

ARTÍCULO

Ciclo reproductivo de la ascidia *Pyura chilensis* (Urochordata: Ascidiacea) procedente de líneas de cultivo de mitílidos

Reproductive cycle of sea squirt *Pyura chilensis* (Urochordata: Ascidiacea)
originating from aquaculture mussel systems

Margarita Pérez-Valdés¹, Diego Figueroa-Aguilera¹ y Claudia Rojas-Pérez²

¹Departamento de Acuicultura y Recursos Agroalimentarios, Universidad de Los Lagos, Avenida Fuchslocher 1305, Osorno, Chile. macepe@ulagos.cl

²Programa Magister en Oceanografía, Universidad de Concepción, Víctor Lamas 1290, Barrio Universitario s/n, Concepción, Chile

Abstract. The solitary sea squirt *Pyura chilensis*, is considered a resource of economic importance in the artisanal fisheries sector. This organism has a great capability to colonize artificial substrates, taking part in the encrusting fauna in long-line culture systems of ostreid and mussel, affecting the growth efficiency of these resources. For this reason, is necessary to know biological - reproductive aspects of *P. chilensis* in order to generate new information for future implementation of management plan, conservation and cultivation of this resource in the Región de Los Lagos, Chile. The purpose of this study was to investigate the reproductive cycle and settlement patterns of *P. chilensis*, analyzing the condition index and gonadal histology of organisms which come from a mussel farming system in Estero Huito, Calbuco (41°43'S;73°09'W) during 12 months. In addition, the settlement substrate preference of *P. chilensis* larvae was examined, using two artificial surfaces. The condition index (wet mass-siphonal distance) showed an increase between June and September, coinciding with low temperatures period and the spawning season (organisms in stage IV). However, recruit presence between November and June shows possible spawning events in other seasons. It was observed between 40 and 100% to gonadal stages II and/or III in the sampled organisms during the study period, which suggest a continuous gametogenesis. In addition, the larval settlement was higher in rough-dark substrate (*raschel* mesh) than in plastic surface. In conclusion, the study area may be recruiting throughout the year, but at different intensity levels. This information would allow planning the collectors location to attract the seasquirts recruits, generating a continuous production of *P. chilensis* and decreasing the infestation in others crops.

Key words: *Pyura chilensis*, sea squirt, breeding cycle, recruitment

Resumen. La ascidia solitaria *Pyura chilensis*, es considerada un recurso de importancia económica en el sector pesquero artesanal. Este organismo tiene una gran capacidad para colonizar sustratos artificiales, formando parte de la fauna incrustante en líneas de cultivo de ostreidos y moluscos, afectando la eficiencia de crecimiento de estos recursos. Por esta razón, es necesario conocer aspectos biológico - reproductivos de *P. chilensis* a fin de generar información para la futura implementación de un plan de manejo, de conservación o de cultivo de este recurso en la Región de Los Lagos, Chile. El objetivo de este estudio fue investigar el ciclo reproductivo y patrones de asentamiento de *P. chilensis*, analizando el índice de condición e histología gonadal de organismos procedentes de un sistema de cultivo de mitilidos ubicado en Estero Huito, Calbuco (41°43'S;73°09'W), durante 12 meses. Adicionalmente se analizó la preferencia de sustrato de larvas de *P. chilensis*, usando dos superficies artificiales. El índice de condición (masa corporal-distancia sifonal) mostró un aumento entre junio y septiembre, coincidiendo con un período de baja temperatura en primavera (organismos en estado IV); aun cuando la presencia de reclutas entre noviembre y junio estaría indicando posibles eventos de desove en otras estaciones. Se observó que entre el 40 y 100% de los organismos muestreados presentaron gónadas en estado II y/o III durante el período de estudio, lo cual sugiere una gametogénesis continua. El asentamiento larval fue mayor en sustrato rugoso oscuro (malla *raschel*) que en la superficie de plástico. Se concluye que en la zona de estudio es posible tener reclutamiento durante todo el año con diferentes niveles de intensidad. Esta información permitiría planificar la ubicación de colectores, para la captación de reclutas en distintas épocas, generando una producción continua de *P. chilensis* y disminuyendo la infestación de otros sustratos.

Palabras clave: *Pyura chilensis*, ascidia, ciclo reproductivo, reclutamiento

INTRODUCCIÓN

El piure o *Pyura chilensis* (Molina, 1782), es una especie de ascidia que se puede presentar en la naturaleza en forma individual, formando parches o densas agregaciones (Manríquez & Castilla 2005, Bustos 2006). Es un recurso de importancia económica en el sector pesquero artesanal (Tapia & Barahona 2007)¹. Su distribución geográfica se extiende desde el sur del Perú hasta el sur de Chile 43°S (Lagger *et al.* 2009). El tunicado *P. chilensis* se ha considerado una especie de importancia ecológica, por concentrar una gran diversidad biológica en sus agregaciones y de importancia económica por ser un recurso de extracción por pescadores artesanales (Astorga & Ortiz 2006); sin embargo, durante los últimos 20 años se ha observado una drástica disminución, cercana al 77,8%, en los desembarques pesqueros nacionales de esta especie, cayendo desde un promedio de extracción de 3.500 ton durante el período 1989-1997, hasta un promedio cercano a las 1.200 ton durante el período 2004-2014 (SERNAPESCA, Chile)². Hasta el 2009 la Región de Los Lagos registraba los mayores niveles de extracción de Chile, disminuyendo en un 62% entre el 2009-2013 (<<http://www.sernapesca.cl>>). Este hecho ya había sido predicho por Davis (1995) quien utilizando datos de abundancia y frecuencia de talla, advertía sobre la tendencia a una disminución en los niveles de extracción y llamaba la atención sobre la ‘dramática explotación’ de las poblaciones intermareales de esta especie.

ANTECEDENTES REPRODUCTIVOS

P. chilensis es un hermafrodita simultáneo en el cual las gónadas masculina y femenina forman una sola estructura (Tapia & Barahona, 2007)¹, posee capacidad para la autofecundación cuando está solitario y la fecundación cruzada como principal estrategia reproductiva cuando están suficientemente cerca (Manríquez & Castilla 2005, Haye & Muñoz-Herrera 2013). Basado en el seguimiento del índice gonadosomático y del análisis histológico de la gónada, realizados en animales procedentes de banco natural, se estableció que el período de madurez sexual en la zona de Concepción, Región del Biobío, sería entre septiembre y marzo, con un máximo en enero (Cea 1970); sin embargo, se presentan individuos en gametogénesis la mayor parte del año (Cancino *et al.* 1998). Mientras que, en Bahía La Herradura, Región de Coquimbo, la predominancia de gametos maduros se da en junio y julio coincidiendo con las temperaturas más bajas (Romero *et al.* 2011)³.

ANTECEDENTES ASENTAMIENTO LARVAL

En relación al desarrollo embrionario del piure, este varía entre 14 y 16 h a 15°C, emergiendo una larva renacuajo que se mantiene en el plancton durante 12 a 24 h (Cea 1970). La larva se adhiere a un sustrato rugoso preferentemente a la túnica de adultos (Cea 1970, Clarke *et al.* 1999, Manríquez & Castilla 2007) o sobre rocas, troncos, conchas de otros organismos y por lo general en cualquier sustrato duro del intermareal o del submareal (Yáñez & Castilla 1973). El incremento de la acuicultura ha proporcionado nuevas superficies (conchas de ostras y mejillones, cuerdas, redes, jaulas, flotadores, entre otros) para la colonización por filtradores sedentarios, siendo uno de los grupos más exitosos las ascidias (Adams *et al.* 2011, Fletcher *et al.* 2013), ello tiene como consecuencia el sobrecrecimiento y asfixia de los mariscos (Lambert 2007, Fletcher *et al.* 2013); estos sustratos han sido aprovechados por *P. chilensis*, ya que tiene una gran capacidad de colonizar rápidamente sustratos artificiales (Ambler & Cañete 1991).

Para la población de *P. chilensis* de Bahía la Herradura, Coquimbo (20°58'S; 71°22'W) se señala la presencia de larvas y reclutas desde septiembre a marzo con la máxima abundancia en noviembre (Ambler & Cañete 1991). La talla mínima para reconocer a los reclutas, 5 mm de diámetro dorsoventral (Ambler & Cañete 1991) se alcanzaría en aproximadamente 2 meses (Cea 1973).

AVANCES EN EL CULTIVO DE ASCIDIAS

Si bien la producción mundial de ascidias por medio de la acuicultura es incipiente, aumentó significativamente su valor desde US\$833 a US\$1.667 la tonelada entre el 2002 y 2011, aun cuando disminuyó su producción desde 18.000 a 12.000 ton (FAO 2011). Este cultivo localizado está centrado en la ‘piña de mar’ *Halocynthia roretzi* (Drasche, 1884), la cual se consume en países como Japón y Corea. Esta especie tarda 3-4 años en alcanzar la talla de cosecha de 200-300 g (Nguyen *et al.* 2007). En Chile, la única experiencia de cultivo de piure ha sido desarrollada, en una AMERB de la Región de Coquimbo por pescadores artesanales de Guayacán quienes trabajaron con 13 líneas de 80 m y 113 cuelgas construidas con redes y material de desecho las que fueron inoculadas en laboratorio (Araya & Stotz 2011).

¹Tapia C & N Barahona. 2007. Investigación situación pesquerías bentónicas, 2006: Pesquería de *Pyura chilensis* (Molina, 1782) (Tunicata, Ascidiacea, Pyuridae). Informe Técnico IFOP, SUBPESCA BIP N°30043687-0, pp. 1-61.

²Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA). Anuario 2014 - Series 2004-2014. Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, Valparaíso. <http://www.sernapesca.cl/index.php?option=com_remository&Itemid=246&func=startdown&id=12418>

³Romero MS, W Stotz, F Ruiz, P Araya & S Torres. 2011. Ciclo reproductivo de *Pyura chilensis* Molina, 1782 en la región de Coquimbo, Chile. Libro de Resúmenes XXXI Congreso de Ciencias del Mar, 16 al 19 de agosto de 2011, Viña del Mar, Chile, p. 140.

Cabe señalar que en *P. chilensis* la mayor cantidad de estudios se han realizado en bancos naturales de poblaciones ubicadas en la zona norte y centro del país (Cea 1973, Cancino *et al.* 1998, Romero *et al.* 2011⁴) y considerando los antecedentes que demuestran que ascidias de una misma especie presentan variación en la época de desove dependiendo de su ubicación geográfica (Millar 1971, Bourque *et al.* 2007) y que la temperatura es uno de los principales factores que regula la reproducción en ascidias (Turon 1988) se plantea que la población de *P. chilensis* ubicada en el sur de Chile, Estero Huito, Región de Los Lagos podría presentar una estación reproductiva distinta respecto de las poblaciones ubicadas en el norte y centro del país.

Considerando que actualmente, para el 'piure' no hay ninguna medida de manejo directa, solo de manera indirecta asociada a la veda del loco en las AMERBs y asumiendo que no existen diferencias en el comportamiento reproductivo de poblaciones de banco natural, con aquellas suspendidas en líneas de cultivo de mitílidos, la información que se obtendrá resulta relevante para la elaboración de planes de manejo con fines de conservación o cultivo en la zona sur del país.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el ciclo reproductivo de la ascidia *P. chilensis*, utilizando la presencia de reclutas en el medio natural y el índice de condición e histología gonadal en ejemplares adultos, los cuales fueron obtenidos como fauna incrustante de un sistema de cultivo de mitílidos instalado en la localidad de Estero Huito, Calbuco, Región de Los Lagos, Chile.

MATERIALES Y MÉTODOS

VARIACIÓN MENSUAL DEL ÍNDICE DE CONDICIÓN

Para evaluar el crecimiento gonadal, entre junio 2011 y mayo 2012, se recolectaron mensualmente 20 ejemplares de *Pyura chilensis* entre 10 y 18 mm de distancia sifonal, desde los flotadores de líneas de cultivo de mitílidos en la localidad de Estero Huito (41°43'S;73°09'W), comuna de Calbuco, Región de Los Lagos, Chile.

Para conocer la variación mensual del desarrollo gonadal de los ejemplares se utilizó el índice de condición (IC) según la fórmula de Thompson (1992), que relaciona la masa húmeda o el volumen corporal con la longitud de un animal, se utilizaron los valores de masa corporal y distancia sifonal:

$$IC = [(P/L^3) * 1000]$$

donde, IC representa el índice de condición, P la variable de masa corporal del animal y L la variable de longitud, en este caso distancia sifonal.

Para ello se midió primero la distancia sifonal con ayuda de un vernier (S= 0,01 mm), previa eliminación de los epibiontes; posteriormente fueron desconchados, cuidando de no romper el ejemplar para determinar la masa corporal, expresada como masa húmeda (M), utilizando una balanza analítica Ohaus (S= 0,01 g).

Se resolvió utilizar el índice de condición como estimador de crecimiento gonadal y no el índice gonadosomático dada la dificultad para separar la gónada del cuerpo en los ejemplares frescos.

CICLO GONADAL

Se evaluó el estado de madurez gonadal mensual, mediante análisis histológico. Para ello, se extrajo un trozo de gónada desde la zona cercana al sifón exhalante, el que fue etiquetado y fijado con medio Davison (Shaw & Battle 1957) por un periodo entre 24-48 h. Posteriormente, fue preservado en etanol 70% hasta su procesamiento mediante técnicas histológicas de rutina. Los cortes (7 µm), fueron obtenidos con un micrótopo manual (Leica®, RM 2145), luego desparafinados y teñidos con hematoxilina-eosina, para su observación en microscopio óptico Nikon® (modelo Eclipse E200).

La clasificación de los cortes histológicos se realizó considerando la caracterización de los ovocitos propuesta por Cea (1973) y Cancino *et al.* (1998) (Tabla 1) y la escala propuesta por estos mismos autores quienes establecieron 4 estados de madurez sexual (Tabla 2).

Con el objetivo de evaluar la relación de la temperatura con la madurez gonadal se registró diariamente la temperatura superficial del agua en la zona de estudio, la medición se realizó a una profundidad de 30 cm, entre las 9:00 y las 11:30 am, desde mayo 2011 a mayo 2012 utilizando un termómetro de mercurio con una sensibilidad de 0,5°C.

ASENTAMIENTO Y TIPO DE SUSTRATO

Los experimentos de asentamiento larval se efectuaron en la misma localidad de procedencia de los reproductores, utilizando las líneas de cultivo de *M. chilensis* ubicadas en Estero Huito (41°43'S;73°09'W), Calbuco, Región de Los Lagos. Para ello, en noviembre 2011 y enero 2012 se instalaron 2 tipos de

⁴Romero MS, W Stotz, F Ruiz, P Araya & S Torres. 2011. Ciclo reproductivo de *Pyura chilensis* Molina, 1782 en la región de Coquimbo, Chile. Libro de Resúmenes XXXI Congreso de Ciencias del Mar, 16 al 19 de agosto de 2011, Viña del Mar, Chile, p. 140.

Tabla 1. Clasificación de los ovocitos según su estado de desarrollo (Cea 1973, Cancino *et al.* 1998) / Classification of the oocytes according to development stage (Cea 1973, Cancino *et al.* 1998)

Tipo de ovocito	Características
Tipo 1	Células ovoides de 8 μm de longitud, las que podrían corresponder a ovogonias
Tipo 2	Células de 15 μm de longitud, de forma más o menos ovoides
Tipo 3	Células de 28 μm de longitud, de forma ovoide, se inicia la formación de la capa primaria de células foliculares
Tipo 4	Células de 39 μm de longitud de forma levemente ovoides
Tipo 5	Células de 60 μm de forma levemente ovoides, aumenta la cantidad de gránulos de vitelo, entre las dos capas de células foliculares aparece el corión
Tipo 6	Células de 200 μm , que corresponden a óvulos inmaduros, el vitelo se encuentra distribuido de forma homogénea en forma de gránulos esféricos de 1 μm
Tipo 7	Células de forma esférica de 225 μm de diámetro que corresponden a óvulos maduros

Tabla 2. Estados de madurez según clasificación establecida por Cea (1973) y Cancino *et al.* (1998), para *P. chilensis* / Maturity stages according to classification established by Cea (1973) and Cancino *et al.* (1998), for *P. chilensis*

Estado de madurez	Descripción
Estado I o de diferenciación	El epitelio germinativo del ovario se encuentra inactivo; no presentando ovocitos de ningún tipo
Estado II o de preparación	El epitelio germinativo de los sacos ováricos presenta ovocitos de tipo 1, 2, 3 y 4
Estado III o de pre-ovulación	Los sacos ováricos presentan ovocitos de tipo 5 y 6
Estado IV o de ovulación	Los óvulos son de tipo 7 completamente esféricos similares a los del tipo 6, pero con un diámetro de 225 μm

colectores (en triplicado), el primero denominado ‘colector de malla’ que consistió en atar 3 platos plásticos de 20 cm de diámetro forrados con malla *raschel* (color negro, textura rugosa) a una cuerda de 4 m y el segundo denominado ‘colector plástico’, el cual consistió en platos plásticos forrados con una red de 5 cm de abertura de malla (color café claro, textura lisa), dispuestos de igual forma que el anterior (Fig. 1). Se efectuaron dos muestreos por período de instalación,

considerando un tiempo mínimo de 2 meses en que los reclutas alcanzan la talla para ser reconocidos (Cea 1970); en enero y marzo 2012, para los colectores instalados en noviembre 2011 y marzo y junio 2012, para los colectores instalados en enero 2012. En cada muestreo los colectores fueron retirados y trasladados al laboratorio de Cultivos Marinos de la Universidad de Los Lagos en Osorno, donde se contaron los reclutas.

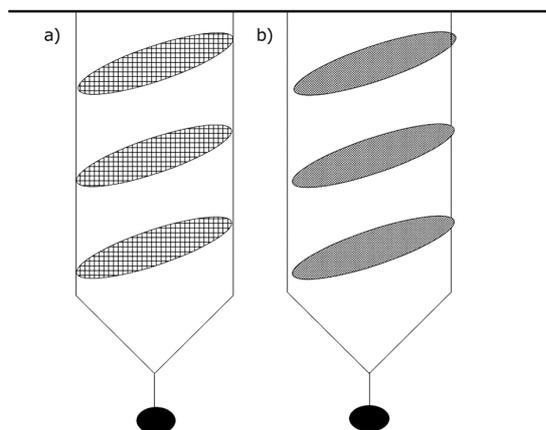


Figura 1. Esquema de los dos tipos de colectores utilizados en los experimentos de reclutamiento a 3 profundidades (1, 2 y 3 m). a) sustrato plástico y b) sustrato de malla *raschel* / Two types collectors diagram used during the recruitment experiments at 3 depths (1, 2 and 3 m). a) plastic substrate and b) nylon *raschel* net substrate

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para comparar la variación mensual del porcentaje de individuos en cada estado de madurez gonadal se realizaron análisis de tendencia central y de dispersión utilizando el programa Excel® 2003. Además, se utilizó el paquete estadístico STATISTICA 8.0 (StatSoft Inc.) para comparar la variación mensual del Índice de condición (IC) mediante ANDEVA de una vía ($\alpha=0,05$) y para evaluar diferencias entre meses se aplicó la prueba *a posteriori* de Tukey. Adicionalmente, se determinó la variación estacional de los estados de madurez gonadal mediante la aplicación de la prueba de Chi-cuadrado del programa Excel® 2003. Para evaluar el efecto del sustrato en el reclutamiento los datos originales debieron ser transformados usando logaritmo natural, dada su alta variabilidad; aun así no cumplieron con el supuesto de normalidad (prueba de Shapiro-Wilk); sin embargo, presentaron varianzas homogéneas (prueba de Bartlett), por lo que se aplicó una prueba de dos muestras Mann Whitney utilizando el software R (<<http://www.r-project.org>>).

RESULTADOS

VARIACIÓN MENSUAL DEL ÍNDICE DE CONDICIÓN (IC)

El IC presentó diferencias estadísticas significativas entre los meses estudiados ($F=13,43$; $g.l.=11$; $P<0,05$). El análisis *a posteriori* estableció diferencias significativas en septiembre, diciembre y mayo, entre sí y con los demás meses del año, registrando el valor más bajo en diciembre 2011 ($IC=1,54 \pm 1,15$). Esto coincidió con una de las temperaturas más elevadas obtenidas durante el período experimental $18,0^{\circ}\text{C} \pm 1,5$. Mientras que los valores de IC más altos fueron alcanzados durante septiembre 2011 ($IC=9,35 \pm 3,64$) y mayo 2012

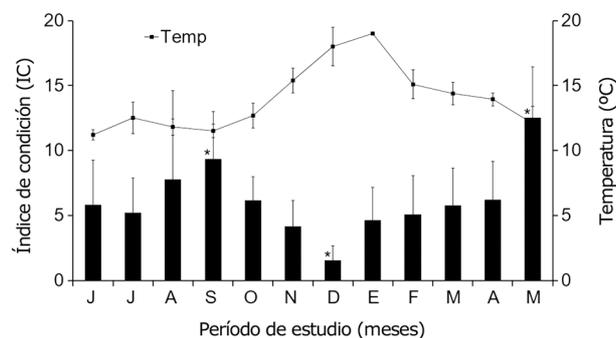


Figura 2. Variación mensual del índice de condición (IC) en función de la temperatura (Temp) en individuos de *P. chilensis* colectados de cuerdas de cultivo de mitilidos entre junio 2011 y mayo 2012 / Monthly variation of condition index (IC) vs temperature (Temp) in individuals of *P. chilensis* collected from mussels culture ropes between June 2011 and May 2012

($IC=12,52 \pm 3,91$), coincidiendo con temperaturas bajas, $11,5 \pm 0,5$ y $12,1 \pm 1,3^{\circ}\text{C}$, respectivamente. Estos resultados muestran dos períodos de madurez durante el tiempo de estudio julio-septiembre 2011 y enero-mayo 2012 (Fig. 2).

CICLO GONADAL

El análisis histológico permitió reconocer y caracterizar los distintos estados del ciclo gonadal presentes en ejemplares de la especie *P. chilensis* procedentes de Estero Huito. Siendo el primero de estos, el estado I o de diferenciación, en el cual no se observaron células germinativas, mientras que en los sáculos ováricos sólo se encontró el oviducto y las extensiones laterales del oviducto, y en la zona central se logró apreciar tejido conjuntivo (Fig. 3A). En el estado II o de preparación se visualizó la presencia de ovocitos del tipo 1, 2, 3 y 4 (Fig. 3B). El estado III o de preovulación se caracterizó por la presencia de sáculos ováricos llenos de ovocitos tipo 5 y 6 los que presentaron forma irregular (Fig. 3C). Finalmente, en el estado IV o de ovulación, se observaron principalmente ovocitos tipo 7 en los sacos ováricos (Fig. 3D).

El análisis de madurez gonadal evidenció la presencia de más de un estado en cada muestra mensual, demostrando variabilidad entre individuos muestreados en la misma época, excepto en octubre, mes en el cual el 100% de los ejemplares observados se presentó en el estado II. Durante todo el período de estudio se observó que entre el 40 y el 100% de los individuos estaba en el estado II, es decir en gametogénesis. En forma similar, se encontraron individuos en el estado III, aunque en menor porcentaje, en casi todos los meses con excepción de octubre, enero y febrero. Por último, los animales en el estado IV, que es el de mayor desarrollo gonadal,

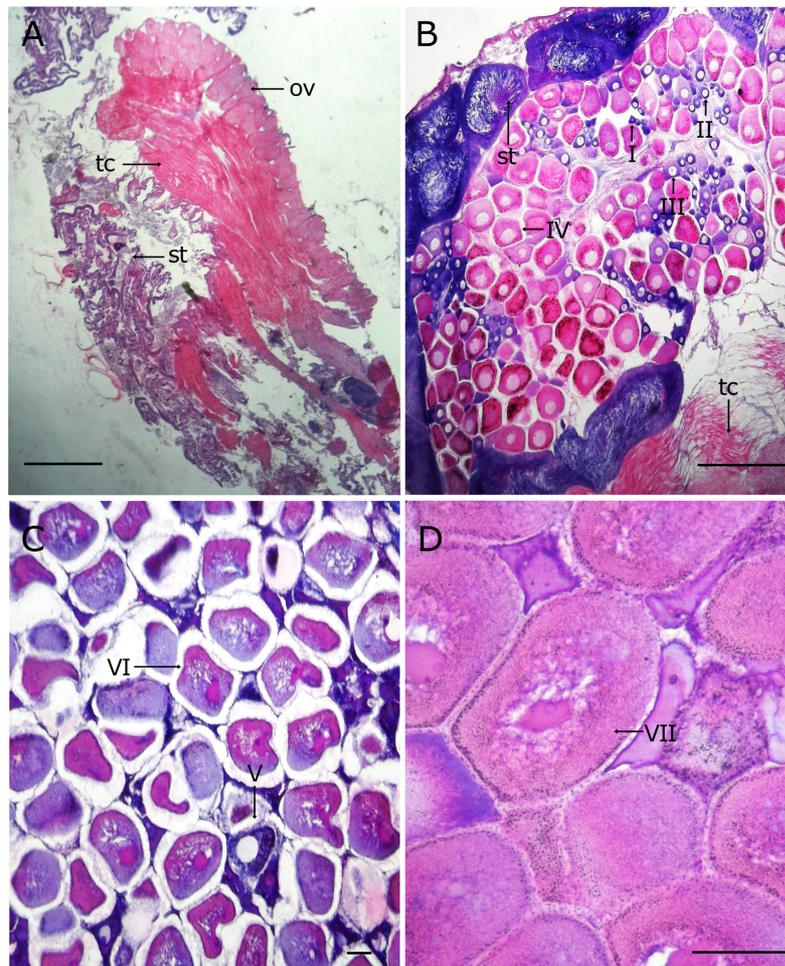


Figura 3. Fotografía de cortes transversales de gónada de *P. chilensis* en diferentes estados de madurez. A) Estado I o de diferenciación (tinción H-E). B) Estado II o de preparación. C) Estado III o de preovulación y D) Estado IV o de ovulación. st - sáculos testiculares; tc - tejido conjuntivo; ov - ovario; I - ovocito tipo 1; II - ovocito tipo 2; III - ovocito tipo 3; IV - ovocito tipo 4; V - ovocito tipo 5; VI - ovocito tipo 6; VII - ovocito tipo 7. Barra escala 80 μ m / Photograph of *P. chilensis* gonad cross sections at different maturity stages. A) stage I or differentiation (staining H-E). B) Stage II or preparation. C) Stage III or preovulatory and D) Stage IV or ovulation. st - testicular sacs; tc - connective tissue; ov - ovary; I - oocyte type 1; II - oocyte type 2; III - oocyte type 3; IV - oocyte type 4; V - oocyte type 5; VI - oocyte type 6; VII - oocyte type 7. Scale bar 80 μ m

solamente tuvieron presencia en junio a septiembre con un alza en agosto (Fig. 4).

EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL TIPO DE SUSTRATO EN EL ASENTAMIENTO

En cuanto al reclutamiento, los datos obtenidos durante los muestreos reflejan que la mayor frecuencia de asentamiento se registró sobre sustrato de malla *raschel*, alcanzando los valores más altos en el período noviembre 2011-marzo 2012 ($99,0 \pm 9,5$) que en enero-junio 2012 ($22,0 \pm 3,0$). Los resultados muestran que hay diferencias significativas en el reclutamiento entre el sustrato de malla y de plástico (Mann Whitney, $W=128$, $P= 0,001$) (Tabla 3)

DISCUSIÓN

El análisis histológico de la gónada permitió establecer que la población estudiada de *Pyura chilensis* presenta individuos en diferentes estados de madurez, encontrando ejemplares en estado I durante la mayor parte del período de estudio, exceptuando octubre y noviembre 2011, época en que se presentó un mayor número de individuos en estado II. Mientras que en marzo y abril 2012 aproximadamente el 40% de los individuos estaba en estado III. A lo largo del período de estudio se observó predominancia del estado II, con una frecuencia que varió entre el 35 y el 100% (Fig. 4), en este estado se presentan los ovocitos del tipo 1, 2, 3 y 4 que están en proceso de crecimiento e inicio de la vitelogénesis (Cea 1973). Este resultado da cuenta de actividad reproductiva durante gran parte

del año, coincidiendo con lo informado por Gama *et al.* (2006), quienes señalan que ascidias de regiones templadas tienden a tener estaciones reproductivas extensas. Por otra parte, la predominancia de los estados III y IV entre junio y septiembre (invierno-inicios de primavera) es concordante con la presencia de gametos maduros en los meses de invierno reportada por Romero *et al.* (2011)³ para una población natural en Bahía la Herradura (29°58'S; 71°22'W). La existencia de un período reproductivo extenso como el observado en el presente trabajo, es decir, con presencia de individuos en diferentes estados de madurez durante todo el año, coincide con lo observado por Cea (1973), en la población de *P. chilensis* de Caleta Leandro (Región del Biobío), y con lo registrado por Cancino *et al.*

(1998) en organismos de la misma especie en la península de Hualpén (Región del Biobío). Este comportamiento reproductivo que ha sido reportado para otras ascidias, como *Styela clava* (Herdman, 1882) ascidia invasiva de Nueva Zelandia, la cual presenta gametogénesis durante 8 meses del año, desde septiembre (primavera) hasta abril (otoño) (Wong *et al.* 2011) y para *S. plicata* (Lesueur, 1823), en la cual se señala la inexistencia de un ciclo estacional para la reproducción, presentando en cambio ovocitos y folículos maduros durante todo el año (Pineda *et al.* 2013), probablemente está asociado a la capacidad adaptativa que presenta *Pyura chilensis* lo que le permite soportar y ocupar diferentes ambiente generando una amplia distribución geográfica (10°S a 48°S).

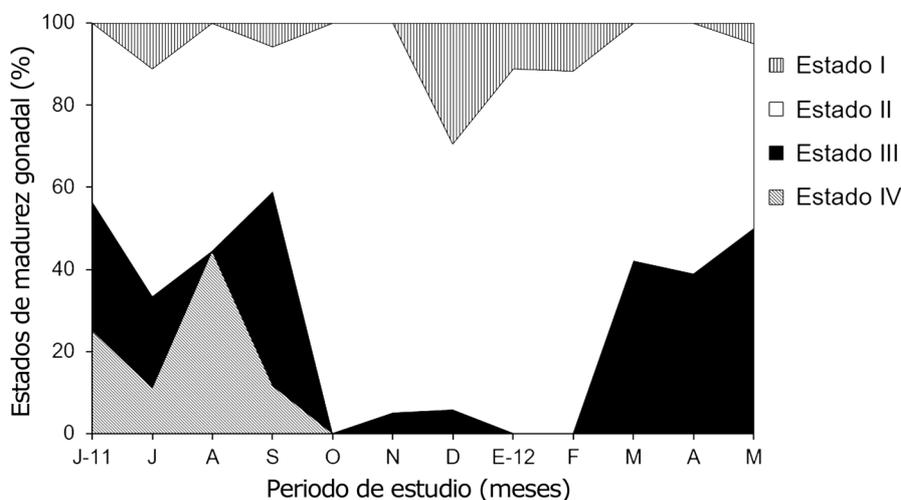


Figura 4. Variación mensual de los estados de madurez gonadal en ejemplares de *P. chilensis* recolectados de cuerdas de cultivo de mitilidos entre junio 2011 y mayo 2012 / Monthly variation of gonadal maturity stages in *P. chilensis* specimens collected from mussels culture ropes between June 2011 and May 2012

Tabla 3. Reclutamiento de *Pyura chilensis* en dos tipos de sustrato: malla *raschel* (rugoso) y plástico (liso); suspendidos en una cuerda de cultivo de mitilidos / *Pyura chilensis* recruitment on two substrate types: *raschel* net (rough) and plastic (smooth) suspended from a mussels culture rope

	Muestras					
	Enero 2012		Marzo 2012		Junio 2012	
	Malla	Plástico	Malla	Plástico	Malla	Plástico
Nov-2011						
Prom	11,0	1,3	95,0	17,0	---	---
DE	6,1	2,3	9,5	8,5		
Ene-2012						
Prom	---	---	18,7	2,7	22,0	0,0
DE			15,6	1,5	3,0	0,0

El índice de condición, utilizado para evaluar la condición reproductiva, presenta diferencias mensuales significativas durante el periodo septiembre-diciembre 2011 (primavera e inicios del verano), donde ocurre una baja significativa asociada inversamente a un incremento de la temperatura en aproximadamente 7°C, algo similar ocurrió en el período mayo-junio del 2012, aun cuando fue menos intenso, la baja del índice de condición coincidió con el alza en 1°C de la temperatura (Fig. 2) este comportamiento es similar al observado en la población de *P. chilensis* de Caleta Leandro en la cual la principal baja en el IGS se produce entre septiembre y enero coincidiendo con el período primavera-verano (Cancino *et al.* 1998). Al respecto, se ha sugerido que, la temperatura junto con la ubicación geográfica son los principales factores que regulan la reproducción sexual de las ascidias, ya que determinan si la reproducción ocurre durante todo el año o solo durante algún periodo de éste. En la ascidia *Dendrodoa grossularia* (van Beneden, 1846) temperaturas más o menos constantes generan un ciclo reproductivo continuo desde el comienzo del verano hasta el otoño, en tanto que si la población se encuentra en una localidad con temperatura variable, el ciclo reproductivo cae en el verano (Millar 1971), como ocurre con *P. chilensis* en el presente trabajo. Los valores más bajos de índice de condición fueron registrados entre octubre y febrero coincidiendo con la mayor frecuencia de individuos en estado II. En tanto la presencia de individuos con gametos maduros, estado IV, se observó únicamente desde junio a septiembre 2011, alcanzando una frecuencia máxima del 40% en agosto del mismo año. La caída del índice de condición ocurrida a partir de octubre, que se podría explicar por la ausencia de individuos en estado IV y escasa presencia de individuos en estado III y posteriormente el desove espontáneo observado en laboratorio en junio 2012 (una vez terminado el período experimental del presente trabajo), en ejemplares que fueron instalados en acuarios a una temperatura levemente superior a la del medio ambiente (15°C), permiten suponer que, si bien ocurre un desove en otoño la gametogénesis y acumulación de gametos ocurre en invierno y el desove principal ocurriría en primavera, asociado al alza de la temperatura ambiente lo que se demuestra con la caída del índice de condición. Los resultados del presente trabajo muestran un desplazamiento de un mes en la caída del IC, respecto de lo reportado por Cancino *et al.* (1998) para la población de Caleta Leandro en los cuales el descenso del IGS se produce en septiembre. No obstante, no se descarta la presencia de desoves parciales durante el año, lo que se comprueba con la captación de reclutas ocurridas entre noviembre y enero, en el área de estudio y al igual que lo

observado por Cancino *et al.* (1998) se distinguen 2 períodos de madurez, en la época de estudio, uno entre junio y septiembre 2011 y otro entre marzo y mayo 2012. La habilidad de *P. chilensis* para reproducirse prácticamente todo el año, le confiere una ventaja adaptativa, respecto de otras especies de invertebrados que se reproducen estacionalmente. Esta conducta reproductiva ha sido descrita también en otras ascidias invasivas (Wong *et al.* 2011, Pineda *et al.* 2013).

Por otra parte, la presencia de reclutas en los colectores instalados en noviembre 2011 y en enero 2012 da cuenta de eventos de desove en diferentes épocas del año y permite señalar que es posible tener reclutamiento entre noviembre y junio. Además, es posible definir el sustrato de malla *raschel* como preferente, ya que el sustrato plástico, no presentó un número significativo de reclutas aún después de 4 meses de permanencia en el medio (Tabla 3). En consecuencia, el aumento constante de reclutas en los colectores entre un muestreo y el siguiente estaría dando cuenta de un evento reproductivo continuo durante el período experimental, siendo registrado el mayor incremento en número de reclutas, en los sustratos instalados en noviembre 2011 y muestreados en marzo 2012, lo que permite verificar que ocurrió fijación de reclutas en sustratos previamente colonizados por *P. chilensis*. Lo anterior coincide con los patrones de reclutamiento observados en la Reserva Marina de Mehuín, en la cual los juveniles fueron reclutados exitosamente solo en presencia de individuos de la misma especie (Davis 1995), debido a que las larvas de *P. chilensis* responderían a señales específicas transmitidas a través del agua, se asientan cuando el flujo de agua es lento (Manríquez & Castilla 2007). La abundancia de *P. chilensis* como especie incrustante se mantendría en sustratos afectados por perturbaciones no selectivas (Cifuentes *et al.* 2007), debido a que son capaces de soportar un amplio rango de factores ambientales (Lambert 2005). Además, debido a la escasa capacidad de dispersión (corto periodo larval) de *P. chilensis*, se podría determinar que, desde el punto de vista espacial y temporal, el reclutamiento sería un evento bastante predecible (Ambler & Cañete 1991), lo cual constituiría una enorme ventaja para su cultivo. Actualmente, el cultivo comercial de ascidias se realiza solo en Japón y corresponde a la especie *Halocynthia roretzi* (Drasche, 1884), la cual tarda de 3 a 4 años en alcanzar una talla de cosecha de 200-300 g (Nguyen *et al.* 2007), mientras que la especie chilena *P. chilensis* procedente de líneas de cultivo de mitílidos, de la zona de estudio, alcanzaría la talla comercial en aproximadamente 12 a 18 meses.

Además, según antecedentes entregados por cultivadores de la zona, durante el 2011, se obtuvo una producción cercana a las 5 ton de piures, procedentes de líneas de cultivo como fauna incrustante (Luis Velásquez, com. pers.)⁵. Esta información coincidiría con lo expuesto por Cifuentes *et al.* (2010) respecto a que la mantención de especies suspensívoras, como las ascidias, se ve favorecida en los sistemas suspendidos dada la mayor disponibilidad de alimento.

A la fecha, la única experiencia de cultivo de piure *P. chilensis* en sistema suspendido ha sido desarrollada por pescadores artesanales de Guayacán, en un área de manejo de recursos bentónicos (AMERB) de la Región de Coquimbo ellos trabajaron con 13 líneas de 80 m y 113 cuelgas construidas con redes y material de desecho, las que fueron inoculadas en laboratorio. Luego de 18 meses cosecharon 8.470 kg de piure en colpa por línea de cultivo (Araya & Stotz 2011)⁶.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo se puede concluir que, en el sur de Chile, *P. chilensis* fijado a las estructuras de líneas de cultivo suspendido presenta un porcentaje significativo de ejemplares maduros durante gran parte del año (mayo a septiembre) coincidiendo con la época de otoño-invierno. Además, la presencia de reclutas entre enero y junio permitiría planificar la ubicación de colectores para la captación de reclutas o asentados en distintas épocas del año, pudiendo generar una producción continua de piures, lo cual podría constituir una alternativa o un complemento al cultivo de mitílidos, especialmente cuando hay eventos de baja captación de semillas.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el financiamiento al proyecto interno ULA: DI 08/11 a Don Luis Velásquez mitilicultor, por facilitar las instalaciones para la obtención del material biológico, al Dr. Daniel Varela, director del centro I-Mar por la colaboración para la realización de los cortes histológicos, al Sr. Ángel Rain por el trabajo de traducción y a los evaluadores anónimos que revisaron y corrigieron el presente manuscrito.

LITERATURA CITADA

Adams CM, SE Shumway, RB Whitlatch & T Getchis.

2011. Biofouling in marine molluscan shellfish aquaculture: a survey assesses the business and economic implications of mitigation. *Journal of the World Aquaculture Society* 42: 242-252.

⁵Velásquez L. (comunicación personal). Mitilicultor de Estero Huito, comuna de Calbuco. Dueño de la concesión para el cultivo de mitílidos Resolución N°2876 año 2012.

⁶Araya P & W Stotz. 2011. Descripción de la primera experiencia artesanal de cultivo de *Pyura chilensis* Molina, 1782 en una AMERB de la región de Coquimbo. Libro de Resúmenes XXXI Congreso de Ciencias del Mar, 16 al 19 de agosto de 2011, Viña del Mar, Chile, p. 169.

Ambler RP & JI Cañete. 1991. Asentamiento y reclutamiento de *Pyura chilensis* Molina, 1782 (Urochordata: Ascidiacea) sobre placas artificiales suspendidas en Bahía La Herradura, Coquimbo, Chile. *Revista de Biología Marina* 26: 403-413.

Astorga M & J Ortiz. 2006. Variabilidad genética y estructura poblacional del tunicado *Pyura chilensis* Molina, 1782, en la costa de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 79: 423-434.

Gama PB, RMV Leonel, MIM Hernández & B Mothes. 2006. Recruitment and colonization of colonial ascidians (Tunicata: Ascidiacea) on intertidal rocks in Northeastern Brazil. *Iheringia, Série Zoologia* 96(2): 165-172.

Bourque D, J Davidson, NG MacNair, G Arsenault, AR LeBlanc, T Landry & G Miron. 2007. Reproduction and early life history of an invasive ascidian *Styela clava* Herdman in Prince Edward Island, Canada. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 342: 78-84.

Cancino J, C Hernandez, J Chong, R Otaiza, D Iriarte & F Aviles. 1998. Estudios del ciclo vital del piure y picoroco en la VII Región. Informe final, Fondo de Investigación Pesquera (FIP), Proyecto N° 96-49: 1-165. <http://www.subpesca.cl/fipa/613/articles-89583_informe_final.pdf>

Cea G. 1970. Estados primarios del desarrollo y metamorfosis de *Pyura chilensis* Molina, 1782 (Tunicata, Ascidiacea, Pyuridae). *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción* 42: 317-331.

Cea G. 1973. Biología del piure (*Pyura chilensis* Molina 1782, Chordata, Tunicata, Ascidiacea). *Gayana Zoología* 28: 3-65.

Cifuentes MA, C Kamlah, M Thiel, M Lenz & M Wahl. 2007. Effects of temporal variability of disturbance on the succession in marine fouling communities in northern-central Chile. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 350: 280-294.

Cifuentes MA, I Krueger, CP Dumont, M Lenz & M Thiel. 2010. Does primary or community structure determine the succession of fouling communities? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 395: 10-20.

Clarke M, V Ortiz & JC Castilla. 1999. Does early development of the Chilean tunicate *Pyura preputialis* (Heller, 1878) explain the restricted distribution of the species?. *Bulletin of Marine Science* 65(3): 745-754.

Davis A. 1995. Over-exploitation of *Pyura chilensis* (Ascidiacea) in southern Chile: the urgent need to establish marine reserves. *Revista Chilena de Historia Natural* 68: 107-116.

- FAO. 2011.** Estadísticas de pesca y acuicultura: producción de acuicultura. FAO anuario. Estadísticas de pesca y acuicultura. 2011. <ftp://ftp.fao.org/FI/CDrom/CD_yearbook_2011/root/aquaculture/b74.pdf>
- Fletcher LM, BM Forrest, J Atalah & JJ Bell. 2013.** Reproductive seasonality of the invasive ascidian *Didemnum vexillum* in New Zealand and implications for shellfish aquaculture. *Aquaculture Environmental Interaction* 3: 197-211.
- Haye P & N Muñoz-Herrera. 2013.** Isolation with differentiation followed by expansion with admixture in the tunicate *Pyura chilensis*. *BMC Evolutionary Biology* 13: 252-267.
- Lagger C, V Häussermann, G Försterra & M Tatián. 2009.** Ascidiaceans from the southern Chilean Comau Fjord (Chordata, Ascidiacea). *Spixiana* 32(2): 173-185.
- Lambert C. 2005.** Historical introduction, overview, and reproductive biology of the protochordates. *Canadian Journal of Zoology* 83: 1-7.
- Lambert G. 2007.** Invasive sea squirts: a growing global problem. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 342: 3-4.
- Manríquez P & J Castilla. 2005.** Self-fertilization as an alternative mode of fertilization in the solitary tunicate *Pyura chilensis*. *Marine Ecology Progress Series* 305: 113-125.
- Manríquez P & J Castilla. 2007.** Role of larval behaviour and microhabitat traits in determining spatial aggregations in the ascidian *Pyura chilensis*. *Marine Ecology Progress Series* 332: 155-165.
- Millar RH. 1971.** The biology of ascidians. *Advances in Marine Biology* 9: 1-100.
- Nguyen T, N Taniguchi, M Nakajim, U Na-Nakorn, N Sukumasavin & K Yamamoto. 2007.** Acuicultura de la piña de mar *Halocynthia roretzi* en Japón. *Aquaculture Asia* 12(2): 21-23.
- Pineda MC, S López-Legentil & X Turon. 2013.** Year-round reproduction in a seasonal sea: biological cycle of the introduced ascidian *Styela plicata* in the Western Mediterranean. *Marine Biology* 160: 221-230.
- Shaw BL & HI Battle. 1957.** The gross microscopic anatomy of the digestive tract of the oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Canadian Journal of Zoology* 35: 325-347.
- Thompson DW. 1992.** On growth and form, 345 pp. Cambridge University Press, Cambridge.
- Turon X. 1988.** The ascidians of Tossa de Mar (NE Spain) II. Biological cycles of the colonial species. *Cahiers de Biologie Marine* 29: 407-418.
- Wong NA, D McClary & MA Sewell. 2011.** The reproductive ecology of the invasive ascidian, *Styela clava*, in Auckland Harbour, New Zealand. *Marine Biology* 158: 2775-2785.
- Yáñez LA & JC Castilla. 1973.** Análisis cuali y cuantitativo de los equinodermos de los fondos sub-litorales blandos de la Bahía de Concepción, Chile. *Gayana Zoología* 25: 1-2.

Recibido el 24 de junio de 2016 y aceptado el 14 de junio de 2017

Editor: Claudia Bustos D.