VARIACION GEOGRAFICA DE LA ASIMETRIA BILATERAL DE LA FORMA Y EL GROSOR DE LAS VALVAS EN EL CHORITO MAICO, *Perumytilus purpuratus* (LAMARCK, 1819) EN UN GRADIENTE LATITUDINAL DE MACROESCALA

TESIS

UNIVERSIDAD DE VALPARAISO
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
CARRERA DE BIOLOGIA MARINA

CAROLINA BRIONES ORTEGA

2004

Reg. 65436
M
B858v
2004

VARIACIÓN GEOGRÁFICA DE LA ASIMETRÍA BILATERAL DE LA FORMA Y EL GROSOR DE LAS VALVAS EN EL CHORITO MAICO, *Perumytilus purpuratus* (LAMARCK, 1819) EN UN GRADIENTE LATITUDINAL DE MACROESCALA

UNIVERSIDAD DE VALPARAISO
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
BIBLIOTECA
TW.126

UNIVERSIDAD DE VALPARAISO
CHILE

TESIS

UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA MARINA

CAROLINA BRIONES ORTEGA

2004

VARIACIÓN GEOGRÁFICA DE LA ASIMETRÍA BILATERAL DE LA FORMA Y EL GROSOR DE LAS VALVAS EN EL CHORITO MAICO, *Perumytilus purpuratus* (LAMARCK, 1819) EN UN GRADIENTE LATITUDINAL DE MACROESCALA

TESIS

Para optar al título profesional de Biólogo Marino

UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

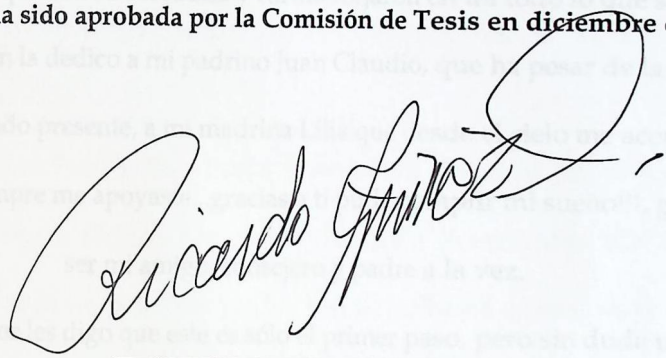
CARRERA DE BIOLOGÍA MARINA

CAROLINA BRIONES ORTEGA

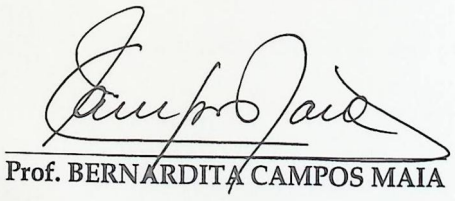
2004

CAROLINA BRIONES ORTEGA

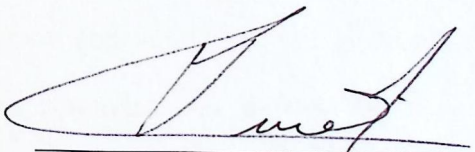
Esta Tesis ha sido aprobada por la Comisión de Tesis en diciembre de 2004



Dr. RICARDO GUIÑEZ DÍAZ
Director de Tesis



Prof. BERNARDITA CAMPOS MAIA



Dr. RICARDO BRAVO MÉNDEZ

Comisión de Tesis

Dedicatoria

Esta tesis va dedicada a todos mis seres queridos, en especial a mis hermanos Cristian, Ernestito y Nico, y a mis padres que son lo más grande que tengo y que con su sabiduría y cariño forjaron en mí todo lo que soy.

También la dedico a mi padrino Juan Claudio, que ha pesar de la distancia siempre ha estado presente, a mi madrina Lilia que desde el cielo me acompaña y a ti Noël que siempre me apoyaste...gracias a ti pude cumplir mi sueño!!!, gracias por ser mi amigo, consejero y padre a la vez.

A todos les digo que este es sólo el primer paso, pero sin duda un paso importante en mi vida y que marcará el comienzo de una nueva etapa que espero esté llena de sorpresas para todos.

Agradecimientos

A mi profe guía que logró hacerme crecer como profesional, enseñándome a trabajar y entregándome conocimientos que lo hacen uno de los profesionales más completos que conozco...ecólogo, oceanólogo, genetista y estadístico...mi máximo ídolo.

Al financiamiento del proyecto FONDECYT 1020484 a Ricardo Guiñez.

A la profe Bernardita Campos por ayudarme cuando la necesité y al profe Ricardo Bravo.

A Gioconda Peralta, Luis Prado y Alejandro Delgado por el apoyo en el trabajo en terreno; a Miriam Fernández y Marcelo Rivadeneira por facilitarme parte del material de sus muestras que fue una de las bases de esta investigación.

A mis amiguis Sarah, Pauli y Kata...gracias por ayudarme a desestresarme y a la Pao, yo sé que estás cuando te necesito. Al Franz y Arica...mis hermanitos. Al mono y el Alfredo...mi familia...gracias por la compañía cuando el Pancho se iba al sur.

Finalmente, pero no por eso menos importante, a mi gran amor, Panchito...gracias por quererme, protegerme y enseñarme a ser cada vez mejor. Gracias por regalarme, hasta ahora, más de ocho años y nueve meses de tu vida, que han sido los mejores de la mía. Te amo!!!

TABLA DE CONTENIDO

Página
APROBACIÓN....ii
DEDICATORIA....iii
AGRADECIMIENTOS....iv
TABLA DE CONTENIDO....v
LISTA DE TABLAS....vii
LISTA DE FIGURAS....ix
RESUMEN....xi

1. INTRODUCCIÓN....1
1.1. Aspectos generales....1
1.2. Patrones biogeográficos....4
1.3. Asimetría bilateral y estrés....5
1.4. Antecedentes de cambios de forma, grosor y AB en bivalvos....8
1.5. Antecedentes sobre la especie en estudio....11

2. OBJETIVOS....14

3. HIPÓTESIS....15

4. MATERIALES Y MÉTODOS....16
4.1. Especie en estudio....16
4.2. Área de estudio....16
4.3. Recolección y mantención de las muestras....19
4.3.1. Muestreo....19
4.3.2. Conservación de las muestras....20
4.3.3. Selección de las submuestras....21
4.4. Obtención de datos....21
4.4.1 Datos básicos....21
4.4.2. Estimaciones....22
4.4.3. Digitalización fotográfica de valvas izquierda y derecha....23
4.4.4. Procesamiento de los datos y análisis de la forma y del grosor....24
4.5. Obtención de datos adicionales....26
4.5.1. Efecto de la depredación....26
4.5.2. Temperatura....27
4.5.3. Latitud....27
4.6. Análisis estadístico....27
4.6.1. Tendencia latitudinal....28

4.6.2. Fuentes de variación de los índices de grosor (IGROS) y elongación (IELO) y de asimetría (ABSIGROS y ABSIELO)..... 29
4.6.2.1. Efectos de localidad.....29
4.6.2.2. Efectos bióticos y abióticos.....30
4.6.3. Error de medición y tipos de asimetría..... 31
4.6.4. Índice de asimetría del grosor y elongación de las valvas de *P. purpuratus* y su fuente de variación.....34
4.6.5. Factores determinantes en la variación de asimetría bilateral de ABSGROS y ABSIELO.....34

5. RESULTADOS..... 36
5.1. Tendencias latitudinales de variables ecológicas y físicas.....36
5.2. Variación de los índices de grosor y elongación promedio de las valvas de *P. purpuratus*.....39
5.2.1. Análisis de covarianza (ANCOVA)..... 39
5.2.1. Análisis de regresión simple..... 44
5.3. Factores determinantes de la variación de los índices de grosor y elongación promedio de las valvas de *P. purpuratus*.....45
5.3.1. Análisis de regresión múltiple.....45
5.3.2. Procedimiento paso a paso ("Stepwise")..... 47
5.4. Tipos de asimetría y error de medición para la forma..... 49
5.5. Variación de los índices de asimetría de grosor y elongación de las valvas de *P. purpuratus*.....52
5.5.1. Análisis de covarianza (ANCOVA)..... 52
5.6. Factores que determinarían la variación en asimetría bilateral de los índices de forma de grosor (ABSIGROS) y elongación (ABSIELO) de las valvas de *P. purpuratus*..... 54
5.6.1. Regresión múltiple y Paso a Paso (Stepwise)..... 54

6. DISCUSIÓN..... 58
6.1. Tendencias geográficas de los parámetros bióticos y abióticos y de la forma y el grosor de las valvas..... 58
6.2. Asimetría bilateral: AF en grosor y AD en forma, el error de medición..... 64
6.3. Tendencias geográficas de la asimetría bilateral en grosor (AF) y forma (AD).....66

7. CONCLUSIÓN..... 72

8. LITERATURA CITADA.....74

LISTA DE TABLAS

Página

Tabla 1. Sitios muestreados, su ubicación geográfica e investigadores a cargo del muestreo..... 18

Tabla 2. Análisis de regresión con sumas de cuadrados tipo 3 (SS3) entre las variables dependientes: NM2, NL, CPUE y TEMP y la latitud (LAT)..... 37

Tabla 3. ANCOVA mixto de 3 vías para el índice de grosor promedio... 40

Tabla 4. ANCOVA mixto de 3 vías para el índice de elongación promedio..... 40

Tabla 5. Análisis de regresión simple para las variables dependientes IGROS e IELO con la latitud..... 45

Tabla 6. Análisis de regresión múltiple entre la variable dependiente índice de grosor promedio de las valvas de *P. purpuratus* y las variables explicatorias: CPUE, TEMP, NL y NM2..... 46

Tabla 7. Análisis de regresión entre la variable dependiente índice de elongación promedio de las valvas de *P. purpuratus* y las variables explicatorias: CPUE, TEMP, NL y NM2..... 47

Tabla 8. Análisis de paso a paso entre la variable dependiente índice de grosor promedio de las valvas de *P. purpuratus* y las variables independientes CPUE, TEMP, NL y NM2..... 47

Tabla 9. Análisis de paso a paso entre la variable dependiente índice de elongación promedio de las valvas de *P. purpuratus* y las variables independientes CPUE, TEMP, NL y NM2..... 47

Tabla 10. Promedio de los índices de elongación (A) y de redondez (B) para las valvas izquierda..... 51

Tabla 11. Análisis varianza mixto de dos vías sobre los índices de elongación y redondez..... 51

Tabla 12. Análisis de varianza para la variable dependiente ABSIGROS..... 52

Tabla 13. Análisis de varianza para la variable dependiente ABSIELO..... 52

Tabla 14. Análisis de regresión múltiple entre la variable dependiente ABSIGROS y las variables independientes CPUE, TEMP, NL y NM2..... 56

Tabla 15. Análisis Paso a Paso (Stepwise) entre la variable dependiente ABSIGROS y las variables independientes CPUE, TEMP, NL y NM2..... 56

Tabla 16. Análisis de regresión múltiple entre la variable dependiente ABSIELO y las variables independientes CPUE, TEMP, NL y NM2..... 56

Tabla 17. Análisis Paso a Paso (Stepwise) entre la variable dependiente ABSIELO y las variables independientes CPUE, TEMP, NL y NM2..... 56

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. Ubicación geográfica de las localidades en estudio. 17

Figura 2. Cuadrante (10 x 10 cm) utilizado en el muestreo de *P. purpuratus*..... 19

Figura 3. Remoción con espátula de las muestras de *P. purpuratus*..... 20

Figura 4. Mediciones realizada a cada individuo..... 22

Figura 5. Esquema de la superficie proyectada al sustrato (S_i) y mediciones realizadas en los individuos de *P. purpuratus*..... 23

Figura 6. Fotografía digital tomada a una muestra de *P. purpuratus*..... 24

Figura 7. Tendencias latitudinales de los parámetros poblacionales promedios: densidad, número de estratos, carga de depredadores y temperatura..... 38

Figura 8. Tendencia latitudinal para el índice de grosor promedio de las valvas de *P. purpuratus*..... 41

Figura 9. Tendencia latitudinal para el índice de elongación promedio de las valvas de *P. purpuratus*..... 42

Figura 10. Promedios del índice de grosor no ajustado para las valvas derechas e izquierda de *P. purpuratus* para cada una de las localidades..... 43

Figura 11. Promedios del índice de elongación no ajustado para las valvas derechas e izquierda de *P. purpuratus* para cada una de las localidades..... 44

Figura 12. Representación tridimensional de los efectos de la densidad y el número de estratos sobre los índices de grosor (A) y elongación (B) ajustados, en muestras de *P. purpuratus*..... 48

Figura 13. Tendencia latitudinal del índice de asimetría de grosor de las valvas en *P. purpuratus*..... 53

Figura 14. Tendencia latitudinal del índice de asimetría de elongación de las valvas en *P. purpuratus*..... 54

Figura 15. Representación tridimensional de los efectos de la densidad y el número de estratos sobre los índices de asimetría de grosor (A) y elongación (B) ajustados, en muestras de *P. purpuratus*..... 57

Figura 16. Tendencia latitudinal de la curva polinomial de orden 2 para los valores residuales promedios del índice de grosor ajustado, en muestras de *P. purpuratus* 69

Figura 17. Tendencia latitudinal de la curva polinomial de orden 2 para los valores residuales promedios del índice de elongación ajustado, en muestras de *P. purpuratus* 70

RESUMEN

A menudo los organismos de simetría bilateral pueden presentar rasgos que se alejan de los planos de simetría perfecta (i.e. asimetría bilateral). Se reconocen tres tipos de asimetría bilateral: 1) asimetría direccional (AD), 2) antisimetría y 3) asimetría fluctuante (AF), cuya relación está en discusión. De estas tres, la AF es la que ha recibido mayor atención, en tanto la AD sutil ha sido raramente documentada. La asimetría bilateral puede resultar de la inhabilidad individual para soportar adecuadamente el estrés ambiental o genético (AF). En consecuencia, se espera que la asimetría fluctuante aumente en la medida que se debilita un individuo como efecto del estrés ambiental o por factores genéticos. A la fecha nada se conoce de cómo la asimetría bilateral (AF y AD) pueden variar en organismos marinos (e.g. moluscos) en el contexto geográfico de macroescala.

En este estudio se trabajó con el chorito maico *Perumytilus purpuratus* (Bivalvia: Mytilidae), una especie sésil del intermareal rocoso, que se distribuye conformando agregaciones conocidas como matrices o mantos. Con el propósito de determinar los patrones de asimetría bilateral en dos rasgos de las valvas (grosor y forma), se procedió a obtener muestras replicadas en 25 localidades distribuidas en un gradiente latitudinal, entre los 18° y los 53° de latitud sur, que abarcó una extensión geográfica de alrededor de 3.900 km. Se estimó la densidad, el número de estratos (grado de agregación), la carga de depredadores y la temperatura

superficial del mar. Con esto se pusieron a prueba hipótesis de variaciones clinales de las tendencias geográficas promedios y de la asimetría en rasgos de forma y grosor de las valvas, y se estudió los efectos competitivos intraespecíficos denso-dependientes, particularmente de la densidad y el número de estratos sobre la forma y el grosor de las valvas en el gradiente latitudinal.

Los resultados muestran variaciones significativas de los índices de grosor y elongación de las valvas y su asimetría entre las localidades, que se explican de modo variable por los efectos competitivos de la densidad y el número de estratos, y de la temperatura, no existiendo efectos asignables a la carga de depredadores. Los resultados también mostraron evidencias de asimetría bilateral de tipo direccional para la forma y fluctuante para el grosor, que muestra un patrón latitudinal especular y antagónico que podría estar relacionado con la disrupción de procesos génicos co-adaptados, asociados con una probable barrera oceanográfica de mesoescala al interior de la distribución de *P. purpuratus*.

De acuerdo con los conocimientos adquiridos, el trabajo realizado en esta tesis aporta, por primera vez, evidencias de la variación de la asimetría bilateral en el contexto geográfico de macroescala (>1.000 km) en un molusco.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Aspectos generales

Uno de los problemas centrales en la biología comparada es el cambio evolutivo de los mecanismos del desarrollo ontogénico (Klingenberg *et al.* 2001). Este cambio se considera adaptativo y, por lo tanto, dirigido por procesos de selección natural. Es esperable que algunas variantes de los procesos del desarrollo ontogénico puedan producir cambios en las estructuras morfológicas que mejoren la función del organismo para que sean favorecidas por la selección natural. Para una mejor comprensión del aspecto adaptativo de la evolución del desarrollo ontogénico, es de crucial importancia reconsiderar la relación entre los procesos del desarrollo ontogénico, las características morfológicas y la función resultante en los individuos. Es al nivel de la expresión y la función morfológica, que los cambios del desarrollo ontogénico tienen consecuencias para el ajuste del organismo, siendo crítico este nivel para establecer la unión entre los procesos del desarrollo ontogénico y el de la evolución (Palmer 1994).

Un ámbito en que esto puede ser abordado, dice relación con la expresión de la simetría bilateral (SB), esto es, de rasgos del cuerpo bilateralmente simétricos en que la expresión de su lado izquierdo debiera ser una imagen especular de su lado derecho. La expresión simétrica de estos rasgos puede presentar diferencias menores o mayores durante el desarrollo ontogénico, de manera tal, que se

producen asimetrías entre los lados (e.g. izquierdo y derecho) (Palmer & Strobeck 1986). La evidencia acumulada ha permitido proponer a la asimetría de rasgos bilaterales como un reflejo de la inestabilidad del desarrollo y, por ende, como una estimación de la incapacidad de los organismos para mantener su desarrollo normal, contra ruidos o perturbaciones de origen ambiental o genético (Palmer & Strobeck 1992, Lens & Van Dongen 2000). Aún no existe consenso en torno a cuál de los principales tipos de asimetría bilateral (AB) (i.e., fluctuante, direccional o antisimetría) reflejaría propiamente a la inestabilidad del desarrollo. De estos tres tipos de AB, es la asimetría fluctuante (AF) la que ha recibido la mayor atención (Pither & Taylor 2000, Palmer & Strobeck 2003). La AF se define como las desviaciones sutiles y aleatorias de la simetría de rasgos bilateralmente simétricos (Palmer & Strobeck 2003) y ha sido correlacionada con estrés fisiológico causado por condiciones ambientales extremas (Beardmore 1960, Gest *et al.* 1986, Hosken *et al.* 2000). Esto ha estimulado su uso potencial como una herramienta para el seguimiento de los niveles de estrés en las poblaciones naturales y como un indicador de la calidad individual o de la adecuación darwiniana (Graham *et al.* 1993, Palmer 1996a, Moller 1997, Leung *et al.* 2000, Ditchkoff *et al.* 2001, Fréchette & Daigle 2002, Fréchette *et al.* 2003). La antisimetría corresponde al caso en que los rasgos presentan una distribución bimodal con promedio cero (Palmer & Strobeck 1986), y por otra parte, la asimetría direccional (AD) ocurre cuando el valor de un lado del rasgo es consistentemente más grande que el otro (distribución normal

con promedio distinto de cero), incluyendo situaciones en que estas diferencias son sutiles. La AD ha recibido una atención considerablemente menor en comparación con la AF (Leary & Allendorf 1989, Kraak 1997, Lens & Van Dongen 2000, Pither & Taylor 2000). El grado del sesgo de la literatura en reportar la AD no se conoce, pero posiblemente es significativo (Pither & Taylor 2000). Este sesgo puede haber sido incrementado por el hecho de que se considera a la AD con una base genética significativa (Palmer & Strobeck 1986, Palmer 1994) y por lo tanto, no apta como una medida de la inestabilidad del desarrollo, aunque apta como una estimación de procesos adaptativos (Lens & Van Dongen 2000). Sin embargo, evidencia creciente sugiere que los tres tipos de asimetría debieran ser considerados como procesos dinámicamente interrelacionados (Lens & Van Dongen 2000).

En los últimos años ha existido un creciente interés teórico por comprender las bases genéticas de la asimetría bilateral. Al respecto, tres procesos son comúnmente considerados: la plasticidad fenotípica, la canalización y la estabilidad del desarrollo (Debat & David 2001). La plasticidad fenotípica se define como la capacidad de un rasgo, producido por un mismo genotipo, para manifestar diferentes fenotipos bajo condiciones ambientales distintas (Palmer 1994). La canalización es la habilidad de una estructura fenotípica para desarrollarse en una trayectoria ideal del desarrollo (i.e. simetría bilateral) bajo una variedad de condiciones ambientales (Waddington 1942). La estabilidad del desarrollo de un individuo se refleja en su habilidad para producir una forma

'ideal' bajo un conjunto particular de condiciones; y se encuentra regulada por procesos de retroalimentación negativa (Palmer 1994). Cuando actúan procesos que tienden a interrumpir dicha estabilidad se produce el 'ruido del desarrollo'. Existe un creciente interés por comprender las bases genéticas y ecológicas del desarrollo ontogénico, así como también las implicancias en la evolución de estos procesos (Palmer 1994, Schlichting & Pigliucci 1998, Debat & David 2001).

1.2. Patrones biogeográficos

Entre los patrones espaciales de la biodiversidad, en la macroescala geográfica, el gradiente latitudinal de la riqueza de especies, en el cual el número de especies alcanza su nivel máximo en los trópicos y disminuye hacia latitudes mayores, es uno de los más consistentes, aunque intrigantes patrones en ecología (Rivadeneira *et al.* 2002). La caracterización de procesos que operan a diferentes escalas espaciales (e.g. micro, meso y macroescala) y temporales, y cómo éstos interactúan para formar patrones ecológicos, ha sido el foco central en la investigación ecológica contemporánea (Levin 1992, Broitman *et al.* 2001). En especies distribuidas sobre un amplio rango latitudinal, la variación geográfica en rasgos morfológicos y de historia de vida, puede reflejar relaciones muy diferentes de los efectos genotípicos y ambientales. Cuando los ambientes dentro del rango biogeográfico de una especie difieren, es improbable que un único fenotipo confiera la mayor adecuación darwiniana en todas las situaciones (Via *et al.* 1995).

Por lo anterior, la variación de los rasgos puede ser el resultado de la variación genética local debido a presiones de selección natural o puede reflejar su plasticidad fenotípica, la que estaría mayoritariamente determinada por el ambiente (Via & Lande 1985, Endler 1986). Por otra parte, patrones de selección entre sitios separados latitudinalmente pueden minimizar las diferencias fenotípicas en los rasgos de historia de vida, pero al mismo tiempo, promover las diferencias fenotípicas en forma (Parsons 1997). Sólo en tres estudios chilenos realizados sobre especies de jaibas, se ha comunicado la existencia de variación latitudinal en rasgos fenotípicos reproductivos y de historia de vida (Lardies & Castilla 2001, Brante *et al.* 2003, Brante *et al.* 2004).

Por otra parte, en el chorito maico *Perumytilus purpuratus* (Lamarck, 1819), sólo se ha estudiado la variación latitudinal en relación con parámetros ecológicos de cobertura y de tasa de reclutamiento (Broitman *et al.* 2001, Navarrete *et al.* 2002). Estos trabajos realizados entre los 29° y 36° de latitud sur, muestran que ambos parámetros presentan una notable declinación entre los 29° y los 32° S. En *P. purpuratus* no existe información publicada en relación con la variación de rasgos fenotípicos o de historia de vida en el gradiente latitudinal, en su ámbito de distribución.

1.3. Asimetría bilateral y estrés

De los tres tipos de asimetría bilateral descritos, sólo la AF ha sido usada como una medida de la desviación de la simetría bilateral perfecta en relación con el desarrollo de características morfológicas que normalmente son simétricas (van Valen 1962, Ditchkoff *et al.* 2001) y que resulta de la inhabilidad de los individuos para soportar adecuadamente el estrés ambiental o físico (Palmer & Strobeck 1986).

La AF reflejaría la incapacidad de los individuos para mantener en equilibrio su desarrollo ontogénico contra perturbaciones que afectan sus procesos celulares ('ruido del desarrollo') y, de esta forma, se manifestaría en la incapacidad de los individuos para desarrollar con precisión su fenotipo, dados los genotipos que lo determinan en el ambiente en que se desarrollan (Lens *et al.* 2002). En consecuencia, se espera que la AF aumente en la medida que se debilita un individuo como efecto del estrés ambiental y también genético (van Valen 1962, Ditchkoff *et al.* 2001, Lens *et al.* 2002). Diferentes tipos de estreses ambientales y genéticos han sido descritos como factores causales que, con menor o mayor eficiencia, incrementan la AF. En efecto, se ha demostrado que la AF es incrementada por factores ambientales tales como parásitos, contaminantes, la exposición a temperaturas extremas y la malnutrición, y factores genéticos tales como el estrés asociado a procesos de selección intensa o la endogamia/exogamia y las mutaciones (Rasmuson 2002). Por lo anterior, es que la AF ha sido sugerida como indicador, tanto del nivel de estrés experimentado por un individuo (Leary

& Allendorf 1989), como de la calidad genética o de la habilidad fisiológico-celular individual para eliminar o contrarrestar los efectos de los agentes estresores (Moller & Shykoff 1999, Lens & van Dongen 2002, Lens *et al.* 2002), pudiendo usarse como un real predictor del comportamiento individual (Clarke 1995, Bjorksten *et al.* 2000).

Esto ha estimulado un reciente interés, puesto que los rasgos bilateralmente simétricos son extremadamente comunes en la naturaleza y, de esta forma, la medición de la AF aparece como un método relativamente simple para la evaluación del estrés biológico de los individuos. La hipótesis de que el estrés genético y ambiental incrementan los niveles de AF en individuos y poblaciones, hace que este tipo de asimetría surja como una potencial herramienta para programas de monitoreo y conservación biológica (Tomkins & Kotiaho 2001), de estudio de la estabilidad del desarrollo (Tomkins & Kotiaho 2001, Frechette & Daigle 2002), del monitoreo de la calidad ambiental (Hardersen 2000, Frechette & Daigle 2002), de la solución de problemas de conservación biológica y de la determinación de las condiciones de vida de los organismos (Gilligan *et al.* 2000, Frechette & Daigle 2002). Además, el hecho de que la AF aparezca correlacionada con la aptitud biológica hace que ésta pueda potencialmente ser usada en mejora genética para seleccionar los animales más viables y productivos (Manning & Ockenden 1994).

No obstante, la antisimetría y la asimetría direccional también son importantes, puesto que ellas indican procesos de cambio ontogénico evolutivo de la AF, pero de cuyas causas se conoce muy poco (Palmer 1994). Entre las pocas causas reconocidas se tienen mecanismos genéticos, que ocurren cuando se rompen o desacoplan los sistemas coadaptados de genes que regulan la canalización de los rasgos (Palmer & Strobeck 1986). La posibilidad de analizar la AB y sus componentes (i.e AF y AD) en la macroescala geográfica, puede permitir avances significativos en torno a esta problemática.

1.4. Antecedentes de cambios de forma, grosor y AB en bivalvos

La forma y las relaciones alométricas muestran una gran variabilidad intra e interespecífica entre los moluscos en general y las especies de bivalvos en particular (Vermeij 1993). En relación con los cambios de forma y rasgos de las valvas en la macro- o meso escala geográfica (> 1.000 o > 300 km, respectivamente) los estudios son escasos (Beukema & Meehan 1985). En algunos casos, se cumple la regla de Bergman que dice que "los organismos que crecen en ambientes más fríos tienden a ser de mayor tamaño" (Blanckenhorn & Hellriegel 2002). Sin embargo, en *P. purpuratus* desconocemos si el tamaño sigue tal regla. Por otra parte, en relación con la escala local (metros a decenas de metros), la variación del grosor y la forma de las valvas en bivalvos se ha atribuido a adaptaciones locales o a respuestas ambientales al estrés físico (De Wolf *et al.* 1997; Seed & Richardson 1999), a la

intensidad del oleaje (Steffani & Branch 2003; Guiñez 1996), a la depredación (Reimer & Tedengren 1996; Leonard *et al.* 1999; Smith & Jennings 2000; Caro & Castilla 2004) o a la densidad y la agregación (Guiñez 1996). El incremento en el grosor de las valvas puede proteger a los choritos de los efectos destructivos de la intensidad del oleaje (Guiñez 1996) o del forrajeo de depredadores (Navarrete & Castilla 1988; Caro & Castilla 2004). En la macro o meso-escala y en un contexto evolutivo, se ha sostenido que el incremento en el grosor de la concha en gastrópodos hacia los trópicos se explicaría por la mayor intensidad de la depredación o por diferencias en las tasas de calcificación (Palmer 1979; Vermeij & Currey 1980). En la macro o meso-escala geográfica en bivalvos no se encontraron antecedentes de la variación del grosor.

En moluscos bivalvos, existen grupos con AD conspicua; por ejemplo, los individuos pueden presentar la valva con que se adhieren al sustrato más pequeña (e.g. Anomiacea y Pectinacea) o de mayor tamaño (e.g. Ostreacea) (Palmer 1996b). En otros casos como en el pectínido *Chlamys islandica* y en la ostra japonesa *Crassostrea gigas*, se han documentado casos de AF asociados a diferentes tasas de mortalidad (Fréchette & Daigle 2002, Fréchette *et al.* 2003).

El alto grado de competencia intraespecífica observada en el chorito maico (ver abajo) podría representar un tipo de estresor que afecte la simetría bilateral de estos individuos. En efecto, se ha demostrado que los choritos que viven en posiciones inferiores dentro de las matrices, son más afectados en su supervivencia

y crecimiento, como efecto de la competencia intraespecífica por espacio e interferencia (Alvarado & Castilla 1996, Guiñez & Castilla 1999); y por lo mismo, debieran estar más estresados que los individuos que se ubican en posiciones superiores en la matriz. Es esperable entonces que estén sometidos a condiciones más extremas y estresantes, no sólo los individuos en matrices más densas o más agregadas (con mayor número de estratos), sino que también aquellos individuos ubicados en estratos inferiores en relación con estratos superiores de las matrices. En consecuencia, también sería esperable que los ejemplares no sólo presentaran cambios de forma de ambas valvas en relación con el estrato en el que se ubican, la densidad y el grado de agregación, sino que también puedan presentar diferente asimetría bilateral. Sin embargo, cómo la AF o eventualmente la AD puede cambiar en el ámbito geográfico (i.e. latitudinal) se desconoce absolutamente en mitílidos e invertebrados marinos. Siendo en general, una problemática de muy reciente interés, la pregunta por la variación geográfica de la AB, de la cual se conoce sólo un caso estudiado en peces "espinosos" (*Gasterosteus aculeatus;* Gasterosteiformes: Teleostei), en que la evidencia sugiere que la AF en varios rasgos está efectivamente asociada a la geografía (Bergstrom & Reimchen 2002).

1.5. Antecedentes sobre la especie en estudio

La especie *Perumytilus purpuratus* (Lamarck, 1819) (Bivalvia: Mytilidae), comúnmente conocida como chorito maico, es un competidor dominante del intermareal rocoso medio de Chile central (Castilla 1981), que forma extensos bancos en zonas protegidas o semiprotegidas (Castilla 1981, Alvarado & Castilla 1996). Su distribución geográfica abarca desde el golfo de Guayaquil en el Ecuador hasta la isla Hermite en el Cabo de Hornos por el Pacífico, siguiendo hacia el norte por el Atlántico hasta Santa Cruz, Argentina. (Ramorino & Campos 1979, Castilla 1981, Lozada & Reyes 1981, Guiñez 1996). Esta especie es capaz de formar densas matrices multi-estratificadas de individuos, produciéndose en su interior una intensa competencia intraespecífica (Alvarado & Castilla 1996, Guiñez & Castilla 2001). La competencia intraespecífica en el chorito maico ha sido experimentalmente estudiada por Guiñez (1996), desarrollándose algunos nuevos modelos de auto-raleo (self-thinning) (Guiñez & Castilla 1999), lo que ha permitido a estos autores, generar nuevos conceptos ecológicos que ayudan a comprender de mejor modo los procesos competitivos en especies gregarias (Guiñez *et al.* en prensa).

Guiñez & Castilla (1999, 2001) han desarrollado un índice de agregación que permite estimar el número de estratos de las matrices de choritos. Estos autores también han demostrado que la densidad se puede descomponer cuantitativamente en la densidad efectiva y el modo en que los individuos ocupan el espacio primario (índice de agregamiento). La densidad efectiva se define como el número de

individuos en relación con la superficie (proyectada al sustrato) cubierta por los individuos, y se diferencia de la densidad *per se* en tanto esta última utiliza como criterio de área a la superficie de muestreo.

La tendencia de *P. purpuratus* por formar agregaciones de individuos altamente densas produce una intensa competencia intraespecífica mediada por restricciones de espacio o energéticas, representando un ambiente altamente estresante en el que la sobrevivencia y el crecimiento disminuyen con el incremento de la densidad y la estratificación (Bertness & Grosholz 1985, Guiñez & Castilla 1999). En algunos taxa marinos tales como ostras (Chinzei *et al.* 1982), almejas (Cigarría & Fernández 1998), cirripedios (Bertness *et al.* 1998) y tunicados (Paine & Suchanek 1983, Castilla *et al.* 2000) se han comunicado cambios morfológicos asociados al incremento de la densidad. En choritos, también se han reportado cambios de forma asociados a la densidad, por ejemplo en *Mytilus edulis* los individuos se hacen más elongados (Seed 1968, Alunno-Bruscia *et al.* 2001), y en *P. purpuratus* se ha observado la tendencia contraria, siendo menos elongados en altas agregaciones (multi-estratificadas) (R. Guiñez, resultados no publicados). Por otra parte, los efectos de la competencia intraspecífica también pueden depender de la posición de los individuos en la matriz. En efecto, en *M. edulis* se ha demostrado experimentalmente que los ejemplares ubicados en los bordes de las agregaciones crecen y producen mayor cantidad de tejidos reproductivos (Okamura 1986), y en *P. purpuratus*, los individuos localizados en el estrato

superior se ven menos afectados por la competencia intraespecífica que aquellos ubicados en estratos inferiores, presentando además diferencias en la distribución de tamaños y en la cantidad de reclutas (Alvarado & Castilla 1996, Guiñez & Castilla 1999).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Determinar si existe algún tipo de asimetría bilateral en rasgos de forma y grosor de las valvas en el chorito maico *Perumytilus purpuratus*, y si la magnitud de su variación es diferencial en un gradiente latitudinal de macroescala (3.900 km app.) con variables asociadas de densidad, grado de agregamiento, carga de depredadores y temperatura superficial del mar.

2.2. Objetivos específicos

1. Determinar las variaciones de la densidad y el grado de agregación en matrices de *P. purpuratus*, y de la carga de depredadores y la temperatura en un gradiente latitudinal (18°-53° S).

2. Determinar si existe algún patrón de variación en la forma (índice de elongación) y el grosor de las valvas (índice de grosor) asociado con el gradiente latitudinal.

3. Determinar si la magnitud de la asimetría bilateral (direccional o fluctuante) varía en relación con la latitud y las variables asociadas de densidad, grado de agregación, carga de depredadores y temperatura.

3. HIPÓTESIS

H0: No existe un patrón de variación de la forma y del grosor de las valvas y de la asimetría bilateral en *Perumytilus purpuratus* que se relacione con la latitud.

H1: La forma o el grosor de las valvas de *Perumytilus purpuratus* se aleja de la simetría bilateral, reflejada a través de la asimetría fluctuante o direccional, mostrando un patrón de variación clinal latitudinal debido al efecto del estrés ambiental en el gradiente geográfico, representado por las variaciones de la densidad y la intensidad del grado de agregación.

H1': La asimetría bilateral podría estar relacionada no sólo con la intensidad de la agregación y la densidad, sino que también con otros estresores como podrían ser perturbaciones biológicas (e. g. presencia de depredadores) o físicas (e. g. temperatura).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Especie en estudio

Se trabajó con representantes de la especie *Perumytilus purpuratus* (Lamarck, 1819), (Bivalvia: Mytilidae).

4.2. Área de estudio

Las muestras fueron recolectadas en 25 localidades a lo largo de la franja intermareal media de la costa Pacífica Sudoriental (Castilla 1981), entre los 18° 20'S y los 53° 05'S, abarcando una extensión geográfica de alrededor de 3,900 Km (Figura 1). Los muestreos realizados en 22 de las localidades estuvieron a cargo del equipo de trabajo de la Dra. Miriam Fernández (Estación Costera de Investigaciones Marinas ECIM, Pontificia Universidad Católica de Chile), seis de las cuales fueron muestreadas durante 2004 (localidades 8 a la 13, Tabla 1, indicadas con un asterisco en la Figura 1) y el resto entre 1998 y 2002. Adicionalmente, se incluyeron tres localidades (4. LLacolén, 5. El Way y 14. Punta de Tralca) que se muestrearon durante 2002, a cargo de Carolina Briones y el Dr. Ricardo Guiñez (Universidad de Antofagasta) (Tabla 1).

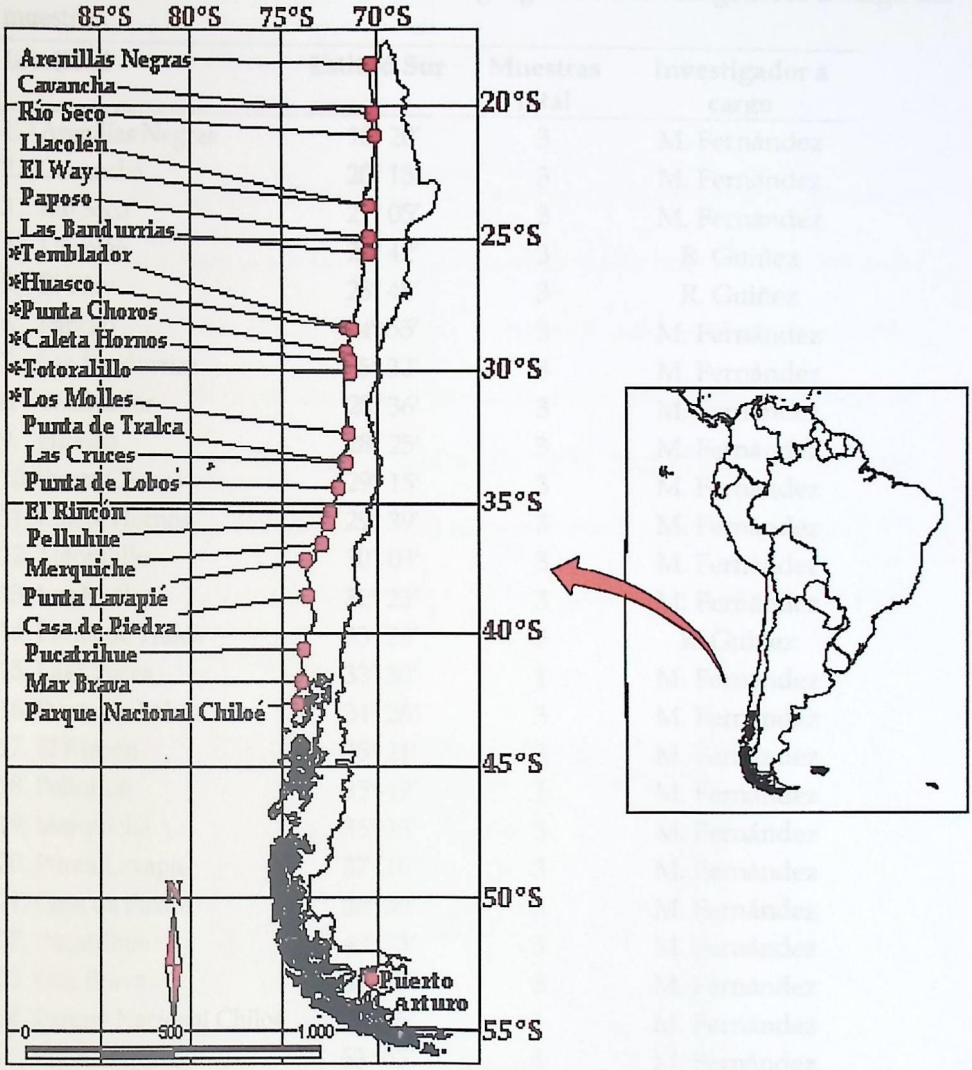


Figura 1. Ubicación geográfica de las localidades en estudio. (*Localidades muestreadas en 2004).

Tabla 1. Sitios muestreados, su ubicación geográfica e investigadores a cargo del muestreo.

Localidad	Latitud Sur	Muestras total	Investigador a cargo
1. Arenillas Negras	18° 20′	3	M. Fernández
2. Cavancha	20° 13′	3	M. Fernández
3. Río Seco	21° 05′	3	M. Fernández
4. Llacolén	23° 42′	3	R. Guiñez
5. El Way	23° 45′	3	R. Guiñez
6. Paposo	24° 55′	3	M. Fernández
7. Las Bandurrias	25° 32′	3	M. Fernández
8. Temblador	28° 36'	3	M. Fernández
9. Huasco	28° 25'	3	M. Fernández
10. Punta Choros	29° 15'	3	M. Fernández
11. Caleta Hornos	29° 39'	3	M. Fernández
12. Totoralillo	30° 03'	3	M. Fernández
13. Los Molles	32° 23′	3	M. Fernández
14. Punta de Tralca	33° 28′	3	R. Guiñez
15. Las Cruces	33° 30′	1	M. Fernández
16. Punta de Lobos	34° 26′	3	M. Fernández
17. El Rincón	35° 21′	3	M. Fernández
18. Pelluhué	35° 49′	1	M. Fernández
19. Merquiche	36° 35′	3	M. Fernández
20. Punta Lavapié	37° 10′	3	M. Fernández
21. Casa de Piedra	38° 30′	3	M. Fernández
22. Pucatrihue	40° 33′	3	M. Fernández
23. Mar Brava	41° 47′	3	M. Fernández
24. Parque Nacional Chiloé	42° 35′	1	M. Fernández
25. Puerto Arturo	53° 05′	4	M. Fernández

4.3. Recolección y mantención de las muestras

4.3.1. Muestreo

De cada localidad (Figura 1) se obtuvieron azarosamente muestras replicadas (3 a 4 réplicas por localidad) de choritos desde matrices con 100% de cobertura. Las muestras de Llacolén, El Way y Punta de Tralca se obtuvieron desde un área de 10 x 10 cm de acuerdo a procedimientos estándares (Alvarado & Castilla 1996, Guiñez 1996, Guiñez & Castilla 1999) (Figura 2). Las muestras adicionales recolectadas en 2004 (Figura 1) fueron obtenidas desde un área de 5 x 5 cm, debido a la baja cobertura de la especie. El resto de las muestras se obtuvieron desde un área de 12,5 x 12,5 cm.

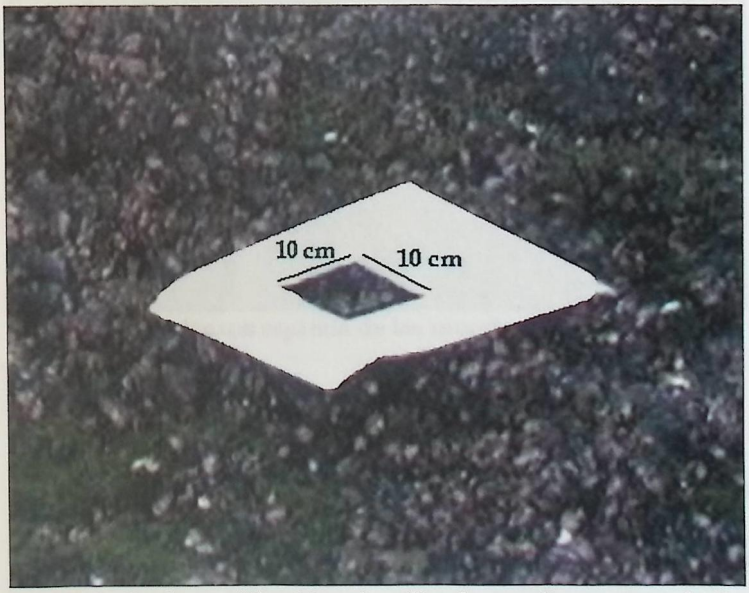


Figura 2. Cuadrante (10 x 10 cm) utilizado en el muestreo de *P. purpuratus* en la bahía de Antofagasta.

Los individuos fueron removidos del sustrato por medio de una espátula (Figura 3). Todas las muestras fueron recolectadas desde sitios expuestos al oleaje, con excepción de Puerto Arturo (el sitio más austral) donde sólo se pudo tomar muestras en un sitio protegido del oleaje y de Punta Lavapié, que se tomó como un posible control de sitio protegido en una latitud media del rango latitudinal abarcado.



Figura 3. Remoción con espátula de las muestras de *P. purpuratus*.

4.3.2. Conservación de las muestras

Las muestras provenientes de Llacolén, El Way y Punta de Tralca fueron congeladas a -20°C hasta su procesamiento y medición. Las muestras restantes fueron congeladas y posteriormente fijadas en alcohol (70%) para su conservación.

4.3.3. Selección de las submuestras

Para determinar la asimetría bilateral y la existencia de algún tipo de patrón relacionado con la latitud, se seleccionaron al azar 20 individuos de cada una de las muestras, intentando representar la distribución de tamaños de cada muestra entre los rangos de 7 a 37 mm de longitud máxima (Figura 4), ya que los choritos de esta especie rara vez superan los 41 mm de longitud máxima (Alvarado & Castilla 1996, Guiñez 1996, Guiñez & Castilla 1999). Antes de extraer la submuestra todos los ejemplares presentes en la muestra fueron medidos (ver punto 4.4.1) y contados.

4.4. Obtención de datos

4.4.1 Datos básicos

Previo a la medición, los individuos fueron limpiados prolijamente con escobilla de plástico, eliminándose restos de algas, arena y epibiontes, y se procedió a remover cuidadosamente el ligamento de la charnela. Posteriormente se midió la longitud máxima (l: máxima distancia en el eje antero-posterior), altura máxima (H: máxima distancia en el eje dorso-ventral) y ancho máximo (W: máxima distancia entre ambas valvas) (siguiendo a Guiñez 1996, Figura 4) de cada ejemplar, utilizando un pie de metro digital de 0,01mm de precisión (± 0,005 mm). Cabe destacar que en bivalvos la orientación del eje oro-anal coincide con el eje antero-posterior, y que la posición del umbo no siempre es dorsal. En mitílidos, debido a su condición "heteromyarian" (típica forma chorito) el umbo gira a una

posición anterior. Esto explica que las definiciones de las medidas de longitud (l) y altura (H) en relación con los ejes morfológicos, no coincidan entre las especies de mitílidos y de bivalvos en general (Moore 1969). Por otra parte, para cada uno de los 20 ejemplares de las submuestras seleccionadas, se obtuvo el peso húmedo del cuerpo y de cada valva por medio de una balanza Precisa 505 M-2020 C-DRSCS de 0,001g de precisión (± 0,0005 g).

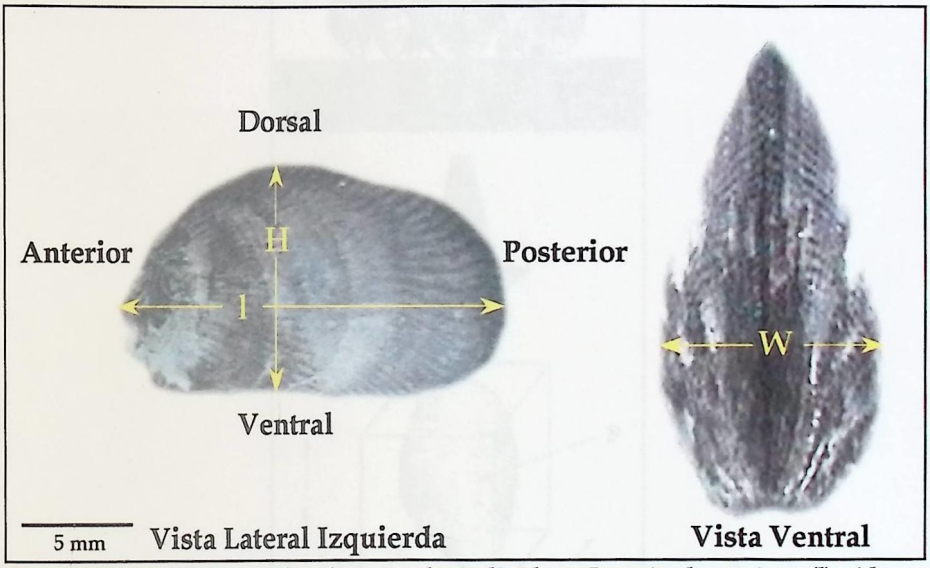


Figura 4. Mediciones realizadas a cada individuo. Longitud máxima (l); Altura máxima (H) y Ancho máximo (W).

4.4.2. Estimaciones

Para cada chorito se estimó la superficie proyectada al sustrato (S_i) multiplicando H x W (Guiñez & Castilla 1999, 2001) (Figura 5). Por otra parte, para cada muestra se estimó el área efectiva (A_e = área total proyectada al sustrato =

$\sum S_i$), la densidad (N = individuos x m^{-2}), el número de estratos (NL = A_e / área de muestreo) y la densidad efectiva (N_e = individuos / A_e) que permite una estimación de la intensidad estandarizada de la agregación (Guiñez & Castilla 2001).

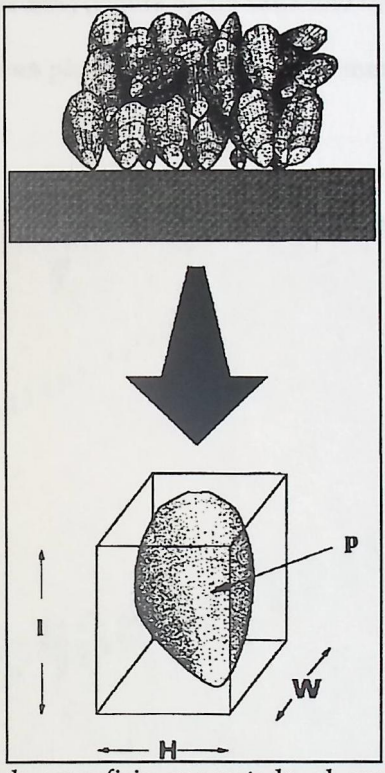


Figura 5. Esquema de la superficie proyectada al sustrato (S_i) y mediciones realizadas en los individuos de *P. purpuratus* (Guiñez & Castilla 1999).

4.4.3. Digitalización fotográfica de valvas izquierda y derecha

Las valvas (izquierda y derecha) de los 20 individuos de cada submuestra, fueron digitalizadas y analizadas individualmente para las 25 localidades. Éstas

fueron dispuestas sobre una cámara lúcida fija horizontal, en posición estándar, con el umbo (extremo anterior) en posición sur y el extremo posterior en posición norte, con la concavidad de la valva hacia abajo, una vez dispuestas las valvas, fueron fotografiadas con una cámara digital SONY DCR-TRV530 (con una calidad de imagen de 1,30 megapixeles) (Figura 6). En cada foto se incluyó una moneda de dimensiones conocidas y un pie de metro fijado en 50 mm con el fin de calibrar la medición.

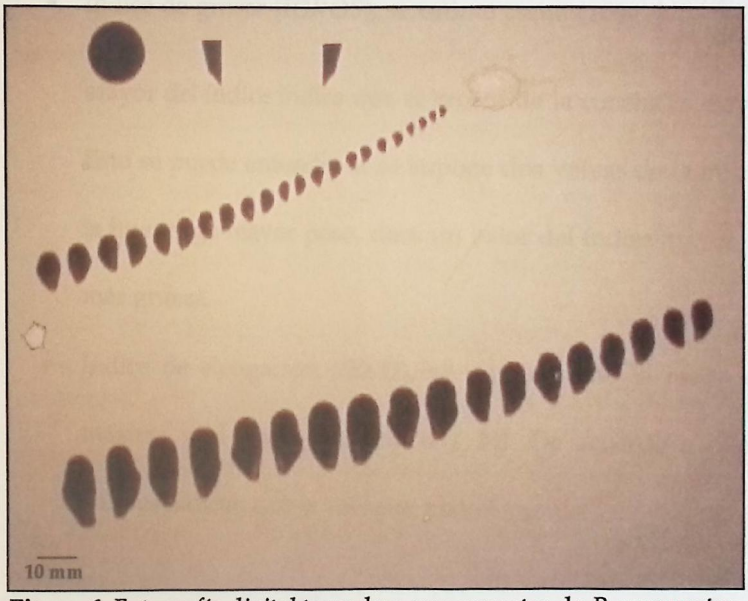


Figura 6. Fotografía digital tomada a una muestra de *P. purpuratus*.

4.4.4. Procesamiento de los datos y análisis de la forma y del grosor

Las fotografías digitales de cada muestra fueron analizadas mediante el software UTHSCSA *Image Tool* Versión 3.00 (University of Texas Health Science

Center at San Antonio, Texas; http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html), con lo cual se determinó la longitud máxima, ancho máximo y área para cada valva, usándose medidas en milímetros y 3 decimales de precisión. Pese a que el programa permite calibrar un objeto y a partir de éste realiza las mediciones, adicionalmente se compararon las medidas obtenidas para el objeto moneda incorporando en cada foto, con las dimensiones reales ya conocidas y, con esto, se realizó una corrección adicional de los datos.

Los índices de grosor y elongación se estimaron del siguiente modo:

- Índice de grosor (*IGROS*), se estimó como $(1000 \cdot \frac{Peso\ de\ la\ valva}{Area})$. Un valor mayor del índice indica que el grosor de la concha es mayor (Guiñez 1996). Esto se puede entender si se supone dos valvas de la misma área, entonces la que tenga mayor peso, dará un valor del índice mayor, indicando que es más gruesa.
- Índice de elongación (*IELO*), se estimó como la razón entre la longitud máxima y el ancho máximo (l / H). De acuerdo a este índice mayores valores indican que la valva es más elongada.

4.5. Obtención de datos adicionales

4.5.1. Efecto de la depredación

Se cuantificó la abundancia de depredadores de *P. purpuratus* a partir de un muestreo puntual en cada sitio. Debido a que la conducta de forrajeo de las especies de depredadores puede involucrar microhábitats de refugio distintos a aquellos donde puede ocurrir la depredación, fue necesario abarcar varios tipos de microhábitats intermareales para cuantificar la real abundancia de depredadores. Cinco tipos de microhábitats fueron considerados: franja litoral baja, franja litoral media horizontal y vertical, además de pozas y bolones. Los dos últimos microhábitats no estuvieron siempre disponibles en todos los sitios. En cada microhábitat se realizaron muestreos de captura por unidad de esfuerzo (CPUE), removiendo todos los ejemplares de especies de invertebrados carnívoros (i.e. gastrópodos) presentes en 5 minutos de búsqueda dentro de un área de 1 m^2. Tiempos de búsqueda mayores, no contribuyeron a mejorar las estimaciones de abundancia. En general, aunque ha sido escasamente usado en ecología intermareal, el método de CPUE provee estimados de abundancia altamente correlacionados con estimaciones hechas mediante cuadrantes de muestreo (Rivadeneira *et al.* 2002).

4.5.2. Temperatura

Los datos de temperatura superficial promedio del mar (TSM) fueron obtenidos a partir de series de tiempo de imágenes satelitales por banda de latitud, obtenidos de promedios anuales históricos basados en datos promedios mensuales disponibles entre 1930 y 1991 (Broitman *et al.* 2001).

4.5.3. Latitud

Los datos de latitud y longitud fueron obtenidos mediante la medición en terreno con GPS (Global Positioning System) Garmin GPSMAP® 60C. Para efectos de análisis estadístico y representación cartográfica, la latitud (en grados, minutos y segundos) de cada localidad fue transformada a formato de grados decimales, usando el siguiente algoritmo:

$$\text{Latitud decimal} = \text{grados} + (\text{minutos}/60) + (\text{segundos}/3600)$$

4.6. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos se usó el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS 1996). Para los gráficos se trabajó con el programa Microcal Origin *versión* 6.0 y el paquete estadístico STATISTICA *versión* 5.0. Los datos para la línea de tendencia LOWESS, se obtuvieron del programa MINITAB *versión* 12.1.

En algunos de los análisis estadísticos que siguen, en especial aquellos relacionados con los índices de asimetría, no se incorporaron las localidades 15, 18 y 24 (Tabla 1) debido a que sólo se dispuso de una réplica.

4.6.1. Tendencia latitudinal

Para cada variable por separado se realizó, en una primera aproximación, un análisis de regresión simple con sumatorias de cuadrados tipo 3 (SAS 1997), usando el siguiente modelo estadístico: $Y = a + b_1 X_1$, donde Y representa a la respectiva variable respuesta (e.g. densidad, agregación, etc.) y X representa a la variables independiente: Latitud, a es el intercepto, y b_1 es el coeficiente de regresión respectivo.

Para la visualización de los resultados se graficó cada variable con la latitud (datos promedio por réplica). Posteriormente para explorar la naturaleza de la relación entre X e Y se aplicó el análisis de tendencia de LOWESS. Este modelo es una técnica que permite explorar la estructura geográfica de los patrones latitudinales (Broitman *et al.* 2001) y se utiliza para ajustar una curva a los datos, tomando secuencialmente solo un porcentaje (i.e. 50%) de los datos más cercanos al punto y obteniendo un promedio de cada uno, este método es poco sensible a la ocurrencia de valores extremos ("outliers") y permite el ajuste de modelos no restringido a relaciones sólo lineales.

4.6.2. Fuentes de variación de los índices de grosor (IGROS) y elongación (IELO) y de asimetría (ABSIGROS y ABSIELO).

4.6.2.1. Efectos de localidad

Para determinar si existían efectos diferenciales asignables al efecto de localidad sobre los índices promedios (IGROS, IELO, ABSIGROS y ABSIELO; ver abajo), se aplicó un análisis de covarianza ANCOVA mixto de tres vías (Der & Everitt 2002). Los tres factores incluidos en el modelo fueron el efecto de la localidad (Loc), el efecto de lado (L, valva derecha e izquierda), y de cada réplica dentro de localidad (Rep (Loc)). Los efectos de localidad y lado se consideraron como factores fijos y el efecto de Rep (Loc) como factor aleatorio. Por otra parte, se usó la longitud máxima individual como covariable para poder controlar los efectos de tamaño sobre el grosor y la elongación. De este modo, se evita que los patrones observados sean sólo efecto de diferencias de tamaño entre las muestras. El modelo estadístico aplicado fue:

$Y_{lkij} = \mu + LC + Loc_i + L_j + Loc \bullet L_{ij} + \mathrm{Rep}(Loc)_{k(i)} + e_{l(kij)}$, donde Y es el valor de la variable respuesta dentro de localidad i y del lado j para la réplica k, μ es la media poblacional, LC es la covariable, Loc es la localidad i , L es el lado j del individuo (valva izquierda y derecha), Rep es la réplica k y e es el error experimental residual. En resumen, este modelo permite determinar si hay variaciones significativas de los índices debido al efecto de localidad, si hay diferencias entre la valva izquierda y derecha (asimetría direccional) y si la

asimetría direccional es afectada por el efecto de localidad (término de interacción de $Loc \times L_{ij}$). Para describir el comportamiento de estos índices en relación con la latitud, se graficaron los valores promedio de IGROS e IELO, usando el análisis de tendencia de LOWESS.

4.6.2.2. Efectos bióticos y abióticos

Para explorar los factores que podrían determinar las diferencias de los índices de grosor y elongación, y de los índices de asimetría respectivos, entre localidades se aplicó un análisis de regresión múltiple al cual se ingresaron los respectivos índices como variables dependientes y como variables explicatorias o independientes a: la carga de depredadores (CPUE), la temperatura (TEMP), el número de estratos (NL) y la densidad (NM2). El análisis de regresión múltiple aplicado se calculó usando sumatorias de cuadrados tipo 3, con el siguiente modelo estadístico:

$$Y = b_o + b_1 \circ X_1 + b_2 \circ X_2 + b_3 \circ X_3 + b_4 \circ X_4 + e$$

donde, Y es la variable respuesta (e.g. IGROS o IELO), b_o es el intercepto, b_i es el coeficiente de regresión de la "i" variables independientes explicatorios X_i (CPUE, TEMP, NL y NM2) y e es el error experimental residual (Der & Everitt 2002). Este modelo permite determinar cuál o cuáles de las variables explicatorias afectan a la respectiva variable respuesta o dependiente. Adicionalmente, y para corroborar los resultados del análisis de regresión múltiple, se aplicó el procedimiento de

regresión múltiple paso a paso ("stepwise"). Este modelo, ingresa las variables explicatorias secuencialmente al modelo, y dinámicamente elimina a aquellas que no explican varianza significativamente. El procedimiento termina dejando en el modelo exclusivamente aquellas variables explicatorias que realmente afectan a las variables respuesta bajo una probabilidad error tipo I especificada para el modelo total (P = 0,15) (Der & Everitt 2002).

4.6.3. Error de medición y tipos de asimetría

En estudios preliminares (Briones & Guiñez en prensa) realizados sobre muestras de la bahía de Antofagasta (Llacolén y El Way) y Punta de Tralca, se cuantificó el error de medición de las variables de forma. Para esto se eligieron aleatoriamente 40 individuos de cada una de las tres localidades, usando números al azar, los que se volvieron a medir de tal modo que en total se dispuso de seis muestras. Estos individuos se midieron nuevamente a partir de la fotografía original, variando las siguientes fuentes posibles de error: amplificación de la imagen y recalibración de la medida espacial de la reglilla, también se varió manualmente el umbral de contraste antes de llevar la imagen a blanco y negro. Para cada valva se volvieron a corregir las medidas lineales y de superficie, usando las medidas estándares de la moneda. De este modo para cada individuo y valva se tuvieron dos medidas repetidas (M1 y M2). Para esta segunda medición solo se trabajó con el código de cada foto, con desconocimiento de si la valva era izquierda

o derecha, y en distinto orden. El error de medición se analizó mediante los métodos de Palmer & Strobeck (1986), Palmer (1994) y Palmer & Strobeck (2003), para lo que se aplicó un análisis de varianza de medidas repetidas mixto para cada muestra, usando el siguiente modelo estadístico: $Y_{ijk} = \mu + L_i + I_j + LI_{ij} + e_{k(ij)}$, donde Y_{ijk} es la k medida repetida del índice Y (variable respuesta) dentro del lado i del individuo j, μ es la media poblacional, L_i es el efecto fijo del lado i, I_j es el efecto aleatorio de individuo j, LI_{ij} es el efecto aleatorio de la interacción del lado i con el individuo j, y $e_{k(ij)}$ es el error residual (varianza de las medidas repetidas). Un efecto significativo del factor lado (L) indica la presencia de asimetría direccional (AD) y permite poner a prueba la hipótesis de si la diferencia, Dif 1 = lado derecho - lado izquierdo es distinta de cero, esto es equivalente a realizar una prueba de t de dos colas. Un efecto significativo del factor 'individuo' (I) indica que las diferencias entre individuos son mayores que el error de medición (EM), y un efecto significativo del término de interacción LI, es una prueba estadística para determinar si los distintos tipos de asimetrías son más grandes que el EM. Para determinar la probabilidad de rechazo de la hipótesis nula, se ajustaron las probabilidades del error tipo I mediante la corrección secuencial de Bonferroni (Quinn & Keough 2002).

Para verificar la ausencia de anti-simetría (AS) se determinó que la distribución no fuera platicúrtica, mediante la puesta a prueba de que la curtosis

(g^2) de la distribución de Dif 1 fuera igual o mayor a cero. Antes de someter los datos a estos análisis, se identificaron datos extremos ("outliers") usando gráficos de dispersión de residuales, de acuerdo a procedimientos estándares (Palmer & Strobeck 2003). Los datos extremos no fueron incorporados en los análisis. Además de determinar si la asimetría promedio de una muestra particular fue distinta de cero, se puso a prueba si la dirección de la asimetría fue consistente entre las distintas muestras. Para ello se usó una prueba binomial, en la que la hipótesis nula fue que los valores positivos y negativos de las asimetrías promedios de los grupos eran igualmente probables, y por lo tanto, debieran ocurrir en una razón de 1:1. La magnitud del tamaño del efecto y por ende de la asimetría del rasgo, se calculó de dos modos: i) como el porcentaje del tamaño medio del rasgo (una medida escala independiente) dividiendo el valor medio del lado derecho menos el lado izquierdo (= Dif 1) por su valor promedio (Klingenberg *et al.* 1998) y ii) como la diferencia Dif 1 estandarizada por la desviación estándar (DifStd) (Briones & Guiñez en prensa).

El error de medición para la estimación del grosor no fue posible de determinar con la información obtenida a la fecha. Sin embargo, la información disponible sugiere que el error de medición del grosor debiera ser menor al 1% de la varianza del índice de grosor (Guiñez 1996).

4.6.4. Índice de asimetría del grosor y elongación de las valvas de *P. purpuratus* y su fuente de variación

Se determinaron las posibles fuentes de variación del índice de asimetría de las valvas del chorito maico para los rasgos fenotípicos de grosor (IGROS) y elongación (IELO). El índice de asimetría se calcula generalmente como la diferencia de los respectivos valores entre ambas valvas; sin embargo, y siguiendo las recomendaciones de Palmer & Strobeck (2003), en esta tesis se trabajó con los valores absolutos de la diferencia $|R - L|$, donde R representa el lado derecho de la valva y L es el lado izquierdo, debido a que el valor absoluto es considerado un buen estimador de asimetría bilateral (Palmer 1994). Los nuevos índices para los valores absolutos de las diferencias se denominaron como ABSGROS y ABSIELO, para el grosor y la elongación de las valvas, respectivamente.

Las posibles fuentes de variación de la asimetría bilateral para los rasgos de grosor y elongación de las valvas (ABSGROS y ABSIELO) fueron exploradas mediante un ANDEVA mixto de 2 vías con interacción (Localidad fue el factor fijo y Réplica dentro de localidad el factor aleatorio).

4.6.5. Factores determinantes en la variación de la asimetría bilateral de ABSGROS y ABSIELO

Como se señaló anteriormente, se realizaron análisis de regresión múltiple y paso a paso con las variables ecológicas y físicas (CPUE, NL, NM2 y TEMP) como

variables independientes para explorar el o los factores determinantes de la variación de los índices de asimetría bilateral ABSIGROS y ABSIELO.

5. RESULTADOS

En esta tesis se midieron las variables morfométricas de un total de 8.382 individuos, de los cuales se logró digitalizar individualmente un total de 2.732 valvas.

5.1. Tendencias latitudinales de variables ecológicas y físicas

La Tabla 2 muestra los análisis de regresión simple realizados con cada una de las variables ecológicas y físicas (densidad (NM2), número de estratos en la matriz de *P. purpuratus* (NL), carga de depredadores (CPUE) y temperatura (TEMP), entradas al modelo de regresión $Y = a + bX$, usando la latitud como variable independiente (Figura 7). Se puede observar que todas las variables, con excepción de la densidad, muestran una relación inversa ($b < 0$) significativa ($P < 0{,}026$) (Tabla 1) con la latitud (Figura 7). Esto es, a mayores latitudes tiende a haber un menor número de estratos, carga de depredadores y temperatura. Por otro lado la densidad aumenta con la latitud, sin embargo, esta tendencia no fue estadísticamente significativa ($b = 71{,}46$, $P = 0{,}502$) (Tabla 1; Figura 7). La temperatura es, como se esperaba, la variable que mostró una mayor varianza explicada por la latitud (97%), la cual varía lineal y negativamente hacia latitudes mayores (Figura 7). Por esto, en muchos de los análisis que siguen, la latitud fue reemplazada por la temperatura.

Tabla 2. Análisis de regresión con sumas de cuadrados tipo 3 (SS3) entre las variables dependientes: NM2, NL, CPUE y TEMP y la latitud (LAT). GL = grados de libertad, CM = cuadrados medios, F valor del estadístico de Fisher, a es el intercepto y b el coeficiente de las respectivas regresiones ajustadas. R^2 es el índice de determinación.

Variable	Fuente	GL	CM	F	P>F	a	b	R^2
NM2	LAT	1	21832118	0,45	0,503	9752,03	71,460	0,01
	Error	64	48020821					
NL	LAT	1	3,8222918	5,21	0,026	2,241	-0,029	0,07
	Error	64	0,7333302					
CPUE	LAT	1	3,4306593	12,07	<0,001	2,462	-0,025	0,12
	Error	64	0,2842766					
TEMP	LAT	1	424,79493	2215,42	<0,001	26,109	-0,313	0,97
	Error	64	0,1917449					

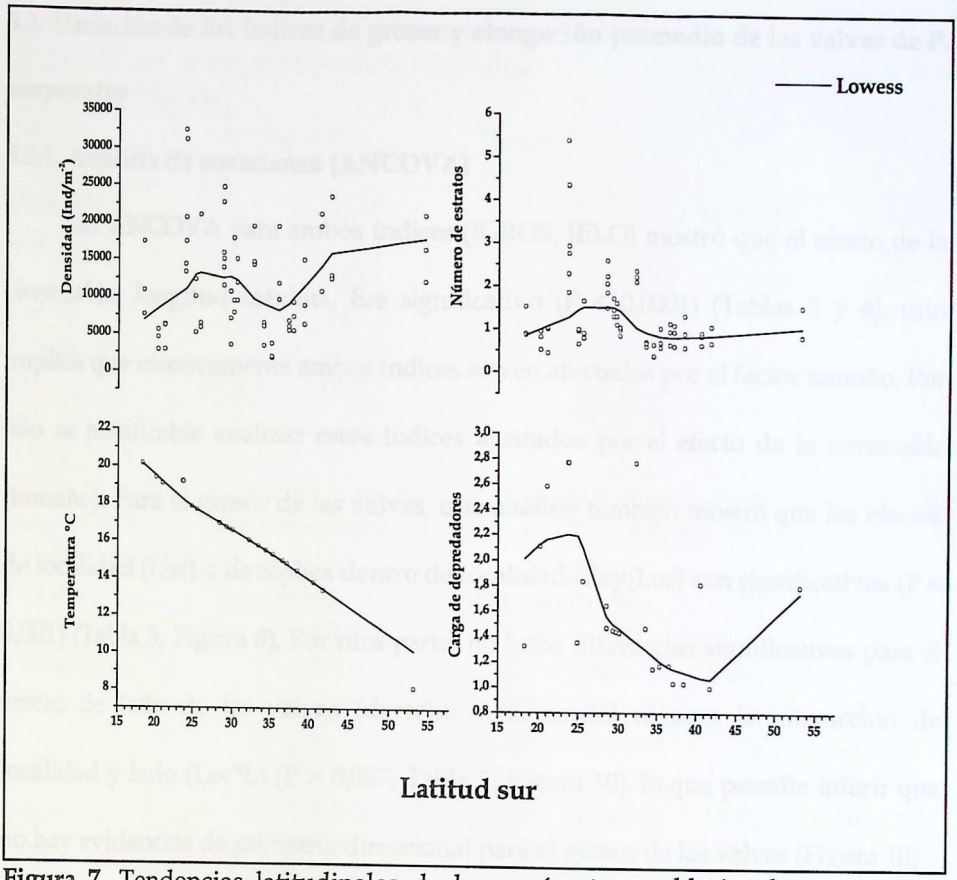


Figura 7. Tendencias latitudinales de los parámetros poblacionales promedios: densidad, número de estratos, carga de depredadores y temperatura. La línea indica la tendencia LOWESS de estas variables con la latitud.

El análisis de correlación no paramétrica de Spearman muestra que con excepción de la relación entre la temperatura y la densidad, todas las comparaciones pares entre las variables son correlaciones positivas ($0{,}41 > r_s^2 > 0{,}06$) y estadísticamente significativas ($P < 0{,}04$).

5.2. Variación de los índices de grosor y elongación promedio de las valvas de *P. purpuratus*

5.2.1. Análisis de covarianza (ANCOVA)

El ANCOVA para ambos índices (IGROS, IELO) mostró que el efecto de la covariable, longitud máxima, fue significativo ($P < 0,0001$) (Tablas 3 y 4), esto implica que efectivamente ambos índices se ven afectados por el factor tamaño. Por ello es justificable analizar estos índices ajustados por el efecto de la covariable (tamaño). Para el grosor de las valvas, este análisis también mostró que los efectos de localidad (Loc) y de réplica dentro de localidad (Rep(Loc) son significativos ($P < 0,001$) (Tabla 3; Figura 8). Por otra parte, no hubo diferencias significativas para el efecto de lado de las valvas (derecho e izquierdo) ni para la interacción de localidad y lado (Loc*L) ($P > 0,067$; Tabla 3; Figura 10), lo que permite inferir que no hay evidencias de asimetría direccional para el grosor de las valvas (Figura 10).

El ANCOVA aplicado sobre la variable IELO mostró que sólo los efectos de localidad, lado de las valvas y réplica dentro de localidad son significativos ($P < 0,004$) (Tabla 4; Figuras 9 y 11). La diferencia significativa del efecto de lado de las valvas permite inferir que existe asimetría direccional en la forma de las valvas (con la valva derecha, en promedio, mostrando valores mayores que la valva izquierda, (Figura 11)).

Tabla 3. ANCOVA mixto de 3 vías para el índice de grosor promedio. La covariable fue la longitud máxima individual. GL = Grados de Libertad. CM = Cuadrados Medios.

Fuente	Numerador		Denominador		F	P > F
	GL	CM	GL	CM		
Covariable	1	1628,518	2581	0,129397	12585,40	<0,001
Loc	21	9,944	44,256	0,948568	10,48	<0,001
L	1	0,081	72,991	0,023570	3,45	0,067
Loc*L	21	0,019	48,255	0,019828	0,96	0,529
Rep(Loc)	44	0,966	44,483	0,019154	50,45	<0,001
Error	2581	0,129				

Tabla 4. ANCOVA mixto de 3 vías para el índice de elongación promedio. La covariable fue la longitud máxima individual. GL = Grados de Libertad. CM = Cuadrados Medios.

Fuente	Numerador		Denominador		F	P > F
	GL	CM	GL	CM		
Covariable	1	63,454	2581	0,024075	2635,66	<0,001
Loc	21	1,355	44,317	0,142612	9,50	<0,001
L	1	0,099	53,289	0,010754	9,23	0,004
Loc*L	21	0,009	45,460	0,010283	0,89	0,604
Rep(Loc)	44	0,145	44,168	0,010198	14,24	<0,001
Error	2581	0,024				

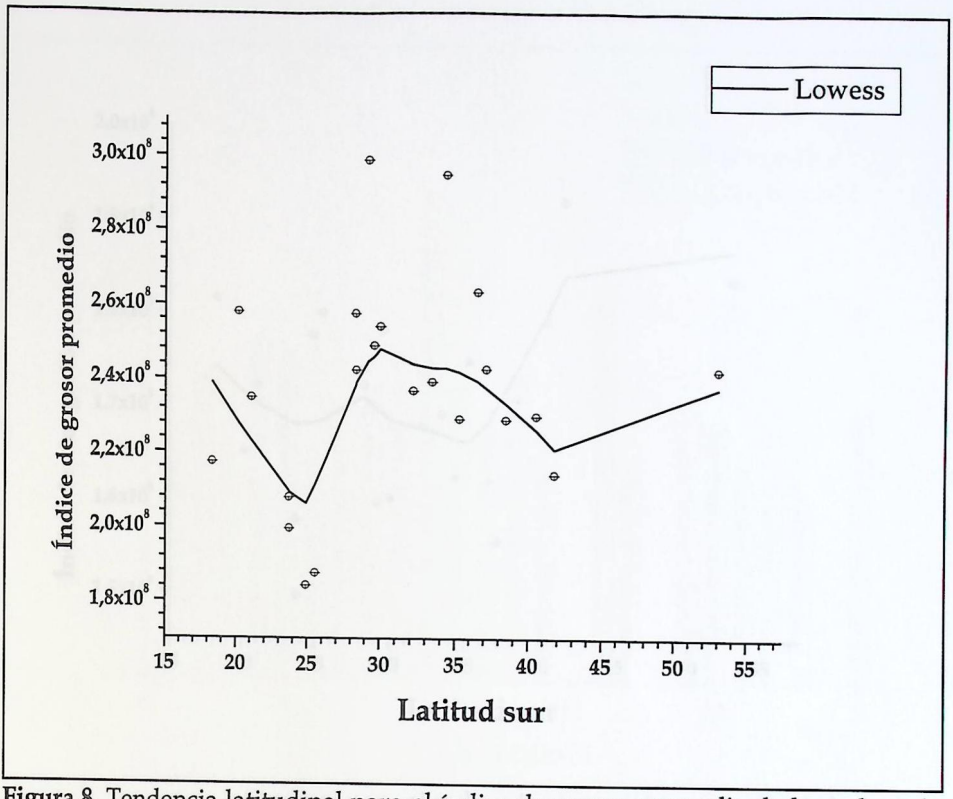


Figura 8. Tendencia latitudinal para el índice de grosor promedio de las valvas de *P. purpuratus*. La línea muestra el ajuste de LOWESS de este índice con la latitud.

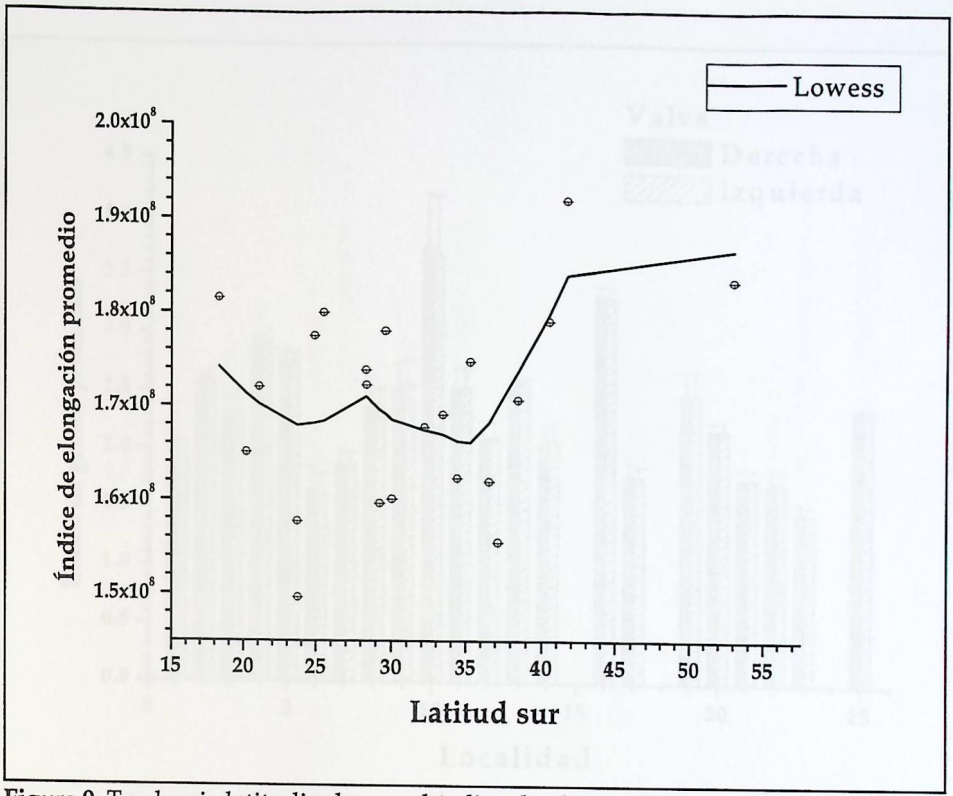


Figura 9. Tendencia latitudinal para el índice de elongación promedio de las valvas de *P. purpuratus*. La línea muestra el ajuste de LOWESS de este índice con la latitud.

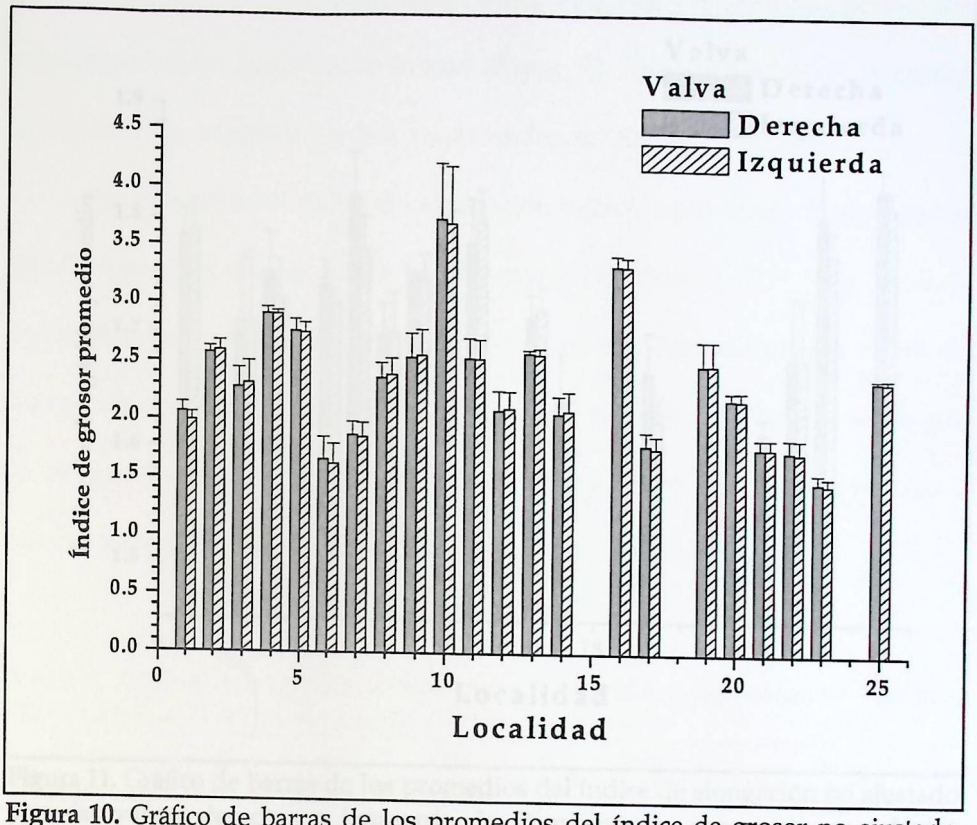


Figura 10. Gráfico de barras de los promedios del índice de grosor no ajustado para las valvas derechas e izquierda de *P. purpuratus* para cada una de las localidades.

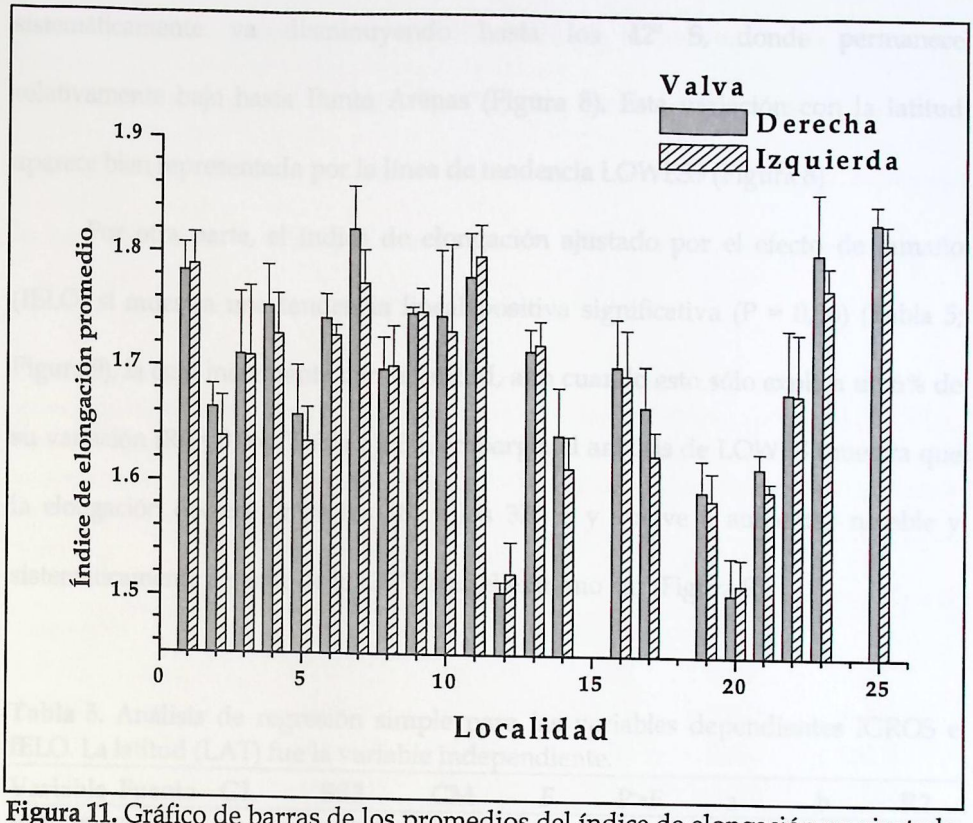


Figura 11. Gráfico de barras de los promedios del índice de elongación no ajustado para las valvas derechas e izquierda de *P. purpuratus* para cada una de las localidades.

5.2.2. Análisis de regresión simple

El índice de grosor promedio ajustado (IGROS) no muestra una tendencia significativa con la latitud (P = 0,147) (Tabla 5; Figura 8), esto significa que no existe un mismo patrón consistente y monotónico de variación clinal en el plano geográfico. Esto es así, puesto que el grosor decrece desde el norte y hacia el sur entre los 18° y los 26° de latitud, donde logra los valores más bajos. Sin embargo, entre los 28° y los 30° S de latitud vuelve bruscamente a valores altos y

sistemáticamente va disminuyendo hasta los 42° S, donde permanece relativamente bajo hasta Punta Arenas (Figura 8). Esta variación con la latitud aparece bien representada por la línea de tendencia LOWESS (Figura 8).

Por otra parte, el índice de elongación ajustado por el efecto de tamaño (IELO) sí muestra una tendencia lineal positiva significativa (P = 0,06) (Tabla 5; Figura 9), la cual incrementa con la latitud, aun cuando esto sólo explica un 6% de su variación (R^2 = 0,06) (Tabla 5). Sin embargo, el análisis de LOWES muestra que la elongación decrece entre los 18° y los 37° S, y vuelve a aumentar notable y sistemáticamente a partir de los 37° hacia el extremo sur (Figura 9).

Tabla 5. Análisis de regresión simple para las variables dependientes IGROS e IELO. La latitud (LAT) fue la variable independiente.

Variable	Fuente	GL	SS3	CM	F	P>F	a	b	R2
IGROS	LAT	1	0,20813	0,2081	2,16	0,147	2,149	0,007	0,03
	Error	64	6,17914	0,0965					
IELO	LAT	1	0,05236	0,0524	4,28	0,043	1,591	0,0035	0,06
	Error	64	0,6260924	0,010					

5.3. Factores determinantes de la variación de los índices de grosor y elongación promedio de las valvas de *P. purpuratus*.

5.3.1. Análisis de regresión múltiple

Los resultados muestran que la variación del índice de grosor (IGROS) ajustado está influenciada significativamente por la temperatura, el número de estratos y la densidad (P < 0,032) (Tabla 6). El efecto de la temperatura sobre el

grosor fue inverso (pendiente = - 0,03553) (Tabla 6), lo que sugiere un incremento del grosor hacia el sur (Figura 8). Por otra parte, respecto de los factores competitivos, el grosor incrementa en la medida que el número de estratos también lo hace (pendiente = 0,1694) (Tabla 6; Figura 12A), pero decrece al aumentar la densidad (pendiente = - 0,00003) (Tabla 6; Figura 12A).

Tabla 6. Análisis de regresión múltiple entre la variable dependiente índice de grosor promedio de las valvas de *P. purpuratus* y las variables explicatorias: CPUE, TEMP, NL y NM2. t es la prueba de t, P > t, probabilidad de error tipo I de si el parámetro es distinto de cero. R^2 parcial tipo II es el coeficiente de correlación parcial usando sumatorias de cuadrados tipo II.

Variable	GL	Parámetros estimados	Error estándar	t	P > |t|	R^2 parcial tipo II
Intercepto	1	3,25583	0,2690	12,10	<0,001	
CPUE	1	-0,11123	0,0779	-1,43	0,159	0,0323
TEMP	1	-0,03553	0,0162	-2,19	0,032	0,0731
NL	1	0,16935	0,0736	2,30	0,025	0,0798
NM2	1	-0,00003	0,0000	-3,49	<0,001	0,1665

En relación con el índice de elongación (IELO) ajustado, sólo fueron significativos los efectos de la densidad y el número de estratos (P < 0,001) (Tabla 7). Mientras la elongación incrementa con la densidad (pendiente = 0,00002) (Tabla 7; Figura 12B), al mismo tiempo decrece con la intensidad de la agregación (pendiente = - 0,14107) (Tabla 7; Figura 12B).

Tabla 7. Análisis de regresión entre la variable dependiente índice de elongación promedio de las valvas de *P. purpuratus* y las variables explicatorias: CPUE, TEMP, NL y NM2. t es la prueba de t, P > t, probabilidad de error tipo I de si el parámetro es distinto de cero. R^2 parcial tipo II es el coeficiente de correlación parcial usando sumatorias de cuadrados tipo II.

Variable	GL	Parámetros estimados	Error estándar	t	P > |t|	R^2 parcial tipo II
Intercepto	1	1,63033	0,07544	21,61	<0,001	
CPUE	1	0,00471	0,02185	0,22	0,830	0,0008
TEMP	1	0,00337	0,00454	0,74	0,462	0,0089
NL	1	-0,14107	0,02065	-6,83	<0,001	0,4334
NM2	1	0,00002	0,00000	6,93	<0,001	0,4408

5.3.2. Procedimiento Paso a paso (Paso a paso)

Lo resultados de este análisis fueron similares al de regresión múltiple para ambos índices ajustados (IGROS e IELO).

Tabla 8. Análisis de paso a paso entre la variable dependiente índice de grosor promedio de las valvas de *P. purpuratus* y las variables independientes CPUE, TEMP, NL y NM2.

Paso	Variable entrada	R- Cuadrado parcial	Modelo R-cuadrado	C(p)	F Valor	P > F
1	NM2	0,112	0,112	8,045	8,10	0,006
2	TEMP	0,044	0,156	6,589	3,27	0,075
3	NL	0,045	0,201	5,038	3,49	0,066

Y = 3,19696 - 0,00003 NM2+ 0,12705 NL - 0,04050 TEMP (R^2 = 0,20)

Tabla 9. Análisis de paso a paso entre la variable dependiente índice de elongación promedio de las valvas de *P. purpuratus* y las variables independientes CPUE, TEMP, NL y NM2.

Paso	Variable entrada	R- Cuadrado parcial	Modelo R-cuadrado	C(p)	F Valor	P > F
1	NL	0,124	0,124	53,077	9,03	0,004
2	NM2	0,407	0,530	1,695	54,51	<0,001

Y= 1,69066 + 0,00002 NM2 - 0,13154 NL (R^2 = 0,53)

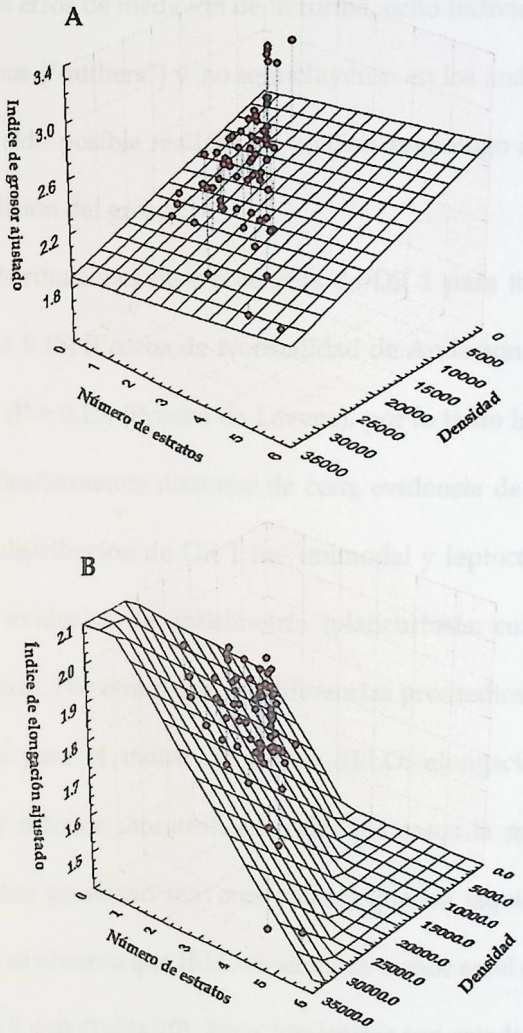


Figura 12. Representación tridimensional de los efectos de la densidad y el número de estratos sobre los índices de grosor (A) y elongación (B) ajustados, en muestras de *P. purpuratus*.

5.4. Tipos de asimetrías y error de medición para la forma

Del total de 237 choritos seleccionados al azar que se analizaron para determinar el error de medición de la forma, ocho individuos fueron considerados como extremos ("outliers") y no se incluyeron en los análisis que siguen. Hasta la fecha no ha sido posible realizar un análisis homólogo a éste para determinar el error de medición del grosor.

Las distribuciones de frecuencias de Dif 1 para todas las muestras fueron normales ($P > 0,15$) (Prueba de Normalidad de Anderson-Darling) y sus varianzas homogéneas ($P > 0,13$) (Prueba de Levene), por lo tanto los valores de Curtosis no fueron significativamente distintos de cero, evidencia de que para ambos índices de forma la distribución de Dif 1 fue unimodal y leptocúrtica. Lo anterior indica que no hay evidencia de antisimetría (platicurtosis: curtosis significativamente menor que cero). Por otra parte, las diferencias promedios entre la valva izquierda y la derecha para el índice de forma (IELO: elongación) y cada una de las localidades y estratos muestran en todos los casos la misma dirección: que las valvas derechas presentan mayores valores que las izquierdas (Dif 1 > 0) (Tabla 10). También se observa que IELO es siempre menor en el estrato inferior que en el superior (Dif 2 < 0) (Tabla 10). Estas tendencias son estadísticamente significativas ($P = 0,0156$) (Prueba binomial). La magnitud de las asimetrías en términos de rangos absolutos (Dif 1) variaron entre 0,004 y 0,045 mm, y en términos del tamaño de los efectos muestra rangos como porcentaje del tamaño medio entre 2,55% y

0,57% como diferencia estandarizada (Tabla 10). Esto sugiere que la asimetría de la forma es direccional con la valva derecha presentando mayores valores que la valva izquierda. Finalmente, respecto de la posible tamaño-dependencia de la asimetría direccional, se encontró que sólo la muestra de Punta de Tralca mostraba una correlación negativa (sin realizar la corrección de Bonferroni) entre el índice y la longitud promedio (ρ = - 0,59; P < 0,0001) (Prueba de rangos de Spearman), las otras comparaciones no fueron significativas (P > 0,42), y para todas las muestras combinadas la correlación no fue significativa (ρ = - 0,09; P > 0,17). El ANDEVA aplicado para determinar si en nuestros datos existían evidencias de diferencia de tamaño entre estratos, mostró que la longitud máxima, como se esperaba, no difiere entre los estratos ($F_{[1, 2]}$ = 13,63; P = 0,066).

El ANDEVA mixto de dos vías aplicado indica que el error de medición no contribuye significativamente a ninguna forma de asimetría de IELO, puesto que el término de interacción de lado por individuo es significativamente distinto de cero (P < 0,0001) (Tabla 11). Este índice también es confiable para la comparación de diferencias de la forma entre individuos, puesto que el efecto del término individuo es significativamente mayor que el error de medición (P < 0,0001) (Tabla 11). En relación con los efectos del factor lado, y después de las correcciones de Bonferroni, el clásico ANDEVA muestra a muestra, no es capaz de detectar ningún efecto significativo para ninguna de las muestras (P > 0,019; P[crítica al 5%] = 0,0083) (Tabla 11).

Tabla 10. Promedio del índice de elongación para las valvas izquierda y derecha de *P. purpuratus* (± 1 error estándar). Se incluye el promedio de la diferencia entre valvas (Dif 1: valva derecha - valva izquierda) para ambos índices (± 1 error estándar), el tamaño del efecto expresado como porcentaje de Dif 1 con relación al promedio (%Dif) y como la diferencia estandarizada en relación a la desviación estándar (DifStd), y la diferencia poblacional para valvas de cada lado entre estratos (Dif 2: estrato inferior - estrato superior).

Localidad	N	Izquierda	Derecha	Dif 1	Tamaño del efecto	
					%Dif	DifStd
Punta de Tralca	*Dif 2:*	*-0,109*	*-0,078*			
Inferior	31	1,738 ± 0,031	1,783 ± 0,032	0,045 ± 0,018	2,55	0,255
Superior	40	1,847 ± 0,021	1,861 ± 0,023	0,014 ± 0,014	0,73	0,099
El Way	*Dif 2:*	*-0,037*	*-0,017*			
Inferior	39	1,769 ± 0,028	1,803 ± 0,034	0,034 ± 0,014	1,91	0,175
Superior	40	1,805 ± 0,026	1,820 ± 0,027	0,014 ± 0,009	0,8	0,088
Llacolén	*Dif 2:*	*-0,113*	*-0,107*			
Inferior	40	1,779 ± 0,031	1,800 ± 0,031	0,021 ± 0,012	1,2	0,111
Superior	39	1,892 ± 0,033	1,907 ± 0,036	0,015 ± 0,012	0,79	0,07

Tabla 11. Análisis varianza mixto de dos vías sobre el índice de elongación, para cada localidad y estrato. Los efectos de lado e individuo fueron fijo y aleatorio, respectivamente. Los valores de significación estadística son los previos a las correcciones de Bonferroni.

Localidad	Estrato	Lado		Individuo		Lado x Individuo	
		F	P	F	P	F	P
Punta de Tralca	Inferior	5,979	0,021	10,937	<0,001	34,214	<0,001
	Superior	1,006	0,322	9,310	<0,001	16,347	<0,001
El Way	Inferior	6,008	0,019	19,139	<0,001	11,618	<0,001
	Superior	2,523	0,120	32,096	<0,001	12,025	<0,001
Llacolén	Inferior	3,212	0,081	25,462	<0,001	26,664	<0,001
	Superior	1,660	0,205	34,490	<0,001	17,067	<0,001

5.5. Variación de los índices de asimetría de grosor y elongación de las valvas de *P. purpuratus*.

A través del análisis de covarianza realizado sobre los índices de asimetría (ABSIGROS y ABSIELO), se determinaron las posibles fuentes de variación para las variables en cuestión. Los factores incluidos en el análisis fueron los efectos del covariable (tamaño), localidad (Loc) y réplica dentro de localidad (Rep(Loc)).

5.5.1. Análisis de covarianza (ANCOVA)

Las Tablas 12 y 13 muestran el ANCOVA realizado para las variables dependientes ABSIGROS y ABSIELO. En ambos casos se observa que los índices de asimetría para el grosor y la forma de las valvas están afectados significativamente por el efecto del covariable ($P < 0,001$) y localidad ($P < 0,037$), sin un efecto significativo de réplicas dentro de localidad ($P > 0,113$).

Tabla 12. Análisis de varianza para la variable dependiente ABSIGROS.

Fuente	GL	SC tipo III	CM	F	P>F
Covariable	1	1,942179	1,942179	181,15	<0,001
Loc	21	1,377341	0,065588	4,84	<0,001
Rep(Loc)	44	0,599332	0,013621	1,27	0,113
Error	1290	13,830890	0,010722		

Tabla 13. Análisis de varianza para la variable dependiente ABSIELO.

Fuente	GL	SC tipo III	CM	F	P>F
Covariable	1	0,743796	0,743796	107,50	<0,001
Loc	21	0,282575	0,013456	1,88	0,037
Rep(Loc)	44	0,314518	0,007148	1,03	0,414
Error	1290	8,925800	0,006919		

Esto significa que para ambos índices (de elongación y de grosor) hay evidencias de asimetría bilateral que es diferente entre localidades.

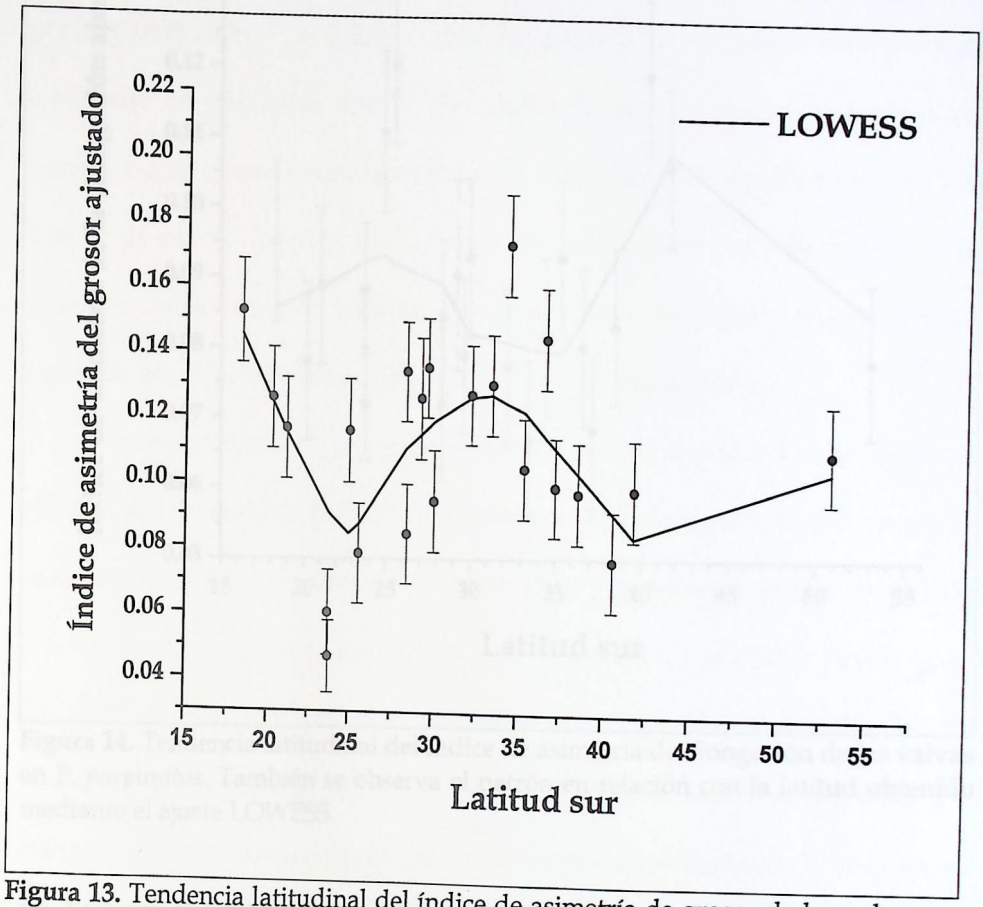


Figura 13. Tendencia latitudinal del índice de asimetría de grosor de las valvas en *P. purpuratus*. También se observa el patrón en relación con la latitud obtenido mediante el ajuste LOWESS.

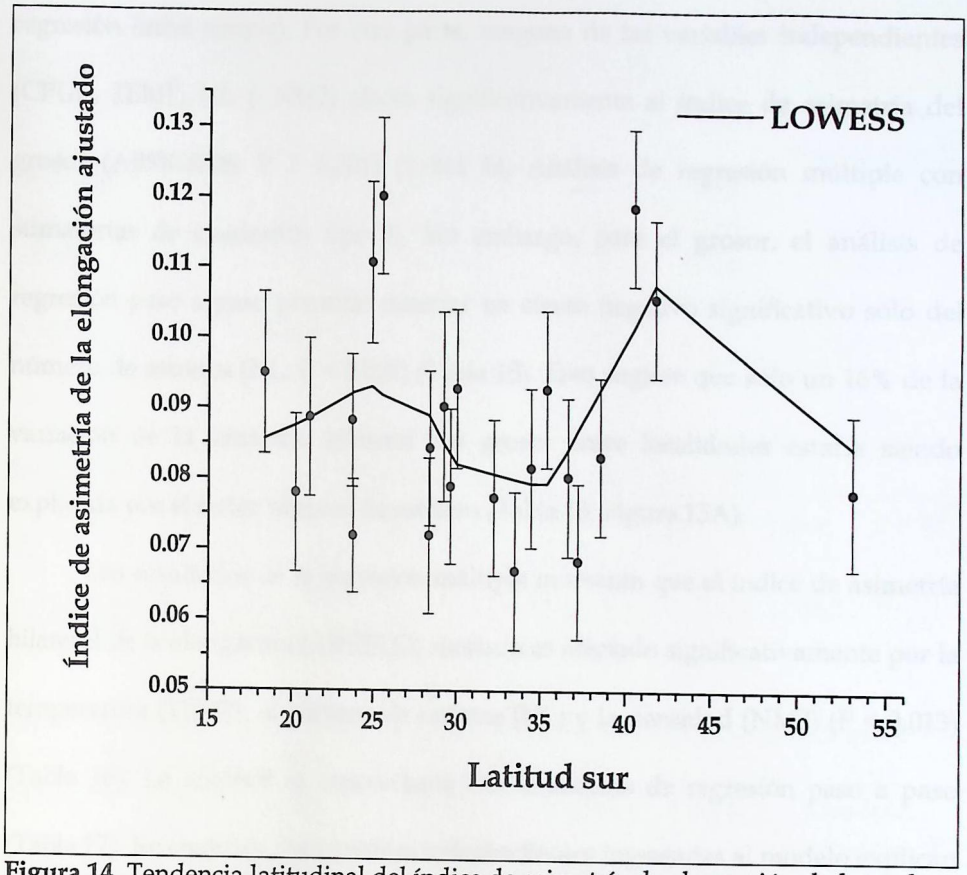


Figura 14. Tendencia latitudinal del índice de asimetría de elongación de las valvas en *P. purpuratus*. También se observa el patrón en relación con la latitud obtenido mediante el ajuste LOWESS.

5.6. Factores que determinarían la variación en asimetría bilateral de los índices de forma de grosor (ABSIGROS) y elongación (ABSIELO) de las valvas de *P. purpuratus*.

5.6.1. Regresión múltiple y paso a paso ("stepwise")

No se detectó ningún patrón lineal de variación significativo de ABSIGROS y ABSIELO que pudiera ser explicado por la latitud ($P > 0{,}787$) (Análisis de

regresión lineal simple). Por otra parte, ninguna de las variables independientes (CPUE, TEMP, NL y NM2) afectó significativamente al índice de asimetría del grosor (ABSIGROS; $P > 0,201$) (Tabla 14; Análisis de regresión múltiple con sumatorias de cuadrados tipo 3). Sin embargo, para el grosor, el análisis de regresión paso a paso permitió detectar un efecto negativo significativo sólo del número de estratos (NL; $P < 0,001$) (Tabla 15). Esto sugiere que sólo un 16% de la variación de la asimetría bilateral del grosor entre localidades estaría siendo explicada por el factor número de estratos (Tabla 15; Figura 15A).

Los resultados de la regresión múltiple muestran que el índice de asimetría bilateral de la elongación (ABSIELO) ajustado es afectado significativamente por la temperatura (TEMP), el número de estratos (NL) y la densidad (NM2) ($P < 0,013$) (Tabla 16). Lo anterior es concordante con el análisis de regresión paso a paso (Tabla 17). En conjunto, las variables independientes ingresadas al modelo explican el 29% de la variabilidad de ABSIELO (Tabla 17). Las variables asociadas con efectos competitivos son antagónicas en sus efectos sobre la asimetría de la forma (Figura 15B). La elongación decrece en la medida que incrementa el número de estratos e incrementa con la densidad (Tabla 17; Figura 15B).

Tabla 14. Análisis de regresión múltiple entre la variable dependiente ABSIGROS y las variables independientes CPUE, TEMP, NL y NM2.

Variable	GL	Parámetros estimados	Error estándar	t	P > |t|	Cuadrado parcial tipo II
Intercepto	1	0,137104	0,032415	4,23	<,001	-
CPUE	1	-0,012136	0,009390	-1,29	0,201	0,02665
TEMP	1	0,001012	0,001953	0,52	0,606	0,00439
NL	1	-0,007042	0,008875	-0,79	0,431	0,01022
NM2	1	-0,000001	0,000001	-1,11	0,271	0,01983

Tabla 15. Análisis paso a paso ("stepwise") entre la variable dependiente ABSIGROS y las variables independientes CPUE, TEMP, NL y NM2.

Paso	Variable entrada	R- Cuadrado parcial	Modelo R-cuadrado	C(p)	F Valor	P > F
1	NL	0,1625	0,1625	2,295	12,41	<0,001

Y= 0,13319 - 0,01699 NL (R^2 = 0,16)

Tabla 16. Análisis de regresión múltiple entre la variable dependiente ABSIELO y las variables independientes CPUE, TEMP, NL y NM2.

Variable	GL	Parámetros estimados	Error estándar	t valor	P > |t|	Cuadrado parcial tipo II
Intercepto	1	0,037960	0,017490	2,17	0,034	
CPUE	1	0,000876	0,005067	0,17	0,863	0,00049
TEMP	1	0,002691	0,001054	2,55	0,013	0,09660
NL	1	-0,020469	0,004788	-4,27	<0,001	0,23051
NM2	1	0,000003	0,000001	4,80	<0,001	0,27442

Tabla 17. Análisis paso a paso ("Stepwise") entre la variable dependiente ABSIELO y las variables independientes CPUE, TEMP, NL y NM2.

Paso	Variable entrada	R- Cuadrado parcial	Modelo R-cuadrado	C(p)	F Valor	P > F
1	NM2	0,0428	0,0428	20,2678	2,86	0,096
2	NL	0,1652	0,2080	8,0675	13,14	0,001
3	TEMP	0,0819	0,2899	3,0299	7,15	0,010

Y = 0,03842 + 0,000002 NM2 - 0,02014 NL + 0,00273 TEMP (R^2 = 0,29)

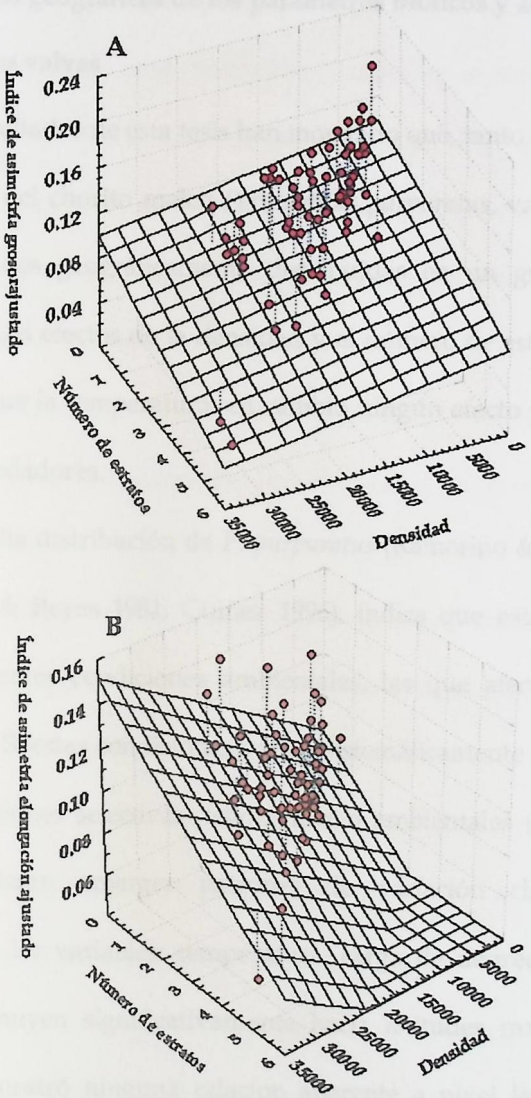


Figura15. Representación tridimensional de los efectos de la densidad y el número de estratos sobre los índices de asimetría de grosor (A) y elongación (B) ajustados en muestras de *P. purpuratus*.

6. DISCUSIÓN

6.1. Tendencias geográficas de los parámetros bióticos y abióticos y de la forma y el grosor de las valvas

Los resultados de esta tesis han mostrado que, tanto el grosor como la forma de las valvas del chorito maico *Perumytilus purpuratus*, varían significativamente entre localidades geográficamente distribuidas en un gradiente latitudinal de macroescala. Los efectos de la densidad y el número de estratos son más notables en su efecto que la temperatura, en cambio ningún efecto pudo ser asignado a la carga de depredadores.

La amplia distribución de *P. purpuratus* (Ramorino & Campos 1979, Castilla 1981, Lozada & Reyes 1981, Guiñez 1996), indica que esta especie es capaz de soportar diferentes condiciones ambientales, las que afectarían sus parámetros poblacionales. Si estas condiciones varían sistemáticamente con la latitud, ya sea a través de presiones selectivas, fisiológicas o ambientales (directas o indirectas), entonces debieran emerger patrones de variación clinal con la latitud. Efectivamente, las variables: temperatura, carga de depredadores y número de estratos disminuyen significativamente hacia latitudes mayores; en cambio, la densidad no mostró ninguna relación aparente a nivel latitudinal. La relación negativa y altamente significativa entre la temperatura superficial del mar (TSM) y la latitud, es esperable, y permite sostener la idea de que, en general, se considera

que la TSM tiene un mayor significado biológico que la posición geográfica. Bajos valores de la TSM están también acoplados con incrementos en nutrientes y concentración de pigmentos, y con procesos de advección costera de las aguas superficiales (Broitman *et al.* 2001). Por lo anterior, es que se considera acertado haber realizado el análisis de los parámetros ecológicos, incorporando a este parámetro en reemplazo de la latitud. Por otro lado, no es evidente una relación causal entre la disminución conjunta correlacionada entre la temperatura, la carga de depredadores y el número de estratos, que en su conjunto decrecen en valores con la latitud. Esta tendencia se contrapone con la tendencia de la riqueza de especies (incluidos depredadores) que muestra su máximo pico a latitudes intermedias (alrededor de los 30 a los 32° S) (Rivadeneira *et al.* 2002). La cobertura y la tasa de reclutamiento de *P. purpuratus* muestran los menores valores en esas latitudes intermedias (Broitman *et al.* 2001; Navarrete *et al.* 2002). Estos autores han sugerido que estos procesos y quiebres que ocurren a latitudes intermedias, podrían estar determinados por procesos oceanográficos (remolinos) actuando en la mesoescala del orden de cientos de kilómetros.

Si la acción directa de la temperatura, la carga de depredadores o el número de estratos afecta a los rasgos fenotípicos de forma y grosor, entonces estos rasgos y su asimetría bilateral debieran mostrar algún tipo de variación clinal con la latitud. Alternativamente, podría haber efectos históricos y evolutivos asociados con la disrupción observada en la cobertura y el reclutamiento en latitudes

intermedias, que podrían hacer emerger algún otro tipo de patrón geográfico no asociado con la latitud.

En relación con la forma, en el chorito *Mytilus edulis* habría evidencia mostrando una fuerte influencia entre la forma de las valvas y la densidad poblacional, observándose, un incremento de la elongación al aumentar la densidad (Seed 1968, Alunno-Bruscia *et al.* 2001), por lo que la relación positiva entre la forma elongada y la densidad en *P. purpuratus* fue esperable. No obstante, el índice de forma (IELO, ajustado por el efecto de tamaño) también mostró una correlación significativa, pero negativa con el número de estratos (Figura 12B). Este último patrón es concordante con dos tipos de evidencias. Primero, aquí se ha encontrado que los individuos en estratos inferiores mostraron una menor elongación que aquellos en estratos superiores (Tabla 10; ver también Briones & Guiñez en prensa). Segundo, los resultados obtenidos en experimentos manipulativos desarrollados en condiciones de terreno (Montemar, Las Cruces y Antofagasta), han demostrado que los individuos se hacen menos elongados en la medida que incrementa el número de estratos (Guiñez resultados no publicados).

Por otra parte, estudios experimentales de efectos competitivos asociados con la posición de los individuos en agregaciones, en términos de borde versus centro, han sido aportadas por Okamura (1986), quien encontró diferencias en el crecimiento y el potencial reproductivo en *M. edulis*. Posteriormente, también en relación con los efectos competitivos, se encontraron en *P. purpuratus*, evidencias

de que los individuos ubicados en estratos inferiores presentan menores tamaños corporales (Alvarado & Castilla 1996, Guiñez & Castilla 1999), que los de estratos superiores.

En la literatura, se ha asociado el cambio de forma entre los organismos como una evidencia de competencia intraespecífica mediada por restricciones de espacio, esto es, interferencia. En el chorito *Geukensia demissa* (Costa Atlántica USA) se ha inferido el efecto de interferencia a partir de distorsiones severas en la forma de las valvas en densidades extremadamente altas (Bertness & Grosholz 1985). También se ha comunicado cambios de forma asignable a interferencia en condiciones de sobrepoblamiento en otros taxa marinos, tales como ostras (Chinzei *et al.* 1982), almejas (Cigarría & Fernández 1998), cirripedios (Bertness *et al.* 1998) y tunicados (Paine & Suchanek 1983, Castilla *et al.* 2000). Por otra parte, no sólo la competencia puede ser medida por restricciones de espacio debido a efectos mecánicos asociados a la compresión física de los organismos circundantes, sino que también la competencia puede ser conducida por restricciones energéticas y alimentarias (explotación) (Seed 1968, Alunno-Bruscia *et al.* 2000, 2001). Sin embargo, a la fecha no existe aún una explicación causal de cómo la mayor o menor disponibilidad de alimento puede afectar la forma (Seed 1968, Alunno-Bruscia *et al.* 2000, 2001) y si este efecto es distinto a aquel inducido por la interferencia. Es probable que en la base del cambio de forma observado acá, en que los efectos de la densidad y el número de estratos son contrarios, esté

involucrado el efecto diferencial de la competencia mediada por alimento o por restricciones de espacio, lo que requiere de mayor experimentación.

En relación con el grosor se encontró una relación significativa inversa con la temperatura y la densidad, pero positiva con el número de estratos. El hecho de que no hubo un efecto significativo asignable a la carga de depredadores no fue concordante con antecedentes previos, en que se ha demostrado que la presencia o la acción de depredadores induce el engrosamiento de las valvas (Reimer & Tedengren 1996; Leonard *et al.* 1999; Smith & Jennings 2000; Caro & Castilla 2004). Respecto del efecto de la temperatura, se esperaba que estuviera asociada con el grosor, puesto que se ha argumentado que el costo metabólico de construir la parte inorgánica de la matriz de la concha (e.g. $Ca_2\ CO_3$) sería mínimo en relación con el de la matriz orgánica (Palmer 1992) y dependería sólo de la disponibilidad de $Ca_2\ CO_3$ y principalmente de la temperatura del mar, esperándose un incremento hacia temperaturas mayores (Vermeij & Currey 1980). Sin embargo, en este trabajo se encontró que la relación entre temperatura y grosor fue inversa (coeficiente de regresión negativo) y por ende, contrario a las expectativas.

Al igual que la forma, el grosor también mostró efectos competitivos asociados negativamente con la densidad y positivamente con la intensidad de la agregación (Figura 12A). Este último tipo de resultado es concordante con evidencias experimentales obtenidas en Punta de Tralca en que el grosor era mayor en matrices con un mayor número de estratos (Guiñez 1996), lo que es esperable en

el sentido de que un mayor grosor permite soportar de mejor modo la presión de choritos en el vecindario, en condiciones de multi-estratificación. Sin embargo, no se tiene una explicación causal convincente que explique la relación negativa observada entre la densidad y el grosor de las valvas.

Al examinar en detalle la estructura geográfica de las variaciones de la forma y el grosor (Figuras 8 y 9) se puede observar que hay una discontinuidad entre los 25° y los 29° S. En ambos casos los valores disminuyen desde los 19° y hasta los 25° S, pero entre los 26° y 29° S los valores de grosor y elongación incrementan drásticamente. Esta discontinuidad es cercana con aquella observada para la cobertura y el reclutamiento (Broitman *et al.* 2001; Navarrete *et al.* 2002), lo cual sugiere la posible existencia de dos poblaciones genéticamente diferenciadas al norte y el sur de esta discontinuidad (26-29° S). Esta hipótesis junto a la determinación del grado de la diferenciación genética entre las poblaciones, está siendo actualmente sometida a prueba usando marcadores genético-moleculares de mtDNA (R. Guiñez, comunicación personal).

6.2. Asimetría bilateral: AF en grosor y AD en forma, el error de medición

Debido a que *P. purpuratus* se dispone en agregaciones superpobladas de individuos (usualmente multiestratificadas), fue esperable algún grado de asimetría bilateral entre sus valvas (izquierda y derecha), en particular por el estrés que debiera significar el confinamiento espacial (interferencia) generalmente asociado con intensos procesos de mortalidad y crecimiento denso-dependientes (Guiñez & Castilla 1999). Se esperaba que tales diferencias en la asimetría fueran más notables en matrices con mayores densidades y grado de agregación (mayor número de estratos). Estudios previos han aportado evidencias de que el índice de forma cambia con la posición dentro de la matriz y al mismo tiempo muestra asimetría bilateral del tipo direccional (Briones & Guiñez en prensa). Estos resultados previos fueron corroborados en esta tesis, donde se encontró que la elongación de la valva derecha fue sistemáticamente mayor que la izquierda. Este efecto fue significativo y además no fue afectado por el error de medición, por lo que se propone como un índice confiable para estudios de la forma y su relación con la asimetría bilateral (Briones & Guiñez en prensa).

Según los resultados presentados aquí (ver pto. 5.4 y en Briones & Guiñez *en prensa*), las comparaciones para el índice de forma (IELO), a juzgar por los valores de tamaño de los efectos, por las pruebas binomiales, el ANDEVA mixto de cuatro vías usado y el ANCOVA mixto (ver pto. 5.2.1; Figura 11), muestran diferencias significativas entre ambas valvas que indican la presencia de AD aunque de efecto

pequeño. Pero, los análisis estándares o clásicos de ANDEVA de dos vías muestra a muestra, sugeridos en la literatura (Palmer & Strobeck 1986, Palmer 1994, Palmer & Strobeck 2003), no permitieron demostrar diferencias significativas asignables a AD. Esto significa que, de acuerdo a este enfoque clásico, se debió haber concluido erróneamente que los datos confirmarían la presencia sólo de asimetría fluctuante y no de asimetría direccional. Por lo anterior se sugiere la implementación, en este tipo de estudios, del uso de análisis de varianza más complejos que aquellos comúnmente usados en la literatura. Pese a esto, los datos son consistentes para concluir que el índice de forma (IELO) presenta asimetría direccional de efecto pequeño, probablemente respondiendo de manera distinta al estrés representado por la posición en la matriz, puesto que los choritos de los estratos inferiores son significativamente menos elongados y muestran una mayor AD en relación con los del estrato superior (Briones & Guiñez en prensa).

Por otra parte, el ANCOVA mixto del grosor no mostró diferencias significativas entre la valva izquierda y la derecha (ver pto. 5.2.1; Figura 12), por lo que se rechaza la hipótesis de una asimetría bilateral del tipo direccional. La variación significativa del índice de asimetría del grosor (ABSIGROS) entre localidades, permite mostrar la existencia de asimetría fluctuante, aun cuando para este rasgo no se pudo realizar el análisis clásico sugerido por Palmer (1994).

6.3. Tendencias geográficas de la asimetría bilateral en grosor (AF) y forma (AD)

El análisis realizado para el índice de asimetría de los rasgos grosor y elongación de las valvas (ajustados por el efecto de tamaño), mostraron diferencias significativas entre localidades. En el caso de ABSIGROS sólo el análisis de regresión paso a paso permitió mostrar evidencias de un efecto significativo (aunque inverso) asignable a una de las variables independientes: el número de estratos (Figura 15A). Por otro lado, la variabilidad de ABSIELO es atribuida, además, a los efectos de la temperatura, explicando, en conjunto los tres factores, el 29% de la variabilidad total de esta variable. Dos trabajos recientes en bivalvos encuentran evidencia de asimetría fluctuante de rasgos de las valvas (Fréchette & Daigle 2002, Fréchette *et al.* 2003). En el primero, la supervivencia decrece con la AF de las orejas de la valva en el pectínido *Chlamys islandica*, (Fréchette & Daigle 2002) y en el segundo, se encuentran diferencias significativas en la AF del peso de las valvas en la ostra japonesa *Crassostrea gigas*, entre individuos muertos y vivos (Fréchette *et al.* 2003). En el presente trabajo, es por primera vez en la literatura de moluscos, que se sugiere la existencia de AD y AF modulada por la estratificación y la densidad. Para ambos rasgos (grosor y forma) el incremento del número de estratos produce un decremento en la asimetría, pero la densidad sólo afecta a la asimetría de la forma (correlación positiva). Lo que sugiere que ambos rasgos responden de modo diferencial a la densidad, pero del mismo modo a la estratificación.

En la literatura se ha propuesto la hipótesis de que la asimetría de rasgos bilaterales sería un reflejo de la inestabilidad del desarrollo, por lo que la asimetría debiera incrementar en la medida que incrementan los estreses o perturbaciones de origen ambiental o genético (Palmer & Strobeck 1992, Lens & Van Dongen 2000). Por otra parte, puesto que se ha argumentado que el incremento de la estratificación (intensidad del agregamiento) debiera inducir una intensa competencia intraespecífica por espacio y alimento, este factor debiera representar un incremento del estrés (Guiñez & Castilla 1999, Briones & Guiñez en prensa). En consecuencia, se esperaba que el incremento del número de estratos mostrara una correlación positiva con los índices de asimetría, lo que no tiene sustento en los resultados obtenidos en este trabajo, pues se observa la relación contraria. De acuerdo, a esta hipótesis el incremento en la asimetría de la elongación asociado positivamente con la densidad, sugeriría que este factor actuaría como un estresante sobre la asimetría de la forma. ¿Qué porcentaje de la asimetría se debe a los efectos de interferencia o explotación? es una pregunta abierta a la investigación y experimentación.

Un análisis más acucioso de la estructuración geográfica de las variaciones de la asimetría de la forma y el grosor (Figuras 13 y 14) surge de la observación que ambos índices presentan una tendencia antagónica y especular de acuerdo al ajuste de LOWESS. Se aplicó un análisis de regresión polinomial de orden dos (descartando las tres localidades del extremo norte y una del extremo del sur) a los

residuales de la regresión múltiple entre ambos índices y las variables independientes de densidad y de número de estratos. Esto con el propósito de descartar las tendencias asignables a los efectos meramente competitivos (NM2 y NL). Las tendencias observadas en las Figuras 13 y 14 persisten al realizar el análisis con residuales (Figuras 16 y 17) lo que sugiere que la asimetría para el grosor y la elongación de las valvas presenta un claro patrón latitudinal con independencia de los efectos competitivos (densidad y número de estratos).

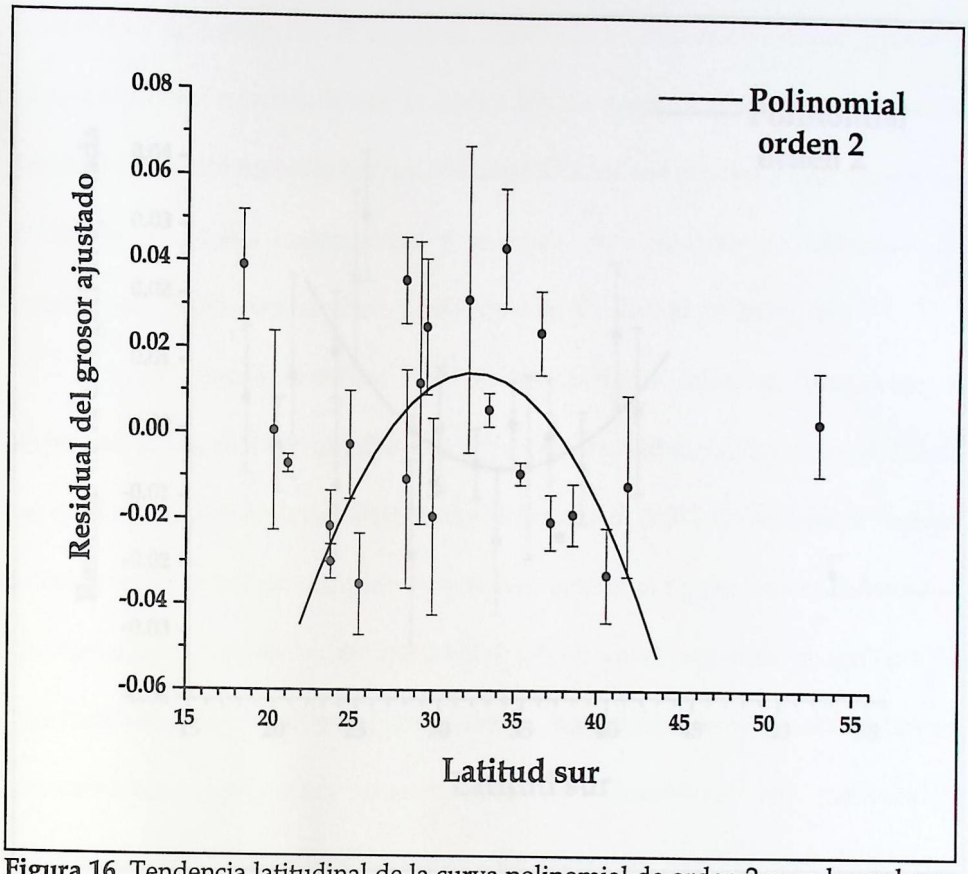


Figura 16. Tendencia latitudinal de la curva polinomial de orden 2 para los valores residuales promedios del índice de grosor ajustado, en muestras de *P. purpuratus*. La ecuación polinomial ajustada fue:
Residual = -0,54616 + 0,03458 LAT - 0,00053 LAT^2 (R^2 = 0,20; P = 0,004)

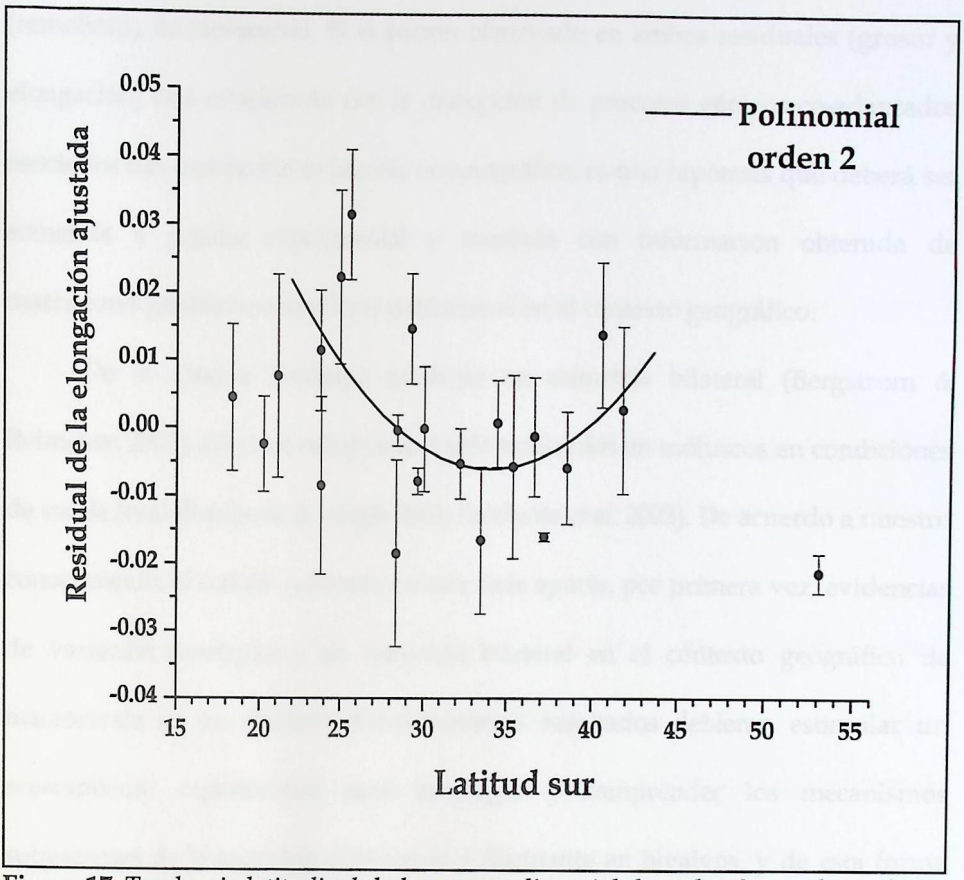


Figura 17. Tendencia latitudinal de la curva polinomial de orden 2 para los valores residuales promedios del índice de elongación ajustado, en muestras de *P. purpuratus*. La ecuación polinomial ajustada fue: Residual = 0,21183 - 0,012798 LAT + 0,00019 LAT^2 (R^2 = 0,12; P = 0,039)

Los puntos de inflexión de las curvas polinomiales se producen entre los 32 y los 33° S, los que coinciden con la latitud en que se observa el máximo pico de la riqueza de especies, y los mínimos valores de cobertura y tasa de reclutamiento en *P. purpuratus* (Broitman *et al.* 2001; Navarrete *et al.* 2002; Rivadeneira *et al.* 2002), misma área que podría estar siendo afectada por procesos oceanográficos

(remolinos) de mesoescala. Si el patrón observado en ambos residuales (grosor y elongación) está relacionado con la disrupción de procesos génicos co-adaptados asociados con una probable barrera oceanográfica, es una hipótesis que deberá ser sometida a prueba experimental y asociada con información obtenida de marcadores genético-moleculares poblacional en el contexto geográfico.

De la extensa literatura existente en asimetría bilateral (Bergstrom & Reimchen 2002), sólo dos estudios han sido realizados en moluscos en condiciones de escala local (Fréchette & Daigle 2002, Fréchette *et al.* 2003). De acuerdo a nuestro conocimiento, el trabajo realizado en esta tesis aporta, por primera vez, evidencias de variación fenotípica y de asimetría bilateral en el contexto geográfico de macroescala en un molusco. Estos primeros resultados debieran estimular un acercamiento experimental para investigar y comprender los mecanismos subyacentes de la asimetría direccional y fluctuante en bivalvos, y de esta forma dilucidar los mecanismos selectivos, ecológicos y fisiológicos que los determinan, en particular relacionados con la vida gregaria, la adecuación darwiniana y su expresión en el ámbito geográfico de distribución de la especie y sus posibles implicancias evolutivas.

7. CONCLUSIÓN

A partir del presente trabajo se puede concluir lo siguiente:

1. Se determinó que existe asimetría bilateral para los rasgos de grosor y elongación de las valvas de *Perumytilus purpuratus*.
2. El índice de elongación utilizado mostró una baja influencia del error de medición lo que lo hace un índice confiable para estudios de la forma y de la simetría bilateral.
3. Se encontró que la asimetría del grosor de las valvas era de tipo fluctuante y la de la forma elongada de tipo direccional.
4. Tanto la variación del grosor como de la elongación de las valvas y su asimetría fueron significativamente diferentes entre localidades.
5. Las variables de temperatura superficial del mar, carga de depredadores y número de estratos disminuyen significativamente hacia latitudes mayores; en cambio, la densidad no mostró ninguna relación aparente con la latitud.
6. Las tendencias promedios del grosor y la elongación fueron afectadas por las variables denso-dependientes de densidad y número de estratos, siendo sus efectos más notables que aquellos asignables a la temperatura. Ningún efecto pudo ser asignado a la carga de depredadores.

7. El patrón de variación geográfica en ambos rasgos sugiere una discontinuidad en la zona comprendida entre los 26° y 29° de latitud sur, en la que se observan los valores más bajos para ambas variables.
8. La asimetría bilateral de ambos rasgos se ve afectada por el número de estratos, y sólo la asimetría de la forma es afectada por la densidad y la temperatura. Sin embargo, el patrón de variación geográfico de la asimetría es especular y antagónico para ambos rasgos, lo que podría estar relacionado con la disrupción de procesos génicos co-adaptados, asociados con una probable barrera oceanográfica de mesoescala al interior de la distribución de *P. purpuratus*.
9. El trabajo realizado en esta tesis aporta, por primera vez en un molusco, evidencias de la variación de la asimetría bilateral en el contexto geográfico de macroescala (>1.000 km).
10. Finalmente, respecto de las hipótesis planteadas en esta tesis, los resultados permiten rechazar la hipótesis nula H0, sobre la no existencia de patrones geográficos asociados a la latitud, y se aceptan parcialmente ambas hipótesis alternativas (H1 y H1').

8. LITERATURA CITADA

Alunno-Bruscia M, PS Petraitis, E Bourget & M Fréchette. 2000. Body size-density relationship for *Mytilus edulis* in an experimental food-regulated situation. Oikos 90: 28-42.

Alunno-Bruscia M, E Bourget & M Fréchette. 2001. Shell allometry and length-mass-density relationship for *Mytilus edulis* in an experimental food-regulated situation. Marine Ecology Progress Series 219: 177-188.

Alvarado J L & J C Castilla. 1996. Tridimensional matrices of *Perumytilus purpuratus* on intertidal platforms with varying wave forces in central Chile. Marine Ecology Progress Series 133: 135-141.

Badyaev A V, K R Foresman & M V Fernandes. 2000. Stress and developmental stability: Vegetation removal causes increased fluctuating asymmetry in shrews. Ecology 81 (2): 336-345.

Beardmore J A. 1960. Development instability in constant and fluctuating temperatures. Heredity 14: 411-422.

Bergstrom C A & T E Reimchen. 2002. Geographical variation in asymmetry in *Gasterosteus aculeatus*. Biological Journal of the Linnean Society 77 (1): 9-22.

Bertness M D & E D Grosholz. 1985. Population dynamics of the ribbed mussel, *Geukensia demissa*: The costs and benefits of an aggregated distribution. Oecologia 67: 192-204.

Bertness M D, S D Gaines & S M Yeh. 1998. Making mountains out of barnacles: The dynamics of acorn barnacle hummocking. Ecology 79 (4): 1382-1394.

Beukema J J. & B W Meehan. 1985. Latitudinal variation in linear growth and other shell characteristics of *Macoma balthica*. Marine Biology 90: 27-33.

Bjorksten T A, K Fowler & A Pomiankowski. 2000. What does sexual trait FA tell us about stress? Trends in Ecology & Evolution 15 (4): 163-166.

Blanckenhorn W U & B Hellriegel. 2002. Against Bergmann's rule: fly sperm size increases with temperature. Ecology Letters 5: 7-10.

Bohlin T, C Delleford, U Faremo & A Johlander. 1994. The energetics equivalence hypothesis and the relation between population density and body size in stream-living salmonids. The American Naturalist 143: 478-493.

Brante A, M Fernández, L Eckerle, F Mark, H O Portner & W Arntz. 2003. Reproductive investment in the crab *Cancer setosus* along a latitudinal cline: egg production, embryo losses and embryo ventilation. Marine Ecology Progress Series 251: 221-232.

Brante A, S Cifuentes, H O Portner, W Arntz & M Fernández. 2004. Latitudinal comparisons of reproductive traits in five Brachyuran species along the Chilean coast. Revista Chilena de Historia Natural 77 (1): 15-27.

Briones C & R Guiñez. 2004. Asimetría bilateral de la forma de las valvas y posición espacial en matrices del chorito *Perumytilus purpuratus* (Lamarck, 1819) (Bivalvia: Mytilidae). Revista Chilena de Historia Natural. En prensa.

Broitman B R, S A Navarrete, F Smith & S D Gaines. 2001. Geographic variation of southeastern Pacific intertidal communities. Marine Ecology Progress Series 224: 21-34.

Caro A U & J C Castilla. 2004. Predator-inducible defenses and local intra-population variability of the intertidal mussel *Semimytilus algosus* in central Chile. Marine Ecology Progress Series. En prensa.

Castilla J C. 1981. Perspectivas de investigación en estructura y dinámica de comunidades intermareales rocosas de Chile central. II. Depredadores de alto nivel trófico. Medio Ambiente, Chile 5: 190-215.

Castilla J C, R Guiñez, J L Alvarado, C Pacheco & M Varas. 2000. Distribution, population structure, population biomass and morphological characteristics of the tunicate *Pyura stolonifera* in the bay of Antofagasta, Chile. Pubblicazioni della Stazione Zoologica di Napoli (PSZN) Marine Ecology 21 (2): 161-174.

Cigarría J & J Fernández. 1998. Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) culture in oyster bags: influence of density on survival, growth and biometric relationships. Journal of the Marine Biological Association, UK 78: 551-560.

Clarke G M. 1995. Relationships between fluctuating asymmetry and fitness: how good is the evidence? Pacific Conservation Biology 2: 146-149.

Chinzei K, E Savazzi & A Seilacher. 1982. Adaptational strategies of bivalves living as infaunal secondary soft bottom dwellers. Neues Jahrbuch fuer Geologie und Palaeontologie. Abhandlungen 164: 229-244.

De Wolf H, T Backeljau., R Medeiros & R Verhagen. 1997. Microgeographical shell variation in *Littorina striata*, a planktonic developing periwinkle. Marine Biology 129: 331-342.

Debat V & P David. 2001. Mapping phenotypes: canalization, plasticity and developmental stability. Trends in Ecology & Evolution 16 (10): 555-561.

Der G & B S Everitt. 2002. A Handbook of statistical analyses using SAS. 2nd ed. Chapman & Hall/CRC. Boca Raton, USA. 360 pp.

Ditchkoff S S, R L Lochmiller, R E Masters, W R Starry & D M Leslie. 2001. Does fluctuating asymmetry of antlers in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) follow patterns predicted for sexually selected traits? Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences 268 (1470): 891-898.

Endler J A 1986. Natural selection in the wild. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 354 pp.

Fréchette M, M Aitken & L Page. 1992. Interdependence of food and space limitation of a benthic suspension feeder: consequences for self-thinning relationships. Marine Ecology Progress Series 83 (1): 55-62.

Fréchette M, P Bergeron & P Gagnon. 1996. On the use of self-thinning relationships in stocking experiments. Aquaculture 145 (1-4): 91-112.

Fréchette M & G Daigle. 2002. Growth, survival and fluctuating asymmetry of Iceland scallops in a test of density-dependent growth in a natural bed. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 270 (1): 73-91.

Fréchette M, P Goulletquer & G Daigle. 2003. Fluctuating asymmetry and mortality in cultured oysters (*Crassostrea gigas*) in Marennes-Oleron basin. Aquatic Living Resources 16 (4): 339-346.

Gest T R, M I Siegel & J Anistranski. 1986. The long bones of neonatal rats stressed by cold, heat, and noise axhibit increased fluctuating asymmetry. Growth 50: 385-389.

Gilligan D M, L M Woodworth, M E Montgomery, R K Nurthen, D A Briscoe & R Frankham. 2000. Can fluctuating asymmetry be used to detect inbreeding and loss of genetic diversity in endangered populations? Animal Conservation 3: 97-104.

Graham J H, D C Freeman & J M Emlen. 1993. Developmental stability: a sensitive indicator of populations under stress. En: Landis J. S., J. S. Hughes & M. A. Lewis (eds.). Environmental toxicology and risk assessment. pp 136-158. ASTM STP 1179, ASTM, Philadelphia.

Guiñez R. 1996. Dinámica poblacional del chorito maico, *Perumytilus purpuratus* (Lamarck 1819) (Bivalvia: Mytilidae), en gradientes de exposición al oleaje. Ph. D., Departamento de Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile, 213 pp.

Guiñez R & J C Castilla. 1999. A tridimensional self-thinning model for multilayered intertidal mussels. The American Naturalist 154 (3): 341-357.

Guinez R & J C Castilla. 2001. An allometric tridimensional model of self-thinning for a gregarious tunicate. Ecology 82 (8): 2331-2341.

Guiñez R, PS Petraitis & JC Castilla. 2004. Layering, the effective density of mussels and mass-density boundary curves. Oikos En prensa.

Hardersen S. 2000. Effects of carbaryl exposure on the last larval instar of *Xanthocnemis zealandica* - fluctuating asymmetry and adult emergence. Entomologia Experimentalis Et Applicata 96 (3): 221-230.

Hosken D J, W U Blanckenhorn & P I Ward. 2000. Developmental stability in yellow dong flies (*Scathophaga stercoraria*): fluctuating asymmetry, heterozygosity and environmental stress. Journal of Evolutionary Biology 13 (6): 919-926.

Klingenberg C P, G S McIntyre & S D Zaklan. 1998. Left-right asymmetry of fly wings and the evolution of body axes. Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences 265: 1255-1259.

Klingenberg CP, AV Bradyaev, SM Sowry & NJ Beckwhith. 2001. A Interfering Developmental Modularity from Morphological Integration: Analysis of Individual Variation and Asymmetry in Bumblebee Wings. The American Naturalist 1577: 11-23.

Kraak S B M 1997. Fluctuating around directional asymmetry? Trends in Ecology & Evolution 12(6): 230.

Lardies M A & J C Castilla. 2001. Latitudinal variation in the reproductive biology of the commensal crab *Pinnaxodes chilensis* (Decapoda: Pinnotheridae) along the Chilean coast. Marine Biology 139 (6): 1125-1133.

Leary R F & F W Allendorf. 1989. Fluctuating asymmetry as an indicator of stress in conservation biology. Trends in Ecology & Evolution 4: 214-217.

Lens L & S Van Dongen. 2000. Fluctuating and directional asymmetry in natural bird populations exposed to different levels of habitat disturbance, as revealed by mixture analysis. Ecology Letters 3 (6): 516-522.

Lens L & S Van Dongen. 2002. Fluctuating asymmetry as a bio-indicator in isolated populations of the Taita thrush: a Bayesian perspective. Journal of Biogeography 29 (5-6): 809-819.

Lens L, S Van Dongen, S Kark & E Matthysen. 2002. Fluctuating asymmetry as an indicator of fitness: can we bridge the gap between studies? Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society 77: 27-38.

Leonard G H, M D Bertness & P O Yund. 1999 Crab predation, waterborne cues, and inducible defenses in the blue mussel, *Mytilus edulis*. Ecology 80: 1-14.

Leung B, M R Forbes & D Houle. 2000. Fluctuating asymmetry as a bioindicator of stress: comparing efficacy of analyses involving multiple traits. The American Naturalist 155 (1): 101–115.

Levin S A 1992. The Problem of Pattern and Scale in Ecology. Ecology 73 (6): 1943-1967.

Lozada E & P Reyes. 1981. Reproductive biology of a population of *Perumytilus purpuratus* at El Tabo, Chile. The Veliger 24: 147-154.

Manning J.T & L Ockenden. 1994. Fluctuating asymmetry in racehorses. Nature 370: 185-186.

Moller A P. 1997. Development stability and fitness: a review. The American Naturalist 149: 916-932.

Moller A P & J A Shykoff. 1999. Morphological developmental stability in plants: Patterns and causes. International Journal of Plant Sciences 160 (6): S135-S146.

Moore R C, editor. 1969. Treatise on invertebrate paleontology, Mollusca 6, Bivalvia (Vol 1 & 2). The Geological Society of America, Inc. and The University of Kansas, New York, 951 pp.

Navarrete S A & J C Castilla. 1988. Foraging activities of Chilean intertidal crabs *Acanthocyclus gayi* Milne-Edwards et Lucas and *A. hassleri* Rathbun. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 118: 115-136.

Navarrete S A, B Broitman, E A Wieters, G R Finke, R M Venegas & A Sotomayor. 2002. Recruitment of intertidal invertebrates in the southeast Pacific: Interannual variability and the 1997-1998 El Niño. Limnology and Oceanography 47 (3): 791-802.

Okamura B. 1986. Group living and effect of spatial position in aggregations of *Mytilus edulis*. Oecologia 69: 341-347.

Paine R T & T H Suchanek. 1983. Convergence of ecological processes between independently evolved competitive dominants; a tunicate-mussel comparison. Evolution 37: 821-831.

Palmer R. 1979. Fish predation and the evolution of gastropod shell sculpture: experimental and geographic evidence. Evolution 33: 697-713.

Palmer A R & C Strobeck. 1986. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. Annual Review of Ecology and Systematics 17: 391-421.

Palmer A R. 1992. Calcification in marine mollusks: how costly is it? Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 89: 1379-1382.

Palmer A. R. & C. Strobeck. 1992. Fluctuating asymmetry as a measure of development stability: Implications of non-normal distributions and power of statistical tests. Acta Zoologica Fennica 191: 57-72.

Palmer A R. 1994. Fluctuating asymmetry analyses: A primer. En: Markow T. A. (ed.). Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications. pp 335-364. Kluwer, Dordrecht, Netherlands.

Palmer A R. 1996a. Waltzing with asymmetry. BioScience 46: 518-532.

Palmer A R. 1996b. From symmetry to asymmetry: Phylogenetic patterns of asymmetry variation in animals and their evolutionary significance. Proceedings of the National Academy of Sciences (USA) 93 (25): 14279-14286.

Palmer A R & C Strobeck. 2003. Fluctuating asymmetry analyses revisited. En: Polak M. (ed.). Development instability. Causes and consequences. pp 279-319. Oxford University press

Parsons K E. 1997. Contrasting patterns of heritable geographic variation in shell morphology and growth potential in the marine gastropod *Bembicium vittatum*: Evidence from field experiments. Evolution 51 (3): 784-796.

Petraitis P S. 1995. Use of average vs. total biomass in self-thinning relationships. Ecology 76 (2): 656-658.

Pither J & P D Taylor. 2000. Directional and fluctuating asymmetry in the black-winged damselfly *Calopteryx maculata* (Beauvois) (Odonata : Calopterygidae). Canadian Journal of Zoology 78 (10): 1740-1748.

Quinn G P & M J Keough. 2002. Experimental design and data analysis for biologists. Cambridge University Press. Cambridge, UK. 537 pp.

Ramorino L & B Campos. 1979. Desarrollo larval y postlarval de *Perumytilus purpuratus* (Lamarck, 1819). Bivalvia: Mytilidae. Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso 12: 207-218.

Rasmuson M 2002. Fluctuating asymmetry - indicator of what? Hereditas 136 (3): 177-183.

Reimer O & M Tedengren. 1996. Phenotypical improvement of morphological defenses in the mussel *Mytilus edulis* induced by exposure to the predator *Asterias rubens*. Oikos 75: 383-390.

Rivadeneira M M, M Fernández & S Navarrete. 2002. Latitudinal trends of species diversity in rocky intertidal herbivore assemblages: spatial scale and the relationship between local and regional species richness. Marine Ecology Progress Series 245: 123-131.

SAS. 1996. SAS/STAT user's guide. Release 6.3 edition. SAS Institute. Cary, North Carolina. 1028 pp.

Schlichting C D & M Pigliucci 1998. Phenotypic Evolution: A Reaction Norm Perspective. 387 pp. Sinauer Associates, Sunderland.

Seed R. 1968. Factors influencing shell shape in the mussel *Mytilus edulis*. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 48: 561-584.

Seed R & C A Richardson. 1999. Evolutionary traits in *Perna viridis* (Linnaeus) and *Septifer virgatus* (Wiegmann) (Bivalvia: Mytilidae). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 239: 273-287.

Stearns S. C. 1976. Life-history tactics: a review of the ideas. Quarterly Review of Biology 51: 3-46.

Steffani C N & G M Branch. 2003. Growth rate, condition, and shell shape of *Mytilus galloprovincialis*: responses to wave exposure. Marine Ecology-Progress Series 246: 197-209.

Smith L D & J A Jennings. 2000 Induced defensive responses by the bivalve *Mytilus edulis* to predators with different attack modes. Marine Biology 136: 461-469.

van Valen L. 1962. A study of Fluctuating Asymmetry. Evolution 16 (2): 125-142.

Via S & R Lande. 1985. Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. Evolution 39: 505-522.

Via S, R Gomulkiewics, G De Jong, S M Scheiner, C. D. Schlichting & P. H. van Tienderen. 1995. Adaptative phenotypic plasticity: consensus and controversy. Trends in Ecology and Evolution 10(5): 212-217.

Vermeij G & J Currey. 1980. Geographical variation in the strengh of thaidid snail shells. The Biological Bulletin 158: 383-389.

Vermeij G J. 1993. A natural history of shells. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

Waddington C H. 1942. Canalization of development and the inheritance of acquired characters. Nature 150: 563-565.

Weller D E. 1987. Self-thinning exponent correlated with allometric measures of plant geometry. Ecology 68: 813-821.

Weller D E. 1990. Will the real self-thinning rule please stand up?. A reply to Osawa and Sugita. Ecology 71: 1204-1207.