



Universidad Austral de Chile

Escuela de Acuicultura y Pesquerías

ESTUDIO DEL CICLO REPRODUCTIVO DE BANCOS
NATURALES DE *MYTILUS CHILENSIS* EN ESTUARIO
RELONCAVÍ, X REGIÓN DE CHILE.

Tesis para Optar al Título de Ingeniero
en Acuicultura

Profesor Patrocinante: Dr. Carlos Molinet F.
Instituto de acuicultura

CAMILO ARRIAGADA M.
PUERTO MONTT CHILE

2015

Agradecimientos

Al finalizar un trabajo arduo y lleno de dificultades, es un agrado poder mirar de frente a las personas que de una u otra manera formaron parte de esto y expresarles mis más sinceros agradecimientos.

A mis padres; por ser la base y pilares fundamentales de cada logro personal y académico que haya alcanzado hasta hoy, los responsables de que en mi horizonte no hubiese objetivo más importante que la obtención de un título profesional.

Al Dr. Carlos Molinet F. por aceptarme para realizar esta tesis bajo su dirección, por su apoyo constante, su capacidad de observar mis falencias y contribuir en los últimos pasos de mi formación como ingeniero en acuicultura. Así mismo agradezco al Ing. Manuel Diaz G. por su apoyo constante y por confiar en mi trabajo, por facilitarme los medios y compartir sus conocimientos, lo cual fue esencial para lograr el objetivo. A mis compañeros tesistas Eduardo y Marjorie, a Katherine, Leny, y cada uno de los profesionales del laboratorio Programa de Investigación Pesquero, siempre con buena disposición, me apoyaron cuando requerí de sus conocimientos.

Finalmente dedico unas líneas a las personas que no participaron directamente en este trabajo, pero que sin ellos no hubiese sido posible lograrlo; A mis cinco hermanos en especial a Karin, por su apoyo constante y motivación en cada paso. A mis amistades, no es posible nombrarlos a todos pero ustedes saben quiénes son, no me olvido de cada envío anímico y gesto amable que me daban fuerza para no perder de vista el objetivo. Gracias por estar cuando necesite de ustedes.

Al proyecto FONDECYT 1130716 por el financiamiento de esta tesis.

Índice de contenidos

Índice de tablas.....	2
Índice de figuras	3
Resumen	4
Abstract	5
Introducción	6
1. Hipótesis.....	8
2. Objetivos.....	9
Metodología.....	10
1. Area de estudio	10
2. Recolección y procesamiento de datos	10
3. Análisis estadístico	14
Resultados.....	15
1. Índice de condición relativo	15
2. Índice gonadosomático	16
3. Comportamiento reproductivo	17
4. Clorofila-a.....	18
5. Seston orgánico	19
6. Temperatura y salinidad	20
Discusión	21
Conclusiones	25
Bibliografía.....	26
Anexos.....	31
1. Tablas.....	31
2. Figuras	34

Índice de tablas

Tabla 1: Índice de condición relativo por sectores, resumen de análisis Anova y prueba de Tukey.	31
Tabla 2: Índice de condición relativo por sector y estrato, resumen de análisis Anova.	31
Tabla 3: Índice gonadosomático por sector y estrato, resumen de análisis Anova	32
Tabla 4: Índice gonadosomático asociado a estadios gonadales, por Sector y estrato, resumen de análisis Anova y prueba de tukey	33

Índice de figuras

Figura 1: Area de estudio, sector Boca, Marimelli y Puelo	34
Figura 2: Grafico de índice de condición relativo, por sector y estrato ...	34
Figura 3: Grafico de índice gonadosomático, por sector y estrato	35
Figura 4: Perfiles de temperatura y salinidad	36
Figura 5: Concentraciones de clorofila-a	37
Figura 6: Concentraciones de seston orgánico	38
Figura 7: Frecuencia de los estados gametogénicos, machos y hembras	39
Figura 8: Microfotografías de cortes histológicos de macho, <i>M.</i> <i>chilensis</i>	41
Figura 9: Microfotografías de cortes histológicos de Hembra, <i>M.</i> <i>Chilensis</i>	42
Figura 10: Correlación entre estado de desarrollo e índice gonadosomático	43

Resumen

El recurso *Mytilus chilensis* es el principal molusco cultivado en Chile y representa una fracción importante de nuestra acuicultura. Inestables captaciones han afectado a esta industria en los últimos años, generando bajas en la producción e impulsando una serie de estudios acerca de la dinámica reproductiva y los procesos físico-químicos que influyen en los bancos naturales de esta especie. Con el propósito de conocer y comparar el ciclo reproductivo de *Mytilus chilensis*, y establecer su relación con las variables ambientales se escogieron tres sectores del Estuario Reloncavi (Boca, Marimelli y Puelo). Allí se muestrearon mensualmente individuos adultos de la zona intermareal y submareal, entre septiembre 2013 y mayo 2014, y se obtuvieron el índice gonadosomático (IG) e índice de condición relativo (ICr). Para estudiar el estado gametogénico de los individuos se realizaron cortes histológicos de la región media de la gónada. Variables ambientales se registraron cada 15 días aproximadamente, para lo cual la columna de agua se dividió en dos estratos; el primero de 0-5 m y el segundo de 5-15 m. Se observó actividad reproductiva en los tres sectores estudiados, con desoves en primavera-verano. De acuerdo al análisis estadístico se estableció que los individuos del sector Boca presentaron mayor índice Gonadosomático y mejores índices de condición relativo, seguidos por el sector Marimelli y por último Puelo. En los tres sectores se observó mayor ICr e IG en los individuos del intermareal con respecto a los del submareal, diferencias que podrían atribuirse a la oferta de alimento. Además, se demostró que estos índices no son buenos indicadores del estado de desarrollo de los individuos.

Abstract

Mytilus chilensis is the principal farmed shellfish in Chile and represent a very important fraction of aquaculture production in Chile. Unstable seed collection have affected this activity the last years, generating low in the production it also boosted a number of studies about reproductive dynamic and physical-chemical processes that have influence in the natural beds of this species. with the purpose of study the reproductive cycle of *Mytilus chilensis*, and understand their relationship with the environmental variables three sectors of the Relocanvi estuary were studied (Boca, Marimelli and Puelo). In each of these places 30 adult individuals were collected monthly in the intertidal and subtidal zone, between september 2013 and may 2014. From these samples were obtained the gonadosomatic index (IG), relative condition index (ICr), and the gametogenic state of the individuals. Environmental variables in the water column were recorded every fifteen days approximately, focusing in two layers; the first of 0-5 m and the second od 5-15 m. Reproductive activity was observed in three sectors studied, with spawning in spring-summer. According to statistical analysis it was established that the individuals of the Boca sector present a higher IG and better ICr, follow by mussels of Marimeli and the last Puelo. Besides, in the three sectors were observed higher ICr and IG in intertidal individuals compare with those in subtidal, which could be explained by differences in food supply. Also It was demonstrated that IG and ICr are not good indicators of gametogenic development of mussels.

Introducción

El recurso *Mytilus chilensis* es una especie de molusco endémica de Chile, cuyo cultivo se desarrolla desde la década de 1960. Para el año 2014, la producción acuícola de chorito alcanzó las 238.088 toneladas, las cuales representan el 96,6% de la producción de moluscos y un 19,6% del total de la acuicultura chilena para ese año (Sernapesca 2015).

Mytilus chilensis (Húpe 1854) es un mitílido (Molusca Bivalvia) cuya distribución geográfica en Chile ha sido descrita entre Iquique (20° 13' S; 70° 10' W) y el Estrecho de Magallanes (Osorio, 1979) presentándose desde el intermareal bajo hasta 25 m de profundidad (Brattström & Johanssen, 1983). *M. chilensis* es una especie gonocórica con fecundación externa y sin dimorfismo sexual. El macho se puede reconocer por presentar la gónada de color crema amarillenta y la hembra por su color crema anaranjado (Bahamondes & Muñoz, 1998; Clasing *et al.*, 1998). Excepcionalmente se encuentran ejemplares hermafroditas que presentan gónadas con ambos colores en áreas separadas (Lozada, 1967).

El cultivo de *Mytilus. chilensis* cuyo 99.9% de la producción se concentra en aguas interiores de Chiloé, se sustenta exclusivamente con captación de larvas pediveliger desde el medio natural, tal como se hace tradicionalmente con los cultivos de mitílidos, donde la captación natural es considerada el segmento más importante de esta actividad (LeBlanc *et al.*., 2003). Inestables captaciones han afectado a la X región en los últimos años, generando bajas en la producción e impulsando una serie de estudios acerca de las variables ambientales y los procesos físico-químicos que afectan la reproducción y la dinámica larval y post-larval de la especie.

En general, el ciclo reproductivo de invertebrados marinos es afectado por factores ambientales tales como la latitud, temperatura del agua, salinidad, fotoperíodo y la disponibilidad de alimento, entre otros (Seed 1976, Giese & Pearse 1977, Mackie 1984). Pero también son decisivos factores endógenos propios de la especie, como nutrientes almacenados, carga genética y hormonal (Galtsoff, 1964; Sastry, 1979; Mackie, 1984; Thompson *et al.*, 1996; Avellanal *et*

al., 2002; Thorarinsdóttir & Gunnarsson, 2003). Sin embargo, diversos estudios sugieren que la temperatura y la disponibilidad de alimento serían los principales factores que regulan el ciclo gametogénico de los bivalvos marinos (Macdonald & Thompson, 1986; Malachowsky, 1988; Jaramillo *et al.*, 1993; Seed, 1976, Jaramillo & Navarro, 1995)

Esta especie al igual que otros bivalvos, presenta fecundación externa (Chipperfield, 1953). Posteriormente se forma la larva trocófora de vida breve, que da paso a la larva veliger de vida planctónica (Bautista, 1988). La fijación tiene lugar cuando la larva próxima a metamorfosearse y convertirse en juvenil, encuentra un sustrato adecuado para adherirse, pierde el velo, y se produce una reestructuración general de todos los órganos (larva pediveliger) (Gilbert, 1991). El patrón de abundancia larval de los mitílidos se ha relacionado con el desove de la población adulta local (Bayne, 1976) donde se ve afectado por variaciones interanuales en los procesos reproductivos (Ekman, 1996). En el aspecto reproductivo, Winter *et al.* (1984) determinaron que esta especie tiene un ciclo gametogénico anual con desoves en primavera-verano, presentándose individuos maduros principalmente en noviembre-diciembre en el sur de Chile. Sin embargo, se ha observado mitílidos maduros en época invernal (julio-agosto-septiembre) (Jaramillo & Navarro, 1995; Oyarzún *et al.*, 2010), Por otra parte se debe considerar que el ciclo reproductivo de las diferentes especies de bivalvos son únicos para cada población, y varían de acuerdo a la locación geográfica (Sastry, 1979).

El Fiordo de Reloncavi pertenece al mar interior de la X región de Chile, y está fuertemente influenciado por los afluentes del Río Petrohue, Cochamo, y Puelo, lo cual lo transforma también en un Estuario. Además es afectado por corrientes de marea y se caracteriza por su marcada picnoclina. Esto genera gradientes en la columna de agua los cuales pueden ser importantes para la distribución de plancton en sistemas estratificados como los que se observan en el Mar Interior de Chile (Molinet *et al.* 2005; Molinet *et al.* 2008).

A pesar de la importancia de *Mytilus chilensis* como recurso y del desarrollo de la acuicultura, el sector industrial se basa en conocimientos muy limitados, que más

bien, son el resultado de la observación empírica de quienes cultivan, y no acerca de las condiciones que ofrece el sistema, la dinámica reproductiva de la especie y factores que la determinan. Año a año no existe certeza con respecto al periodo de maduración y eventos de desove en los bancos naturales, por tanto, la puesta de colectores, su longitud, profundidad, entre otros, son solo algunos factores o puntos críticos a la hora de comenzar la nueva temporada de cultivo.

1. Hipótesis

El comportamiento reproductivo de *Mytilus chilensis* del Estuario Reloncavi, es afectado por las condiciones ambientales en los sectores de Boca, Marimelli y Puelo, por lo tanto se espera observar diferencias en el estado desarrollo de la gónada, el índice de condición e índice gonádico, asociado a una diferencia en la oferta de alimento y condiciones ambientales de *Mytilus chilensis* habitando las distintas zonas y estratos del área de estudio.

2. Objetivos:

a) Objetivo general:

- Comparar el comportamiento reproductivo de los bancos naturales de *Mytilus chilensis* en tres sectores del Estuario Reloncavi y su relación con variables ambientales.

b) Objetivos específicos:

- Determinar la dinámica de la reproducción e índices de condición de *Mytilus chilensis* recolectados en el intermareal y en el submareal del estuario Reloncavi durante la temporada sep-2013-abr2014.
- Caracterizar la oferta de alimento y variables ambientales de la columna de agua en el área de estudio
- Relacionar las variables ambientales con el comportamiento reproductivo de *Mytilus chilensis* durante la temporada de estudio.

Metodología

1. Área de estudio: La zona de estudio corresponde a la zona del estuario de Reloncaví. Este se encuentra localizado entre $41^{\circ} 23'S$ y los $41^{\circ} 45'S$ centrado en los $072^{\circ} 30'W$. El fiordo posee un largo desde la cabeza a la boca de 55 km, con un ancho de 3 km en su parte más ancha (Valle-Levinson et al. 2007) (Fig. 1). En el fiordo Reloncaví, Valle-Levinson et al (2007) describieron un flujo de tres capas que consiste en una capa superficial de ~ 8 m de grosor, con una velocidad de 5 cm s^{-1} hacia la boca del fiordo; una capa intermedia de 70 m de grosor, con una velocidad en dirección opuesta de 3 cm s^{-1} y una capa de fondo, bajo los 80 m de profundidad, de 3 cm s^{-1} de flujo hacia fuera del fiordo. Observaciones recientes, realizadas entre junio de 2006 y febrero de 2007 con instrumentos anclados (Pizarro et al, 2007), confirmaron que bajo la capa de agua superficial relativamente dulce existe un flujo medio hacia el interior del fiordo con un máximo ubicado entre 15 y 25 m de profundidad. De acuerdo a la clasificación realizada por Daneri *et al* 2009 se escogieron como representativos tres sectores de la zona de estudio; Boca ($S41^{\circ} 42,593'$; $W 72^{\circ} 32,917'$), Marimelli ($S 41^{\circ} 39,764'$; $W 72^{\circ} 23,497'$) y Puelo ($S 41^{\circ} 30,074'$ $W 72^{\circ} 19,513'$).

2. Recolección y procesamiento de datos:

Para caracterizar la columna de agua se realizaron muestreos cada 10-15 días, (T° , Salinidad, fluorescencia, PH, Oferta de alimento, etc.) y un muestreo mensual de choritos adultos en cada zona y estrato, comenzando en septiembre 2013 hasta Mayo 2014.

Caracterización de la columna de agua

- Seston: Se recolectaron tres muestras por cada sector y estrato (0-5 m y 5-15m). Las muestras fueron almacenadas en botellas de plástico, 1.5 a 2 litros fueron filtrados a $1,2 \mu\text{m}$ con filtros de fibra de vidrio Whatman 47 mm diámetro GF/C ($1,2 \mu\text{m}$ porosidad nominal), los cuales anteriormente fueron quemados a 450°C y

pesados. Los filtros con el material retenido fueron lavados con una solución isotónica de formiato de amonio para eliminar las sales, secados en estufa a 100°C por 24 horas y pesados en una balanza analítica de 0,01 mg de precisión. Finalmente, los filtros fueron quemados a 450°C durante 3 horas y pesados nuevamente para obtener la concentración de seston total y orgánico por unidad de volumen de agua de mar.

- Clorofila-a: Para obtener biomasa fitoplanctónica en cada estación se recolectaron 200 ml de agua de cada muestra, los cuales se filtran a 1,2 µm con filtros de fibra de vidrio (GF-75 MFS, 1,2 µm porosidad nominal, 25 mm de diámetro). Los filtros fueron congelados (-18°C) y mantenidos en sobres de alusa-foil. La estimación de biomasa autotrófica medida como clorofila-a (ug L⁻¹) se estimó mediante el método fluorométrico (Fluorómetro Turner).

- Variables ambientales: En cada muestreo se registraron las variables; oxígeno disuelto, temperatura, salinidad, PH, densidad, presión, entre 0 y 25 m. desplegando un equipo llamado CTD (Conductivity, Temperature and Depth). Posteriormente se utilizó el programa R 2.1.14 (R Development Core Team 2011) para generar contornos que representan los valores registrados en cada lugar y periodo del estudio.

Muestreo de reproductores *Mitylus chilensis*:

Este muestreo se realizó mensualmente y consistió en recolectar choritos de 60-70 mm de longitud desde bancos naturales (al menos 100 por muestra, 200 por sector) por medio de buceo autónomo.

El procesamiento de las muestras consistió en:

- Medir, desvalvar y sexar (observando color y textura de la gónada), para establecer proporción hasta identificar 15 machos y 15 hembras asignándole una clave a cada individuo.
- Obtener peso fresco drenado de la gonada y de la carne.
- Cortar aproximadamente 1 cm. de longitud de la región media de la gónada.

- Almacenar en tubo eppendorf en formalina 5%.

Procedimiento histológico:

Posteriormente las muestras fueron enviadas al laboratorio de Histología del Instituto de Ciencias Marinas y Limnológicas de la Universidad Austral de Chile, donde se realizaron cortes histológicos. La gónada se deshidrató usando una serie ascendente de alcoholes (50°, 70°, 80°, 90°, 95° y 100°), posteriormente aclaradas en butanol e incluidas en parafina histológica, para finalmente ser cortadas en secciones de 7 µm de espesor, transversales al eje del lóbulo de la gónada. Las secciones fueron teñidas con hematoxilina-eosina (Humason, 1962) y finalmente fijadas en una placa portaobjetos.

Lectura de cortes histológicos:

La metodología fue descrita por Ropes, J.W. y Stickney en 1965, y los criterios y categorías utilizados en este trabajo se apegan a los descritos por Jaramillo y Navarro 1995 y Oyarzun et al 2011. Estos autores describen los siguientes cuatro estadios; En Desarrollo, Maduro, Desove y Post-desove.

Hembras:

En desarrollo: se caracteriza por la presencia de ovocitos en diferentes estados de desarrollo adosados a la pared del folículo a través del pedúnculo. Principalmente ovocitos previtelogénicos y vitelogénicos y menor cantidad de gonias y ovocitos maduros. Tejido conectivo soportando los folículos.

Maduro: los folículos se encuentran ocupando la mayor parte del manto. Estos contienen principalmente ovocitos maduros desprendidos de la pared folicular. El tejido interfolicular es casi inexistente.

Desove: los folículos se encuentran parcialmente descargados, con presencia de ovocitos maduros, denotándose rupturas en la pared. Reaparece el tejido interfolicular en conjunto con algunas células fagocíticas.

Post desove: la característica principal es la gran cantidad de tejido conjuntivo y la reducción de los folículos. En su interior se encuentran vacíos con restos celulares degradados que serán reabsorbidos. Presencia de amebocitos. (Fig.8)

Machos:

En desarrollo: presencia de tejido conjuntivo notable y acinos en crecimiento. En su interior se identifica una gran cantidad de espermatogonias en la periferia y espermatocitos I y II en dirección al lumen. Presencia de algunas espermátides.

Maduro: el folículo crecido ocupa todo el manto. En su interior se encuentra una gran abundancia de espermatozoides maduros y una baja cantidad de espermatogonias periféricas.

Desove: el folículo se encuentra reducido, apareciendo tejido interfolicular junto a células fagocíticas. Aparecen residuos de espermatozoides en reabsorción.

Post desove: los folículos están reducidos en tamaño y aparece una mayor cantidad de tejido conjuntivo con células fagocíticas. El lumen del acino se encuentra vacío apareciendo primeros indicios de espermatogénesis (Fig. 9)

Indice Gonadosomático, IG:

A lo largo de todo el periodo de estudio se calculó el IG (índice gonadosomático), el cual se compone de WG (peso drenado de ambas gónadas), y W (peso total drenado de la carne). Formula descrita por Giese y Pierse 1974

$$IGS = \left(\frac{WG}{W} \right) \times 100$$

Índice de condición relativo, ICr:

Este indicador se calculó a lo largo de todo el estudio y establece una relación entre W (peso total drenado de la carne) del individuo versus el peso total medio de la población durante el periodo de estudio.

En dicha ecuación W es el peso observado para una longitud determinada y W_s el peso estándar para esa longitud (Anderson and Neumann 1996).

$$ICr = \frac{W}{W_s}$$

3. Análisis estadístico.

Se analizaron las fluctuaciones de índice gonadosomático e índice de condición relativo a lo largo del periodo. Para ello se obtuvo la media aritmética y la desviación estándar mensuales, y se estimaron las diferencias entre sectores y estratos, a través de un análisis de varianza Anova, y un test de tukey a posteriori. Mediante un modelo lineal se buscó establecer la relación entre los estados de desarrollo de los individuos con respecto a un promedio de IGS.

Se evaluó la significancia de esta relación y se realizó un test de tukey a posteriori.

Para interpretar la interacción entre los estados de desarrollo y el índice gonadosomático se realizó una correlación Mediante el programa de estadística R 2.1.14 (R Development Core Team 2011)

Resultados

A lo largo de todo el estudio se analizó histológicamente un total de 1590 choritos adultos. La longitud valvar fluctuó entre 52 y 86 mm en sector Boca, entre 46 y 89 mm en Marimelli y entre 51 y 90 mm en Puelo.

1. Índice de condición relativo (ICr)

A lo largo de toda la zona de estudio (desde Boca a Puelo) se observaron dos patrones en la condición de los individuos adultos; el primero, la variación temporal que se observó durante los meses de estudio donde existen fluctuaciones en los tres sectores, el segundo es la variación espacial donde la diferencia resultó ser significativa ($P < 0.05$) entre sectores (Tabla 1), y mismo resultado se obtuvo para la comparación entre estratos (Tabla 2). En el sector boca se observaron altos ICr en septiembre 2013, seguido de una baja en el mes de octubre. En el mes de noviembre se observa una fuerte alza que se mantiene hasta el mes de Febrero, por último se observa una caída mantenida desde Marzo al fin del periodo. Similar comportamiento se observa en los choritos del sector Marimelli. Por último en sector Puelo se observan los peores ICr, aquí los individuos del submareal no alcanzaron el 100 % en ningún mes de la temporada (Figura 2) lo que indica su mala condición, y coincide con bajos niveles de clorofila-a y una marcada picnoclina a los 5 m de profundidad.

2. Índice Gonadal o Gonadosomático.

En el sector Boca, el IG en el estrato submareal e intermareal difirieron significativamente ($P < 0.05$) con un promedio de 24.07% y 26.33% respectivamente. En sector Marimelli, el estrato intermareal presentó un promedio de 23.9% mientras que el submareal un 22.11% presentando diferencias significativas ($P < 0.05$) y por último en sector Puelo el promedio para intermareal y submareal fue de 21.67% y 17.27% respectivamente arrojando diferencias significativas ($P < 0.05$). Los más altos IGS con respecto a los otros meses se registraron en diciembre de 2013 y enero de 2014. Además se comparó por medio de Anova y test de comparaciones múltiples Tukey, los tres sectores, y se encontró diferencias significativas, siendo el más alto Boca, seguido por Marimelli y el más bajo Puelo (Fig. 3, Tabla 3)

3. Comportamiento Reproductivo.

En sector Boca, los individuos hembra presentaron estadios maduros entre septiembre y diciembre de 2013 registrando los más altos porcentajes en Septiembre y Diciembre en ambos estratos, aunque en el submareal se extiende hasta Enero 2014 (Fig.7.b). Junto con los individuos maduros predominan los eventos de desove, haciéndose más fuertes en octubre y noviembre 2013 en el Intermareal y Submareal respectivamente. La frecuencia de hembras maduras sufre un fuerte descenso entre Enero y abril de 2014, periodo en el cual se observan en estado de desove y post desove. Hembras y machos “en desarrollo” fueron más abundantes en el intermareal en febrero de 2014 (60%). Finalmente, se observa que en ambos estratos, el porcentaje de hembras maduras aumenta en mayo de 2014, y a su vez los machos, se muestran en “desarrollo” entre marzo y mayo de 2014.

En el sector de Marimelli, se observaron Hembras en estado de madurez durante casi todo el periodo (excepción de Enero), aunque las frecuencias fueron muy distintas entre estratos. En el intermareal los choritos exhibieron altas frecuencias de folículos maduros desde septiembre hasta diciembre de 2013. Mismo comportamiento se observa en el intermareal aunque con más bajos valores de madurez y con individuos en desove durante todo el periodo de estudio. Los machos, presentaron altos porcentajes de individuos maduros y en desove durante la primavera de 2013 y verano 2014, posteriormente predominan los estadios “En desarrollo” y “postdesove” en otoño de 2014.

Por último en sector Puelo, las hembras mostraron altos porcentajes de desove durante todo el periodo, acentuándose en octubre de 2013 y enero de 2014 en ambos estratos. Los machos por su parte, tuvieron dos máximos de madurez en los meses de septiembre y noviembre, luego de esto prevalecen los estadios de desove y postdesove, y al igual que en Boca y Marimelli, la sincronía en los desoves se observó en primavera-verano (Fig. 7 a), b)).

4. Clorofila-a

Boca: Los meses de septiembre y octubre 2013 muestran un alza del pigmento en ambos estratos, la siguiente alza se presenta en Noviembre aunque solo en la capa inferior, por ultimo en Enero 2014 se observa un alza en la capa superficial la que gradualmente disminuye hasta homogeneizarse en Mayo del mismo año.

Marimelli: La misma alza entre Setiembre y Octubre 2013 del sector Boca, se observa en este sector aunque solo en la capa sub-superficial, posteriormente el comportamiento es similar ocurriendo aumento en Noviembre y Enero en los mismos Estratos.

Puelo: Al igual que en Marimelli hubo un aumento de clorofila-a entre Septiembre y Octubre en la capa sub-superficial la que marco los mas altos niveles para este sector.

Cabe destacar que los valores de Clorofila-a fueron mayores en estrato 10-15m hasta Diciembre-Enero, luego el patrón se invierte y los mas altos valores se encuentran en la capa superficial. (Fig.5)

5. Seston Orgánico.

En Boca, este parámetro se comportó relativamente constante entre 0-5m, por el contrario entre 5-15 m existen alzas importantes que bordean los 4 mg/L en Primavera 2013, 8 mg/L en verano 2014 y 3 mg/L en otoño 2014(Fig. 6).

Marimelli: Mismo comportamiento presenta el sector Marimelli hasta el mes de Enero, donde la capa submareal sufre un alza que bordea los 6 mg/L, mismo evento ocurre el mes de Febrero y Marzo pero esta vez en la capa superficial.

Puelo: En este sector la variable Seston orgánico se comportó de manera más regular, se mantuvo cercano a 2 mg/L durante casi todo el periodo de estudio y no se observaron alzas importantes. Aunque al igual que en Boca y Marimelli se observa una leve alza en marzo de 2014 (Fig.6).

6. Temperatura y Salinidad

Boca: Este sector que comprende desde la boca misma del Estuario hasta el sector oeste de la isla Marimelli, muestra bajas temperaturas 9-10°C en Septiembre 2013, las cuales ascienden hacia los meses de verano alcanzando en Febrero 2014 los 18°C y 15°C en la capa superficial (0-5 m) y subsuperficial (5-15m) respectivamente en Mayo 2014 la temperatura cae en ambos estratos llegando a los 11°C. La salinidad como es de esperar se presenta de manera estratificada, en Septiembre 2013 fluctuó entre 9-15 psu. en la capa superficial aumentando de manera gradual con la profundidad y alcanzando 31-32 psu. bajo los 10 m de profundidad. Las fluctuaciones más fuertes se presentaron en noviembre y enero donde se observaron salinidades de 28 psu. en la capa superficial y un aumento en Abril y Mayo con 31 psu. en dicho estrato.

Marimelli: Esta sub-cuenca comprende desde el sector oeste de la Isla Marimelli hasta las cercanías de la desembocadura del Río Puelo, Aquí las temperaturas fueron similares a las del sector Boca con fuertes alzas en Enero y Febrero de 2014 aunque alcanzando los 19°C en la capa superficial, Y descendiendo hasta los 11°C en Mayo del mismo año. La salinidad de la columna de agua mostró una picnoclina muy por debajo que la del sector Boca, aquí se registró solo una fuerte alza de la salinidad en Octubre 2013 dando paso a una gruesa capa de aguas salobres que ocuparon los primeros 10m de profundidad hasta Marzo de 2014 aprox. Donde la picnoclina nuevamente se aloja en los 5m con salinidades de 30-31ppt.

Puelo: Sector que se extiende desde la desembocadura del Río Puelo hasta Cochamo, La temperatura aquí se presentó de manera similar a los otros sectores aunque mostrando valores ligeramente más altos; 19-20°C dominaron los meses de Enero y Febrero 2014 y hacia el mes de Mayo descienden solo hasta 12°C. Con respecto a la salinidad, esta se comportó similar a la del Sector Marimelli aunque de forma aún más marcada con salinidades que no superaron las 11psu. desde Diciembre hasta Marzo de 2014 en la capa superficial. (Fig. 4)

Discusión

A partir de los resultados obtenidos en el presente estudio se puede inferir que los bancos naturales de *Mytilus chilensis* en Estuario Reloncavi, representados por los sectores de Boca, Marimelli y Puelo se encontraban entre septiembre 2013 y mayo de 2014 en reproducción activa. En el sector Boca se observan altas frecuencias de individuos maduros desde septiembre 2013 hasta diciembre-enero 2014 cuando las temperaturas alcanzan 17-18°C, dando paso a la fase de desove y post desove. En el sector Marimelli las hembras con ovocitos maduros decrecieron paulatinamente al acercarse el verano, para dar paso a un desove sincronizado que involucró machos y hembras de ambos estratos en enero de 2014. Después del desove se produjo una fuerte recuperación de individuos maduros, la cual supero el 50% en el submareal y el 30% en el intermareal, en marzo del mismo año, dicha recuperación acelerada podría ser explicada por temperatura y oferta alimentaria favorable para la reproducción. Esta población mostro el mismo comportamiento observado por Oyarzun *et al* (2011) en bahía Yal (42°40'S, 73°38'W) durante el 2008, donde las hembras con ovocitos maduros presentaron sus máximos valores a comienzos de octubre 2007 (41,0%), después, se evidenció una drástica disminución de estas células, aunque la mayor caída porcentual se registró a mediados de enero 2008 (3,6%).Luego se produjo una rápida recuperación que alcanzó un 37% en marzo 2008.

A partir de las observaciones histológicas e índice gonadosomático obtenidos en este estudio, se intentó establecer una relación entre cada estado gametogénico y un promedio de IG que pudiera ser un indicador de la fase reproductiva en la que se encontraban los individuos. Como se puede observar en la tabla N°4, el promedio de IG fluctuó significativamente y no fue proporcional a cada estadio en los diferentes sectores.

En el sector Boca, los mayores promedios de índice gonadosomático representan individuos en desarrollo y postdesovados, mientras que en sector Marimelli a los individuos en ovogénesis activa (En desarrollo) se les atribuye el más bajo promedio de dicho indicador. En Puelo, los mayores promedios de IG

representaron individuos maduros arrojando diferencias significativas con respecto a los estados “desove” y “en desarrollo” (Tabla 4. a), b) y c)). A partir de este análisis se puede inferir que el índice gonadosomático no fue un indicador confiable para determinar la presencia de individuos maduros o eventos de desove, ya que el promedio de IG asociado a un estado gametogénico fluctuó y no se comportó de manera proporcional a los estadios observados. Esta misma conclusión obtuvo Oyarzun *et al* (2011) donde el promedio del IG para cada estadio gametogénico fluctuó para ambas poblaciones estudiadas. En la población Chaihuín, los mayores valores del IG representan individuos maduros, sin embargo, en bahía Yal los valores más altos se asociaron con individuos en estado de desove. Estos autores sostienen que el IG fresco puede ser alterado por factores tales como la cantidad de alimento ingerido previo al muestreo, período de inanición o cantidad de agua presente en las gónadas. Estos factores producen variaciones en el peso de la gónada y/o en el peso corporal obteniendo valores incorrectos que no proporcionan información fidedigna acerca de la condición de los individuos. Sin embargo, para otras especies de mitílidos, altos valores de IG seguidos de bajos valores corresponden al inicio de una emisión gamética, así lo comprobó Oyarzún *et al.*, 2010 con la especie *Perumytilus purpuratus* en las localidades de Huasco y Taltal, Chile. En dichas poblaciones los estados de madurez y el IG tuvieron una correlación directa o positiva, es decir, que mientras más alto el índice gonadosomático, mayor sería el porcentaje de individuos maduros. Misma correlación se hizo en este trabajo aunque de manera separada para machos y hembras (Fig. 10). Las hembras mostraron una correlación negativa para los estados de desove y postdesove, y como es de esperarse la correlación fue positiva para el estado “Maduro”. Sin embargo, la correlación resultó ser inversa para los machos, es decir, a menor IG mayor porcentaje de individuos maduros y un mayor IG se relacionó con un aumento de individuos en estado de postdesove (Fig. 10). Es sabido que los procesos de espermatogénesis y ovogénesis en los moluscos, si bien, requieren de las mismas condiciones ambientales, machos y hembras poseen distintos tiempos de desarrollo (Peredo *et al* 1987). Cuando el porcentaje de ovocitos maduros es bajo,

aumenta el porcentaje de tejido interfolicular o conjuntivo, este tejido es muy importante para el proceso reproductivo ya que además de las funciones normales de protección, sostén, nutrición e inmunidad que éste tejido tiene, se especializa en el almacenamiento de sustancias de reserva, particularmente glucógeno y lípidos neutros (Leeson *et al* 1987). Esto podría explicar la significancia de los altos valores de IG en los machos en estado de postdesove (tabla 4 a), b), c)) dado que en ambos estratos y principalmente en Boca y Marimelli el estado postdesove prevalece a largo del estudio.

El Índice de condición relativo se presentó de manera dispar entre los tres sectores estudiados. Así lo indica el análisis estadístico que arrojó diferencias significativas entre sectores (Tabla 1) y estratos (Tabla 2), siendo los individuos de la boca del estuario los que presentaron la mejor condición, seguidos por una marcada disminución hacia el interior de este. (Boca>Marimelli>Puelo)

Las fluctuaciones en las variables ambientales se reflejan en los organismos que usan estos ambientes como lugares de vida y los mitílidos no son la excepción (Seed 1976). El decrecimiento del índice de condición de *Mytilus chilensis* hacia el interior del Estuario Reloncaví es coincidente con las cantidades dispares de oferta alimenticia entre los tres sectores de la zona de estudio (Fig. 5 y 6).

Estas diferencias en el índice de condición hacia el interior del Estuario Reloncaví podrían confundirse con los efectos del ciclo reproductivo o eventuales desoves, sin embargo, la literatura coincide y confirma que estas bajas corresponden a efectos de condiciones ambientales deficientes y especialmente a la escases de alimento (Aizpun de moreno *et al* 1971; Trevaillon 1971; Vahl 1976; Winter *et al* 1979). Como la oferta alimentaria fue más baja hacia el interior del estuario, es posible asumir que la energía disponible como alimento para los choritos fue deficiente (Chaparro y Winter 1983), pudiéndose observar por el poco aumento del peso de la carne (Bayne 1973).

Wilson y Seed en 1974 trabajaron con *Mytilus edulis* en la zona intermareal y encontraron que el número de ovocitos en los individuos del submareal es mayor que en los del intermareal. Tal situación la determinaría el tiempo de inmersión que corresponde al periodo efectivo de alimentación, sin embargo, los resultados de este estudio demuestran que los individuos del intermareal mostraron un ciclo reproductivo activo, muy similar al de sus pares del submareal y alcanzaron mayores índices de condición e índice gonadosomático.

En base a estos antecedentes podemos inferir que los índices de condición utilizados en este estudio (índice Gonadosomático e Índice de condición relativo), pueden interpretar de manera errada la condición reproductiva y/o el estado de desarrollo gametogénico en el que se encuentran los individuos de *Mytilus chilensis*. No así los cortes histológicos realizados a cada ejemplar, puesto que los mayores índices gonadosomáticos obtenidos en este estudio corresponden a individuos de la zona intermareal y no fueron exclusivos para un solo estado de desarrollo. (Tabla 4)

Oyarzun et al 2011, concluyeron que la mejor técnica para obtener información fidedigna acerca de los estadios gametogénicos de *Mytilus chilensis* es por medio de el volumen de la fracción gamética. Esta técnica de estequiometría permite calcular el porcentaje de tejido reproductivamente activo y excluirlo del tejido interfolicular o conjuntivo.

Conclusiones

Los bancos naturales de *Mytilus chilensis* en el estuario Reloncaví se encontraban reproductivamente activos entre septiembre de 2013 y mayo de 2014. Los individuos del sector Boca, registraron los más altos valores de índice gonadosomático e índice de condición, seguidos por Marimelli y Puelo, además se observaron diferencias significativas entre el estrato submareal e intermareal para los tres sectores.

Las diferencias entre sectores y estratos con respecto al índice de condición relativo e índice gonadosomático, podrían atribuirse a las variaciones en la oferta de alimento observadas a lo largo de este estudio.

Los individuos de los tres sectores alcanzaron la madurez gonadal y se observaron desoves sincronizados en primavera y verano, si bien las hembras extendieron su emisión gamética hasta comienzos de otoño, dicha situación no se observó en los machos.

El índice de condición relativo e índice gonadosomático (construidos con el peso fresco drenado), demostraron no ser buenos indicadores de la fase reproductiva en la que se encuentran los individuos, no así, la técnica de los cortes histológicos, la cual permitió observar y comparar la dinámica reproductiva de los individuos, en los sectores y estratos definidos para este estudio.

Se detectó la presencia de individuos maduros, tanto machos como hembras, de ambos estratos, durante los meses de septiembre y octubre, lo cual pone en cuestión la efectividad del periodo de veda para *Mytilus chilensis* que rige desde 1984 y que impide la explotación de bancos naturales entre el 01 de noviembre y 31 de enero del año siguiente.

Dada la complejidad del medio ambiente y la dependencia de *Mytilus chilensis* a las condiciones que este le ofrece, es importante que la investigación y monitoreo se realicen de forma constante, esto entregaría información actualizada y aumentaría las probabilidades de predecir el comportamiento reproductivo en las áreas de interés.

Bibliografía

- Anderson RO, Neumann RM, 1996, Length, weight and associated structural indices. In: BR Murphy and DW Willis (eds). Fisheries Techniques, Bethesda, Maryland (USA): American Fisheries Society. P. 447-482.
- Aizpun de moreno, J., Moreno. V.J. y Malespina, A., 1971. Estudios sobre el mejillón (*Mytilus platensis* d'Orb) en explotación comercial del sector bonaerense, mar argentino. III. Ciclo anual de los principales componentes bioquímicos. *Carpas*, 5(21): 1-5.
- Avellanal, M.H., E. Jaramillo, E. Clasing, P. Quijon & H. Contreras. 2002. Reproductive cycle of the bivalves *Ensis macha* (Molina, 1782) (Solenidae), *Tagelus dombeii* (Lamarck, 1818) (Solecurtidae), and *Mulinia edulis* (King, 1831) (Mactridae) in southern Chile. *Veliger*, 45(1): 33-44.
- Bahamondes, R.I. & J.E. Muñoz. 1998. Manual de cultivo de mitílidos. Tecnoimprensa Color, Valdivia, 16 pp.
- Bayne B. L. 1973 c. The responses of three species of bivalves mollusc to declining oxygen tension at reduced salinity. *Comp. Biochem. Physiol.*, 45 A: 793-806.
- Bayne B. L. 1976. The biology of mussel larvae. In: B.L. Bayne (ed.). *Marine mussels: their ecology and physiology*. Cambridge University Press. London, pp. 81-120.
- Bautista, C.P. 1988. Moluscos: Tecnología de Cultivo. *Ed. Mundi Prensa*. 25-37 pp.
- Brattström, H. & A. Johanssen. 1983. Ecological and regional zoogeography of the marine benthic fauna of Chile. *Sarsia*, 68: 289-339.
- Chipperfield, P.N.L. 1953. Observations on the breeding and settlement of *Mytilus edulis* in British waters. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, 32: 449-176.
- Chaparro y Winter. *Latinoamérica Acuicultura* 1983. Efectos de una pobre oferta alimentaria en *Mytilus chilensis* sobre el crecimiento, reproducción y standing stock en la mitilicultura de Yaldad, sur de Chile. 5:2 203-214.

- Clasing, E., A. Oñate & H. Arriagada. 1998. Cultivo de choritos en Chile. Imprenta Universitaria, Valdivia, 36 pp.
- Daneri G, O Pizarro, D Figueroa, P Montero, J Iriarte, H González, E Quiroga, R Ortiz, F J Tapia, R Geisecke, S Pantoja P Hall & R Norambuena. 2009. Evaluación de la capacidad de carga del estuario Reloncaví. 263 pp. Fondo de Investigación Pesquera. Coyhaique.
- Ekman, J.E. 1996. Closing the larval loop: linking larval ecology to the population dynamics of marine invertebrates. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 200: 207-237.
- Galtsoff, P.S. 1964. The American oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. *Fish.Bull*, 64: 1-480.
- Giese, A. C. Y J.S: Pearse. 1974. General principles. In: Giese, A. Pearse, J. S. (eds). *Reproduction of marine invertebrates*. Vol. I. Academic Press, New York/London p. 2-38.
- Giese A & J Pierse. 1977. General principles. In: Giese AC & JS Pierse (eds). *Reproduction of marine invertebrates*, pp. 1-49. Academic Press, New York.
- Gilbert, B. 1991. En: Omega. Ed. Acuicultura. Vol I. La miticultura tradicional. 238-291.
- Hupe, L.H. 1954. Fauna chilena, moluscos. En: Gay,C (ed). Tomo III : Historia física y política de Chile. Maulde & Renou, Paris. *Zool.* 8: 1-500.
- Jaramillo JR & J Navarro. 1995. Reproductive cycle of the Chilean Ribbed Mussel *Aulacomyaater* (Molina, 1782). *Journal of Shellfish Research* 14: 165-171.
- Jaramillo, J.R., J.E. Winter, J. Valencia & A. Rivera. 1993. Gametogenic cycle of the Chiloe scallop (*Chlamysamandi*). *J. Shellfish Res.*, 12(1): 59-64.
- Leeson CR, TS Leeson & AA Paparo. 1987. *Histología*, 618pp. Interamericana, México.
- Lozada, L. E. 1967. Informe sobre madurez sexual y crecimiento de la población de *Mytilus chilensis* (Húpe, 1854) en Nercón, Estero de Castro, Chiloe: Contribución al estudio de la cholga *Aulacomya Ater* en Putemún. *Biol. Pesq.* :3-38.

- Lozada E & P Reyes. 1981. Reproductive biology of a population of *Perumytilus purpuratus* at El Tabo, Chile. *The Veliger* 24: 147-154.
- Mackie, G. 1984. Bivalves. In: A. Tompa, N. Verdonk & J. Van den Biggelaar (eds.). *The Mollusca*. Academic Press, New York, pp. 351-418.
- Macdonald, B.A. & R. Thompson, J. 1986. Influence of temperature and food availability on the ecological energetics of the giant scallop *Placopecten magellanicus*. *Mar. Biol.*, 93: 37-48.
- Malachowsky M. 1988. The reproductive of the rock scallop *Hinnites giganteus* (Grey) in Humboldt Bay California. *Journal of Shellfish Research* 7: 341-348.
- Molinet, C., Arevalo, A., Gonzalez, M., Moreno, C., Arata J., Niklitschek E. 2005. Patterns of larval distribution and settlement of *Concholepas concholepas* (Bruguiere, 1789) (Gastropoda, Muricidae) in fjords and channels of southern Chile. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 78: 409-423
- Molinet, C., Niklitschek, E., Moreno, C., Arevalo, A. 2008. Vertical distribution of early and competent larvae of *Concholepas concholepas* in two systems of Chilean inland seas. *Mar. Biol.* 153: 779-787.
- Osorio, C. 1979. Moluscos marinos de importancia económica en Chile. *Biol. Pesq. Chile* 11: 3-47.
- Oyarzún, P.A., J.E. Toro, R. Jaramillo, R. Guiñez, C. Briones & M. Astorga. 2010. Análisis comparativo del ciclo gametogénico de *Perumytilus purpuratus* (Lamarck, 1819) (Bivalvia: Mytilidae), en las localidades de Taltal y Huasco, norte de Chile. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 45(1): 43-58.
- Oyarzún, P.A., Jorge E. Toro, Roberto Jaramillo, Ricardo Guiñez Carolina Briones & Marcela Astorga 2011. Ciclo gonadal del chorito *Mytilus chilensis* (Bivalvia: Mytilidae) endos localidades del sur de Chile. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 39(3): 512-525, 2011 *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 512 DOI: 10.3856/vol39-issue3-fulltext-11.
- Peredo, S., E. Parada y I. Valdebenito. 1987. Gametogenesis and Reproductive cycle of the Surf Clam *Mesodesma donacium* (Lamarck,

- 1818) (Bivalvia: Mesodesmatidae) a Queule Beach, Southern Chile. The veliger 30 (19): 55- 68.
- Pizarro, O., C. Hormazabal, W. Rojas, E. Navarro (2007). Observaciones directas de corriente mediante ADCPs anclados en el fiordo Reloncaví: Contribución al crucero CIMAR Fiordo XII. Documento Interno, Departamento de Geofísica, Universidad de Concepción.
- Sastry, A.N. 1979. Pelecypoda (excluding Ostreidae). In: A.C. Giese & J.S. Pearse (eds.). Reproduction of marine invertebrates. Academic Press, New York, pp.113-292.
- Seed, R. 1976. Ecology. In: B.L. Bayne (ed.). Marine mussels their ecology and physiology. University Press, Cambridge, pp. 13-69.
- The R Development Core Team (2013) R: A language and environment for statistical computing ISBN 3-900051-07-0. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria
- Thompson, J.T., R.I. Newell, V.S. Kennedy & R. Mann. 1996. Reproductive processes and early development. In: V.S. Kennedy, R.I. Newel & A.F. Eble (eds.). The eastern oyster *Crassostrea virginica*. Maryland Sea Grant Book, pp. 335-370.
- Thorarinsdóttir, G.G. & K. Gunnarsson. 2003. Reproductive cycles of *Mytilusedulis* L. on the west and east coasts of Iceland. Polar Res., 22(2): 217-223.
- Toro JE, RJ Thompson & DJ Innes. 2002. Reproductive isolation and reproductive output in two sympatric mussel species (*Mytilusedulis*, *M. trossulus*) and their hybrids from Newfoundland. Marine Biology 141: 897-909.
- Trevaillon A., Edwards, R.R.C. and Steele J.H., 1970. Dynamics of a benthic bivalve marine food chains. Oliver and Boyd (Ed.) Edinbur, 295.
- Vahl O., 1976. Fecundity and energy cost of reproduction in the scallop (*Chlamys islandea* O.F Kuller). Fjarprosjekter, 4: 1-9.
- Valle-Levinson A, N Sarkar, R Sanay, D Soto & J León (2007) Spatial structure of hydrography and flow in a Chilean fjord, Reloncaví Estuaries.

- Wilson, J.H. and Seed, R., 1974. Reproduction in *Mytilusedulis* L., (Mollusca, bivalvia) in carlingfordLough, Northem, Ireland, Irish Fish. Invest. B (15), 1-30.
- Winter J., Navarro J. y Roman C., 1979. Estudio de las condiciones físico-químicas y fitoplanctónicas en tres mitiliculturas de Chiloe (Tubildao, Huidad y Yaldad). Analisis experimental de la alimentación de *M. chilensis*. Universidad Austral de Chile, Valdivia, 35.
- Winter, j. e., j. e. Toro, j. m. Navarro, g. s. Valenzuela y o. Chaparro.1984. Recent development, status and prospects of molluscan aquaculture on the Pacific coast of South America, *Aquaculture*, 39: 95-134.

Anexos

1. Tablas

Tabla 1: Índice de condición relativo obtenido para *Mytilus chilensis* en tres sectores de E. Reloncavi. Resumen de análisis Anova y prueba de Tukey.

Sector	Promedio ICWr	Ds	ANOVA		Prueba de Tukey
			F	P	
Boca	123.6	30.8			A
Marimelli	102.3	21.9	299.93	2.20E-16	B
Puelo	88.1	20.4			C

Tabla 2: Índice de condición relativo obtenido para *Mytilus chilensis* en tres sectores de E. Reloncavi. Resumen de análisis Anova entre estratos.

Sector	Estrato	Promedio ICWr	Ds	ANOVA	
				F	P
Boca	Intermareal	129.1	32.1	19.23	1.42E-05
	Submareal	117.5	28.1		
Marimelli	Intermareal	108.2	24.2	15.02	0.00012
	Submareal	96.5	17.6		
Puelo	Intermareal	96.7	22.0	99.74	2.20E-16
	Submareal	79.4	14.1		

Tabla 3: a) Promedio de Índice gonadosomático (IG), Desviación estándar (Ds) de *Mytilus chilensis* en tres sectores de E. Reloncavi, asociado a estratos Intermareal y Submareal. B) Resumen de análisis Anova.

a)

Sector	Estrato	Promedio	
		IGS (%)	Ds
Boca	Intermareal	26.3	5.8
	Submareal	24.0	6.5
Marimelli	Intermareal	23.9	5.5
	Submareal	22.1	4.4
Puelo	Intermareal	21.6	5.3
	Submareal	17.2	5.1

b)

Sector	Estrato	ANOVA	
		F	P
Boca	Intermareal	21.303	4.98E-06
	Submareal		
Marimelli	Intermareal	14.7536	0.0001372
	Submareal		
Puelo	Intermareal	99.735	2.20E-16
	Submareal		

Tabla 4: Promedio de índice gonadosomático (IG), desviación estándar (Ds) de *Mytilus chilensis* asociado a cuatro estadios gametogénicos, Resumen de análisis Anova y prueba de Tukey. a) Boca, b) Marimelli c) Puelo.

a)

Sector	Estado gametogenico	Promedio		ANOVA		Prueba de Tukey
		IG (%)	Ds	F	P	
Boca Intermareal	Postdesove	27.9	5.8	4.647	0.0035	A
	En desarrollo	26.6	6.0			A
	Maduro	25.1	5.4			B
	Desove	24.8	5.7			B
Boca Submareal	Postdesove	24.8	7.3	2.622	0.0514	
	Maduro	24.6	6.0			
	Desove	23.3	5.7			
	En desarrollo	20.9	6.4			

b)

Sector	Estado gametogenico	Promedio		ANOVA		Prueba de Tukey
		IG (%)	Ds	F	P	
Marimelli Intermareal	Postdesove	25.2	4.8	4.059	0.0076	A
	Maduro	23.9	5.6			A
	Desove	23.1	6.6			B
	En desarrollo	22.5	4.7			B
Marimelli Submareal	Maduro	22.4	4.3	0.358	0.7835	
	Postdesove	22.3	4.8			
	Desove	21.8	4.3			
	En desarrollo	21.8	4.1			

c)

Sector	Estado gametogenico	Promedio		ANOVA		Prueba de Tukey
		IG (%)	Ds	F	P	
Puelo Intermareal	Postdesove	23.3	5.5	5.776	0.0008	A
	Maduro	22.2	5.1			A
	En desarrollo	20.9	4.5			B
	Desove	20.1	5.1			B
Puelo Submareal	Maduro	18.2	5.2	2.487	0.06	
	Postdesove	17.7	5.5			
	En desarrollo	17.0	6.1			
	Desove	16.3	4.7			

2. Figuras

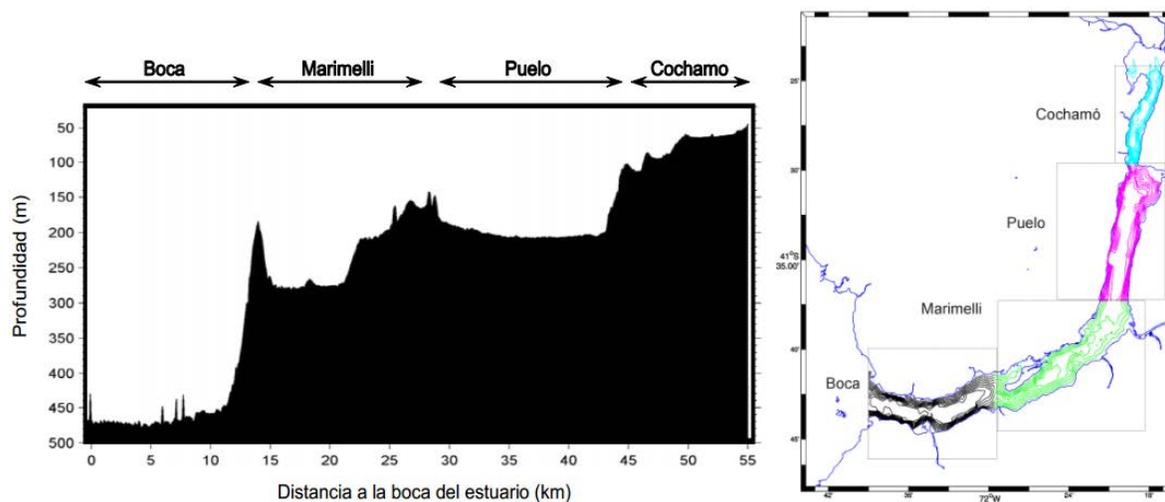


Figura 1: Área de estudio. Zona 1: Boca, Zona 2: Marimelli, Zona 3: Puelo.; Estuario de Reloncavi X región, Chile.

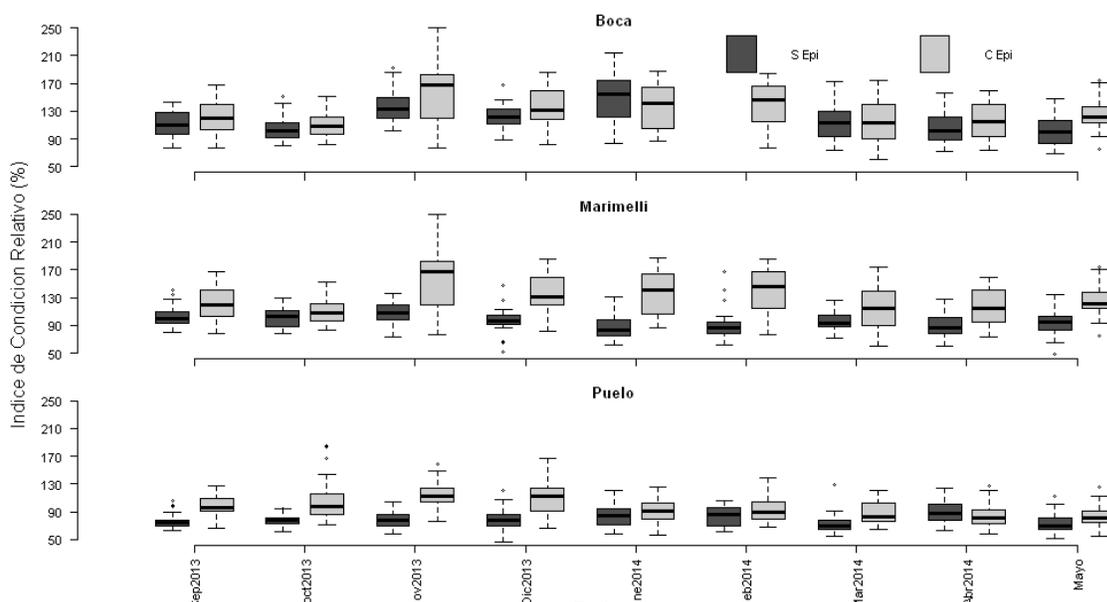


Figura 2: Índice de condición relativo (ICr) estratificado para los sectores Boca, Marimelli y Puelo.

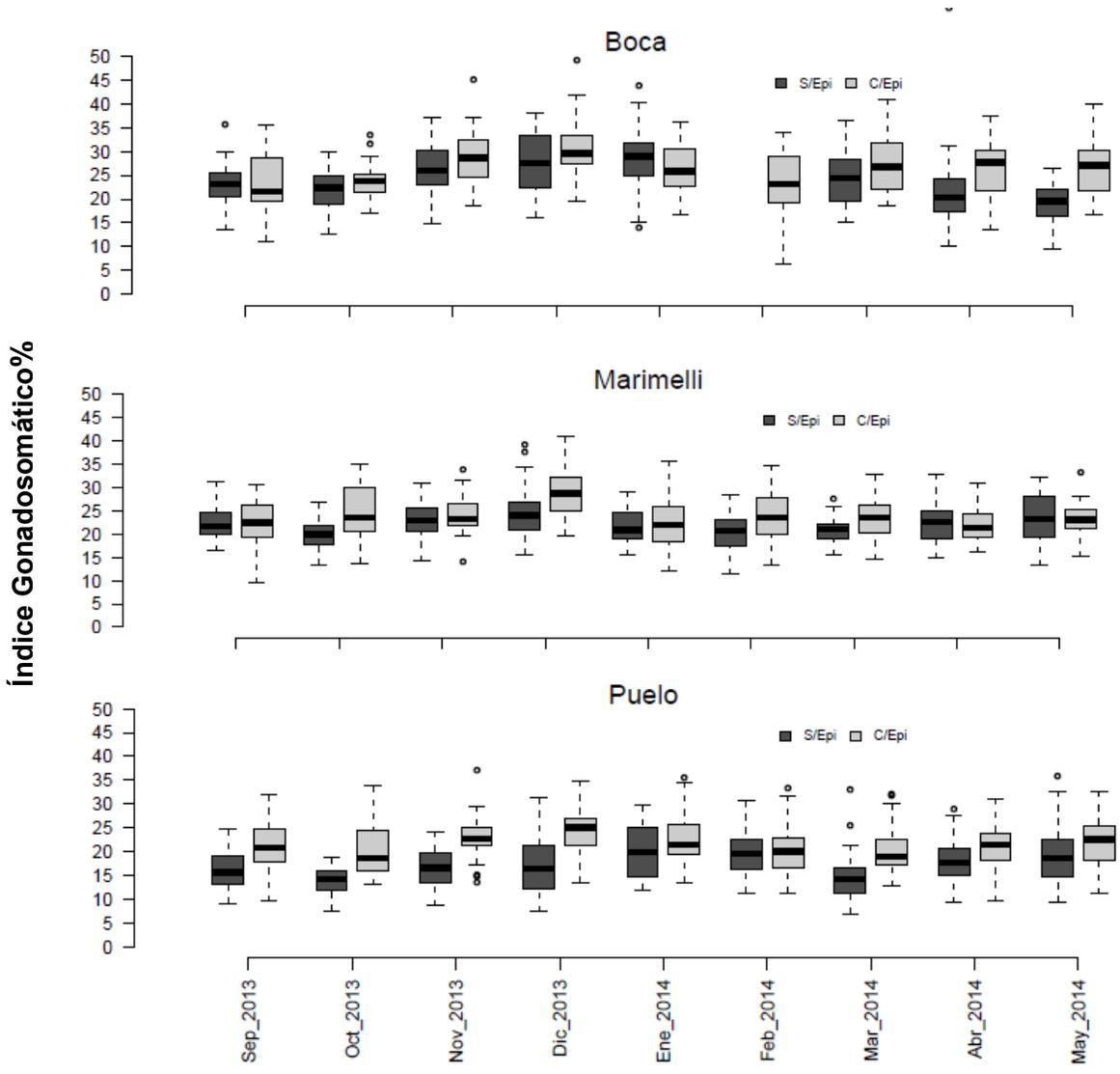


Figura 3: Índice Gonadosomático (IGS) estratificado, para Boca, Marimelli y Puelo.

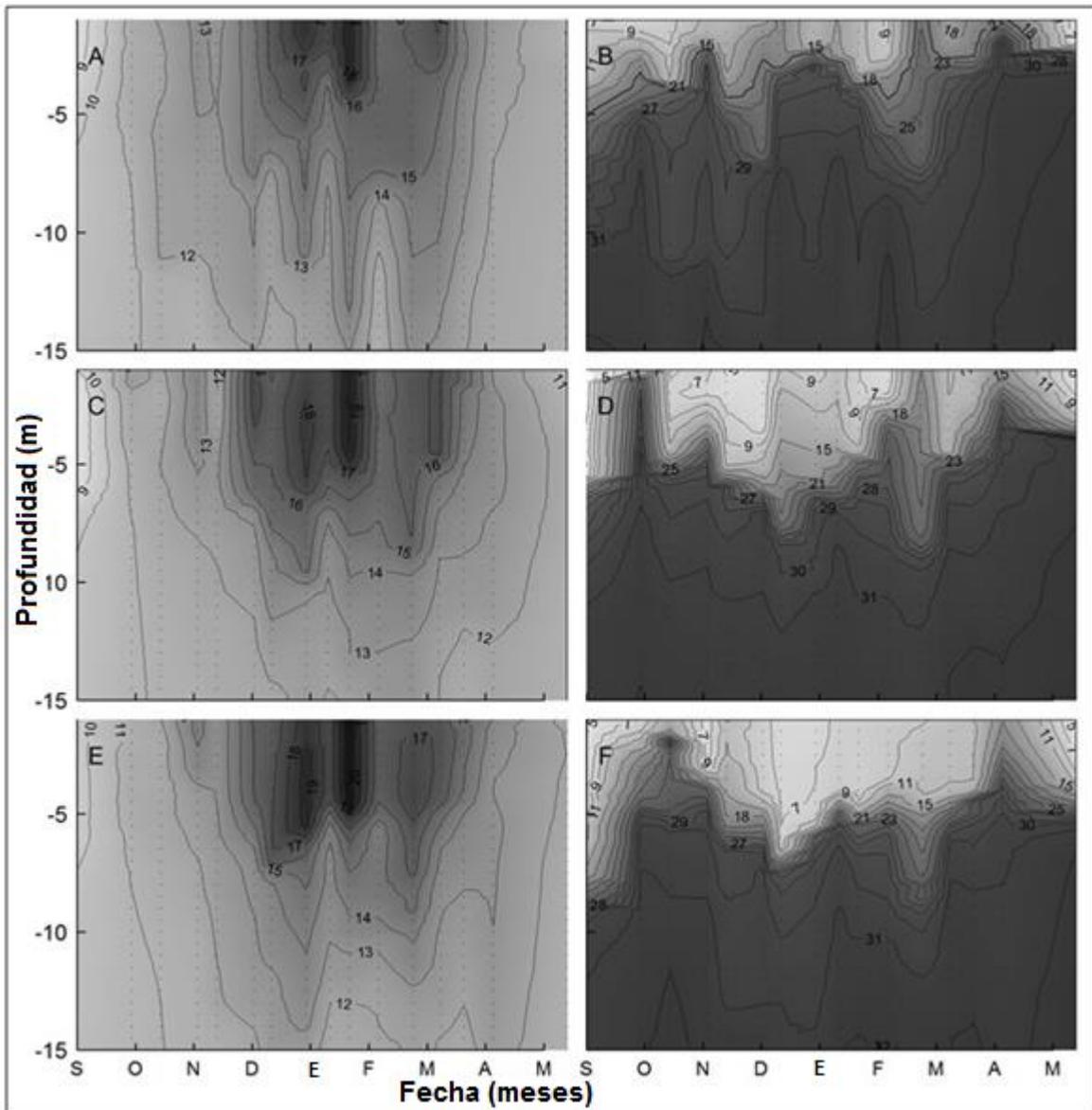


Figura. 4: Contornos de Temperatura y salinidad durante los meses de estudio. A) T° sector Boca, B) Salinidad (ppt) sector boca, C) T° sector Marimelli, D) Salinidad (ppt) sector Marimelli, E) T° sector Puelo, F) Salinidad (ppt) sector Puelo. (Septiembre 2013-Mayo 2014)

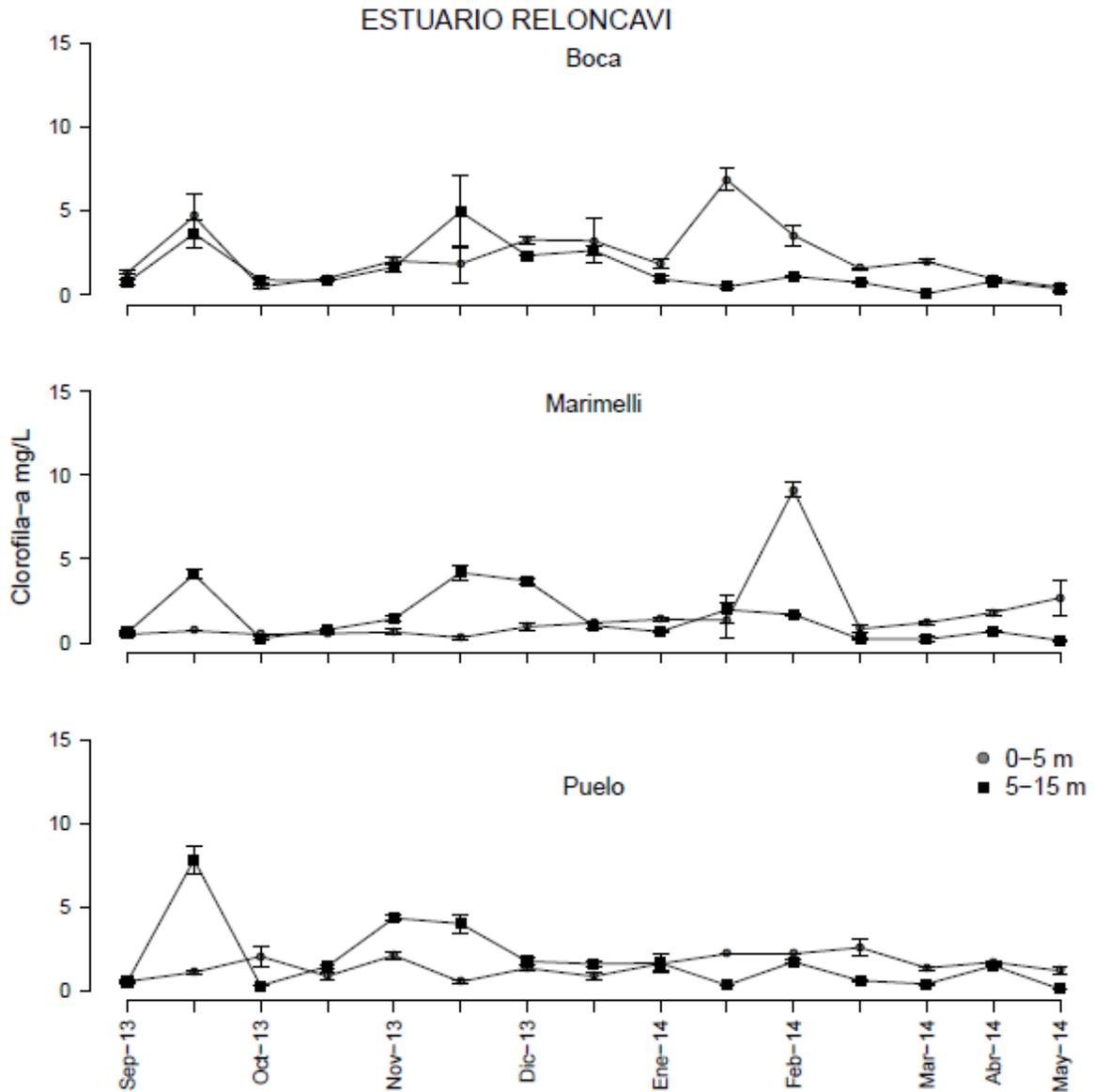


Figura 5: Concentraciones de Clorofila-a ($\mu\text{g/L}$), por sector y estrato durante el periodo de estudio.

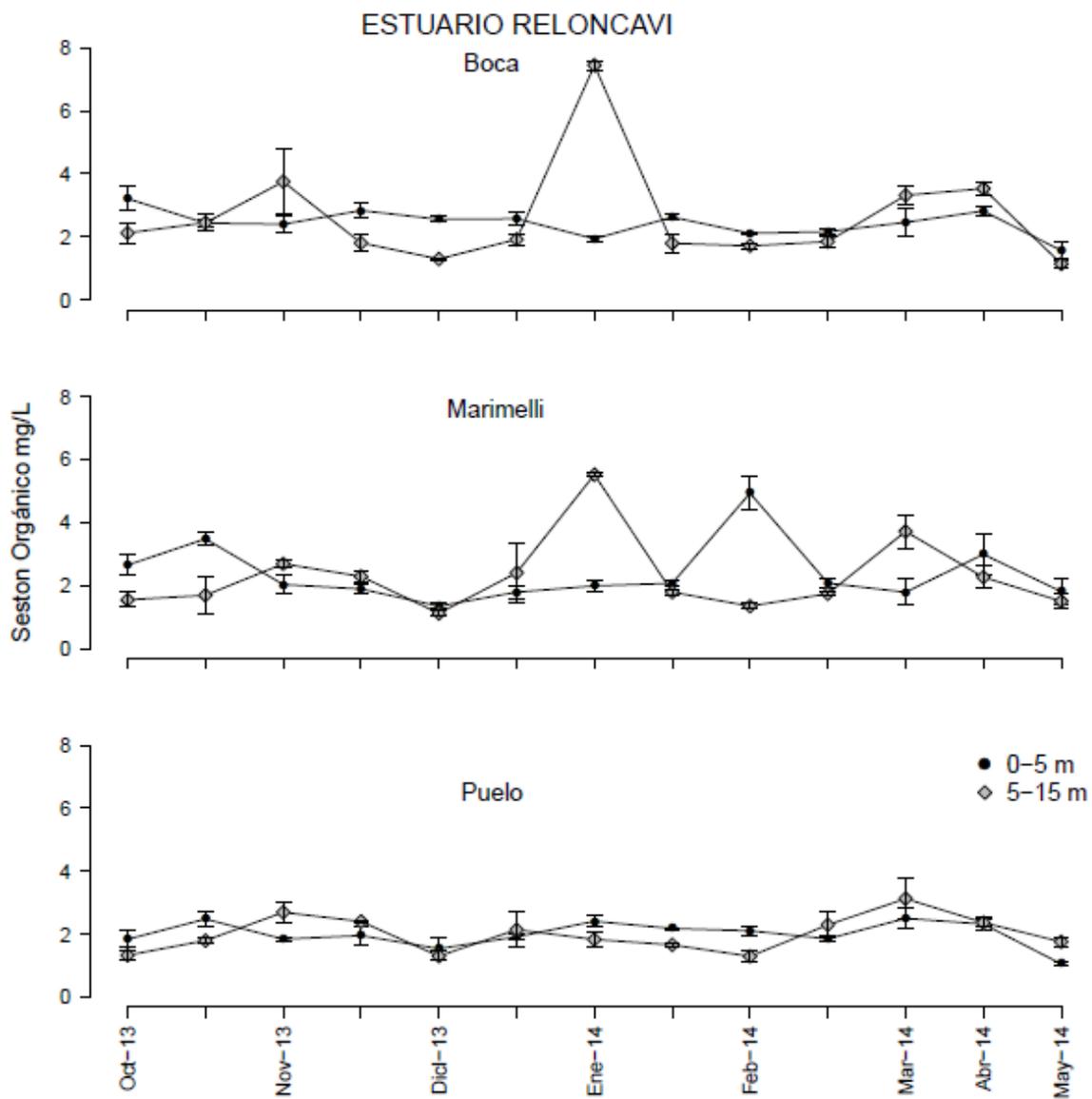


Figura 6: Concentración de seston orgánico (mg/L), por sector y estrato durante el periodo de estudio.

a)

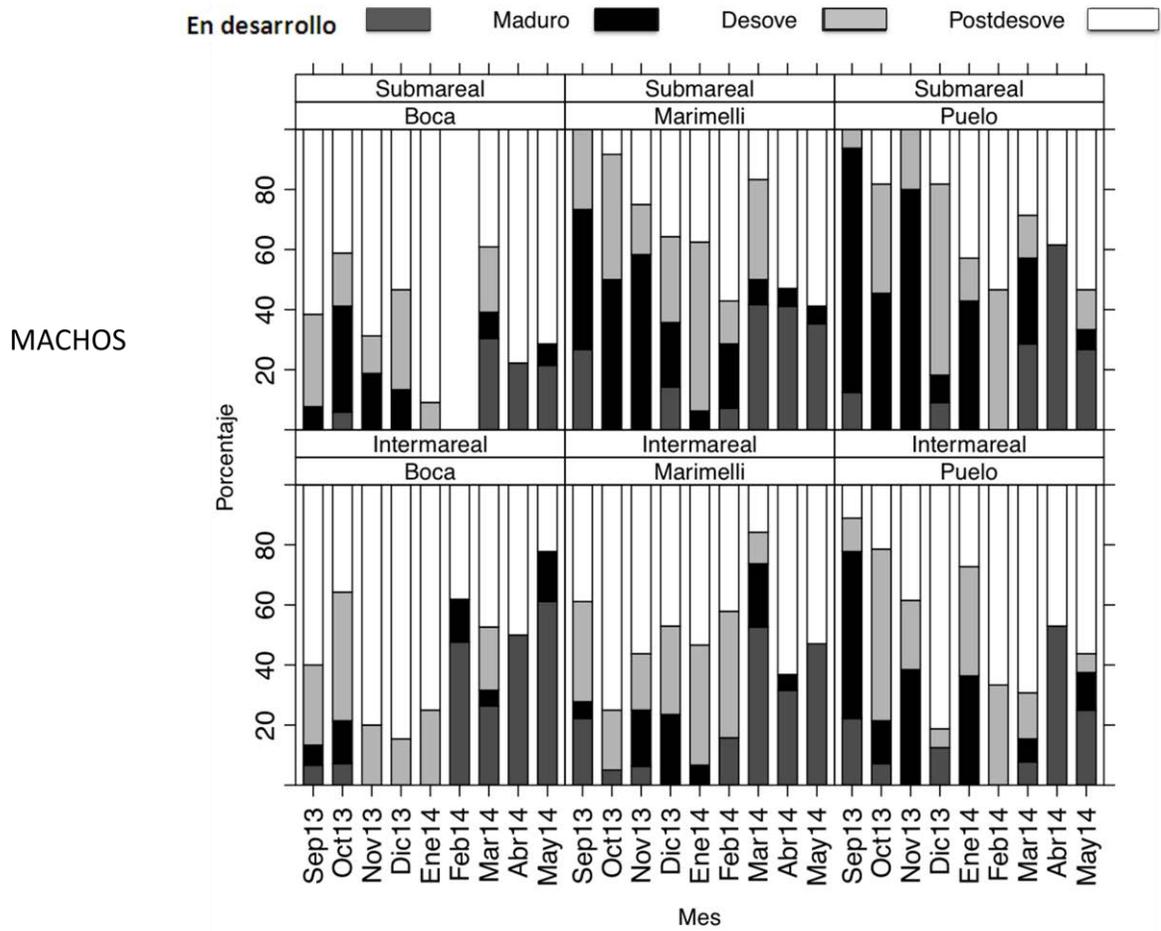


Figura 7 a): Frecuencia de los estadios gametogénicos de *Mytilus chilensis* machos, en tres sectores de E. Reloncavi, separados por estrato; Intermareal y Submareal.

b)

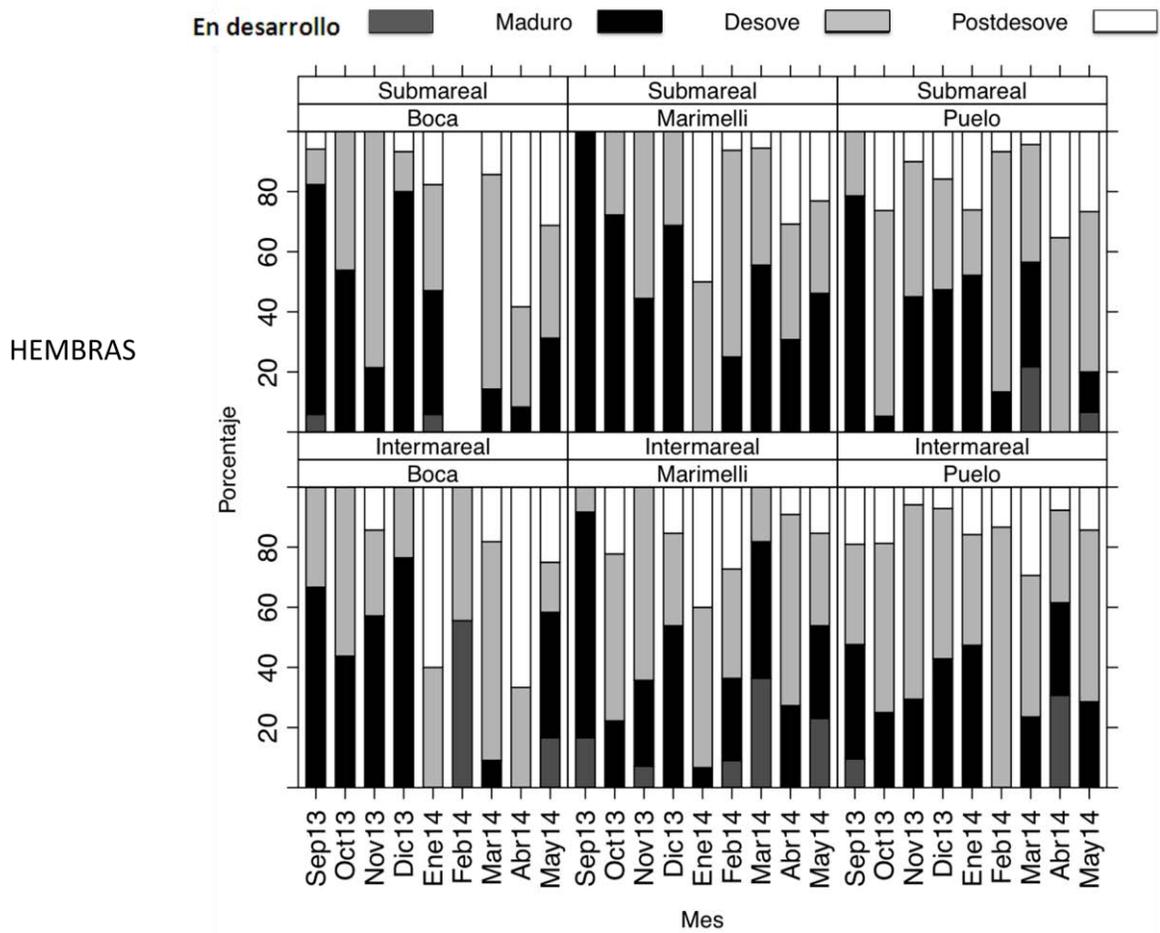


Figura 7 b): Frecuencia de los estadios gametogénicos de *Mytilus chilensis* hembras en tres sectores de E. Reloncavi, separados por estrato; Intermareal y Submareal.

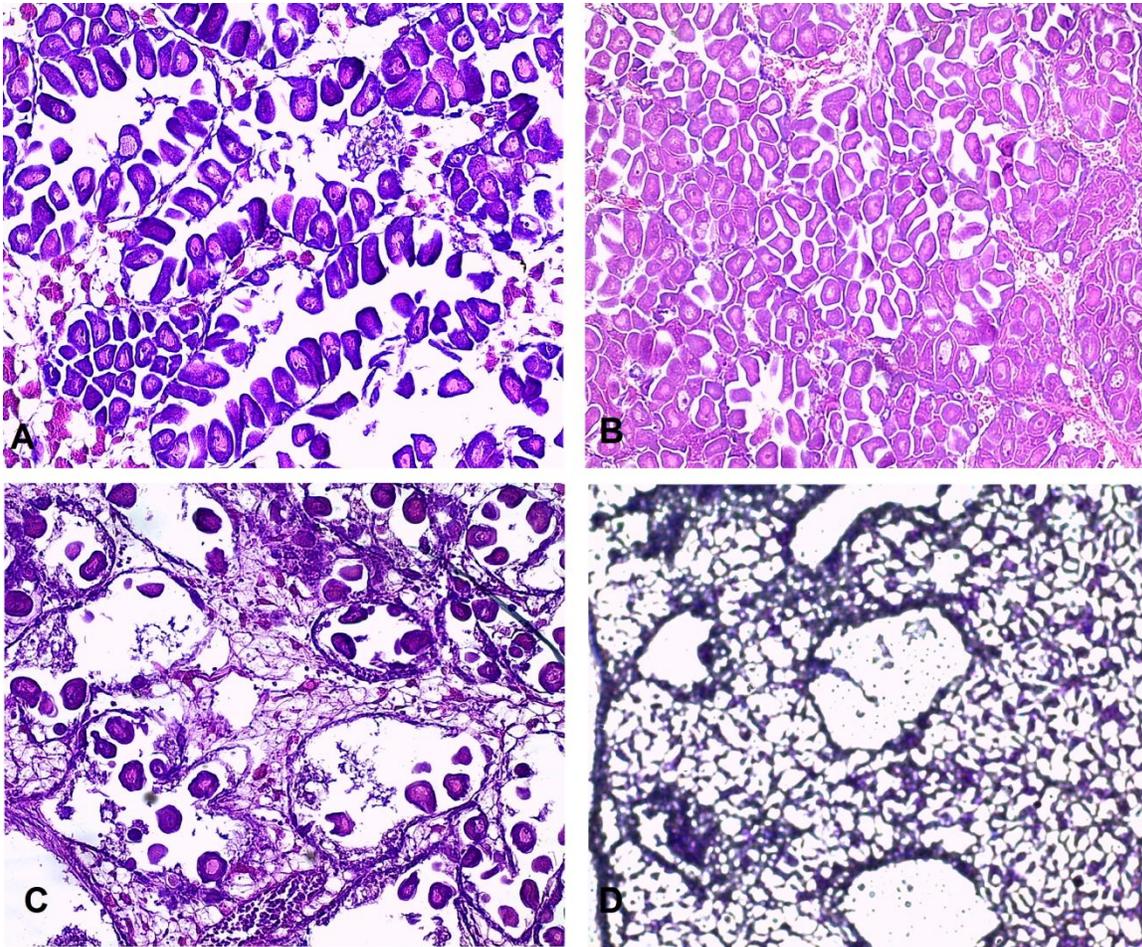


Figura 8: Microfotografías de secciones de gónadas de hembras de *Mytilus chilensis* a) En desarrollo, b) Maduro, c) Desove, d) Postdesove.

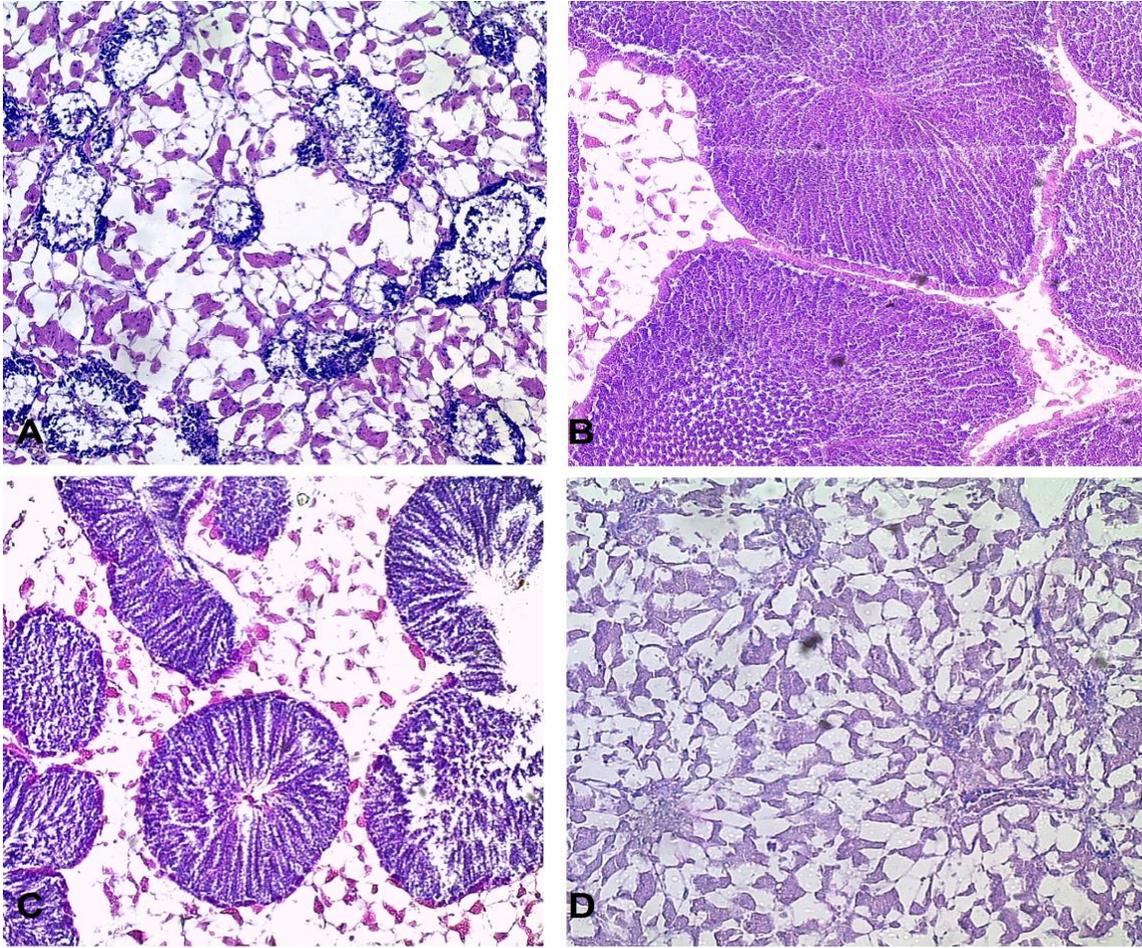


Figura 9: Microfotografías de secciones de gónadas de machos de *Mytilus chilensis*. a) En desarrollo, b) Maduro, c) Desove, d) Postdesove.

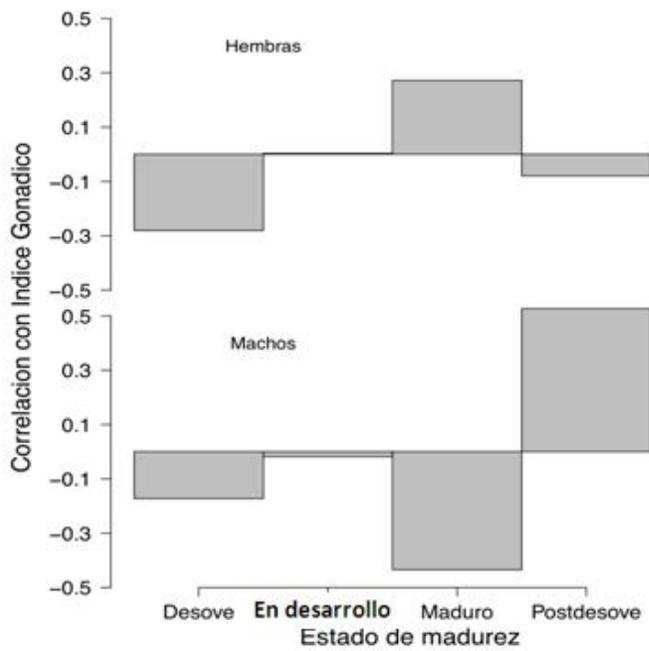


Figura 10: Correlacion entre estado de desarrollo de hembras y machos con respecto al índice gonadosomatico.