993. The role of heat-shock proteins in thermos tolerance. *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* 339:279–86.
- Peña-Mejía, 2011, Estructura de las comunidades del intermareal rocoso asociadas al mejillón *Mytilus californianus* en la costa oeste de Baja California. Tesis de Maestría en Oceanografía Costera ESCM-UABC. 181 pp.



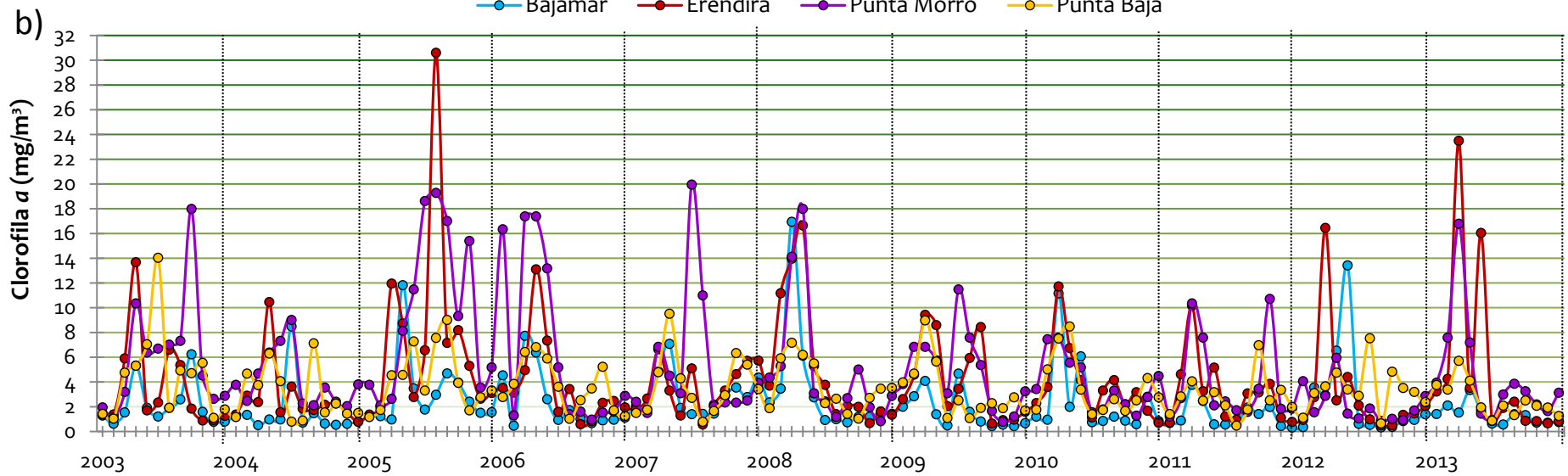
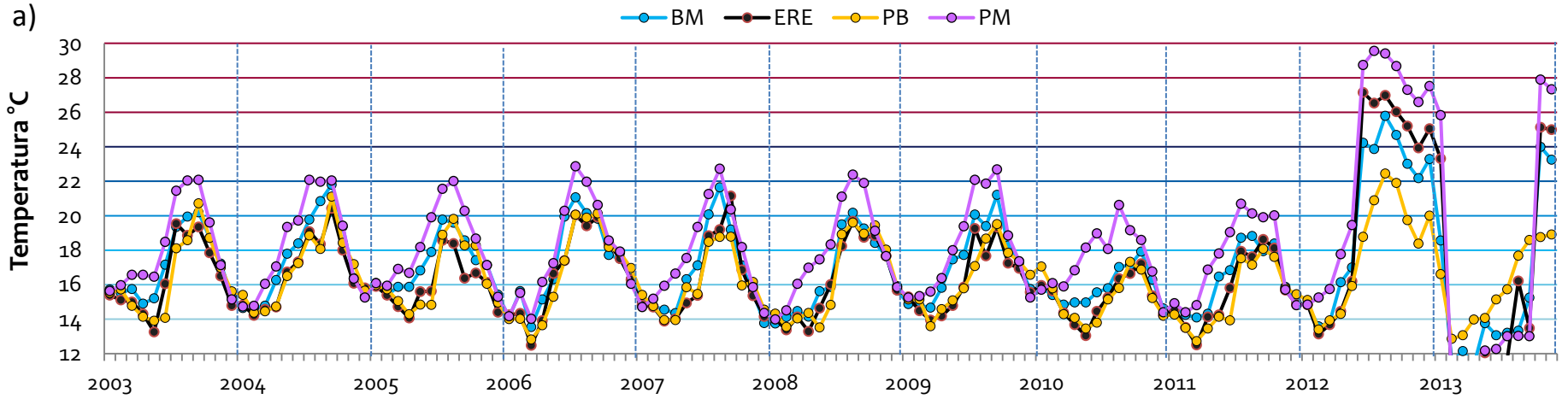
- Phillips N.E., 2007. A spatial gradient in the potential reproductive output of the sea mussel *Mytilus californianus*. *Mar Biol.* 151:1543–1550.
- Pigliucci M., Murren C.J., Schlichting C. D. 2006. Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *The Journal of Experimental Biology*, 209:2362-2367.
- Pörtner H.O., Van Dijk P.L.M., Hardewig I., Sommer A., 2000. Levels of metabolic cold adaptation: tradeoffs in eurythermal and stenothermal ectotherms. In: Davison, W., Williams, C.H. (Eds.), *Antarctic Ecosystems: Models for Wider Ecological Understanding*. Caxton Press, Christchurch, New Zealand, pp. 109–122.
- Ramirez-Gutierrez, S.C., 1999, Fijación de Mitflidos sobre colectores artificiales en la Bahía de Todos Santos, Baja California, México, Tesis de Maestría en Oceanografía Costera ESCM-UABC.
- Rodríguez G. L. A. 1986 Desarrollo embrionario y metamorfosis del caracol rosado *Strombus gigas* (Linnaeus) Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias CINVESTAV –IPN, Mérida Yucatán, México 78 pp.
- Ricketts E.F., Calvin J., Hedgpeth J.W. 1985. *Between Pacific Tides*, 5th ed Stanford University Press, Stanford, California.
- Roesijadi G., Young J.S., Drum A.S. y Gurtisen J.M. 1984, Behavior of trace metal in *Mytilus edulis* during a reciprocal transplant field experiment. *Mar Ecol Prog Ser.* 18:155-170.
- Roy, K. y Martien, K.K., 2001. Latitudinal distribution of body size in northeastern Pacific marine bivalves. *Journal of Biogeography*, 28, 485–493.
- Sabine, C.L., Feely, R.A., Gruber, N., Key, R.M., Lee, K., Bullister, J.L. 2004. The oceanic sink for anthropogenic CO₂. *Science*, 305:367–371.
- Salas Garza A. y Oliva de la Peña A., 1983. Características poblacionales del bivalvo *Mytilus californianus* y algunos aspectos sobre su comunidad en la costa de Eréndira, B. C. Tesis de Licenciatura en Oceanología ESCM-UABC 183 pp.
- Sagarin, R.D. y Somero, G.N. ,2006 Complex patterns of expression of heatshock protein 70 across the southern biogeographical ranges of the intertidal mussel *Mytilus californianus* and snail *Nucella ostrina*. *Journal of Biogeography*, 33:622–630.



-
- Schneider K.R., 2008, Heat Stress in the Intertidal: Comparing Survival and Growth of an Invasive and Native Mussel Under a Variety of Thermal Conditions. *Biol. Bull.* 215: 253-264.
- Scripps, 2015, monthly CO₂ data. <http://co2now.org/Current-CO2/CO2-Now/global-co2-board.html>
- Sokal R. R. y F. J. Rohlf. 1981. Biometry Second Ed. W.H. Freeman and Company, San Francisco California. U.S.A. pp 859.
- Steffani N. C., Branch M. G., 2003. Growth rate condition, and shell shape of *Mytilus galloprovincialis*: reponses to wave exposure. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 246: 197-209.
- Stillman J.H., Dahlhoff E.P., Somero G.N., 1994. Biochemical indicators of physiological state in the intertidal mussel *Mytilus californianus*. *Physiologist* 37(5):921
- Suchanek T.H. 1985. Mussels and their role in structuring rocky shore communities. In: Moore PG, Seed R (eds) The ecology of rocky coasts. Hodder and Stoughton Press, London, pp 70-96.
- Suchanek T.H. 1992. Extreme biodiversity in the marine environment mussel bed communities of *Mytilus californianus*. *Northwest Environ J* 8:150-152.
- Wagner M, Durbin E., Buckley L. 1998. RNA:DNA ratios a indicators of nutritional condition in the copepod *Calanus finmarchicus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 162: 173-181.
- Yamahira, K. y Conover, D.O. 2002 Intra- vs. interspecific latitudinal variation in growth: adaptation to temperature or seasonality? *Ecology*, 83, 1252-1262.



Anexo 1.1. Series de Tiempo (2003-20013) de la TSM (a) y la concentración de clorofila a (b), mediante datos satelitales del sensor MOIS aqua.





Anexo 2.1 Protocolo de extracción de ácidos nucleicos mediante el método con **TRIZOL**®

🚦 **Extracción de RNA con TRIZOL®:** Protocolo modificado por el M.C. Alejandro Delgadillo Nuño

- Homogenizar 50 – **100** mg de tejido en 500 – **1000** µl de TRIZOL
- Las muestras pueden ser almacenadas de -60 a -70°C (~ un mes)

Preparar en hielo

- Incubar 5 min temperatura ambiente (TA).
- Agregar 100 – **200** µl de cloroformo.
- Agitar invirtiendo el tubo e incubar 3 min a TA.
- Centrifugar a 12,000 g/15 min 4 °C.
- Transferir fase acuosa a un tubo de 1.5 ml (~50 % del volumen total)
- Reservar fase orgánica para la extracción de DNA.
- Agregar 250 – **500** µl de isopropanol.
- Precipitar a -20 °C durante la noche.
- Centrifugar 12,000 g/15 min 4 °C, retirar sobrenadante.
- Agregar 500 – **1,000** µl de 75% etanol (en H₂O DEPC).
- Centrifugar 7,500 g/5 min 4 °C, retirar sobrenadante.
- Secar RNA 5 – 10 min (no secar completamente)
- Resuspender el RNA en H₂O libre de RNasas, de acuerdo al tamaño del *pellet*:
 - 1 mm: 50 µl
 - 3 mm: 100 µl
 - 5 mm: 300 µl
- Incubar 5 – 15 min a 55 – 60 °C.
- Mezclar, realizar alícuotas del vol. total y una dilución 1:10 y almacenar a -70 °C.



✚ Extracción de DNA con TRIZOL®

- Remover cuidadosamente cualquier remanente de la fase acuosa.
- Almacenar fase orgánica a 4 °C durante la noche.
- Agregar **300** µl de 100% etanol.
- Agitar invirtiendo tubo e incubar 2 – 3 min a temperatura ambiente (TA).
- Centrifugar a 2,000 g/5 min 4 °C.
- Transferir sobrenadante a un tubo de 2 ml para la extracción de Proteína o descartar.
- Lavar con 1,000 µl de 0.1 M citrato de sodio (en 10% etanol).
- Incubar 30 min a TA, invirtiendo ocasionalmente.
- Centrifugar 2,000 g/5 min 4 °C.
- Decantar sobrenadante y repetir lavado (repetir 2 veces en caso de *pellets* > 200 µg).
- Resuspender *pellet* en 1,500 – 2,000 µl de 75% etanol.
- Incubar 10 – 20 min a TA, invirtiendo el tubo ocasionalmente.
- Centrifugar 2,000 g/5 min 4 °C y decantar sobrenadante.
- Eliminar exceso de etanol, invirtiendo el tubo sobre papel con la tapa abierta 5 min.
- Secar DNA 5 - 10 min (no secar completamente).
- Resuspender DNA en 8 mM NaOH (usar 40 mM, si solo se busca cuantificar).
- Resuspender de acuerdo al peso inicial del tejido: 50 – 70 mg: 300 – 600 µl
- Incubar 5 – 15 min a 55 – 60 °C.
- Centrifugar 12,000 g/10 min 4 °C para sedimentar cualquier material insoluble.
- Realizar una dilución en H₂Odd estéril para la cuantificación.
- Ajustar DNA *stock* para PCR a 8.4 pH con Buffer 0.1 mM HEPES y 1 mM EDTA

Agregar 66 µl de Buffer HEPES por cada 1,000 µl de 8 mM NaOH, almacenar a -20°C.



Anexo 3.1. Resultados del Análisis de Varianza paramétrico para cada una de las variables biométricas consideradas en el estudio. Se incluye el valor de $F_{\text{calculado}}$, el valor crítico en caso de ser $>$ que la F se rechaza la H_0 . Se puede observar el valor de P para cada comparación, así como su prueba *a posteriori* que corresponde a una prueba t , en caso de resultar diferencias significativas, es decir H_a aceptada (\checkmark).

<i>Parámetro</i>	<i>Mes evaluado</i>	$F_{\text{calculado}}$	<i>valor crítico</i>	P	$H_0 =$ $H_a \neq$	<i>A posteriori</i> "t"	<i>Conclusión</i>
<i>Largo</i>	Mayo	1.30	2.61	0.26	H_0	x	=
	Agosto	1.01	2.69	0.39	H_0	x	=
<i>Ancho</i>	Junio	5.20	2.76	0.00	H_a	PB** PM*	$\neq \neq$
	Julio	4.03	2.76	0.01	H_a	ERE*	\neq
	Agosto	3.45	2.69	0.02	H_a	BM** ERE**	$\neq \neq$
<i>Alto</i>	Junio	3.54	2.76	0.02	H_a	PB***	\neq
	Julio	9.02	2.69	0.01	H_a	ERE*** PB*	$\neq \neq$
	Agosto	3.12	3.12	0.03	H_a	ERE** PB*	$\neq \neq$
<i>Peso húmedo</i>	Junio	1.21	2.76	0.32	H_0	x	=
	Agosto	0.60	2.69	0.61	H_0	x	=
<i>Peso seco</i>	Mayo	1.68	2.71	0.19	H_0	x	=
	Junio	2.88	2.76	0.04	H_a	PB*	\neq
	Agosto	0.41	2.79	0.75	H_0	x	=
<i>Peso seco concha</i>	Mayo	1.71	2.71	0.18	H_a	PB*	\neq
	Junio	5.21	2.76	0.00	H_a	PB***	\neq
	Julio	8.80	2.76	0.00	H_a	ERE*** PB*	$\neq \neq$
	Agosto	0.38	2.79	0.77	H_0	x	=
<i>Peso húmedo de la carne</i>	Junio	0.19	2.76	0.91	H_0	x	=
	Julio	4.89	2.76	0.00	H_a	ERE***	\neq
	Agosto	1.57	2.79	0.21	H_0	x	=



Anexo 3.1. Resultados del análisis no paramétrico Kruskal Wallis, para cada una de las variables biométricas consideradas en el estudio, se incluye el valor de $H_{calculado}$, el valor crítico en caso de ser $>$ que la H , se rechaza la H_0 . El P valor considerado en esta prueba es $P < 0.05$, para los casos dónde se encontraron diferencias significativas. Se puede observar el resultado de la prueba *a posteriori* Wilcoxon en caso de resultar diferencias significativas es decir H_a aceptada.

<i>Parámetro</i>	<i>Hipótesis</i>	$H_{calculada}$	<i>valor crítico X^2</i>	$H_0 =$ $H_a \neq$	<i>A posteriori</i>	<i>Conclusión</i>
<i>Largo</i>	Mayo	12.75	7.81	H_a	=	=
	Junio	0.18	7.81	H_0	x	=
	Julio	12.14	7.81	H_a	ERE***	\neq
<i>Ancho</i>	Mayo	146.98	7.81	H_a	BM*** PB***	$\neq \neq$
	Julio	10.10	7.81	H_a	ERE*	\neq
<i>Alto</i>	Mayo	179.59	7.81	H_a	ERE*** PB***	$\neq \neq$
	Julio	20.49	7.81	H_a	ERE*** PB**	$\neq \neq$
<i>Peso húmedo</i>	Mayo	65.24	7.81	H_a	PB***	\neq
	Julio	16.10	7.81	H_a	ERE**	\neq
<i>Peso seco</i>	Julio	15.40	7.81	H_a	ERE** PB***	$\neq \neq$
<i>Peso seco concha</i>	Mayo	14.70	7.81	H_a	PB*	\neq
	Julio	17.73	7.81	H_a	ERE*** PB*	$\neq \neq$
<i>Peso húmedo de la carne</i>	Mayo	15.88	7.81	H_a	BM*	\neq
	Agosto	25.93	7.81	H_a	ERE*	\neq

**Anexo 3.2a.** Ecuaciones de la regresión lineal para los parámetros morfométricos Largo, Ancho y Alto y su R² correspondiente.

Sitio	Largo	R ²	Ancho	R ²	Alto	R ²
BM	$y = 1.4448x + 17.171$	0.9964	$y = 0.8348x + 8.5796$	0.987	$y = 0.3969x + 7.4435$	0.89
ERE	$y = 1.7632x + 17.121$	0.7887	$y = 0.9658x + 8.9937$	0.86	$y = 0.4831x + 7.5188$	0.9101
PB	$y = 1.7683x + 16.885$	0.9996	$y = 0.8407x + 9.7377$	0.996	$y = 0.5508x + 6.4725$	0.9791
PM	$y = 1.8169x + 16.953$	0.9953	$y = 1.0568x + 8.9788$	0.886	$y = 0.443x + 7.4433$	0.8866

Anexo 3.2b. Ecuaciones de la regresión lineal para los parámetros de Pst, Psch, Pht, Phcr y su R² correspondiente.

Sitio	Peso seco total	R ²	Peso seco concha	R ²	Peso húmedo total	R ²	Peso húmedo carne	R ²
BM	$y = 0.1451x + 0.344$	0.9742	$y = 0.1422x + 0.3305$	0.985	$y = 0.1728x + 0.7823$	0.9503	$y = 0.0689x + 0.0501$	0.9924
ERE	$y = 0.14x + 0.3752$	0.9415	$y = 0.1384x + 0.3648$	0.763	$y = 0.2302x + 0.7391$	0.6472	$y = 0.0631x + 0.0859$	0.6748
PB	$y = 0.1667x + 0.2156$	0.9649	$y = 0.1539x + 0.1935$	0.944	$y = 0.2269x + 0.5529$	0.9976	$y = 0.0687x + 0.0717$	0.9995
PM	$y = 0.1823x + 0.2753$	0.9755	$y = 0.1711x + 0.2495$	0.975	$y = 0.2262x + 0.6689$	0.9977	$y = 0.0659x + 0.0812$	0.9948



Anexo 3.3. Valores de los coeficientes de correlación del Análisis de Componentes principales para las variables ambientales y biométricas.

Variable	Bajamar		Eréndira		Punta Baja		Punta Morro	
	CP 1	CP2	CP 1	CP2	CP 1	CP2	CP 1	CP2
<i>Lt</i>	0.307	0.074	0.308	-0.11	0.307	-0.015	0.308	0.032
<i>An</i>	0.305	0.007	0.31	-0.019	0.306	-0.008	0.3	-0.195
<i>Al</i>	0.298	-0.074	0.31	0.045	0.305	0.104	0.299	-0.216
<i>Pst</i>	0.304	0.105	0.307	0.128	0.304	0.137	0.308	-0.046
<i>Psch</i>	0.307	0.041	0.306	-0.104	0.301	0.127	0.299	0.219
<i>Pht</i>	0.305	-0.093	0.298	-0.212	0.307	0.01	0.306	0.121
<i>Phcrn</i>	0.308	0.02	0.3	-0.223	0.307	-0.004	0.304	0.144
<i>Temp</i>	0.303	-0.103	0.307	0.116	0.3	-0.2	0.307	-0.092
<i>Clorofila</i>	-0.298	0.214	-0.297	-0.029	-0.284	0.306	-0.294	0.187
<i>pH</i>	-0.063	-0.925	0.008	-0.843	-0.098	-0.871	-0.063	-0.855
<i>Oxígeno D</i>	-0.301	-0.179	-0.271	-0.371	-0.302	-0.072	-0.298	-0.177
<i>ARN:ADN</i>	0.273	-0.153	-0.3	-0.035	-0.277	0.238	-0.286	0.15