

Variabilidad genética y estructura poblacional del tunicado *Pyura chilensis* Molina, 1782, en la costa de Chile

Genetic variability and population structure in tunicate *Pyura chilensis* Molina,
1782, in the coast of Chile

MARCELA P. ASTORGA^{1,*} & JUAN C. ORTIZ²

¹ Instituto de Acuicultura & CIEN-Austral. Universidad Austral de Chile, Campus Puerto Montt,
Casilla 1327, Puerto Montt, Chile

² Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas,
Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile

* e-mail para correspondencia: marcelaastorga@uach.cl

RESUMEN

El tunicado *Pyura 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. Sin embargo, se han detectado cambios en la distribución y abundancia de sus poblaciones adjudicados a su sobreexplotación. Para llegar a establecer medidas de conservación de un recurso, es necesario entre otras cosas, conocer su variabilidad genética y su estructura poblacional, estimando los patrones y sus causas. Por lo tanto, en el presente trabajo se determinó el grado de variabilidad genética aloenzimática del piure *P. chilensis* y su estructura poblacional en base a tres localidades (Antofagasta, Talcahuano y Puerto Montt) en la costa chilena. Los loci polimórficos obtenidos fueron Mdh-1 y Pgi-1. Los valores de *Fst* mostraron leve estructuración poblacional entre localidades (*Fst* 0,019) al igual que la prueba exacta de diferenciación genética ($P = 0,031$). Se observó diferenciación para la localidad de Puerto Montt en relación a las otras dos localidades en algunos de los dos loci. Los niveles de variabilidad observados en esta especie corresponden a lo esperados para otras ascidias. La estructuración genética poblacional puede ser explicada por una combinación de diferentes factores, entre los que destacan: (i) el tiempo del periodo larval de 12 a 24 h, lo cual no facilitarían una amplia dispersión a lo largo de 2.500 km de costa y (ii) las condiciones oceanográficas diferenciales entre localidades, junto a patrones de circulación cerrados que podrían llegar a restringir el flujo génico. Por último, proponemos que un conocimiento adecuado del grado de variabilidad, estructura y dinámica genética de las poblaciones son aspectos esenciales para tomar medidas de conservación de recursos explotados, tanto en ambientes abiertos como en áreas de manejo.

Palabras clave: variabilidad genética, genética de poblaciones, aloenzimas, *Pyura chilensis*, Chile.

ABSTRACT

The ascidian *Pyura chilensis* is an ecologically important species due to its aggregates, providing habitat for other species. In addition, it is an economically important species being commercially exploited along the coast of Chile. Here, changes in distribution and abundance have been observed during the last decade that have been linked to overfishing. Patterns of genetic variation and population structure are important to understand biodiversity, management and conservation of species. Thus, the main objective of this study was to determine the genetic variability and population structure of *Pyura chilensis* in three localities along the Chilean coast (Antofagasta, Talcahuano, Puerto Montt). The polymorphic loci obtained were: Mdh-1 and Gpi-1 for *P. chilensis*. The *Fst* values showed slight population structure (*Fst* = 0.019), and the genetic differentiation showed statistically significant values ($P = 0.031$). The Puerto Montt locality was significantly different from the other two sites in the pairwise comparison in some loci. The genetic differentiation among localities of *P. chilensis* could be explained by a combination of different causes: (i) low larval dispersion capacity associated to the larval life time of this species (12 to 24 h), and (ii) differences in oceanographic conditions between localities and a closed circulation pattern that restrict dispersion. We conclude that monitoring of genetic diversity levels are essential to establish conservation and management plans of exploited marine resources.

Key words: genetic variability, population genetics, allozymes, *Pyura chilensis*, Chile.

INTRODUCCIÓN

La variabilidad genética de una población corresponde al menor nivel de diversidad biológica, la cual incluye la variación genética dentro de una especie, tanto entre poblaciones separadas geográficamente como entre individuos dentro de la población (Ormond et al. 1997). Esta diversidad es dinámica en la naturaleza, donde las especies y sus poblaciones están en constante cambio, por lo tanto la situación del presente es el resultado del efecto combinado de especiación y extinción. Debido a esto, el nivel de diversidad genética es crítico para lograr que una especie se adapte y evolucione. Conocer la diversidad genética y la estructura poblacional de una especie permite tomar medidas de conservación informadas. Para llegar a entender la biodiversidad a este nivel, y poder definir estrategias de conservación, es necesario: (i) conocer los patrones de diversidad genética de las poblaciones y (ii) determinar los procesos genéticos involucrados en la creación de estos patrones. Para lograr esto, actualmente es de gran utilidad, aplicar herramientas moleculares y utilizar las bases teóricas de la genética de poblaciones (e.g., Féral 2002). La biodiversidad genética en el ambiente marino llega a presentar diversos patrones, dependiendo de los múltiples factores que la determinan. Entre estas causas podemos reconocer factores intrínsecos de la especie, asociados a sus características biológicas, como su capacidad de dispersión, sus ciclos reproductivos, etc. o factores extrínsecos como condiciones oceanográficas, modificación de hábitat, depredación, etc.

En la costa de Chile encontramos la ascidia de la especie *Pyura chilensis* Molina 1782, denominado comúnmente “piure”, el cual es considerado un recurso de importancia económica debido a su extracción por pescadores artesanales. Esta especie se distribuye desde Huarmey en Perú, a los 10° S, hasta la costa chilena a los 44° S (Van Name 1954, Vásquez 1983, Lancellotti & Vásquez 2000) y se encuentra presente en la zona intermareal baja y submareal alcanzando hasta 70 m de profundidad.

Se ha considerado que esta especie posee importancia ecológica por la relevancia en su asociación con otras especies. Así, se ha llegado a establecer que las agregaciones de individuos

de esta especie forman un sustrato para un alto número de especies, manteniendo de esta forma una gran diversidad biológica asociada (Sepúlveda et al. 2002), la cual a su vez sirve de alimento a la fauna íctica sublitoral (Zamorano & Moreno 1975). Se ha observado un patrón similar de diversidad biológica asociada en la ascidia *Pyura praeputialis* que también forma agregaciones entre individuos (Cerdeira & Castilla 2001) llegando a ser considerado un bioingeniero de ecosistemas (Castilla et al. 2004). Además, *P. chilensis* corresponde a la segunda presa de preferencia para el molusco “loco” *Concholepas concholepas*, por lo que se ha propuesto controlar la densidad de esta especie en las áreas de manejo del recurso “loco”, para de esta forma mantener una adecuada capacidad de carga en las áreas (Stotz 1997). Por último, *P. chilensis*, también ha sido considerado como el principal competidor por sustrato del mitílido “choro zapato” *Choromytilus chorus* (Moreno & Rubilar 1997).

A pesar de la importancia que posee esta especie como recurso, se ha estudiado muy poco en Chile, además sus análisis han sido más bien puntuales que integradores de la distribución global de esta especie. Así, encontramos diferentes tipos de problemáticas resueltas pero restringidas a localidades específicas como: norte de Perú (Vásquez 1983), Coquimbo (Ambler & Cañete 1991), Concepción (Cea 1970, 1973, Cancino 1998, Sepúlveda et al. 2002), Valdivia (Zamorano & Moreno 1975) y Mehuín (Davis 1995). Destaca que la mayor cantidad de estudios se han realizado en áreas cercanas a la costa de Concepción y no existen estudios en áreas cercanas a Puerto Montt, que corresponde al principal puerto de la décima región, donde se han registrado los mayores valores de extracción de este recurso (SERNAPESCA 2004). Por lo tanto, se considera necesario en esta especie determinar su patrón de diversidad genética a escala global y en base a este poder establecer las causas que lo explican. Esta información permitiría generar bases para un plan de manejo, ya sea en hábitats protegidos o explotados tanto en forma directa o en áreas de manejo.

En *P. chilensis* se esperaría observar niveles de variabilidad similar a otras especies de taxa cercanos. En base a factores intrínsecos, como su capacidad de dispersión, se espera observar un patrón homogéneo de diversidad genética,

con una ausencia de estructuración poblacional, debido al tiempo de vida larval que presenta esta especie (Cea 1970, 1973), el cual es mayor al observado en la ascidia *P. praeputialis* (Clarke et al. 1999). Además, la dispersión entre localidades puede llegar a ser facilitada por transporte a través de barcos, lo cual ya ha sido utilizado como posible explicación para otras especies de ascidias (Castilla et al. 2002a, Nobrega et al. 2004) y registrado en diversas especies de invertebrados (revisión en Carlton 1989, 1996). Por el contrario, las condiciones oceanográficas asociadas a la distribución de esta especie, pueden llegar a facilitar la estructuración poblacional. Esto podría estar dado por las diferencias en las condiciones locales a lo largo de la costa chilena o bien a los sistemas de circulación cerrada que presentan algunas localidades (Escribano et al. 2003, Castilla et al. 2002b, Aguilar 2004). La presión de pesca diferencial entre localidades (Sernapesca 2004) puede también determinar estructuración poblacional. Se ha considerado que *P. chilensis* corresponde a una especie sobreexplotada en localidades del sur de Chile (Davis 1995) en base a observaciones de cambio y reducción en su distribución y abundancia.

Por lo tanto, en el presente trabajo se someterán a prueba las hipótesis antes planteadas, mediante la estimación del grado de variabilidad genética del piure *Pyura chilensis* y su patrón de estructura genética poblacional en tres localidades de la costa chilena. A partir de esto se discutirán las posibles causas de los patrones observados evaluando las fuerzas opuestas que pueden ejercer los factores intrínsecos en relación a los extrínsecos en esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se extrajo una muestra de 50 individuos de *Pyura chilensis*, en tres localidades de la costa chilena: Antofagasta (23°38' S, 70°23' O), Talcahuano (36°42' S, 73°05' O) y Puerto Montt (41°28' S, 72°56' O) (Fig. 1).

Se realizó la caracterización genética mediante variantes aloenzimáticas examinadas con electroforesis horizontal en gel de almidón. Se utilizaron dos tipos de tampón para la obtención de 12 sistemas enzimáticos que representan 16 loci (Tabla 1), utilizando los

procedimientos descritos en Whitmore (1990) y la nomenclatura alélica de cada loci según lo descrito por Shaklee et al. (1990). Se realizó la caracterización genética de cada una de las localidades mediante la obtención de los descriptivos genéticos como: estimación de frecuencia alélica, número medio de alelos por locus, polimorfismo, heterocigosidad observada y esperada para el modelo de equilibrio de Hardy-Weinberg. Se evaluó el ajuste al modelo de equilibrio de Hardy-Weinberg para las frecuencias alélicas de cada locus polimórfico, para lo cual se utilizó una prueba exacta de Fisher, a través de cadena de Markov. Para determinar el patrón de diferenciación genética entre muestras, se realizó análisis discriminante canónico usando el programa SPSS versión 10.0, el cual maximiza las diferencias entre grupos definidos a priori. Este análisis permite visualizar las diferencias entre grupos en base a los genotipos de cada individuo para el total de loci isoenzimáticos. Para establecer la probabilidad de cada individuo de ser asignado a una población, en base a su genotipo multilocus, se realizó prueba de asignaciones mediante el programa GeneClass (Cournet et al. 1999). El procedimiento utilizado para la asignación fue estimación de la verosimilitud y probabilidad de pertenecer a cada población mediante el método bayesiano.

La diferenciación genética poblacional fue evaluada en base a dos análisis: (i) la distribución alélica en las diferentes localidades mediante una prueba exacta de Fisher y (ii) los valores de *F_{st}* para cada localidad. Ambos estadísticos genéticos fueron obtenidos mediante los programas GENEPOP (V. 1.2) (Raymond & Rousset 1995) y FSTAT 2.9.3. (Goudet 1995).

RESULTADOS

Los loci polimórficos obtenidos fueron *Mdh-1* y *Pgi-1* (Tabla 1). Los valores de variabilidad genética total en polimorfismo fue de 0,125 y en heterocigosidad observada en base a los loci polimórficos de 0,269. Las frecuencias alélicas de los loci polimórficos en cada localidad se observan en la Tabla 2. Todos los loci y localidades mostraron ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg. Sin embargo, el ajuste global a H-W mostró leve diferencias significativas al modelo (Fisher = 17,6; P = 0,025).

TABLA 1

Sistemas enzimáticos analizados, código de enzima (EC), tampón y número de loci polimórficos (P) y monomórficos (M) para *Pyura chilensis*

Enzymatic systems analyzed for *Pyura chilensis*, including enzyme code number (EC), buffer used and polymorphic loci (P) and monomorphic loci number (M)

Enzima	Locus	Código	Tampón*	P	M
Anhidrasa carbónica	Ca	4.2.1.1	2	0	1
Aspartato aminotransferasa	Aat	2.6.1.1	1	0	1
Enzima málica	Em	1.1.1.38	2	0	1
Esterasa	Est	3.1.1.1	1	0	2
Fosfoglucoisomerasa	Pgi	5.3.1.9	2	1	0
Gliceraldehido-3-fosfato deshidro.	Gapd	1.2.1.12	1	0	2
Glioxalasa	Glio	4.4.1.5	1	0	1
Glicerol-3-fosfato deshidrogenasa	Gpd	1.1.1.8	2	0	1
Isocitrato deshidrogenasa	Idh	1.1.1.42	2	0	2
Malato deshidrogenasa	Mdh	1.1.1.37	2	1	0
Proteínas totales	Pt	-----	1	0	2
Tetrazolio oxidasa	To	1.12.1.1	2	0	1
	Total			2	14

*(1) Poulik pH 8,2-8,7; (2) Tris Cítrico pH 7,0

localidades (69,2 y 70,4 % respectivamente). Estos valores indicarían una tendencia a la segregación entre localidades y por lo tanto una estructuración poblacional leve. La asignación de los individuos en base a su genotipo multilocus es mostrada en la Fig. 3A, 3B y 3C, donde los individuos de cada par de localidades comparadas, se distribuyen cercanos y alrededor de la diagonal y presentando valores bajos de verosimilitud, lo cual permitió asignarlos, en su mayoría, sin diferencias significativas a cualquiera de las diferentes localidades estudiadas. En el análisis global, un 48,7 % de los individuos fue correctamente asignado a su localidad de origen. Para este análisis se utilizaron los genotipos multilocus de 115 individuos de las tres localidades. De los 39 individuos de Antofagasta, 37 fueron asignados indistintamente a cualquiera de las otras tres localidades y dos fueron excluidos de Antofagasta. De los 49 individuos de Talcahuano, 48 fueron asignados a cualquiera de las tres localidades y uno excluido. De los 26 individuos de Puerto Montt, tres fueron asignados exclusivamente a esta localidad, 20 fueron asignados a cualquiera de las tres localidades y tres fueron excluidos de Antofagasta como localidad de origen. Los

TABLA 2

Frecuencia alélica, número de datos obtenidos (n), Heterocigosidad observada (Ho), Estadístico F por locus (*Fis*) y probabilidad de ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) para las localidades analizadas de *Pyura chilensis*

Allele frequencies, obtained data (n), observed heterozygosity (Ho), F-statistics values and Hardy-Weinberg (HW) probability fit for populations of *P. chilensis*

Locus	Antofagasta	Talcahuano	Puerto Montt
Mdh-1			
n	39	43	16
A	0,038	0,093	0,156
B	0,962	0,907	0,844
Ho	0,077	0,140	0,313
<i>Fis</i>	-0,027	0,184	-0,158
HW	1,000	0,300	1,000
Pgi-1			
n	21	50	24
A	0,690	0,710	0,521
B	0,310	0,290	0,438
C	0,000	0,000	0,042
Ho	0,238	0,300	0,750
<i>Fis</i>	0,462	0,281	-0,382
HW	0,050	0,080	0,126
HW total	0,200	0,114	0,387

individuos excluidos de cada localidad son indicados con asterisco la Fig. 3A, 3B y 3C.

En el análisis poblacional global se observa un valor levemente alto de *Fst* y un valor significativo de diferenciación mediante la distribución alélica, lo cual muestra algún grado de estructuración genética poblacional para esta especie. Sin embargo, en el análisis por locus estos valores no presentan diferencias significativas entre localidades (Tabla 3A). Al realizar la comparación a un nivel de resolución menor, es posible identificar el origen de la diferenciación genética global. Las cuales están dadas para la localidad de Puerto Montt en relación a las otras dos, ya sea con Antofagasta para el locus *Mdh-1* y para el análisis global y con Talcahuano para el locus *Pgi-1* y para el análisis global (Tabla 3B). No se observa diferenciación genética entre Antofagasta y Talcahuano.

DISCUSIÓN

El nivel de polimorfismo observado en esta especie es similar al observado en la ascidia *Pyura praeputialis*, la cual presenta una distribución restringida a la Bahía de Antofagasta en Chile (Astorga et al. 2002) y similar al observado para *P. gibbosa* (Ayre et al. 1997), *P. stolonifera* (= *P. praeputialis*) (Dalby 1997) y *P. praeputialis* (Killingly 1976, Astorga 2004), todas distribuidas en Australia. Se observan mayores valores de polimorfismo en otras especies, como la ascidia social *Stolonica australis* de Australia (Ayre et al. 1997) y en la ascidia solitaria *Phallusia nigra* (Nobrega et al. 2004) y valores más bajos en la ascidia solitaria *Dendrodoa grossularia* de Inglaterra (Bishop & Ryland 1993) y en la ascidia compuesta *Botrylloides magnicoecum* (Ayre et al. 1997).

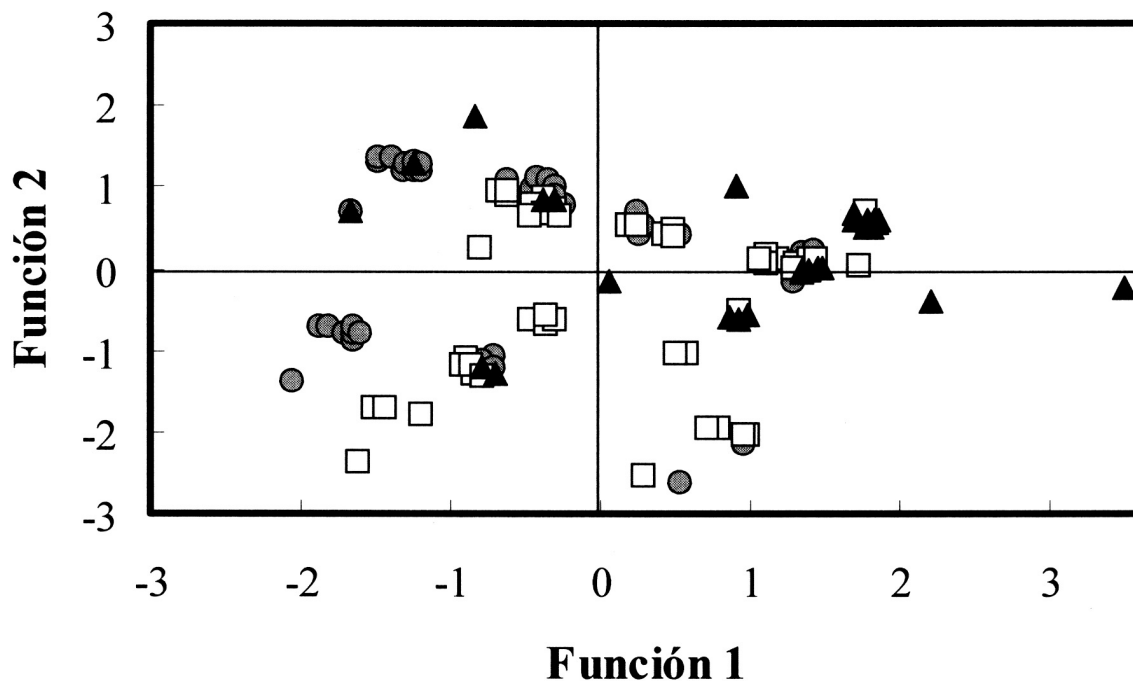


Fig. 2: Análisis canónico discriminante de los individuos por localidad en base al total de loci isoenzimáticos: ● Antofagasta; □ Talcahuano; ▲ Puerto Montt.

Discriminant canonical analysis of individuals by locality for all loci analyzed: ● Antofagasta; □ Talcahuano; ▲ Puerto Montt.

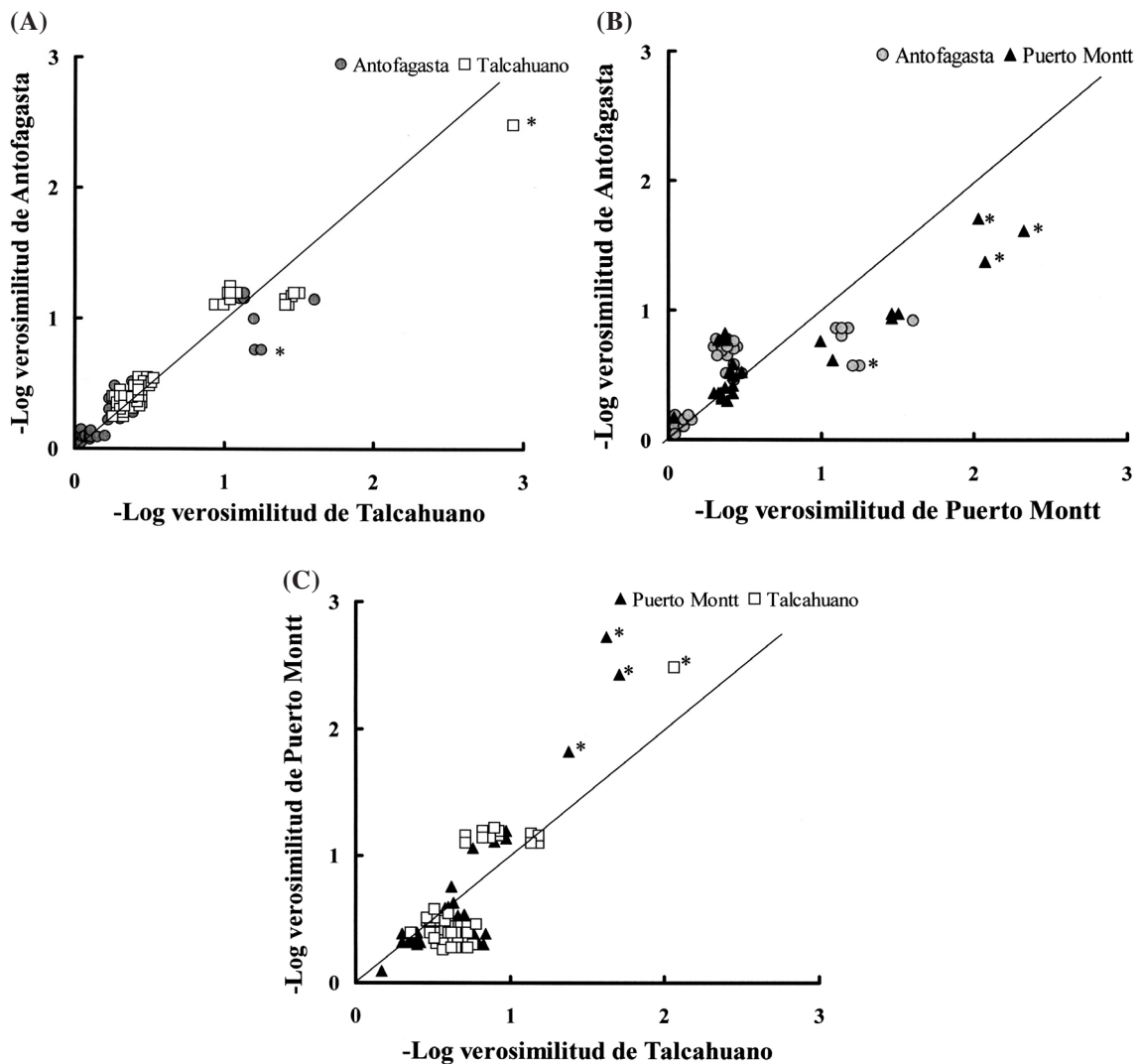


Fig. 3: Prueba de asignaciones en base al genotipo multilocus individual de *Pyura chilensis* graficado entre pares de localidades: ● Antofagasta; □ Talcahuano; ▲ Puerto Montt. Los individuos no asignados a alguna localidad son indicados con asterisco. (A) Antofagasta versus Talcahuano, (B) Antofagasta versus Puerto Montt y (C) Puerto Montt versus Talcahuano.

Assignment test showing likelihood plots of multilocus allozyme genotypes for individuals of different populations of *Pyura chilensis*: ● Antofagasta; □ Talcahuano; ▲ Puerto Montt. All samples were assigned to both localities except the individuals indicated with asterisk. (A) Antofagasta versus Talcahuano individuals, (B) Antofagasta versus Puerto Montt individuals and (C) Puerto Montt versus Talcahuano individuals.

Por lo cual el valor de polimorfismo encontrado en la especie *P. chilensis* se distribuye dentro del rango observado para el grupo. El valor de heterocigosidad presenta un nivel similar al encontrado en otras especies de ascidias, como es el caso de la ascidia solitaria *Phallusia nigra* con un valor de heterocigosidad promedio de 0,28, analizando cinco localidades mediante 10 loci (Nobrega et al. 2004), o valores menores si lo

comparamos con la ascidia solitaria *Corella productum* con un valor de heterocigosidad de 0,53 en base a un locus polimórfico (Cohen 1990), o en la ascidia *Dendrodoa grossularia* con valores de heterocigosidad sobre 0,84 (Bishop & Rylan 1993). Patrón similar se observa para el valor del número de alelos por locus. Cabe destacar que es posible detectar mayores diferencias en los indicadores de variabilidad genética al realizar la

comparación entre especies solitarias (e.g., género *Pyura*) en relación a especies coloniales. Lo cual ha sido explicado por la detección de endocruzamiento en ascidias coloniales (Ayre et al. 1997). Sin embargo, Nobrega et al. (2004) menciona que la mantención de los niveles de variabilidad puede estar dado por las características ecológicas y fisiológicas compartidas entre grupos más que las relaciones filogenéticas.

El valor de *Fst* observado para *Pyura chilensis* demuestra la presencia de estructuración genética poblacional moderada o leve, entre las localidades analizadas a lo largo de aproximadamente 2.500 km de costa. Este valor llega a ser similar a los observados para otras especies de ascidias; como la ascidia colonial *Botryllus schlosseri* (*Fst* = 0,015) que muestra deficiencia de heterocigotos en tres loci, además de restricción al flujo génico (Grosberg 1991) y como la ascidia solitaria *Pyura praeputialis* (*Fst* = 0,02) al analizar tres localidades a lo largo de solo 20 km de costa (Astorga et al. 2002), a pesar que dicho valor disminuye para esta especie al analizar 12 localidades a lo largo de 70 km de costa (*Fst* =

0,006) (Astorga 2004). Sin embargo, se ha observado en otras especies de ascidias un mayor o menor grado de estructuración poblacional que el observado para *P. chilensis*, como la ascidia solitaria *Dendrodoa grossularia*, la cual muestra mayor grado de estructuración genética (*Fst* = 0,074) entre localidades separadas por menos de 250 km (Bishop & Ryland 1993), para las ascidias coloniales y compuestas *Stolonica australis* y *Botrylloides magnicoecum* (*Fst* = 0,2) en una costa de 140 a 190 km (Ayre et al. 1997) y para la ascidia solitaria *Phallusia nigra* con un valor de *Fst* de 0,083, pero a lo largo de 8.000 km de costa (Nobrega et al. 2004). Por último, el valor observado en este trabajo es mayor al encontrado para las ascidias solitarias, *Pyura gibbosa* (*Fst* = 0,002) a lo largo de una costa de 250 km (Ayre et al. 1997) y de *P. praeputialis* (*Fst* = 0,005) a lo largo de 2.000 km de costa en Australia continental (Astorga 2004). Cabe destacar que en la mayoría de los casos antes mencionados los rangos de distribución analizados son menores que los evaluados para *P. chilensis*, observándose en algunos casos valores mayores de *Fst*. Los datos observados

TABLA 3

Diferenciación genética de *Pyura chilensis* en base a los loci polimórficos. (A) Estadístico F por locus, probabilidad y error estándar (EE) por locus y (B) probabilidad entre pares de localidades por locus. Valores significativos en negritas

Genetic differentiation of *Pyura chilensis* polymorphic loci. (A) F-statistics values, probability with standard error by locus and (B) probability between localities pairwise by locus. Significant values in bold

(A)

Locus	<i>Fst</i>	Valor P	EE
Mdh-1	0,019	0,0950	0,0003
Pgi-1	0,019	0,0502	0,0005
Total	0,019	0,0303	

(B)

Localidades	Locus	<i>Fst</i>	Valor P	<i>Fst</i> total	P total
Antofagasta x Talcahuano	Mdh-1	0,010	0,218	-0,013	0,495
	Pgi-1	-0,022	0,842		
Antofagasta x Puerto Montt	Mdh-1	0,079	0,044	0,037	0,037
	Pgi-1	0,025	0,138		
Talcahuano x Puerto Montt	Mdh-1	-0,003	0,336	0,035	0,030
	Pgi-1	0,047	0,014		

para *P. praeputialis* de Australia son comparables en su rango de distribución a los analizados en este trabajo, pero se observan diferencias en los valores de *Fst* y en el grado de estructuración genética. Los valores antes mostrados concuerdan en parte con la tendencia de observar menor grado de estructuración genética poblacional en ascidias solitarias que en ascidias coloniales, determinado por la menor capacidad de dispersión larval de estas últimas (Ayre et al. 1997), debido a que los mayores valores de estructuración se han observado en ascidias coloniales.

La estructuración genética poblacional moderada observada en esta especie puede estar dada por diferentes factores, los cuales pueden llegar a ejercer fuerzas opuestas y de esta forma explicar esta incipiente estructuración observada. Dentro de los factores intrínsecos, ha sido posible establecer en esta especie, un periodo larval de vida libre de 12 a 24 h (Cea 1970). Este valor es mayor que el observado en otras ascidias, como el caso de *Pyura praeputialis*, la cual posee un periodo larval de solo 2 h (Clarke et al. 1999). Sin embargo, este valor puede ser bajo si lo comparamos con diversas especies intermareales o submareales de la costa chilena y por lo tanto puede explicar el grado de estructuración poblacional que se ha observado. Cabe destacar que el tiempo de periodo larval puede llegar a ser un factor que facilite la dispersión, pero este se encuentra fuertemente asociado a otras características ambientales, como condiciones o corrientes oceanográficas entre otras. Esto puede explicar la mayor estructuración poblacional observada en *P. chilensis* en comparación con *P. praeputialis* a pesar que los periodos larvales de cada especie explicarían una tendencia inversa. Dentro de los factores extrínsecos, se ha planteado que la dispersión facilitada por el hombre ha llegado a disminuir las restricciones al flujo génico entre subpoblaciones, a través del transporte de diferentes estados del desarrollo, asociado a embarcaciones que se mueven entre puertos. Este fenómeno ya ha sido utilizado como explicación para otras especies de ascidias, como *Pyura praeputialis* desde Australia a Chile (Castilla et al. 2002a) o de *Phallusia nigra* a lo largo de 8.000 km de la costa atlántica (Nobrega et al. 2004). Por lo cual, no

se descarta que actualmente exista un fuerte movimiento de individuos asociados al tráfico marítimo dentro de Chile que permita que el grado de estructuración no sea mayor o bien que explique la ausencia de diferencias genéticas observadas entre Antofagasta y Talcahuano. Esta última hipótesis llega a ser más probable debido a que las tres localidades analizadas se encuentran dentro de los cuatro principales puertos de Chile en base a toneladas de desembarque (INE 2003), Talcahuano con un 27,2 % del total de desembarque nacional en el primer lugar, Antofagasta con un 20,2 % en el tercer lugar y Puerto Montt con un 7,5 % en el cuarto lugar. A partir de estos valores uno podría deducir que el tráfico marítimo de Puerto Montt con las otras localidades es menor, por lo cual, si existe facilitación de dispersión por esta vía, esta debería ser menor para dicha localidad. Otro tipo de factor extrínseco que puede explicar el grado de estructuración genética, corresponde a las características oceanográficas. Existe una divergencia en las condiciones oceanográficas entre la localidad de Puerto Montt (i.e., Seno de Reloncaví, canales, y fiordos) (Silva et al. 1995, Aguilar 2004) en relación a las otras localidades analizadas. Estas diferencias están dadas por el ingreso permanente de aguas oceánicas de origen subantártico que se mezclan con aguas interiores más frías y menos salinas, provenientes de lluvias, ríos y deshielos cordilleranos de glaciares y ventisqueros (Silva et al. 1998, Guzmán & Silva 2002). Además esta zona, alrededor de los 42° S, ha sido repetidas veces definida como un límite entre dos regiones biogeográficas diferentes (Camus 2001), ocurriendo cambios en la diversidad biológica debido a quiebres geomorfológicos y oceanográficos que ocurren en esta zona (Escribano et al. 2003). Esta podría ser la explicación para la observación de las diferencias encontradas en la localidad de Puerto Montt en relación a las otras dos analizadas, lo que está dado por la presencia de un alelo privado y genotipos exclusivos en esta última localidad. Por otro lado, en la Bahía de Antofagasta se ha detectado un patrón de circulación de las masas de agua circular y restringido, lo cual no facilita el movimiento y la mezcla larval hacia el exterior de la bahía (Castilla et al. 2002b). Por

lo antes mencionado, los resultados observados de diferencias entre Antofagasta y Puerto Montt para el locus *Mdh-1* y entre Talcahuano y Puerto Montt para el locus *Pgi-1* (Tabla 3B), pueden ser explicados por la combinación de las diferencias en las características oceanográficas antes descritas, sin olvidar los otros factores antes discutidos.

Cabe destacar que es posible detectar la presencia de un alelo único en la localidad de Puerto Montt para el locus *Pgi-1*, lo cual también puede ser explicado por la presencia de algún grado de aislamiento facilitado por alguna de las causas antes discutidas, ya sea baja dispersión larval, menor dispersión facilitada por tráfico marítimo o condiciones oceanográficas locales. Sin embargo, el hecho de encontrar un alelo privado en la localidad de Puerto Montt, implica la necesidad de monitorear y proteger estas variantes alélicas no presentes en las otras dos localidades. Además, esto se hace más relevante en situaciones donde las especies son fuertemente explotadas (Sernapesca 2004) y donde ya se han detectado cambios en su estructura ecológica (Davis 1995). Cabe destacar que para poder establecer si esta especie se encuentra afectada con sus niveles de extracción, debería hacerse un seguimiento temporal o conocer datos preliminares de comparación, lo cual, actualmente no se encuentra registrado. Debido a esto no es posible realizar una comparación temporal que permita asociar los cambios ecológicos de las poblaciones mencionados por Davis (1995) con los cambios genéticos que pudieran estar ocurriendo en las poblaciones, producto de la sobreexplotación.

Por último, debido a la menor capacidad de resolución que pueden presentar los marcadores aloenzimáticos, y de esta forma no ser capaces de mostrar en su totalidad los procesos genéticos presentes en la población, sería relevante a futuro la utilización de marcadores moleculares de alta variabilidad que permitan obtener una mayor capacidad de resolución.

Sin embargo, estos resultados han permitido establecer una aproximación al estado genético actual de la población de *Pyura chilensis* en la costa chilena, donde cabe destacar que los valores encontrados de variabilidad genética no se diferencian significativamente de las poblaciones no explotadas de otras especies de

ascidias. Sin embargo, no se puede descartar la posibilidad real de que esta especie haya o esté siendo sobreexplotada, principalmente por el desconocimiento de la situación de variabilidad genética de esta especie en el tiempo que permita conocer la dinámica poblacional y a la necesidad de aplicar otro tipo de análisis para responder esta pregunta que va más allá del objetivo central de este trabajo.

Se sugiere a futuro la importancia de considerar el análisis integral de una población incluyendo las características genéticas de esta, para poder conocer los procesos microevolutivos que están explicando la estructura poblacional actual, y de esta forma poder tomar medidas de conservación que resguarden la variabilidad genética de nuestros recursos. Esto es de gran relevancia en recursos que están siendo explotados en ambientes abiertos como también en áreas de manejo.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Irma Northland por la colección de muestras. También agradecemos a R. Galleguillos, J. Monsalves y R. Guíñez por sus comentarios a manuscritos iniciales. A Elie Poulin por el manejo como editor del manuscrito. A Sylvain Faugeron y dos revisores anónimos por sus importantes comentarios que permitieron mejorar notoriamente este trabajo.

LITERATURA CITADA

- AGUILAR MG (2004) Caracterización oceanográfica del mar interior de Chiloé (X Región Chile, 41-44° S). Tesis Ingeniería en Acuicultura, Universidad Austral de Chile, Campus Puerto Montt, Puerto Montt, Chile. 132 pp.
- AMBLER RP & JI CANETE (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 MP (2004) Estructura genética poblacional del tunicado *Pyura praeputialis* (Heller, 1878) en la costa de Chile y Australia: significados biogeográficos y evolutivos. Tesis Doctoral, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. 209 pp.
- ASTORGA MP, R GUÍÑEZ, JC ORTIZ & JC CASTILLA (2002) Variación fenotípica y genética en el tunicado *Pyura praeputialis* (Heller, 1878) en el área Norte de la Bahía de Antofagasta, Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 75: 515-526.

- AYRE DJ, AR DAVIS, M BILLINGHAM, T LLORENS & C STYAN (1997) Genetic evidence for contrasting patterns of dispersal in solitary and colonial ascidians. *Marine Biology* 130: 51-61.
- BISHOP JDD & JS RYLAND (1993) Enzyme electrophoretic evidence for the prevalence of outcrossing in the hermaphroditic brooding ascidian *Dendrodoa grossularia* (Chordata, Urochordata). *Journal Experimental Marine Biology and Ecology* 168: 149-165.
- CAMUS PA (2001) Biogeografía marina de Chile continental. *Revista Chilena de Historia Natural* 74: 505-734.
- CANCINO JM, C HERNÁNDEZ, J CHONG, R OTAÍZA, D IRIARTE & F AVILÉS (1998) Estudio del ciclo vital del piure y el picoroco en la VIII Región. Informe Final Proyecto FIP N° 96-49, Fondo de Investigación Pesquera de Chile, Subsecretaría de Pesca. Universidad Católica de la Santísima Concepción, Concepción, Chile. 165 pp.
- CARLTON JT (1989) Man's role in the changing face of the ocean: biological invasions and implications for conservation of near-shore environments. *Conservation Biology* 3: 265-273.
- CARLTON JT (1996) Biological invasions and cryptogenic species. *Ecology* 77: 1653-1655.
- CASTILLA JC, AG COLLINS, CP MEYER, R GUÍÑEZ & DR LINDBERG (2002a) Recent introduction of the dominant tunicate, *Pyura praeputialis* (Urochordata, Pyuridae) to Antofagasta, Chile. *Molecular Ecology* 11: 1579-1584.
- CASTILLA JC, N LAGOS, R GUÍÑEZ & J LARGIER (2002b) Embayments and nearshore retention of plankton: the Antofagasta Bay, Chile and other examples. En: Castilla JC & J Largier (eds) 179-203. *The oceanography and ecology of the nearshore and bays in Chile*. Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
- CASTILLA JC, NA LAGOS & M CERDA (2004) Marine ecosystem engineering by the alien ascidian *Pyura praeputialis* on a mid-intertidal rocky shore. *Marine Ecology* 268: 119-130.
- CEA G (1970) Contribución al conocimiento de algunos aspectos de la biología de *Pyura chilensis* Molina 1782 (Chordata, Tunicata, Ascidiacea). Tesis de Licenciatura en Biología, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. 205 pp.
- CEA G (1973) Biología del Piure (*Pyura chilensis* Molina, 1782; Chordata, Tunicata, Ascidiacea). *Gayana Zoológica* (Chile) 28: 1-65.
- CERDA M & JC CASTILLA (2001) Diversidad y biomasa de macro-invertebrados en matrices intermareales del tunicado *Pyura praeputialis* (Heller, 1878) en la Bahía de Antofagasta, Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 74: 841-853.
- CLARKE M, V ORTIZ & JC CASTILLA (1999) Does early development of the Chilean tunicate *Pyura praeputialis* (Heller, 1878) explain the restricted distribution of the species? *Bulletin of Marine Science* 65: 745-754.
- COHEN S (1990) Outcrossing in field populations of two species of self-fertile ascidians. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 140: 147-158.
- COURNET JM, S PIRY, G LUIKART, A ESTOUP & M SOLINAC (1999) New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* 153: 1989-2000.
- DALBY JE (1997) Reproductive and electrophoretic evidence for genetic maintenance of dimorphism in the ascidian *Pyura stolonifera* near Melbourne, Australia. *Ophelia* 47: 227-243.
- 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.
- ESCRIBANO R, M FERNÁNDEZ & A ARANÍS (2003) Physical-chemical processes and patterns of diversity of the Chilean eastern boundary pelagic and benthic marine ecosystems: an overview. *Gayana* (Chile) 67: 190-205.
- FERAL J-P (2002) How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 268: 121-145.
- GOUDET J (1995) Fstat Version 1.2. A computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity* 86: 485-486.
- GUZMÁN D & N SILVA (2002) Caracterización física y química y masas de agua en los canales australes de Chile entre la boca del Guafo y golfo Elefantes. *Crucero Cimar Fiordo 4*. Ciencia y Tecnología Marina (Chile) 25: 45 - 76.
- GROSBURG RK (1991) Sperm-mediated gene flow and the genetic structure of a population of the colonial ascidian *Botryllus schlosseri*. *Evolution* 45: 130-142.
- INE (2003) Anuario de transporte y comunicaciones 2002. Departamento de Estadísticas de Comercio y Servicios, Departamento de Servicios al Usuario y Difusión, Santiago, Chile. 68 pp.
- KILLINGLY DJ (1976) Biochemical population genetics of *Juncevoia*. Bachelor of Science (Hons.) Thesis, University of Sydney, Sydney, Australia. 70 pp.
- LANCELLOTTI DA & JA VÁSQUEZ (2000) Zoogeografía de macroinvertebrados bentónicos de la costa de Chile: contribución para la conservación marina. *Revista Chilena de Historia Natural* 73: 99-129.
- MORENO C & P RUBILAR (1997) Densidad de poblaciones protegidas en reservas marinas: cambios en el tiempo y eventual efecto de la explotación. *Estudios Oceanológicos* (Chile) 16: 41-50.
- NOBREGA R, AM SOLE-CAVA & CAM RUSSO (2004) High genetic homogeneity of an intertidal marine invertebrate along 8,000 km of the Atlantic coast of the Americas. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 303: 173-181.
- ORMOND RFG, GAGE JD & MV ANGEL (1997) Marine biodiversity: patterns and processes. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom. 497 pp.
- RAYMOND M & F ROUSSET (1995) GENEPOP (ver 1.2): a population genetics software for exact test and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86: 248-249.
- SEPÚLVEDA R, JM CANCINO & M THIEL (2002) The peracarid epifauna associated with the ascidian *Pyura chilensis* (Molina, 1782) (Ascidiacea: Pyuridae). *Journal of Natural History* 37: 1555-1570.
- SERNAPESCA (2004) Anuario estadístico de pesca. Servicio Nacional de Pesca, Ministerio de Economía Fomento y Reconstrucción, Santiago, Chile. 114 pp.
- SHAKLEE JB, FW ALLENDORF, DC MORIZOT & GS WHITT (1990) Gene nomenclature for protein-coding loci in fish. *Transactions of the American Fisheries Society* 119: 2-15.
- SILVA N, H SIEVERS & R PRADO (1995) Descripción

- oceanográfica de los canales australes de Chile: zona Puerto Montt-Laguna San Rafael (41°20' S, 46°40' S). *Revista de Biología Marina (Chile)* 30: 207-254.
- SILVA N, C CALVETE & H SIEVERS (1998) Masas de agua y circulación general para algunos canales australes entre Puerto Montt y Laguna San Rafael, Chile. *Ciencia y Tecnología Marina (Chile)* 21: 17-48.
- SLATKIN M (1985) Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 393-430.
- SLATKIN M (1993) Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution* 47: 264-279.
- STOTZ W (1997) Las áreas de manejo en la ley de pesca y acuicultura: primeras experiencias evaluación de la utilidad de esta herramienta para el recurso loco. *Estudios Oceanológicos (Chile)* 16: 67-86.
- VAN NAME WG (1954) Ascidiaceae. Reports of the Lund University Chile Expedition 1948-1949 14: 1-476.
- VÁSQUEZ JA (1983) *Pyura chilensis* Molina, 1782 en el norte del Perú (Ascidiacea, Pyuridae). *Boletín de la Sociedad de Biología Concepción (Chile)* 54: 171-172.
- WAPLES RS (1987) A multispecies approach to the analysis of gene flow in marine shore fishes. *Evolution* 41: 385-400.
- WHITMORE DH (1990) Electrophoretic and isoelectric focusing techniques in fisheries management. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA. 349 pp.
- ZAMORANO JH & CA MORENO (1975) Comunidades bentónicas del submareal rocoso de Bahía Corral: I. Área mínima de muestreo y descripción cuantitativa de la asociación de *Pyura chilensis* Molina. *Medio Ambiente (Chile)* 1: 58-66.

Editor Asociado: Elie Poulin

Recibido el 14 de junio de 2005; aceptado el 10 de agosto de 2006