



**Universidad de Buenos Aires**  
**Facultad de Ciencias Exactas y Naturales**  
**Departamento de Ecología, Genética y Evolución**

**Patrones y procesos ecológicos que determinan el éxito  
en la colonización de especies exóticas en áreas  
portuarias**

**Tesis para optar por el título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área  
Ciencias Biológicas**

**Lic. Clara Belen Giachetti**

**Directores de tesis: Dra. Evangelina Schwindt**

**Dr. Marcos Tatián**

**Consejero de Estudios: Dra. Laura López Greco**

**Lugar de trabajo: Instituto de Biología de Organismos Marinos  
(IBIOMAR-CONICET)**

**Buenos Aires, 2020**

**Fecha de defensa: 19 de marzo de 2020**

# **Patrones y procesos ecológicos que determinan el éxito en la colonización de especies exóticas en áreas portuarias**

## **Resumen**

Las áreas portuarias son la puerta de entrada de numerosas especies exóticas. Un gran número de estructuras artificiales presentes en los puertos, como boyas y pilotes, constituyen hábitats que favorecen diferencialmente la supervivencia de muchas especies exóticas, entre las que se destacan las ascidias. Entender los patrones y procesos ecológicos que operan en estas comunidades incrustantes en puertos, junto con las variables ambientales claves, es fundamental para la aplicación efectiva de estrategias de manejo. De esta manera, el objetivo de esta tesis es comprender los patrones y procesos ecológicos involucrados en el éxito en la colonización de ascidias exóticas sobre diferentes estructuras antrópicas en un área portuaria. A través de muestreos, experimentos a campo y en acuario, y el estudio de su ecología reproductiva, se muestra que el éxito en la colonización de las especies exóticas varía entre estructuras artificiales, debido a la presión de depredación diferencial que presentan. En estructuras flotantes, donde los depredadores bentónicos están ausentes, las ascidias exóticas colonizan de manera exitosa, mientras que lo opuesto ocurre en estructuras fijas al fondo del mar donde los depredadores bentónicos están presentes. Asimismo, los juveniles son los más vulnerables a la depredación, mientras que los adultos son los menos afectados. A su vez, las diferentes especies de ascidias exóticas presentan diferencias temporales en sus abundancias en estructuras fijas, que no serían explicadas por la presencia de depredadores sino por diferencias intrínsecas en las historias de vida. La depredación cumple un rol clave en el funcionamiento de los ecosistemas marinos-costeros de áreas portuarias, determinando el éxito en la colonización de las especies exóticas en los distintos tipos de estructuras artificiales.

Palabras claves: depredación, ascidias exóticas, estructuras artificiales, fouling, Atlántico Sudoccidental.

## **Ecological patterns and processes that determine the colonization success of exotic species in port areas**

### **Abstract**

Port areas are the gateway to numerous exotic species. Ports have a large number of artificial structures, such as buoys and pilings, which provide new habitat for several exotic species, differentially favoring their survival. Among these exotic species, ascidians are the most important taxa. Understanding the ecological patterns and processes that act on these fouling communities in port areas, together with the key environmental variables involved, is essential to efficiently apply management strategies. The goal of this thesis is to understand the ecological patterns and processes that determine the colonization success of exotic ascidians on different artificial structures in a port area. Through sampling, field and aquarium experiments, and the study of reproductive ecology of ascidians, it is shown that the colonization success of these organisms varies among artificial structures, due to a differential predation pressure. Exotic ascidians successfully colonize floating structures where benthic predators are absent, while they do not colonize structures that are fixed to sea floor where benthic predators are present. Moreover, juveniles are more vulnerable to predation compared to adults. Different species of exotic ascidians have seasonal differences in their abundance on fixed structures, which could not be explained by the presence of predators, but by intrinsic differences in their reproductive ecology. Predation has a key role in the functioning of marine-coastal ecosystems of port areas, regulating the colonization success of exotic species in different types of artificial structures.

Keywords: predation, exotic ascidians, artificial structures, fouling, Southwestern Atlantic.

## Agradecimientos

En primer lugar, gracias a la Educación Pública y al país que la hace posible, que me formó como la profesional que soy hoy. Gracias al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, por confiar y permitirme iniciarme en este camino. Al CENPAT y al IBIOMAR, por otorgarme el lugar para desarrollar esta tesis. A las instituciones que financiaron este trabajo, la Universidad Nacional de Córdoba (UNC Categoría A SECyT 05/I1602), el CONICET (PIP 508) y la Agencia Nacional para la Promoción de Ciencia y Técnica (PICT 2016/1083). A la Administración Portuaria de Puerto Madryn (APPM), por permitir realizar este estudio en el área portuaria.

Gracias enormes a mis directores, por enseñarme a hacerme dueña de este proyecto. A Marcos, por transmitirme tu amor y pasión por las ascidias y mostrarme que ellas también son bellas. A Evan, por confiar, por la independencia que me diste, que aunque a veces fue difícil de llevar, ahora es lo que más atesoro de estos años juntas.

Al Grupo de Ecología en Ambiente Costeros, por las metas logradas juntos. Ale, gracias por tus consejos inagotables y por insistirnos en preguntarnos constantemente. Colo, por los intercambios compartidos al inicio de este camino. Sofi, Nico, Karito, compañeros de fierro de estos años inolvidables, gracias totales.

A Francisco Sylvester, que fue el primero en escuchar hacia dónde quería marcar mi rumbo, y unió los cabos para que eso sucediera.

A los CPA que estuvieron de diversas maneras. Bocha, Bebo, Néstor, Facu y Fabián, gracias por el trabajo realizado todos los días, por hacer realidad mis diseños metodológicos ahí donde yo no llegaba y por mejorarlos con su inagotable experiencia. A Mariano y Angelina, por su ayuda y trabajo diario en el Acuario Experimental. A Marcelo por su trabajo en el Laboratorio de Histología.

A los especialistas que me tendieron su mano y colaboraron con la identificación de algunas especies: Ximena González Pisani (cangrejos), Martín Brögger (ofiuos), Karen Castro y Paula Raffo (algas). A Gastón Trobbiani y a Alejo Irigoyen, por su colaboración con los videos para las transectas. A Tamara Rubilar y Lucía Epherra por sus consejos durante los primeros pasos en el acuario.

A los tres jurados: Viviana Alder, Gustavo Darrigran y Miriam Pérez, por los valiosos comentarios y sugerencias que enriquecieron significativamente el manuscrito de esta tesis.

A la familia madrynense que elegí y elijo todos los días. Por sostenerme cuando la vida cacheteó, por aguantar mis malos ratos, por las cervezas con las que festejamos todos y cada pequeño y gran logro, y por los brindis que nos hicieron sobrellevar los malos momentos. Por el amor que me dan día a día, y porque aún no puedo creer lo afortunada que fui en encontrarlos a lo largo de este camino. Gracias infinitas, los quiero montones.

A los que dejé en Buenos Aires, pero que estuvieron a mi lado todo este tiempo. A los que entendieron mis viajes relámpago que no alcanzaban para abrazarlos a todos. A los que me recibieron siempre, como si nunca me hubiese ido. Gracias por acompañarme en este camino, como lo hacen siempre.

A mis viejos, nuevamente, por enseñarme a amar esta cosa llamada Ciencia. Por entender que necesitaba volar y por darme las alas para hacerlo. Los quiero viejitos.

A mis hermanos, sin ustedes esta tesis no veía la luz. Por la responsabilidad que llevaron conmigo lejos. Por abrazarme a la distancia, y por alivianarme el peso que ésta traía consigo. Son increíbles, los adoro al infinito.

Nahue, compañero de vida. Por las locuras que empezaron hace 5 años, por imaginarme acá y dar todo de vos para que este momento llegara. Porque aunque la distancia quería empequeñecernos, crecimos acompañándonos. Nunca dejemos de soñar. Te amo.

*A todos, gracias enormes*

*A los que hicieron posible este sueño...  
La Educación Pública y el país que cree en ella.  
Y mis hermanos, mi puerto seguro.*

## Índice

De la lectura de esta tesis .....	3
Capítulo 1: Introducción general .....	6
1.1 Invasiones biológicas .....	6
1.2 Especies exóticas en áreas portuarias .....	7
1.2.1 Monitoreo y detección temprana de especies exóticas en estructuras artificiales .....	8
1.2.2 Factores que afectan la colonización de estructuras artificiales .....	9
1.3 Ascidas como modelo de estudio .....	11
1.3.1 Factores que intervienen en el éxito de invasión .....	11
1.3.2 Impactos económicos y ecológicos de las ascidas exóticas .....	13
1.3.3 Comunidades de ascidas del área portuaria de Puerto Madryn .....	13
1.3.4 Observaciones sobre la sistemática de <i>Ciona intestinalis</i> y <i>C. robusta</i> .....	15
1.4 Área de estudio .....	17
1.4.1 Características ambientales .....	17
1.4.2 Comunidades incrustantes del área portuaria .....	17
1.5 Objetivos e hipótesis .....	19
Capítulo 2: Rol de la depredación en el éxito en la colonización de estructuras artificiales en un puerto templado frío .....	21
2.1 Resumen .....	21
2.2 Introducción .....	22
2.3 Materiales y métodos .....	24
2.3.1 Diseño experimental .....	24
2.3.2 Análisis estadísticos .....	26
2.4 Resultados .....	27
2.4.1 Efecto de los depredadores sobre las comunidades incrustantes de diferentes estructuras artificiales .....	27
2.4.2 Efecto de los depredadores sobre el éxito en la colonización de las ascidas exóticas solitarias en diferentes estructuras artificiales .....	31
2.5 Discusión .....	31
2.6 Tablas .....	36
Capítulo 3: Depredadores de juveniles y adultos de <i>Ascidella aspersa</i> y <i>Ciona robusta</i> .....	47
3.1 Resumen .....	47

3.2	Introducción .....	48
3.3	Materiales y métodos .....	50
3.3.1	Depredadores de ascidias adultas .....	50
3.3.2	Depredadores de ascidias juveniles .....	51
3.3.3	Análisis de defensas químicas.....	52
3.3.4	Abundancia de depredadores, de <i>Ascidiella aspersa</i> y de <i>Ciona robusta</i> en el área portuaria .....	52
3.3.5	Análisis estadísticos.....	53
3.4	Resultados .....	55
3.4.1	Depredación sobre adultos y juveniles .....	55
3.4.2	Análisis de defensas químicas.....	57
3.4.3	Abundancia de depredadores, de <i>Ascidiella aspersa</i> y de <i>Ciona robusta</i> en el área portuaria .....	58
3.5	Discusión .....	60
3.6	Tablas .....	65
3.7	Anexo: Consideraciones metodológicas <sup>1</sup> .....	71
Capítulo 4:	Ecología reproductiva de <i>Ascidiella aspersa</i> y <i>Ciona robusta</i> .....	76
4.1.	Resumen.....	76
4.2.	Introducción .....	77
4.3.	Materiales y métodos .....	79
4.3.1	Análisis histológicos .....	79
4.3.2	Relación con las variables ambientales.....	81
4.4.	Resultados .....	83
4.4.1	Ecología reproductiva de <i>Ascidiella aspersa</i> .....	83
4.4.2	Ecología reproductiva de <i>Ciona robusta</i> .....	85
4.5.	Discusión .....	87
Capítulo 5:	Discusión y conclusiones finales .....	95
Bibliografía.....		100



## De la lectura de esta tesis

Esta Tesis Doctoral se divide en cinco capítulos, y en esta sección se resumirá brevemente lo que el lector encontrará en cada uno de ellos.

En el *Capítulo 1* se desarrolla la Introducción general, donde se incluye el marco teórico con las definiciones y las hipótesis de la Ecología de Invasiones necesarias para abordar los objetivos, y discutir los resultados y conclusiones presentados a lo largo de este trabajo. También se presentan las especies utilizadas como modelo, y se realiza una descripción del área de estudio en el cual se desarrolló esta tesis. Finalmente, se enumeran los objetivos y las hipótesis planteados y que guiaron este estudio. En los tres capítulos siguientes se encuentran los resultados obtenidos durante los cinco años de estudio. Estos capítulos están escritos en el formato de una publicación: resumen, introducción, materiales y métodos, resultados y discusión. Al final de cada capítulo, se encuentra un anexo con las tablas citadas a lo largo del mismo.

Los capítulos se encuentran ordenados de acuerdo a cómo fueron analizadas y reflexionadas las preguntas de esta tesis. En el *Capítulo 2* se plantea la pregunta ¿Cuál es el efecto de la depredación sobre el éxito en la colonización de las ascidias exóticas en estructuras artificiales? Se estudia el éxito en la colonización de dos especies de ascidias exóticas en dos tipos de estructuras artificiales diferentes, en presencia y ausencia de depredadores bentónicos y nectónicos. A partir de los resultados obtenidos, en el *Capítulo 3* se procedió a responder ¿Cuáles son los depredadores de ascidias exóticas adultas y juveniles? Para ello se realizaron experimentos en acuario, para los cuales fue necesario poner a punto la metodología utilizada y cuyos detalles se encuentran en el *Anexo: Consideraciones metodológicas*, al final de este capítulo. Teniendo en cuenta a los depredadores evaluados y a las especies de ascidias exóticas, también se plantearon las siguientes preguntas: ¿Cómo varía la abundancia espacial y temporal de cada uno de los depredadores? y ¿Cuál es la variación temporal en la abundancia de ascidias exóticas? En el *Capítulo 4* se plantea la última pregunta de esta tesis, ¿Qué rol cumple la ecología reproductiva de las especies de ascidias exóticas estudiadas en su éxito en la colonización y en los patrones de abundancia observados? Para abordar esta pregunta, se estudió de manera comparativa los ciclos reproductivos

de cada una de las especies de ascidias dominantes. El *Capítulo 5* está dedicado a una discusión general de los resultados, a las principales conclusiones de esta tesis, y a enumerar las nuevas líneas de investigación que se abren a partir de los resultados obtenidos. Por último, el lector encontrará la bibliografía utilizada en una única sección en el final de la tesis.

Como aclaraciones finales, los nombres de las especies mencionadas a lo largo de este trabajo fueron revisados de acuerdo a la base de datos WORMS ([www.marinespecies.org](http://www.marinespecies.org)) para los taxa animales, y de acuerdo a Algaebase ([www.algaebase.org](http://www.algaebase.org)) para las algas. En la sección *Materiales y métodos* del *Capítulo 2* se realizaron las aclaraciones necesarias acerca de las determinaciones taxonómicas de los organismos estudiados. Los nombres de las especies se encuentran acompañados de la autoridad taxonómica solo al ser nombrados por primera vez en el texto (exceptuando las tablas y los epígrafes), y estos trabajos no se encuentran citados en la *Bibliografía*.

# Capítulo 1

## Introducción general



## Capítulo 1: Introducción general

### 1.1 Invasiones biológicas

En los últimos años, la Ecología de Invasiones ha crecido considerablemente, no solo en el conocimiento de los patrones y procesos que involucran la introducción de especies, sino también en el desarrollo de planes de manejo que disminuyan la tasa de introducción de especies a nivel global. Este rápido crecimiento de la disciplina generó una diversidad de términos y definiciones de acuerdo a los ecosistemas bajo estudio.

Las invasiones biológicas son el proceso mediante el cual las especies son trasladadas mediante actividades antrópicas, ya sea intencionalmente o no, a través de barreras biogeográficas que no hubieran atravesado por sí solas (Carlton 1989; Chapman y Carlton 1991; Richardson et al. 2000; Blackburn et al. 2011). Una vez que tiene lugar el arribo de algunos individuos, adultos o larvas, llamados propágulos, éstos deben superar ciertas etapas y barreras (Figura 1.1) para poder establecer una población autosustentable, i.e. que no necesite de la introducción de nuevos propágulos para sustentarse (Lockwood et al. 2009; Blackburn et al. 2011). Si eventualmente esta población logra establecer nuevas poblaciones con descendencia fértil, más allá del área en la cual fue introducida, es considerada una especie exótica invasora (Richardson et al. 2000; Blackburn et al. 2011). Cabe aclarar que existen otras definiciones de especies exóticas invasoras que contemplan el impacto de las mismas. A modo de ejemplo, el Convenio para la Diversidad Biológica reconoce como una especie exótica invasora a aquellas plantas, animales, patógenos u otros organismos no nativos de un ecosistema que pueden tener un impacto económico o ambiental y/o pueden afectar el bienestar humano ([www.cbd.int](http://www.cbd.int)). El uso de estos conceptos que incluyen el impacto permite seleccionar, de la totalidad de especies exóticas reconocidas, aquellas frente a las cuales es necesario aplicar planes de manejo y/o erradicación para evitar o disminuir los impactos de éstas sobre los ecosistemas y/o el bienestar humano. Teniendo en cuenta los objetivos y el alcance de esta tesis, se prefirió utilizar el marco teórico definido en Blackburn et al. (2011), donde se unifican tanto las etapas como las barreras que deben superar las especies exóticas para lograr establecerse y extender su rango de distribución en las regiones donde fueron introducidas (Figura 1.1), y donde no se

contempla el impacto en la definición de especie exótica invasora. Finalmente, es importante definir a las especies criptogénicas, como aquellas especies de las cuales no se ha podido demostrar si son nativas o exóticas (Carlton 1996a).

El transporte de especies ocurre mediante vectores, es decir el medio físico por el cual las especies son transportadas a través de las vías que conectan el área nativa (o donante) con la nueva área de distribución (o área receptora) (Lockwood et al. 2013). En ambientes marinos, los buques a través del agua de lastre y el biofouling (i.e. organismos incrustantes) en sus cascos, son los principales vectores transportando especies a través de las rutas marítimas que recorren, i.e. las vías (Carlton y Geller 1993; Carlton 1996b; Ruiz y Carlton 2003). No solo los buques comerciales internacionales son responsables de este traslado de especies, sino también embarcaciones con fines turísticos y recreativos, como cruceros y veleros, y con fines comerciales regionales (Darbyson et al. 2009a; Murray et al. 2011; Ulman et al. 2019). Así, el transporte de especies no solo es entre regiones del mundo, sino también intrarregional, por ejemplo entre puertos de una misma área o país.

Debido a que las embarcaciones son los principales vectores de transporte de especies exóticas en todo el mundo, las áreas portuarias son las principales zonas, o “hotspots”, para el arribo, establecimiento y dispersión de especies exóticas. Esta característica, y otras que serán discutidas en la sección siguiente, las convierte en sitios ideales para el estudio de los patrones y procesos ecológicos involucrados en el éxito de las especies exóticas en nuevos ambientes, y para la aplicación de planes de manejo y detección temprana de estas especies.

### **1.2 Especies exóticas en áreas portuarias**

Las áreas portuarias están asociadas a una amplia diversidad de vectores de transporte de especies exóticas, como son los buques comerciales, cruceros, o incluso embarcaciones recreativas (veleros, semirrígidos y gomones) (Johnston et al. 2017). El aumento del tráfico marítimo requiere de un mayor desarrollo de estas áreas, por lo que la geomorfología costera está en constante cambio con la construcción de estructuras artificiales, como muelles, marinas, escolleras y una variedad de estructuras flotantes (Airoldi y Bulleri 2011). Estas estructuras proveen de nuevos hábitats que son

colonizados por los organismos incrustantes, presentando no solo diversidades y abundancias mayores que las presentes en áreas rocosas cercanas (Holloway y Connell 2002) sino también albergando una mayor riqueza de especies exóticas (Glasby et al. 2007; Tyrrell y Byers 2007; Dafforn et al. 2012). De hecho, puertos, muelles y marinas, concentran un gran número de estos hábitats artificiales que favorecen la supervivencia y dispersión de especies exóticas (Carlton 1996b; Lambert y Lambert 1998; Glasby y Connell 1999; Marraffini et al. 2017).

### *1.2.1 Monitoreo y detección temprana de especies exóticas en estructuras artificiales*

Existen varios métodos para la detección temprana y monitoreo de especies exóticas. Los muestreos pueden ser cuantitativos, i.e. raspando una superficie conocida de las comunidades incrustantes o tomando fotografías y videos a lo largo de una transecta, o cualitativos, es decir a través de muestreos visuales (Campbell et al. 2007). Los métodos de detección también pueden ser pasivos y consisten en el uso de placas como superficie a colonizar. Esta metodología está siendo utilizada ampliamente en el mundo para detectar nuevas especies exóticas, determinar patrones de distribución y para la detección temprana tanto en áreas protegidas como en portuarias (Campbell et al. 2007; Schwindt et al. 2014; Valentine et al. 2016; Marraffini et al. 2017; entre otros). Por otro lado, se han realizado estudios para evaluar cómo varían las comunidades incrustantes de acuerdo al material de las placas, el color de las mismas y su tamaño (Anderson y Underwood 1994; Ells et al. 2016; Valentine et al. 2016). Con respecto a esto, los tamaños de las placas pueden ser elegidos de acuerdo a la pregunta a responder. Placas de menor tamaño son utilizadas para experimentos cortos donde se estudia el asentamiento y reclutamiento de los organismos, mientras que placas de 1 x 1 m pueden ser utilizadas para estudiar los procesos de sucesión de las comunidades incrustantes durante períodos más largos (Valentine et al. 2016). Por otro lado, mientras el color de las placas no parece afectar de manera notoria el reclutamiento de las larvas (Ells et al. 2016), el material de la cual está hecha la placa afecta el proceso de colonización, tanto en las especies que se asientan como en su abundancia. Por ejemplo, materiales más porosos, como concreto o cerámica, concentran una mayor abundancia de reclutas en contraposición a los materiales de superficie lisa, como aluminio

(Anderson y Underwood 1994). Por esta razón, una metodología habitual es aumentar la rugosidad de la superficie de las placas para favorecer el asentamiento de las larvas.

El método pasivo del uso de placas permite monitorear diferentes áreas de manera continua y simultánea, contribuyendo a detectar incluso especies raras que podrían perderse en muestreos manuales (raspados o transectas) y otorgando una metodología estandarizada para experimentación (Marraffini et al. 2017). A través de esta metodología, se pudieron estudiar los diversos factores que pueden afectar el proceso de colonización, como el efecto de la estacionalidad en áreas templadas (Cifuentes et al. 2007; Cifuentes et al. 2010; Rico et al. 2012; Giachetti et al. 2019), del flujo y movimiento del agua (Connell 2000; Holloway y Connell 2002; Dafforn et al. 2009), de la depredación (Osman y Whitlach 1995; Freestone y Osman 2011; Rico et al. 2015; Kremer y da Rocha 2016; Cheng et al. 2018; Papacostas y Freestone 2019), y del sombreado y orientación de la superficie a colonizar (Glasby 1999a; Glasby 1999b; Glasby 2000), y que serán discutidos a lo largo de esta tesis. Teniendo en cuenta lo planteado, esta tesis se centrará en las comunidades incrustantes del área portuaria de Puerto Madryn, una de las más importantes de la región en términos de tráfico marítimo y riqueza de especies exóticas (Schwindt et al. 2014), utilizando ésta metodología pasiva de placas para estudiar el éxito en la colonización de las especies exóticas en un área portuaria.

### *1.2.2 Factores que afectan la colonización de estructuras artificiales*

Distintos factores intervienen en la colonización de estructuras artificiales, definiendo la riqueza, composición y abundancia de las especies en las comunidades incrustantes. Por ejemplo, la composición de especies varía según la orientación de las placas y la cantidad de luz que reciban (Glasby 1999a; Glasby 2000), mientras que larvas de diferentes especies se asientan diferencialmente según el material de la estructura artificial (Anderson y Underwood 1994). Además, el tiempo de reproducción y reclutamiento de las distintas especies o factores locales como la depredación pueden afectar la composición y abundancia de las especies y la cobertura de las comunidades incrustantes.

Es esperable que, en regiones templadas-frías, donde las fluctuaciones estacionales de temperatura son marcadas, el proceso de sucesión varíe de acuerdo a

la estación en la cual comienza el proceso de colonización (Giachetti et al. 2019). Algunos trabajos muestran que la abundancia de las especies pioneras está afectada por sus picos de reclutamiento (Cifuentes et al. 2010) y que la diversidad de la comunidad resultante está correlacionada significativamente con la temperatura del mar (Rico et al. 2009). De esta manera, la temperatura influye sobre el momento de reproducción de las especies e indirectamente, sobre la competencia interespecífica, la cual modifica la disponibilidad de espacio vacío para el asentamiento (Rico et al. 2009; Lord 2016). Además, factores biológicos locales como la depredación, pueden tener un efecto importante sobre las comunidades incrustantes, con diferentes resultados según el estadio de colonización sobre el que influyan (Osman y Whitlatch 2004; Vieira et al. 2012; Oricchio et al. 2016). En las primeras etapas de la colonización, los depredadores de menor tamaño consumen los reclutas de determinadas especies, con consecuencias diversas sobre la comunidad final. En algunos casos, la depredación aumenta la disponibilidad de espacio vacío donde se establecen especies con mayor capacidad de competencia (Nydam y Stachowicz 2007), pero en otras comunidades esto puede facilitar el desarrollo de especies menos competitivas en áreas localizadas (Osman y Whitlatch 1995; Osman y Whitlatch 2004). En etapas tardías, cuando la disponibilidad de espacio vacío disminuye, solo los depredadores de mayor tamaño pueden tener un efecto significativo sobre las comunidades (Oricchio et al. 2016). Por lo tanto, la estructura de la comunidad durante la sucesión parece estar afectada diferencialmente no solo por el momento en el cual tiene lugar la depredación, sino también por el tipo de depredador que lo hace (Vieira et al. 2012; Rico et al. 2015).

Estudios previos realizados en el área portuaria de Puerto Madryn, muestran un efecto significativo de los macrodepredadores sobre las comunidades incrustantes, sin importar la estación en la cual comienza el proceso de colonización (Giachetti et al. 2019). Al comparar comunidades desarrolladas con y sin depredación se observó que, en presencia de depredadores como erizos, cangrejos y gasterópodos las comunidades presentan una composición de especies diferente, menor diversidad y menor abundancia de especies exóticas, es decir que estos macrodepredadores podrían estar ejerciendo resistencia biótica frente a las especies exóticas. La hipótesis de resistencia biótica postula que las comunidades locales pueden reducir la abundancia, fecundidad, rendimiento reproductivo y/o dispersión de las especies exóticas (Levine et al. 2004;



Rius et al. 2014). Sin embargo, las estructuras estudiadas en ese trabajo se encontraban fijas al sustrato, es decir que eran accesibles para todo tipo de depredador, bentónico o nectónico. Por lo que se abre una nueva pregunta: ¿La resistencia biótica, expresada como presión de depredación, es la misma en estructuras flotantes, donde solo los organismos nectónicos (como peces, moluscos nadadores, etc) se encuentran presentes y los depredadores bentónicos son naturalmente excluidos? Así, estructuras flotantes como boyas, sogas e incluso barcos, pueden presentar comunidades de depredadores diferentes a las de estructuras fijas, y consecuentemente comunidades incrustantes diferentes. Estas observaciones plantean la necesidad de estudiar los procesos que intervienen durante la colonización de distintas estructuras artificiales (fijas y flotantes), en presencia y en ausencia de depredadores.

### **1.3 Ascidas como modelo de estudio**

Entre las especies exóticas, las ascidas son uno de los organismos sésiles más exitosos colonizando nuevos hábitats, además de ser uno de los grupos más importantes en las comunidades incrustantes de áreas portuarias y de las estructuras artificiales que allí se encuentran (Lambert y Lambert 1998; Lambert 2007; Zhan et al. 2015). Esto las hace excelentes modelos para el estudio de patrones y procesos en comunidades invadidas, y por lo cual fueron seleccionadas como grupo de estudio de esta tesis.

#### *1.3.1 Factores que intervienen en el éxito de invasión*

Varios factores de la biología y ecología de las ascidas les permiten ser exitosas, pudiéndose establecer y dispersar en las regiones donde son introducidas (Figura 1.1). En primer lugar, las ascidas presentan una larva libre lecitotrófica de vida corta, lo que restringe la capacidad de dispersión de estos organismos (Lambert 1968; Zhan et al. 2015), haciendo que el transporte antrópico sea una condición necesaria para su introducción y dispersión incluso en distancias cortas (Lambert y Lambert 1998). El transporte puede ser mediante diversos vectores, formando parte del biofouling de cascos de buques comerciales y/o recreativos y de estructuras utilizadas en cultivos marinos u otras estructuras artificiales (Zhan et al. 2015). Además, aunque el agua de lastre no es el vector principal debido a la corta vida libre de las larvas, el sedimento y las paredes de los tanques pueden albergar ascidas adultas (Zhan et al. 2015 y

referencias allí citadas). Estos vectores les permiten traspasar las barreras biogeográficas, condición previa para la introducción de una especie exótica (Figura 1.1). La alta tasa de fecundación y crecimiento que presentan estos organismos (Yamaguchi 1975; Lambert 2007), así como el amplio rango de tolerancia a determinados factores ambientales y a la contaminación (Shenkar y Swalla 2011), hacen que sobrevivan y se reproduzcan en áreas con alta polución, como son los puertos. Estas particularidades les permiten superar las barreras siguientes, la del cautiverio o cultivo, la de la supervivencia y la de la reproducción, logrando establecer nuevas poblaciones autosustentables en la región donde fueron introducidas (Figura 1.1). Finalmente, la dispersión puede tener lugar a través de los mismos vectores de transporte, a los que se suman las embarcaciones recreativas y los barcos comerciales regionales (Darbyson et al. 2009b; Murray et al. 2011; Ulman et al. 2019). A su vez, las estructuras artificiales colonizadas pueden ser una fuente de propágulos o un vector de transporte, en el caso que se las traslade de un lugar a otro (Figura 1.1). Así, las especies exóticas de ascidias logran expandir su rango de distribución más allá de donde fueron introducidas originalmente.

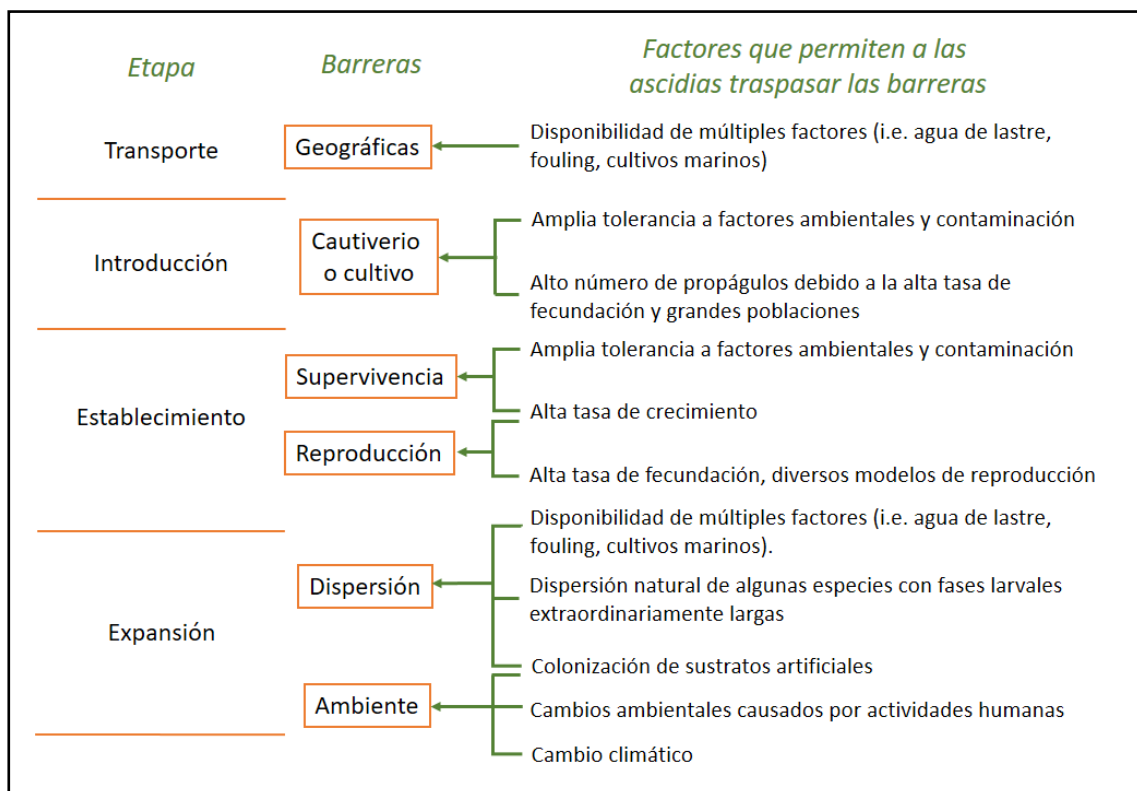


Figura 1.1: Etapas y barreras que las especies exóticas deben superar para establecerse y expandir su rango de distribución en las regiones donde son introducidas según Blackburn et al. (2011), y los factores que permiten a las ascidias superar estas barreras (tomado de Zhan et al. 2015).

### 1.3.2 Impactos económicos y ecológicos de las ascidias exóticas

Los aspectos biológicos y ecológicos discutidos en el apartado anterior, hacen de las ascidias exitosas especies exóticas en varias regiones del mundo, donde varias especie poseen impactos tanto económicos como ecológicos (Lambert y Lambert 1998; Lambert 2007; Zhan et al. 2015). Debido a su rápida tasa de reproducción y crecimiento, pueden dominar estructuras artificiales como las presentes en áreas portuarias y las utilizadas en maricultura (Aldred y Clare 2014; Zhan et al. 2015; Isola 2017). Asimismo, varios trabajos las identifican como responsables del reemplazo de especies y de la pérdida de riqueza y/o diversidad en las comunidades incrustantes donde están presentes (Rius et al. 2011; Zhan et al. 2015; Davis et al. 2018; entre otros). Sin embargo, las ascidias pueden crear nuevos hábitats para organismos epibiontes y bentónicos (Claar et al. 2011). A pesar de que algunas especies de ascidias pueden presentar mecanismos para evitar la epibiosis (Stoecker 1978; Stoecker 1980a; Wahl et al. 1994; McClintock et al. 2004), varios trabajos muestran que pueden aumentar la diversidad de las comunidades macrobentónicas (Monteiro et al. 2002; Castilla et al. 2004; Rimondino et al. 2015; Giachetti et al. 2019). Por otro lado, las ascidias pueden obstruir el movimiento de los depredadores bentónicos, como erizos y gasterópodos, disminuyendo indirectamente la depredación (Nydham y Stachowicz 2007). También pueden modificar el flujo del agua, creando microhábitats con baja velocidad de flujo, lo que favorece el asentamiento de las larvas de los organismos incrustantes (Koehl 1982; Koehl 1984). Sin embargo, no se conoce si estos mecanismos beneficiosos para la diversidad lo son solo hasta cierto umbral de abundancia de ascidias, donde su dominancia podría comenzar a afectar negativamente a las comunidades de organismos asociados. Todos estos aspectos serán discutidos a lo largo de esta tesis.

### 1.3.3 Comunidades de ascidias del área portuaria de Puerto Madryn

En las comunidades incrustantes del puerto de Puerto Madryn (muelle Almirante Storni) se pueden encontrar varias especies de ascidias solitarias exóticas, como *Asciidiella aspersa* (Müller, 1776) y *Ciona robusta* Hoshino & Tokioka, 1967, una especie criptogénica, *Asterocarpa humilis* (Heller, 1878), y varias especies de ascidias exóticas coloniales, como *Diplosoma listerianum* (Milne Edwards, 1841), *Lissoclinum fragile* (Van Name, 1902) y *Botryllus schlosseri* (Pallas, 1766) (Tatián et al. 2010; Schwindt et al. 2014;

Giachetti et al. 2019; Castro et al. *en prensa*). Todas las especies de ascidias solitarias y la mayoría de las coloniales son exóticas o criptogénicas, lo que hace de esta área portuaria un lugar particular para el estudio de los patrones y procesos que hacen al éxito en la colonización de estos organismos.

Entre las especies exóticas más comunes y abundantes se encuentran las ascidias solitarias *A. aspersa* y *C. robusta* (Figura 1.2) (Tatián et al. 2010; Schwindt et al. 2014; Giachetti et al. 2019). Ambas son reconocidas por su capacidad de colonizar con éxito las estructuras artificiales que se encuentran en las áreas portuarias alrededor del mundo (Lambert y Lambert 2003). *Ciona robusta* y *C. intestinalis* (ambas especies fueron consideradas sinónimos hasta 2015, ver Sección 1.3.4), son muy abundantes en estructuras para cultivo de bivalvos en Canadá, dominando estas estructuras y desplazando a otras especies exóticas de ascidias, como *Styela clava* Herdman, 1881 (Carver et al. 2003; Carman et al. 2016; McKenzie et al. 2016). En Argentina, *C. robusta* presenta abundancias altas en el puerto de Mar del Plata (Bastida 1968; Pezzani et al. 1996; Nuñez Velazquez et al. 2017; Albano y Obenat 2019). Sin embargo, a pesar de ser una especie común de las comunidades incrustantes del área portuaria de Puerto Madryn, se observan variaciones estacionales de su abundancia, la cual parece ser menor a la de *A. aspersa* (obs. pers.). Esta especie nativa de Europa, es considerada altamente invasora, y se encuentra introducida en varias regiones del mundo, como el Atlántico Noroeste, Australia, Nueva Zelanda e India (Berrill 1950; Cohen et al. 2000; Tatián et al. 2010; Ma et al. 2019; entre otros). Ambas especies parecen diferenciarse en sus habilidades y estrategias para el asentamiento de sus larvas. Las larvas de *A. aspersa* presentan una mayor movilidad, pueden encontrarse en mayor número y son más resistentes que las de *Ciona* (Rajbanshi y Pederson 2007), las cuales presentan pobres habilidades para el asentamiento (Osman y Whitlatch 1996). Estas diferencias pueden influir en la supervivencia de los juveniles y adultos de ambas especies, ya sea por efectos directos, i.e. depredación, o por efectos indirectos, i.e. desprendimiento a causa del movimiento de otros organismos bentónicos (*bulldozing*, en inglés). A su vez, diferencias en la ecología reproductiva de ambas especies, podrían influir en los patrones estacionales de abundancias (obs. pers.). Si las dos especies se reproducen en el mismo momento, podría existir una competencia por el sustrato en etapas larvales, recurso necesario para el asentamiento y la metamorfosis (Rius et al. 2009b). Por todas

estas razones, en esta tesis se utilizan a ambas especies como modelos para estudiar el éxito en la colonización de especies exóticas.

#### 1.3.4 Observaciones sobre la sistemática de *Ciona intestinalis* y *C. robusta*

*Ciona intestinalis* fue descrita brevemente por primera vez por Linneo (1767) como *Ascidia intestinalis* y su descripción fue ampliada más tarde por Cuvier (1815) y Millar (1953), en el Atlántico Nororiental. *Ciona robusta* fue descrita por primera vez por Hoshino y Tokioka en 1967, siendo una especie nativa de Japón. Ambas fueron sinonimizadas por Hoshino y Nishikawa en 1985, en una revisión del género donde utilizaron como caracteres diagnósticos la presencia/ausencia del apéndice endostilar y la disposición de la abertura faríngeo-epicárdica, ignorada previamente por otros autores (Brunetti et al. 2015). Mediante análisis genéticos de especímenes de varias regiones del mundo, se observó que varias especies crípticas estaban englobadas bajo el nombre *C. intestinalis* (Caputi et al. 2007; Sato et al. 2012, entre otros), identificándose dos clados separados: *C. intestinalis* sp. A y *C. intestinalis* sp. B. Ambos clados se encuentran en simpatria en el Atlántico Noreste, aunque no presentan flujo genético, estando aisladas reproductivamente (Caputi et al. 2007).

A partir de la detección de los dos clados, se analizaron diferencias morfológicas que permitieron identificar a ambas especies en el campo. Sato et al. (2012) identificaron algunos caracteres con cierto grado de solapamiento entre ambos clados. Estos caracteres son: (1) diferencias en la pigmentación de las papilas genitales, (2) prominencias tuberculares sobre la túnica, (3) coloración del cuerpo, (4) pigmentación de los sifones y (5) textura de la túnica. Finalmente, Brunetti et al. (2015) mediante el análisis de ejemplares de ambos clados, identificaron a las prominencias tuberculares presentes sobre la túnica como un carácter único de *C. intestinalis* sp. A. Definieron a ésta como *C. robusta* sensu Hoshino y Tokioka (1967), y a *C. intestinalis* sp. B como *C. intestinalis* sensu Millar (1953). A partir de ese momento varios trabajos estudiaron las áreas de distribución de ambas especies, las cuales ya se encontraban introducidas en varias regiones del mundo identificadas bajo el nombre *C. intestinalis* (Caputi et al. 2007; Brunetti et al. 2015; Bouchemousse et al. 2016).

En Argentina, Amor (1964) fue la primera en registrar a *C. intestinalis* para Mar del Plata. Unos años más tarde, Pisanó et al. (1971) citaron a *C. robusta* para Mar del

Plata y para el Golfo Nuevo. En este trabajo, se presentaron diferencias morfológicas entre ambas especies, que luego fueron adjudicadas a diferencias debidas a las condiciones ambientales por Hoshino y Nishikawa (1985) al sinonimizarlas. Además, en un trabajo posterior, se estudió la auto-fertilización en individuos de *C. intestinalis* y de *C. robusta* recolectados en Mar del Plata (Pisanó y Rengel 1972). Finalmente, Brunetti et al. (2015) definen que la especie identificada como *C. intestinalis* en Pisanó et al. 1972 es en realidad *C. savigny* Herdman, 1882, y confirman la presencia de *C. robusta* (*C. intestinalis* sp. A) en Mar del Plata, tal como fuera comunicado por Caputi et al. (2007). En resumen, *C. robusta* y *C. intestinalis* son exóticas para la costa argentina y se necesitan más estudios para definir su distribución a lo largo de la misma. La presencia de *C. savigny* debiera confirmarse a partir de estudios morfológicos y genéticos.

Durante el desarrollo de esta tesis, se trabajó con individuos pertenecientes a *Ciona robusta*, identificados a partir de la presencia de prominencias tuberculares sobre la túnica (Figura 1.2). Al estudiar la bibliografía y para los trabajos previos al año 2015, es decir cuando *C. intestinalis* y *C. robusta* eran sinónimas, se utilizó la distribución definida en Bouchemousse et al. (2016) para determinar cuál de las dos especies había sido utilizada.

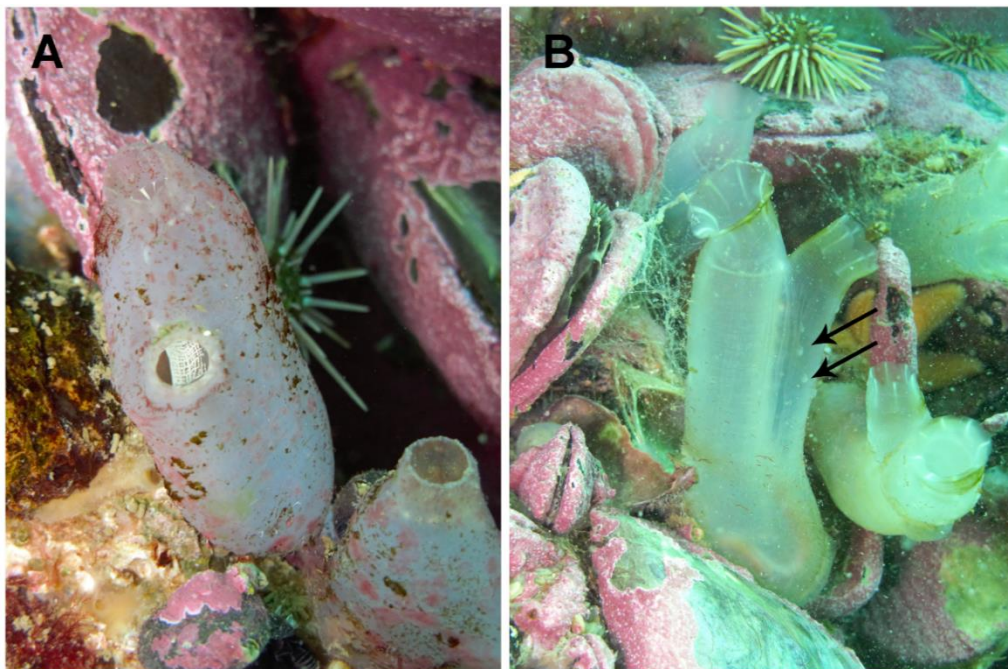


Figura 1.2: Ascidas solitarias exóticas más abundantes de las comunidades incrustantes del área portuaria de Puerto Madryn, (A) *Ascidiella aspersa* y (B) *Ciona robusta* (Flechas: prominencias tuberculares sobre la túnica). Fotos: N. Battini.

## 1.4 Área de estudio

### 1.4.1 Características ambientales

El área portuaria de Puerto Madryn se encuentra situada dentro del Golfo Nuevo (Atlántico Sudoccidental, 42°49' S; 65°04' O). Está caracterizado por aguas calmas y claras, y presenta un régimen de mareas semidiurnas (Servicio de Hidrografía Naval) con una amplitud de 5 m. Tanto los experimentos como la recolección de individuos, se realizaron en un sector con una profundidad máxima de 9 m, y sin movimiento portuario para garantizar la seguridad de los buzos y evitar posibles daños o pérdidas de réplicas (flecha blanca, Figura 1.3). En este sector, la temperatura media anual es de 13°C, con una mínima de 9°C en invierno y una máxima de 19°C en verano. La salinidad se mantiene relativamente constante durante el año, con un valor medio de 34,3‰, aunque desde enero a abril se registra una salinidad mínima de 33‰, y desde abril a enero una salinidad máxima de 35‰ (Giachetti et al. 2019).

El puerto de Puerto Madryn es uno de los puestos patagónicos más importantes en términos de movimiento portuario (Schwindt et al. 2014). Como otras áreas portuarias de la costa argentina, presenta contaminación por TBT con casos de imposex en algunas especies de gasterópodos (Bigatti et al. 2009), aún luego de la prohibición del uso de este compuesto como biocida (Bigatti et al. 2014). Además, se detectó contaminación por metales pesados, como cadmio, zinc, mercurio, cobre (Gil et al. 1999; Giarratano et al. 2013). De hecho, se ha registrado bioacumulación de Zn y Cu en ejemplares de cholgas *Aulacomya atra* (Molina, 1782) del área portuaria (Giarratano et al. 2013). Finalmente, al igual que otros puertos patagónicos, actúa como fuente de hidrocarburos de origen antrópico afectando a las zonas costeras aledañas (Commendatore y Esteves 2007).

### 1.4.2 Comunidades incrustantes del área portuaria

Las comunidades incrustantes del puerto están caracterizadas por la presencia de especies nativas como cholgas y mejillones (*Aulacomya atra* y *Mytilus* spp.) y anémonas (por ejemplo, *Actinothoe lobata* (Carlgren, 1899)). Las cholgas y mejillones se desarrollan exitosamente en los pilotes, con una abundancia mínima de aproximadamente 800 ind/m<sup>2</sup> (datos no publicados, C.B. Giachetti), cubriendo gran

parte de la superficie sub e intermareal de los pilotes y siendo un refugio para pequeños invertebrados, como poliquetos, cangrejos e isópodos. La comunidad de macrodepredadores se encuentra representada por erizos de mar, como *Arbacia dufresnii* (Blainville, 1825); estrellas de mar tales como *Allostichaster capensis* (Perrier, 1875), *Anasterias antarctica* (Lütken, 1857), *Cosmasterias lurida* (Philippi, 1858) y *Cyathra verrucosa* (Philippi, 1857); y cangrejos como *Leucippa pentagona* H. Milne Edwards, 1834, *Halicarcinus planatus* (Fabricius, 1775), *Pachycheles chubutensis* Boschi, 1963. La especie más común de peces asociada a las comunidades incrustantes es *Helcogrammoides cunninghami* (Smitt, 1898), una especie nativa de pequeño tamaño (longitud máxima, 6 cm) que posee una dieta basada en anfípodos (Muñoz y Ojeda 1997). Se pueden encontrar peces de mayor tamaño en las áreas cercanas, tales como *Acanthistius patachonicus* (Jenyns, 1840), *Pseudoperca semifasciata* (Cuvier, 1829) y *Pinguipes brasilianus* Cuvier, 1829, sin embargo, estas son especies bentónicas asociadas a los arrecifes rocosos cercanos (Galván et al. 2009).

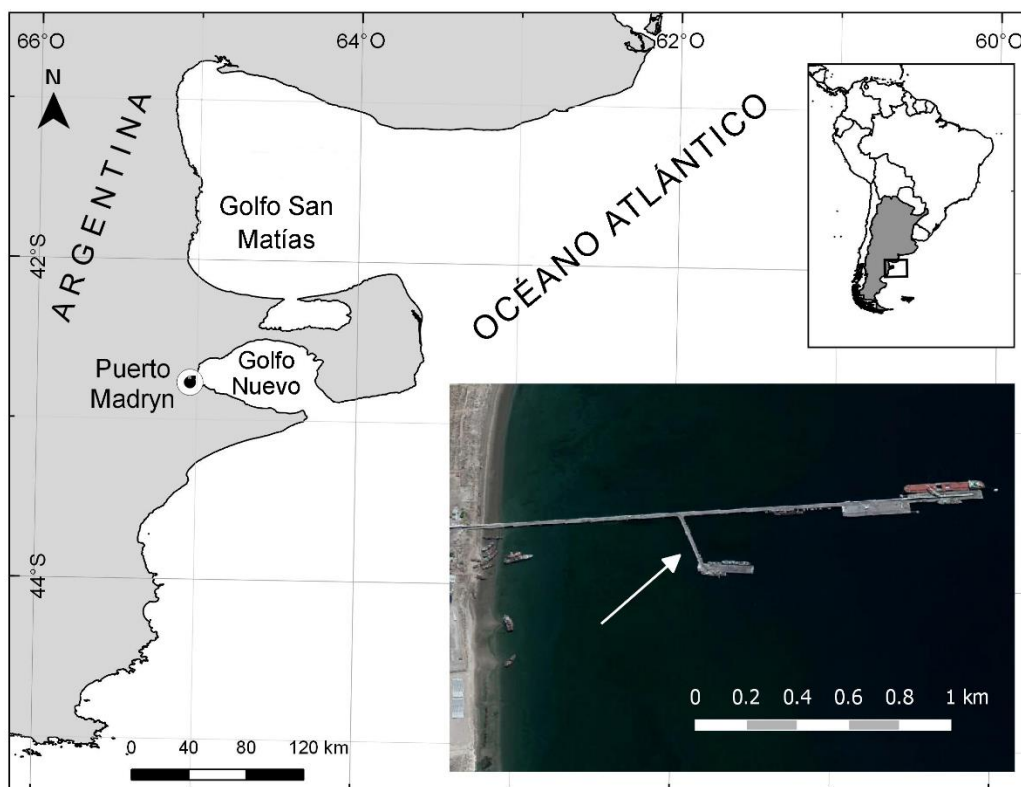


Figura 1.3: Área de estudio. La flecha blanca indica el sector del puerto en el cual se realizó el experimento de campo y donde se recolectaron los individuos utilizados en los experimentos restantes (imagen satelital tomada de Google Earth).



### **1.5 Objetivos e hipótesis**

A partir de lo expuesto, el objetivo de esta tesis es comprender los patrones y procesos ecológicos involucrados en el éxito de la colonización por ascidias exóticas sobre diferentes estructuras antrópicas en un área portuaria. La hipótesis que se postula es que las ascidias exóticas no colonizan exitosamente todos los tipos de estructuras que se encuentran en las áreas portuarias a lo largo del tiempo, debido a diferencias en la presión de depredación y en la ecología reproductiva de las especies. Para evaluar esta hipótesis, se tuvieron en cuenta los siguientes objetivos específicos:

- Evaluar el éxito en la colonización de las diferentes especies de ascidias exóticas en presencia y ausencia de depredadores en diferentes estructuras artificiales.
- Determinar las especies de depredadores (nativos y exóticos) de las ascidias exóticas en el área portuaria.
- Determinar las variaciones temporales y espaciales en la abundancia de estos depredadores, y de las ascidias exóticas dominantes.
- Estudiar la ecología reproductiva anual de las ascidias exóticas dominantes.
- Relacionar la ecología reproductiva de las ascidias a variaciones temporales de parámetros ambientales.

## Capítulo 2

# Rol de la depredación en el éxito en la colonización de estructuras artificiales en un puerto templado frío



Foto: N. Battini

## Capítulo 2: Rol de la depredación en el éxito en la colonización de estructuras artificiales en un puerto templado frío

### 2.1 Resumen

Las estructuras artificiales pueden proveer a las especies exóticas de nuevas superficies colonizables y refugio frente a depredadores. El éxito en la colonización de estas especies puede ser distinto entre estructuras fijas y estructuras flotantes o suspendidas (i.e. estructuras sin flotación, que mantienen su distancia al fondo constante), debido a las diferencias en la presión de depredación en cada una de ellas. Las estructuras fijas se encuentran afectadas, principalmente, por depredadores bentónicos, mientras que las estructuras flotantes o suspendidas son afectadas por depredadores nectónicos. El objetivo de este capítulo es evaluar el éxito en la colonización de las diferentes especies de ascidias exóticas dominantes, en presencia y ausencia de depredadores en diferentes estructuras artificiales. Para evaluar esto, se llevó a cabo un experimento de exclusión de depredadores en una estructura fija, con presencia de depredadores nectónicos y bentónicos, y en una suspendida, solo con presencia de depredadores nectónicos. Tres placas de PVC se sujetaron a cada estructura, con diferentes tratamientos: exclusión, control caja y control. La comunidad de depredadores bentónicos, formada por erizos, estrellas de mar, gasterópodos y cangrejos, ejerció una mayor presión de depredación que la de los nectónicos. El éxito en la colonización de las ascidias exóticas fue mayor en las comunidades suspendidas y en la exclusión de la estructura fija, es decir en ausencia de depredadores bentónicos. Además, las grandes coberturas alcanzadas por las ascidias exóticas en las estructuras suspendidas disminuyó la diversidad de esas comunidades. Esto evidencia el rol de las estructuras suspendidas y/o flotantes como refugio frente a los depredadores bentónicos. Resultados similares fueron observados en comunidades incrustantes de latitudes altas en todo el mundo. En este sentido, en el presente trabajo los depredadores bentónicos podrían estar remplazando a la fuerte depredación nectónica observada en latitudes tropicales y subtropicales. Este capítulo resume los principales factores que afectan la colonización de estructuras artificiales, y evidencia su importancia durante el diseño de experimentos para evaluar la variabilidad latitudinal de la resistencia biótica y la presión de depredación.

## 2.2 Introducción

La construcción de estructuras artificiales, tales como muelles, marinas, boyas, escolleras, modifican la geomorfología costera mundial generando nuevos hábitats y oportunidades de nicho para las especies exóticas (Bulleri y Airoidi 2005; Glasby et al. 2007; Airoidi y Bulleri 2011; Dafforn et al. 2012; Airoidi et al. 2015). Estas estructuras pueden alojar un número mayor de especies exóticas, comparadas con los ambientes rocosos naturales cercanos (Glasby et al. 2007), ya que pueden proveer de nuevos recursos limitantes, aumentando las superficies disponibles para colonizar, creando refugios de los depredadores nativos o exóticos, y mejorando las condiciones físicas y químicas favorables para nuevas especies exóticas (Dafforn 2017). Las comunidades incrustantes de estas estructuras estarán determinadas por distintos factores físicos y biológicos. Entre los factores físicos se encuentran, las diferencias en la velocidad de corriente y en el flujo del agua (Glasby 2001; Perkol-Finkel et al. 2006), en el sombreado y la proximidad al fondo del mar (Glasby 1999b) y en el régimen de disturbios causados por el mantenimiento de la estructura o como efecto del viento o el mar (Airoidi y Bulleri 2011). Entre los factores biológicos se ha resaltado las diferencias en la presión de depredación (Kremer y da Rocha 2016; Leclerc y Viard 2018). Así las estructuras artificiales pueden ser “corredores” para el establecimiento y dispersión de las especies exóticas hacia nuevas áreas, particularmente si estas estructuras están establecidas en hábitats barrosos o arenosos (Bulleri y Airoidi 2005; Airoidi et al. 2015).

Existe una amplia variedad de diseños experimentales utilizados para evaluar el efecto de los depredadores en comunidades incrustantes creciendo en estructuras artificiales. Algunos de estos incluyen placas fijas en pilotes de muelles mientras que otras son flotantes o suspendidas, por lo cual la comunidad de depredadores que afecta a cada una de estas comunidades incrustantes es diferente (Tabla 2.1). Las estructuras fijas se encuentran unidas al lecho marino entonces están principalmente afectadas por depredadores bentónicos, mientras las estructuras flotantes y las suspendidas (i.e. estructuras sin flotación, que mantienen su distancia al fondo constante), ubicadas cerca de la superficie o sin conexión con el lecho marino, lo están principalmente por organismos nectónicos. Además, la presión de depredación sobre comunidades incrustantes puede variar latitudinalmente. En aguas cálidas y tropicales, los

depredadores tienen un fuerte efecto sobre la abundancia, riqueza y diversidad de ascidias exóticas (Freestone et al. 2013; Oricchio et al. 2016; Kremer y da Rocha 2016; Vieira et al. 2018), mientras que a latitudes más altas, la presión de depredación parece disminuir con efectos menores sobre comunidades similares (Freestone et al. 2013; Leclerc y Viard 2018). Estas observaciones establecen la hipótesis de que las comunidades tropicales y subtropicales presentan una mayor resistencia biótica frente a nuevas especies exóticas, debido a interacciones bióticas más fuertes como la depredación (Freestone y Osman 2011; Freestone et al. 2013). Sin embargo, trabajos realizados en distintas latitudes, muestran que este patrón en la depredación no es tan evidente como cabría esperarse (Tabla 2.1). Particularmente en el Atlántico Sudoccidental, se observó que la depredación cambia la composición de especies y disminuye la diversidad de las comunidades incrustantes de estructuras fijas (Giachetti et al. 2019). En estas comunidades, también dominadas por ascidias exóticas, se observó un efecto negativo sobre los reclutas de estos organismos (Rico et al. 2015; Giachetti et al. 2019). Si la presión de depredación sobre las comunidades incrustantes que se encuentran sobre las estructuras flotantes es notoriamente menor, como fue observado en trabajos previos (Dumont et al. 2011a; Leclerc y Viard 2018), estas estructuras podrían estar generando refugios para las especies exóticas dominantes, como son las ascidias solitarias.

El objetivo general de este capítulo es evaluar el éxito en la colonización de las diferentes especies de ascidias exóticas dominantes, en presencia y ausencia de depredadores en diferentes estructuras artificiales. La hipótesis puesta a prueba es que los depredadores poseen diferentes estrategias de alimentación y movilidad, por lo que su efecto sobre las comunidades incrustantes y el éxito en la colonización de ascidias exóticas varía entre estructuras artificiales. Los objetivos específicos son: evaluar el efecto de los depredadores sobre (1) la estructura y diversidad de las comunidades incrustantes y (2) sobre el éxito en la colonización de las ascidias exóticas solitarias, en dos estructuras artificiales diferentes. Se espera que (1) la presencia de depredadores bentónicos afecte fuerte y negativamente la estructura y la diversidad de las comunidades incrustantes de las estructuras artificiales asociadas al fondo y que (2) el éxito en la colonización de las ascidias exóticas decrezca en las comunidades expuestas a los depredadores bentónicos.

## 2.3 Materiales y métodos

### 2.3.1 Diseño experimental

El experimento se realizó desde noviembre de 2015 a mayo de 2016. Durante este período la temperatura promedio del agua fue 16,4°C, con un mínimo de 11,7°C durante noviembre y un máximo de 20,4°C durante enero y febrero. El diseño experimental consistió de una exclusión de depredadores en dos estructuras artificiales diferentes, una unida (denominada fija) y otra no (denominada suspendida) al lecho marino. La estructura principal estaba formada por una red de nylon (60 x 60 cm) con tres placas de reclutamiento de PVC gris (15 x 15 cm) con una de sus caras rugosa para facilitar el asentamiento de larvas. La rugosidad se obtuvo utilizando un cepillo de alambre (disco de pulir) y amoladora, ejerciendo la misma presión para cada placa. Las placas se sujetaron a la red de nylon con precintos, con una mínima separación de 12 cm entre ellas. A cada placa se le asignó un tratamiento distinto mediante azar ordenado, (1) Exclusión (EX): una caja plástica de 1 x 1 cm de malla fue sujeta mediante precintos a las placas; (2) Control caja (CC): la misma caja fue sujeta a la placa pero con dos laterales abiertos, para permitir el libre paso de los depredadores; (3) Control (C): las placas sin ningún tipo de caja. Para las estructuras fijas, cada red (n = 10) se sujetó verticalmente (i.e. perpendicular al fondo) a un pilote del muelle (cada réplica en un pilote distinto), mientras que para las estructuras suspendidas (n = 10) la red se sujetó, también verticalmente, entre dos pilotes del muelle (cada réplica en una fila de pilotes distinta), usando cabos de nylon de 6 mm de diámetro (Figura 2.1). Por lo tanto, en una misma fila de pilotes (i.e. diez filas de pilotes, 10 estructuras fijas, 10 estructuras suspendidas, con tres placas de reclutamiento en cada una) se encontraban una estructura fija y una suspendida. Debido a que la estructura suspendida se sujetó a dos pilotes, esta no presentaba flotabilidad, por lo cual se encontró a la misma profundidad y recibió la misma intensidad de luz que la estructura fija durante todo el experimento. Las estructuras se colocaron hacia la misma dirección cardinal (Sur) para evitar potenciales efectos debidos a las diferencias en la velocidad de la corriente, la turbulencia o el sombreado (Glasby 1999a) causadas por el muelle y los pilotes.

Al cabo de seis meses, las estructuras se retiraron del mar y las placas se desataron, embolsaron individualmente y transportaron al laboratorio en agua de mar.

Se prestó especial atención a evitar la pérdida o el escape de organismos móviles y sésiles. En el laboratorio, se removieron las cajas y se registró la abundancia de los organismos móviles en todas las placas. Las placas se fotografiaron y mantuvieron en el Acuario Experimental del CENPAT hasta que se midió la cobertura de todas las especies sésiles en cada placa, en la totalidad del área central (10 x 10 cm), para evitar el efecto de borde. También se tuvo en cuenta la cobertura de los epibiontes, por lo que la cobertura total de cada especie podía ser mayor a 1. Los organismos se identificaron al menor nivel taxonómico posible, utilizando el material de referencia apropiado de la Colección de Invertebrados del IBIOMAR (CNP-INV) y claves taxonómicas. Las especies de cangrejos, ofiuros y algas fueron identificadas por especialistas en estos grupos (ver Agradecimientos). Las especies se clasificaron en exóticas, nativas y criptogénicas (Carlton 1996a) cuando fue posible, según la literatura (Orensanz et al. 2002; Schwindt et al. 2014). Los nuevos registros de ascidias exóticas se depositaron en la Colección de Invertebrados del IBIOMAR (ver Sección 2.4 para los números de material).

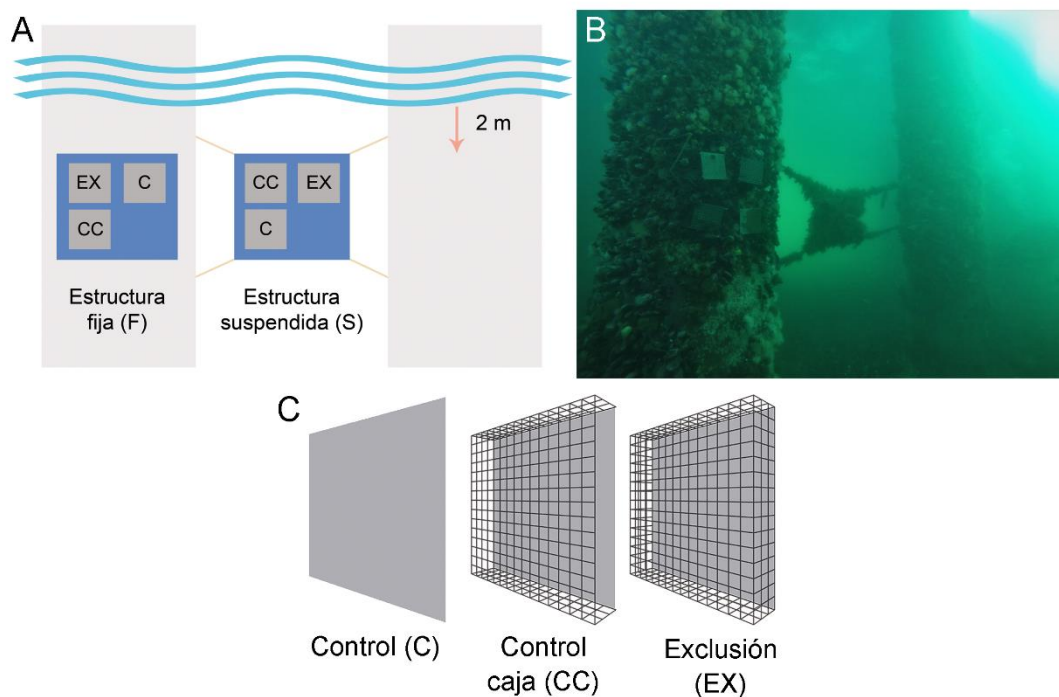


Figura 2.1: (A) Esquema del diseño experimental (se representa solo una fila de pilotes), (B) su posición debajo del agua, y (C) detalle de los tratamientos. Abreviaciones: EX, exclusión; CC, control caja; C, control. Foto: N. Battini.

### 2.3.2 Análisis estadísticos

Para evaluar el efecto de los depredadores en la composición y cobertura de especies de las comunidades incrustantes de diferentes estructuras artificiales, se realizó un análisis de coordenadas principales (PCO). Para ello se utilizó una matriz de similitud de Bray Curtis con la cobertura de los organismos sésiles, incluyendo el espacio vacío, previamente transformados mediante raíz cuarta. Para las especies móviles, se utilizó una matriz de similitud de Jaccard con datos de presencia-ausencia. Las diferencias entre las comunidades de organismos sésiles se analizaron mediante un PERMANOVA de diseño factorial cruzado (999 permutaciones), con dos factores fijos, *Estructura* (fija y suspendida) y *Tratamiento* (exclusión, control caja y control), y un factor aleatorio, *Pilote* (1 a 10). Cuando se realizaron pruebas de a pares, los p-valores fueron ajustados de acuerdo a la corrección de Bonferroni para controlar el alfa global de la prueba (Zar 2009). Por último, para determinar qué taxa contribuyeron más a las diferencias entre pares, se realizó un análisis de porcentaje de similitud (SIMPER). La cobertura total de organismos sésiles y la diversidad, entre tipos de estructura y entre tratamientos, se evaluaron mediante un modelo lineal general mixto (GLMM), usando la librería *nlme* (Pinheiro et al. 2017). La diversidad fue calculada considerando el crecimiento primario y secundario (i.e. organismos epibiontes), con y sin la cobertura de las ascidias exóticas *Ascidiella aspersa* y *Ciona robusta*.

Para evaluar el efecto de la depredación en el éxito en la colonización de las ascidias solitarias exóticas en ambas estructuras artificiales, se realizó un modelo lineal mixto (GLMM, librería *nlme*) con una distribución normal utilizando como variable respuesta la cobertura de las dos especies de ascidias exóticas dominantes. También se tuvo en cuenta la cobertura de las ascidias epibiontes, por lo que la cobertura total de cada especie podía ser mayor a 1. Los modelos incluyeron los factores *Estructura*, *Tratamiento* y la especie de ascidia (factor *Especie* con dos niveles: *Ciona robusta* y *Ascidiella aspersa*) como factores fijos, y el *pilote* como factor aleatorio. El mejor modelo fue elegido entre todos los modelos posibles que incluyeran la interacción *Estructura\*Especie*, la cual es la interacción de interés de acuerdo a los objetivos. Para todos los análisis, la normalidad y la homogeneidad de varianzas fueron evaluadas mediante pruebas de Shapiro-Wilks y Levene, respectivamente. Cuando los datos presentaban heterogeneidad de varianzas, la función *varIdent* fue utilizada para



modelar e incorporar en los modelos esta heterogeneidad. El modelo que mejor ajustaba a los datos fue elegido mediante el criterio de Akaike, y por parsimonia cuando  $\Delta AIC \leq 2$  (Zuur et al. 2007). Cuando fueron necesarias pruebas de a pares, los p-valores fueron ajustados mediante pruebas de Bonferroni (Zar 2009).

Para graficar las diferencias observadas entre tratamientos y estructuras para las variables respuestas analizadas (cobertura total, diversidad y cobertura de ascidias exóticas) se utilizaron box-plot realizados con la librería *ggplot2* (Wickham 2009). En estas figuras, los bordes superior e inferior de la caja corresponden al tercer ( $Q3$ ) y primer ( $Q1$ ) cuartil respectivamente. La diferencia entre estos extremos es la distancia entre cuartiles ( $DC$ ) y es utilizada para calcular los extremos de las líneas que nacen de la caja: el extremo superior corresponde al valor  $Q3 + 1,5 \times DC$ , mientras que el inferior es  $Q1 + 1,5 \times DC$ . Dentro de la caja, la línea negra representa la mediana de los datos y el cuadrado representa a la media. Todos los análisis estadísticos fueron realizados en el software R (R Core Team 2017).

## 2.4 Resultados

Se identificaron 42 taxa en total, de las cuales 13 especies (31%) son exóticas, 21 (50%) nativas y dos (5%) criptogénicas (Tabla 2.2). La riqueza de especies exóticas estuvo conformada por un número mayor de especies de organismos sésiles (11 especies) que la riqueza de nativos, la cual presentó el patrón contrario con un número mayor de fauna móvil (16 especies). Dos especies de ascidias son nuevos registros para Puerto Madryn: la exótica *Molgula manhattensis* (De Kay, 1843) (CNP-INV 3043 y 3044) y la criptogénica *Corella eumyota* Traustedt, 1882 (CNP-INV 3035).

### 2.4.1 Efecto de los depredadores sobre las comunidades incrustantes de diferentes estructuras artificiales

Los depredadores bentónicos disminuyeron la cobertura y cambiaron la composición de especies de la comunidad de organismos sésiles. Las placas colonizadas en ausencia de estos depredadores, fueron similares entre ellas y formaron un grupo separado de aquellas placas colonizadas en presencia de depredadores bentónicos (PCO, Figura 2.2). Estas comunidades, estuvieron asociadas a una mayor cobertura de

espirórbidos, poliquetos calcáreos, y a un porcentaje mayor de espacio vacío.

Contrariamente, cuando los depredadores estuvieron ausentes, estas comunidades presentaron un mayor número de especies asociadas a ellas, como por ejemplo ascidias coloniales y solitarias, briozoos, esponjas y algas (Figura 2.2). Los depredadores afectaron significativamente y de manera diferencial la composición de especies en los dos tipos de estructura (PERMANOVA, Tabla 2.3). Por lo tanto, se realizaron pruebas de a pares entre tratamientos para cada tipo de estructura. En ambas estructuras, las comunidades desarrolladas en ausencia de depredadores presentaron una composición de especies distinta a la

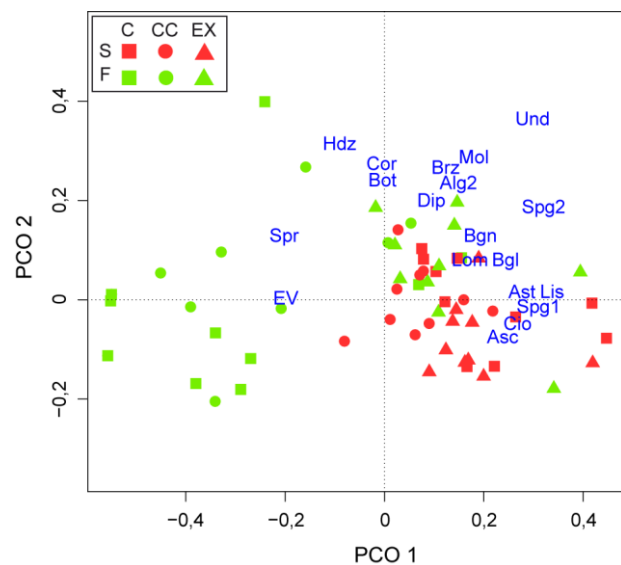


Figura 2.2: PCO para los organismos sésiles (porcentaje de cobertura) comparando todos los tratamientos (EX, exclusión; CC, control caja; C, control) y las estructuras (S, suspendida; F, fija). Algunos puntos pueden estar superpuestos. Abreviaturas para las especies: Und, *Undaria pinatiffida*; Lom, *Lomentaria clavellosa*; Spg1 y Spg2, Porifera indet. 1 y 2; Hdz, *Eudendrium ramosum*; Bgl, *Bugula neritina*; Bgn, *Bugulina flabellata*; Brz, Bryozoa indet.; Spr, Spirorbinae; Asc, *Asciidiella aspersa*; Cio, *Ciona robusta*; Ast, *Asterocarpa humilis*; Cor, *Corella eumyota*; Mol, *Molgula manhattensis*; Bot, *Botryllus schlosseri*; Lis, *Lissoclinum fragile*; EV, espacio vacío.

de las comunidades con depredadores presentes (Tabla 2.4). Los taxa que más contribuyen a la disimilitud entre tratamientos difirieron entre tipos de estructura (SIMPER, Tabla 2.5). Mientras que en las estructuras fijas las ascidias solitarias son las que más contribuyeron a la disimilitud, debido a su mayor abundancia en ausencia de depredadores, en estructuras suspendidas los briozoos y el espacio vacío contribuyeron más a la disimilitud entre tratamientos (Tabla 2.5). Con respecto a la comunidad de organismos móviles, la identidad de las especies (presencia/ausencia) dependió principalmente de la estructura (PCO, Figura 2.3), tal como se esperaba. Las placas de la estructura fija formaron un grupo separado de las placas de la estructura suspendida, y estuvieron caracterizadas por organismos ramoneadores como los erizos de mar, los gasterópodos y los quitones (Figura 2.3).

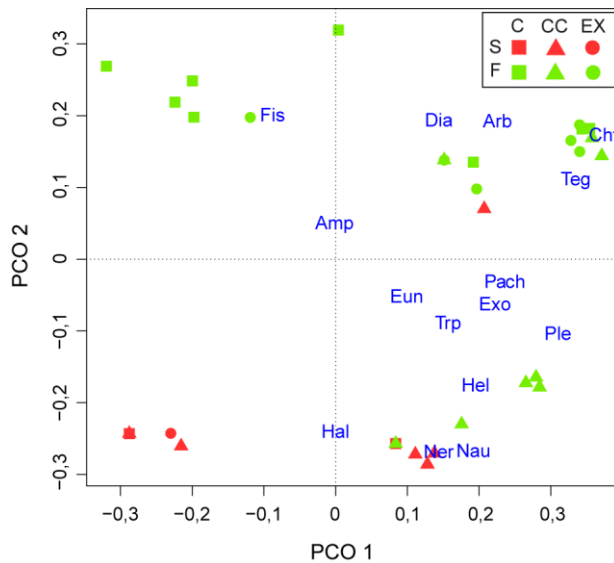


Figura 2.3: PCO para organismos móviles comparando todos los tratamientos (EX, exclusión; CC, control caja; C, control) y estructuras (F, fija; S, suspendida). Algunos puntos pueden estar superpuestos. Ner, Nereididae; Eun, Eunicidae; Cht, *Chaetopleura isabellei*; Dia, *Dialula punctuolata*; Ple, *Pleurobranchaea maculata*; Teg, *Tegula patagonica*; Trp, *Trophon geversianus*; Fis, *Fisurella* sp.; Exo, *Exosphaeroma* sp.; Nau, *Nauticaris magellanica*; Hal, *Halicarcinus planatus*; Pach, *Pachycheles chubutensis*; Amp, *Amphipholis squamata*; Arb, *Arbacia dufresnii*; Hel, *Helcogrammoides cunninghami*.

La cobertura total de organismos sésiles fue mayor en ausencia de depredadores bentónicos, i.e. exclusión de estructuras fijas y los tres tratamientos de la estructura suspendida (Figura 2.4, Tabla 2.6 y Tabla 2.7).

En presencia de estos depredadores, i.e. ambos controles de la estructura fija, la cobertura total fue similar entre sí y la más baja observada (Figura 2.4, Tabla 2.6 y Tabla 2.7). Sin embargo, la diversidad (Índice de Shannon) parece estar afectada no solo por la depredación, sino también por la cobertura de las ascidias exóticas, presentando patrones diferentes según se consideró o no la cobertura de ambas especies de ascidias exóticas dominantes (Figura 2.5, Tabla 2.8, Tabla 2.10).

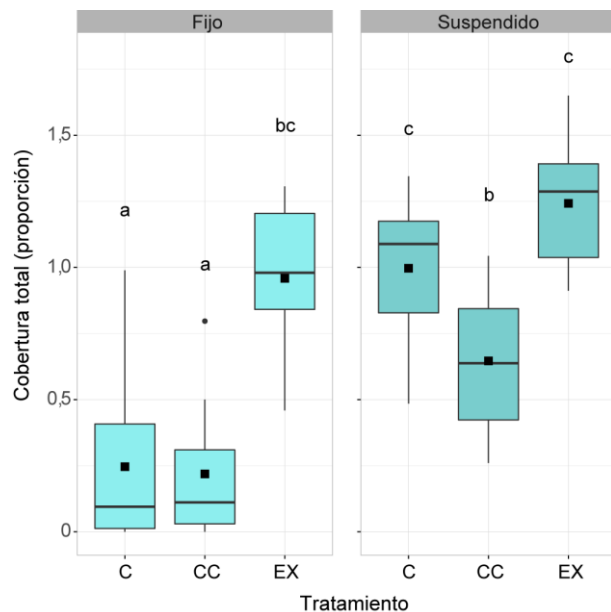


Figura 2.4: Box-plot de la cobertura total de especies sésiles para la interacción de tratamiento (EX, exclusión; CC, control caja; C, control) y estructura (Cuadrados negros: media). Letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

Cuando se consideraron a *A. aspersa* y *C. robusta* para el cálculo de la diversidad, ésta fue menor en los controles de la estructura fija y en la exclusión de las suspendidas (Figura 2.5A, Tabla 2.9). Sin embargo, cuando el análisis se realizó sin considerar a esas especies de ascidias, la diversidad solo fue menor en presencia de depredadores bentónicos, i.e. controles de la estructura fija (Figura 2.5B,

Tabla 2.11). Al analizar la diversidad con *A. aspersa* y *C. robusta*, fue necesario aplicar la función varIdent para el factor Estructura, para modelar e incorporar la heterogeneidad de varianzas. Finalmente, en la Figura 2.6 se ilustran los resultados presentados en esta sección, con las comunidades incrustantes obtenidas en los distintos tratamientos y estructuras al finalizar el experimento.

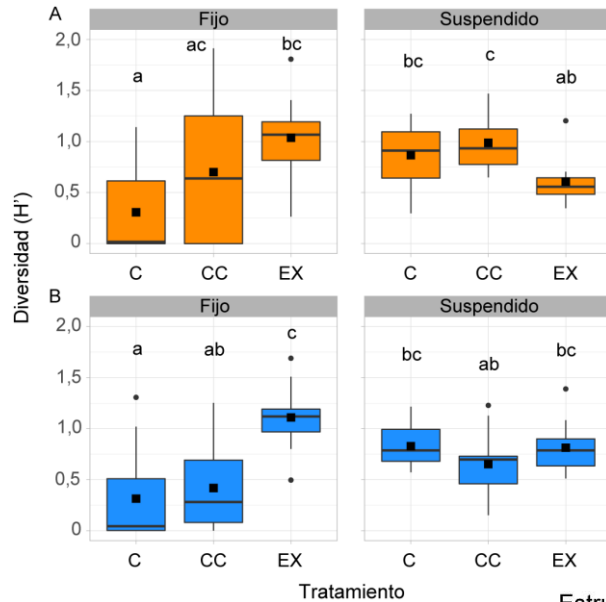
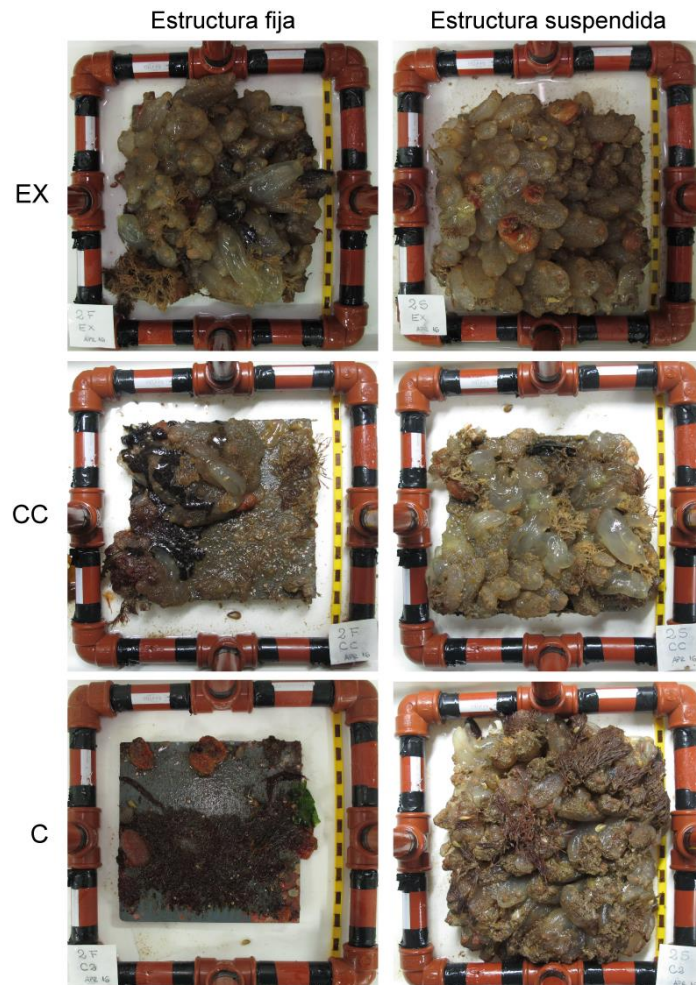


Figura 2.5: Box-plot de la diversidad (Índice de Shannon) para la interacción Tratamiento (EX, exclusión; CC, control caja; C, control) y Estructura (cuadrados negros: media), con la cobertura de ascidias exóticas (A) y sin ella (B). Letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

Figura 2.6: Comunidades incrustantes obtenidas en cada tratamiento en ambas estructuras, al final del experimento. Todas las placas pertenecen a la misma réplica. Fotos: N. Battini.



2.4.2 Efecto de los depredadores sobre el éxito en la colonización de las ascidias exóticas solitarias en diferentes estructuras artificiales

Tanto la depredación como el tipo de estructura tuvieron un efecto en el éxito en la colonización de *A. aspersa* y *C. robusta*, aunque ambas especies fueron afectadas de manera diferente por cada factor (Tabla 2.12). Las estructuras suspendidas fueron beneficiosas para ambas especies, presentando un éxito en la colonización mayor en este tipo de estructuras (Figura 2.7, Tabla 2.13). *A. aspersa* presentó la mayor cobertura tanto en estructuras fijas como suspendidas (Figura 2.7A, Tabla 2.13). La cobertura de *C. robusta* en estructuras suspendidas, fue similar a la de *A. aspersa* en estructuras fijas

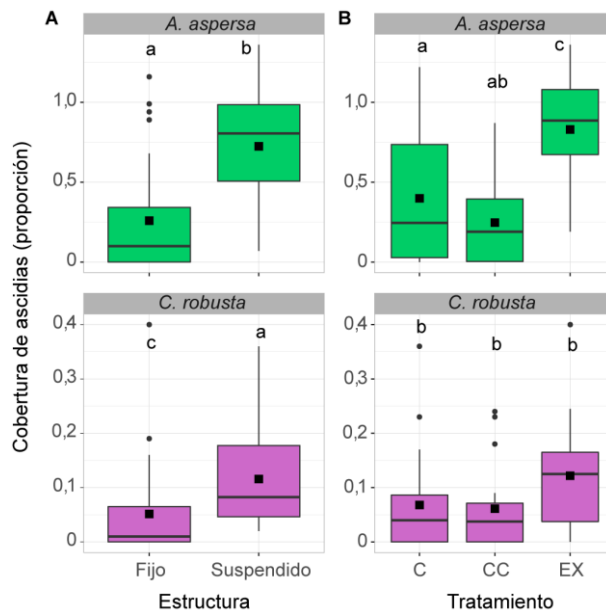


Figura 2.7: Box-plot de la cobertura de ascidias para (A) la interacción Estructura y Especie, y (B) la interacción Tratamiento (EX, exclusión; CC, control caja; C, control) y Especie (cuadrados negros: media). Letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

(Figura 2.7B, Tabla 2.13). Con respecto a los tratamientos de depredación, solo *A. aspersa* mostró una cobertura mayor en ausencia de depredadores (Figura 2.7A, Tabla 2.14). Al contrario, *C. robusta* no fue afectada por la depredación, y su cobertura fue similar a la de *A. aspersa* en presencia de depredadores (Figura 2.7B, Tabla 2.14).

2.5 Discusión

Los depredadores bentónicos tienen un rol importante en las comunidades incrustantes y particularmente, en el éxito en la colonización de ascidias solitarias exóticas en puertos templados fríos. El efecto negativo de la depredación sobre la cobertura total y la diversidad de los organismos sésiles, y sobre el éxito en la colonización de las ascidias exóticas, fue más intenso sobre las estructuras fijas asociadas a estos depredadores. Estos resultados apoyan la hipótesis planteada al inicio de este capítulo, donde se postuló que los depredadores poseen diferentes estrategias

de alimentación y movilidad, por lo que su efecto sobre las comunidades incrustantes y el éxito en la colonización de ascidias exóticas varía entre estructuras artificiales. Llamativamente, el efecto de la depredación sobre la diversidad parece ser oscurecido por la dominancia de *Ascidiella aspersa* y *Ciona robusta* en ausencia de depredadores bentónicos.

Los organismos bentónicos, tales como equinodermos, gasterópodos, quitones, cangrejos, ejercen una mayor presión de depredación que los organismos nectónicos, como los peces. Las comunidades de organismos sésiles desarrolladas en ausencia de estos depredadores bentónicos presentaron una composición de especies similar, claramente diferente a la de las comunidades desarrolladas en su presencia. Con respecto a la comunidad de peces, es común encontrar individuos asociados a las comunidades incrustantes del puerto, pertenecientes a la especie *Helcogrammoides cunninghami* con una dieta basada en anfípodos (Muñoz y Ojeda 1997). Peces bentónicos y de mayor tamaño como *Acanthistius patachonicus*, *Pseudopercis semifasciata* y *Pinguipes brasilianus*, pueden hallarse en el área de estudio. Sin embargo, estas especies usan los arrecifes rocosos como refugio y depredan alrededor de estos y en fondos blandos cercanos (Galván et al. 2009). Este comportamiento puede explicar la baja presión de depredación observada en las estructuras suspendidas, donde únicamente las especies de peces de menor tamaño podrían estar presentes, y no equipararían la presión de depredación de los depredadores bentónicos en las estructuras fijas.

La presión de depredación observada en esta tesis difiere de la observada en otros trabajos realizados en latitudes altas (Tabla 2.1) donde la depredación no tiene efecto en las comunidades incrustantes de estructuras artificiales (Miller y Etter 2008; Freestone y Osman 2011; Freestone et al. 2013; Leclerc y Viard 2018). Contrariamente, en aguas más cálidas del Atlántico Occidental los peces son depredadores activos de las comunidades incrustantes de estructuras artificiales (Freestone et al. 2013; Kremer y da Rocha 2016). Por lo tanto, la presión de depredación parece ser mayor en latitudes bajas, conduciendo a la hipótesis de que comunidades tropicales y subtropicales presentan una resistencia biótica mayor (Freestone et al. 2013). Sin embargo, a partir de una revisión de diferentes trabajos realizados en los últimos 10 años (Tabla 2.1) se observa que estos patrones podrían no ser tan evidentes como se espera. La presión de

depredación puede tener efectos significativos en comunidades incrustantes, incluso en latitudes altas (Dumont et al. 2011a; Dumont et al. 2011b; Forrest et al. 2013; Simkanin et al. 2013; Rico et al. 2015; Cheng et al. 2018). Estos efectos varían desde una disminución en la cobertura y/o el reclutamiento de organismos sésiles, incluyendo especies exóticas, hasta cambios en la composición y diversidad de toda la comunidad incrustante (Tabla 2.1). Esto puede estar influenciado por numerosos factores, i.e. la diversidad de la comunidad de depredadores (Byrnes y Stachowicz 2009), la estación en la cual tiene lugar el máximo de depredación (Cheng et al. 2018), el tipo de estructura artificial colonizada y la comunidad de depredadores asociada a ella (Dumont et al. 2011b; Giachetti et al. 2019). Aunque estas observaciones no implican que la resistencia biótica sea la misma en todas las latitudes, demuestra que las variaciones temporales y espaciales de la comunidad de depredadores pueden influenciarla fuertemente. Por esta razón, los diseños experimentales deberían ser cuidadosamente diseñados para contemplar tanto a los depredadores bentónicos como a los nectónicos, y así obtener un escenario más completo de los procesos que determinan los patrones de las comunidades incrustantes.

Una resistencia biótica diferencial entre estructuras artificiales, i.e. una menor presión de depredación en estructuras flotantes o suspendidas, puede convertir a estas estructuras en un refugio para las especies exóticas. En relación a esto, ambas especies de ascidias exóticas, *A. aspersa* y *C. robusta*, fueron beneficiadas por la presión de depredación diferencial entre ambas estructuras. Las coberturas más altas de *A. aspersa* se observaron en ausencia de depredadores bentónicos, y esta especie dominó completamente varias placas de las estructuras suspendidas. Aunque *C. robusta* también presentó una cobertura mayor en ausencia de los mismos depredadores, la cobertura observada en las estructuras suspendidas fue menor a la esperada. Esta especie es conocida mundialmente por presentar grandes abundancias en marinas, puertos y estructuras de maricultura (Carver et al. 2003; Dumont et al. 2011a; McKenzie et al. 2016). Además, se ha observado que presenta una cobertura mayor en estructuras artificiales flotantes que en fondos rocosos, donde la depredación sobre *C. robusta* es mayor (Dumont et al. 2011a). Incluso, alcanza grandes abundancias en otros puertos de Argentina (Bastida 1968; Pezzani et al. 1996; Nuñez Velazquez et al. 2017), como el puerto de Mar del Plata (MDP). A diferencia del área portuaria de Puerto Madryn (PM),

MDP se encuentra protegido por dos escolleras y tiene una boca de aproximadamente 300 m de ancho (Albano y Obenat 2009), lo que disminuye el movimiento y el intercambio de agua. Debido a esto, MDP presenta aguas menos claras y más quietas que las de PM, lo que podría ser beneficioso para esta especie de ascidia. Teniendo en cuenta que *C. intestinalis* presenta habilidades y estrategias de asentamiento más débiles comparadas con la de *A. aspersa* (Osman y Whitlatch 1996; Rajbanshi y Pederson 2007), algo similar podría suceder con la cogenérica *C. robusta* prefiriendo ésta aguas más tranquilas. Esto también puede ser adverso en las comunidades incrustantes de PM, donde *A. aspersa* alcanza grandes abundancias y es una competidora exitosa.

Trabajos previos muestran que la diversidad de la comunidad puede verse disminuida en presencia de ascidias exóticas, debido a sus mayores tasas de asentamiento y colonización de nuevas superficies (Blum et al. 2007; Zhan et al. 2015). En el área de estudio, se observó una mayor diversidad en ausencia de depredadores donde las ascidias también alcanzan sus coberturas más altas (Giachetti et al. 2019). Contrariamente, en el presente estudio las comunidades con mayores coberturas de ascidias (exclusión de estructuras suspendidas) no fueron más diversas que las comunidades con menor cobertura de ascidias (controles de estructuras fijas). Sin embargo, el efecto de la depredación sobre la diversidad fue evidente cuando se analizó la diversidad sin considerar la cobertura de *A. aspersa* y *C. robusta*. La diversidad en ausencia de depredadores bentónicos fue mayor a la diversidad en presencia de los mismos depredadores. En las comunidades suspendidas, los individuos de *A. aspersa* cubrieron completamente la superficie de las placas formando una estructura densa y compacta. Esta dominancia podría afectar la diversidad dificultando el asentamiento de otros organismos sésiles con tasas de colonización más bajas. Aunque las ascidias adultas pueden ser depredadas por estrellas de mar, cangrejos o erizos de mar (Epelbaum et al., 2009; ver Capítulo 3 de esta tesis), el efecto de la depredación en ascidias es mayor post-asentamiento (Osman y Whitlatch 1995; Nydam y Stachowicz 2007; Vieira et al. 2012). Como la presión de depredación fue menor en las estructuras suspendidas, los reclutas de ascidias no fueron ni desprendidos ni consumidos, por lo que no se generaron espacios vacíos que podrían ser colonizados por otros organismos. En las estructuras fijas, las comunidades desarrolladas en presencia de los depredadores bentónicos presentaron una gran dispersión en los valores de diversidad, comparada



con las comunidades desarrolladas en ausencia de estos depredadores. Estos resultados podrían indicar que los depredadores bentónicos podrían tener un efecto heterogéneo en placas del mismo tratamiento. Algunos depredadores, como gasterópodos o estrellas de mar de mayores tamaños, podrían generar efectos más significativos pero locales, debido a su abundancia y distribución espacial. Contrariamente, depredadores más abundantes y con una distribución más uniforme, como erizos de mar y cangrejos, solo se alimentan de los reclutas con efectos menores cuando la presa alcanza su tamaño adulto (ver Capítulo 3). En este último caso, el acoplamiento entre los tiempos de reclutamiento y crecimiento de las presas con los picos de abundancia de depredadores, podría ser un factor importante en el éxito en la colonización (Cheng et al. 2018).

A diferencia de trabajos previos, las estructuras suspendidas utilizadas en esta tesis presentan características físicas similares a las fijas, i.e. ambas estructuras comparten la misma profundidad e intensidad de luz durante todo el experimento. Esto permite asumir que las diferencias observadas entre las estructuras están causadas principalmente por las diferentes comunidades de depredadores asociadas a ellas. Esto también está evidenciado en las similitudes observadas entre los tratamientos de exclusión de ambas estructuras, cuyas comunidades de organismos sésiles presentaron composición y cobertura similares. Las diferencias en la cobertura de ascidias exóticas entre ambas estructuras, evidencia el rol de las estructuras suspendidas (y flotantes) como refugios para especies exóticas frente a los depredadores bentónicos. En este sentido, la alta presión de depredación nectónica observada en comunidades tropicales y subtropicales sería remplazada por la ejercida por los depredadores bentónicos en estas latitudes más altas. Este capítulo resume los principales factores que afectan la colonización de estructuras artificiales, y evidencia su importancia al momento de diseñar experimentos para evaluar la variabilidad latitudinal de la presión de depredación y de la resistencia biótica en las comunidades incrustantes. Más estudios son necesarios para evaluar el rol de los depredadores bentónicos en la resistencia biótica de las comunidades templadas frías, no solo en las estructuras artificiales sino también en fondos rocosos naturales.

**2.6 Tablas**

Tabla 2.1: Efectos de la depredación en comunidades incrustantes de diferentes estructuras artificiales. Fueron considerados los estudios del período 2008-2018, en los cuales se haya realizado al menos un experimento con exclusión de depredadores. Los trabajos se encuentran ordenados según el área de estudio, de norte a sur.

Área de estudio	Latitud	Tipo de estructura	Depredadores evaluados	Variable afectada negativamente por la depredación	Fuente
Vancouver Island, Canadá	48° N	Fija	Bentónico y Pelágico	Supervivencia de <i>Botrylloides violaceous</i>	Simkanin et al. 2013
Hampton Marina, EEUU	42° N	Flotante	Bentónico y Pelágico	Reclutamiento de mejillones	Auker et al. 2014
Golfo de Maine, EEUU	42° a 43° N	Fija	Bentónico y Pelágico	Ninguna	Miller y Etter 2008
NO Brittany, Francia	48° N	Suspendida	Pelágico	Ninguna	Leclerc y Viard 2018
Atlántico Noroeste (varias localidades)	41° a 9° N	Fija	Bentónico y Pelágico	Diversidad y riqueza de especies en los Trópicos (9° y 14° N)	Freestone et al. 2011
Connecticut, EEUU	41° N	Fija	Bentónico y Pelágico	Cobertura de una ascidia solitaria exótica	Freestone et al. 2013
Caribe, Panamá	9° N			Riqueza de ascidias exóticas	
Atlántico Noroeste (varias localidades)	41° a 9° N	Fija	Bentónico y Pelágico	Supervivencia de <i>B. neritina</i> y/o <i>Didemnum</i> spp.	Cheng et al. 2018
Connecticut, EEUU Florida, EEUU	41° N 27° N	Fija	Bentónico (especies seleccionadas)	Abundancia de depredadores pequeños, aumento indirecto de la abundancia de ascidias	Papacostas y Freestone 2019
Bodega Bay, EEUU (CA)	38° N	Suspendida	Bentónico (especies seleccionadas)	Porcentaje de espacio vacío	Byrnes y Stachowicz 2009

Tabla 2.1 (continuación)

Puerto Bodega, EEUU	38° N	Flotante Fija	Moluscos Bentónico y Pelágico	Reclutamiento y cobertura de organismos sésiles	Rogers et al. 2016
Madeira, Portugal	32° N	Suspendida	Bentónico y Pelágico	Cobertura de especies nativas	Gestoso et al. 2018
Hong Kong	22° N	Suspendida	Bentónico y Pelágico	Estructura de la comunidad, solo durante el verano.	Astudillo et al. 2016
Brasil (varias localidades)	3° a 27° S	Flotante	Pelágico	Abundancia de ascidias	Kremer y da Rocha 2016
Praia do Segredo, Brasil	23° S	Suspendida	Peces, pequeños gasterópodos	Diversidad y dominancia de ascidias. Riqueza solo los primeros 2 meses	Vieira et al. 2012
São Sebastião, Brasil	23° S	Flotante	Pelágico	Ascidias en la etapa post- asentamiento, y su dominancia en las placas	Oricchio et al. 2016
Isla Cabo Frío, Brasil	23° S	Fija	Pelágico	Composición de la comunidad	Pereira Masi et al. 2016
Ba. La Herradura, Chile	29° S	Fija	Bentónico	Reclutamiento de <i>Bugula neritina</i>	Dumont et al. 2011a
Ba. La Herradura y Ba. Tongo, Chile	29° S 30° S	Fija Suspendida	Bentónico y Pelágico	Reclutamiento y cobertura de <i>Ciona robusta</i>	Dumont et al. 2011b
Puerto de Sydney, Australia	33° S	Suspendida	Pelágico	Cobertura de la comunidad de organismos sésiles	Bolton et al. 2017
Blackwood Bay, New Zealand	41° S	Fija Suspendida	Bentónico y Pelágico	Reclutamiento y cobertura de <i>Didemnum sp.</i>	Forrest et al. 2013
Puerto Madryn, Argentina	42° S	Fija	Bentónico y Pelágico	Abundancia de ascidias y diversidad de la comunidad de organismos sésiles	Giachetti et al, 2019
Comodoro Rivadavia, Argentina	45° S	Fija	Bentónico y Pelágico	Cobertura de ascidias (hasta los 90 días). Abundancia de depredadores bentónicos	Rico et al. 2015

Tabla 2.2: Taxa identificados en las placas experimentales y su status en el área de estudio.

<b>Especies</b>	<b>Estatus</b>
<b>Algae</b>	
<i>Undaria pinnatifida</i>	Exótica
<i>Heterosiphonia</i> sp.	Nativa
<i>Anotrichium furcellatum</i>	Exótica
<i>Lomentaria clavellosa</i>	Exótica
<b>Porifera</b>	
Porifera indet. 1	
Porifera indet. 2	
<b>Cnidaria</b>	
<i>Actinothoe lobata</i>	Nativa
<i>Eudendrium ramosum</i>	Nativa
<b>Bryozoa</b>	
<i>Bugula neritina</i>	Exótica
<i>Bugulina flabellata</i>	Exótica
Bryozoa indet.	
<b>Polychaeta</b>	
Spirorbinae	
Serpulidae	
Nereididae	
Eunicidae	
Polynoidae	
Syllidae	
Polychaeta indet. 1	
Polychaeta indet. 2	
<b>Mollusca</b>	
<i>Chaetopleura isabellei</i>	Nativa
<i>Aulacomya atra</i>	Nativa
<i>Mytilus</i> spp.	Indeterminado*
<i>Diaulula punctuolata</i>	Nativa
<i>Pleurobranchaea maculata</i>	Exótica
<i>Tegula patagonica</i>	Nativa
<i>Trophon geversianus</i>	Nativa
<i>Fissurella</i> sp.	Nativa
<b>Arthropoda</b>	
<i>Exosphaeroma</i> sp.	Exótica
<i>Nauticaris magellanica</i>	Nativa
<i>Halicarcinus planatus</i>	Nativa
<i>Pachycheles chubutensis</i>	Nativa
<b>Echinodermata</b>	
<i>Amphipholis squamata</i>	Nativa
<i>Arbacia dufresnii</i>	Nativa
<b>Chordata</b>	
<b>Tunicata</b>	
<i>Asciidiella aspersa</i>	Exótica

Tabla 2.2 (continuación)

<i>Asterocarpa humilis</i>	Criptogenica
<i>Ciona robusta</i>	Exótica
<i>Molgula manhattensis</i>	Exótica
<i>Corella eumyota</i>	Criptogenica
<i>Botryllus schlosseri</i>	Exótica
<i>Diplosoma listerianum</i>	Exótica
<i>Lissoclinum fragile</i>	Exótica
<b>Vertebrata</b>	
<u><i>Helcogrammoides cunninghami</i></u>	Nativa

<sup>a</sup> Se identificaron dos especies pertenecientes a este género en el área de estudio, una nativa y otra exótica (Zbawicka et al.2018).

Tabla 2.3: Resultados del PERMANOVA de tres factores para la cobertura de organismos sésiles (incluyendo el espacio vacío) entre estructura (fija y suspendida) y entre tratamientos (exclusión, control caja y control). En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

	Df	SS	MS	Pseudo F	P (perm)
<b>Estructura (E)</b>	1	1,45	1,45	25,6	<b>0,001</b>
<b>Tratamiento (T)</b>	2	0,90	0,45	7,95	<b>0,001</b>
<b>Fila de pilotes (P)</b>	9	0,70	0,08	1,38	0,181
<b>E x T</b>	2	0,67	0,33	5,88	<b>0,001</b>
<b>T x P</b>	18	1,08	0,06	1,06	0,431
<b>E x P</b>	9	0,83	0,09	1,62	0,107
<b>Error</b>	18	1,02	0,06		

Tabla 2.4: Resultados de los análisis de a pares para la cobertura de los organismos sésiles (incluyendo el espacio vacío) entre tratamientos (EX, exclusión; CC, control caja; C, control) para cada tipo de estructura. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

	Estructura fija		Estructura suspendida	
	Pseudo F	P ajustado	Pseudo F	P ajustado
<b>EX x CC</b>	10,9	<b>0,003</b>	4,37	<b>0,006</b>
<b>EX x C</b>	11,5	<b>0,003</b>	3,27	<b>0,006</b>
<b>CC x C</b>	0,27	1,000	1,88	0,333

Tabla 2.5: Análisis SIMPER para la cobertura de organismos sésiles comparando los pares del factor *Tratamiento* para cada nivel del factor *Estructura*, que presentaron diferencias significativas en las comparaciones de a pares del análisis PERMANOVA.

Especie	Abundancia media	Abundancia media	Contribución (%)	Contribución acumulada (%)
FIJA				
	<i>EX</i>	<i>CC</i>		
<i>Asciidiella aspersa</i>	0,87	0,25	20,0	20,0
Espacio vacío	0,60	0,94	11,1	31,1
<i>Ciona robusta</i>	0,51	0,19	11,3	42,4
<i>Asterocarpa humilis</i>	0,46	0,11	11,0	53,4
FIJA				
	<i>EX</i>	<i>C</i>		
<i>Asciidiella aspersa</i>	0,87	0,38	16,0	16,0
<i>Ciona robusta</i>	0,51	0,10	14,0	30,0
<i>Asterocarpa humilis</i>	0,46	0,09	12,6	42,6
Espacio vacío	0,60	0,93	11,7	54,3
SUSPENDIDA				
	<i>EX</i>	<i>CC</i>		
Espacio vacío	0,57	0,80	13,5	13,5
<i>Bugula neritina</i>	0,10	0,30	12,6	26,1
<i>Bugulina flabellata</i>	0,71	0,25	11,0	37,1
<i>Asciidiella aspersa</i>	1,00	0,79	11,0	48,1
<i>Asterocarpa humilis</i>	0,46	0,39	9,80	57,9
SUSPENDIDA				
	<i>EX</i>	<i>C</i>		
<i>Bugula neritina</i>	0,10	0,47	18,9	18,9
Espacio vacío	0,57	0,53	15,2	34,1
<i>Asterocarpa humilis</i>	0,46	0,38	10,8	44,9
<i>Bugulina flabellata</i>	0,71	0,20	9,00	53,9

Tabla 2.6: (A) Modelo lineal general para la cobertura total de las comunidades incrustantes. (B) Parámetros del ANOVA realizado a partir del modelo lineal seleccionado. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

(A) Efecto aleatorio	Ordenada (media)	Desvío estándar		
Pilote	0,13	0,25		
Efectos fijos	Parámetro	Error estándar	Estadístico (t)	P-valor
Ordenada	0,25	0,09	2,76	<b>0,01</b>
Estructura S	0,75	0,11	6,65	<b>0,00</b>
Tratamiento CC	-0,03	0,11	-0,24	0,81
Tratamiento EX	0,71	0,11	6,32	<b>0,00</b>
S x CC	-0,32	0,16	-2,02	<b>0,05</b>
S x EX	-0,47	0,16	-2,93	<b>0,01</b>
(B)	GL	Estadístico (F)	P-valor	
Estructura (E)	1	56,00	<b>&lt; 0,001</b>	
Tratamiento (T)	2	37,28	<b>&lt; 0,001</b>	
ExT	2	4,50	<b>0,016</b>	

Tabla 2.7: Resultados de los análisis de a pares para la cobertura total de las comunidades incrustantes en la interacción estructura\*tratamiento. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

	Parámetro	Estadístico (z)	P-valor
CC*F – C*F	-0,03	-0,24	1,000
EX*F – C*F	0,71	6,32	<b>&lt; 0,001</b>
C*S – C*F	0,75	6,66	<b>&lt; 0,001</b>
CC*S – C*F	0,40	3,55	<b>0,005</b>
EX*S – C*F	1,00	8,83	<b>&lt; 0,001</b>
EX*F – CC*F	0,74	6,56	<b>&lt; 0,001</b>
C*S – CC*F	0,78	6,90	<b>&lt; 0,001</b>
CC*S – CC*F	0,43	3,79	<b>0,002</b>
EX*S – CC*F	1,02	9,07	<b>&lt; 0,001</b>
C*S – EX*F	0,04	0,34	0,999
CC*S – EX*F	-0,31	-2,77	0,062
EX*S – EX*F	0,28	2,51	0,120
CC*S – C*S	-0,35	-3,11	<b>0,023</b>
EX*S – C*S	0,24	2,18	0,249
EX*S – CC*S	0,59	5,28	<b>&lt; 0,001</b>

Tabla 2.8: (A) Modelo lineal general para la diversidad (índice de Shannon) de las comunidades incrustantes. (B) Parámetros del ANOVA realizado a partir del modelo lineal seleccionado. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

(A) Efecto aleatorio	Ordenada (media)	Desvío estándar		
Pilote	2,70 e <sup>-05</sup>	0,53		
Efectos fijos	Parámetro	Error estándar	Estadístico (t)	P-valor
Ordenada	0,31	0,17	1,81	0,076
Estructura S	0,56	0,19	2,93	<b>0,005</b>
Tratamiento CC	0,39	0,24	1,64	0,107
Tratamiento EX	0,73	0,24	3,05	<b>0,004</b>
S x CC	-0,27	0,27	-1,01	0,318
S x EX	-0,99	0,27	-3,66	<b>0,001</b>
(B)	GL	Estadístico (F)	P-valor	
Estructura (E)	1	1,59	0,213	
Tratamiento (T)	2	2,36	0,106	
E x T	2	7,17	<b>0,002</b>	

Tabla 2.9: Resultados de los análisis de a pares para la diversidad (Índice de Shannon) de las comunidades incrustantes en la interacción estructura\*tratamiento. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

	Parámetro	Estadístico (z)	P-valor
CC*F – C*F	0,39	1,65	0,551
EX*F – C*F	0,73	3,05	<b>0,025</b>
C*S – C*F	0,56	2,93	<b>0,036</b>
CC*S – C*F	0,68	3,57	<b>0,004</b>
EX*S – C*F	0,30	1,58	0,599
EX*F – CC*F	0,33	1,40	0,711
C*S – CC*F	0,16	0,88	0,951
CC*S – CC*F	0,29	1,51	0,645
EX*S – CC*F	-0,09	-0,49	0,996
C*S – EX*F	-0,17	-0,89	0,944
CC*S – EX*F	-0,05	-0,26	1,000
EX*S – EX*F	-0,43	-2,25	0,202
CC*S – C*S	0,12	0,98	0,920
EX*S – C*S	-0,26	-2,08	0,283
EX*S – CC*S	-0,38	-3,06	<b>0,025</b>



Tabla 2.10: (A) Modelo lineal general para la diversidad (índice de Shannon) de las comunidades incrustantes sin considerar a *Ascidiella aspersa* y *Ciona robusta*. (B) Parámetros del ANOVA realizado a partir del modelo lineal seleccionado. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

(A) Efecto aleatorio		Ordenada (media)	Desvío estándar	
Pilote		0,13	0,33	
Efectos fijos	Parámetro	Error estándar	Estadístico (t)	P-valor
Ordenada	0,31	0,11	2,77	<b>0,008</b>
Estructura S	0,51	0,15	3,43	<b>0,001</b>
Tratamiento CC	0,10	0,15	0,69	0,490
Tratamiento EX	0,79	0,15	5,31	<b>0,000</b>
S x CC	-0,28	0,21	-1,33	0,191
S x EX	-0,81	0,21	-3,83	<b>&lt; 0,001</b>
(B)		GL	Estadístico (F)	P-valor
Estructura (E)		1	3,02	0,089
Tratamiento (T)		2	9,96	<b>&lt; 0,001</b>
E x T		2	7,57	<b>0,001</b>

Tabla 2.11: Resultados de los análisis de a pares para la diversidad (índice de Shannon) de las comunidades incrustantes sin considerar a *Ascidiella aspersa* y *Ciona robusta* en la interacción estructura\*tratamiento. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

	Parámetro	Estadístico (z)	P-valor
CC*F – C*F	0,10	0,69	0,982
EX*F – C*F	0,79	5,31	<b>&lt; 0,001</b>
C*S – C*F	0,51	3,44	<b>0,008</b>
CC*S – C*F	0,34	2,25	0,213
EX*S – C*F	0,50	3,33	<b>0,011</b>
EX*F – CC*F	0,69	4,62	<b>&lt; 0,001</b>
C*S – CC*F	0,41	2,74	0,067
CC*S – CC*F	0,23	1,56	0,626
EX*S – CC*F	0,39	2,63	0,089
C*S – EX*F	-0,28	-1,88	0,416
CC*S – EX*F	-0,46	-3,06	<b>0,027</b>
EX*S – EX*F	-0,30	-1,98	0,351
CC*S – C*S	-0,18	-1,18	0,845
EX*S – C*S	-0,01	-0,11	1,000
EX*S – CC*S	0,16	1,08	0,891

Tabla 2.12: (A) Modelo lineal general para la cobertura de *Ascidrella aspersa* y *Ciona robusta*. (B) Parámetros del ANOVA realizado a partir del modelo lineal seleccionado. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

(A) Efecto aleatorio		Ordenada (media)	Desvío estándar	
Pilote		0,03	0,08	
Efectos fijos	Parámetro	Error estándar	Estadístico (t)	P-valor
Ordenada	0,17	0,06	2,53	<b>0,013</b>
Estructura S	0,46	0,06	7,15	<b>0,000</b>
Tratamiento CC	-0,15	0,08	-1,91	0,059
Tratamiento EX	0,43	0,08	5,41	<b>0,000</b>
Especie CR	-0,13	0,07	-1,92	0,058
CC x CR	0,14	0,08	1,74	0,084
EX x CR	-0,38	0,08	-4,52	<b>0,000</b>
S x CR	-0,40	0,07	-5,88	<b>0,000</b>

(B)	GL	Estadístico (F)	P-valor
Estructura (E)	1	26,66	<b>&lt; 0,001</b>
Tratamiento (T)	2	11,51	<b>&lt; 0,001</b>
Especie (SP)	1	143,68	<b>&lt; 0,001</b>
SP x E	1	34,63	<b>&lt; 0,001</b>
SP X T	2	20,90	<b>&lt; 0,001</b>

Tabla 2.13: Resultados de los análisis de a pares para la cobertura de *Ascidrella aspersa* y *Ciona robusta* en la interacción estructura\*especie (AA, *A. aspersa*; CR, *C. robusta*). En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

	Parámetro	Estadístico (z)	P-valor
S*AA - F*AA	0,46	5,09	<b>&lt;0,001</b>
F*CR - F*AA	-0,21	-3,13	<b>0,007</b>
S*CR - F*AA	-0,14	-2,16	0,115
F*CR - S*AA	-0,67	-10,15	<b>&lt;0,001</b>
S*CR - S*AA	-0,61	-9,18	<b>&lt;0,001</b>
S*CR - F*CR	0,06	3,03	<b>0,011</b>

Tabla 2.14: Resultados de los análisis de a pares para la cobertura de *Asciidiella aspersa* y *Ciona robusta* en la interacción tratamiento\*especie (AA, *A. aspersa*; CR, *C. robusta*). En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

	<b>Parámetro</b>	<b>Estadístico (z)</b>	<b>P-valor</b>
CC*AA - C*AA	-0,29	-2,33	0,154
EX*AA - C*AA	0,30	2,42	0,126
C*CR - C*AA	-0,60	-6,56	<b>&lt; 0,001</b>
CC*CR - C*AA	-0,62	-6,77	<b>&lt; 0,001</b>
EX*CR - C*AA	-0,60	-6,52	<b>&lt; 0,001</b>
EX*AA - CC*AA	0,59	4,75	<b>&lt; 0,001</b>
C*CR - CC*AA	-0,31	-3,38	<b>0,007</b>
CC*CR - CC*AA	-0,33	-3,60	<b>0,003</b>
EX*CR - CC*AA	-0,30	-3,34	<b>0,008</b>
C*CR - EX*AA	-0,90	-9,86	<b>&lt; 0,001</b>
CC*CR - EX*AA	-0,92	-10,07	<b>&lt; 0,001</b>
EX*CR - EX*AA	-0,90	-9,82	<b>&lt; 0,001</b>
CC*CR - C*CR	-0,02	-0,60	0,999
EX*CR - C*CR	0,00	0,09	1,000
EX*CR - CC*CR	0,02	0,68	0,981

# Capítulo 3

## Depredadores de juveniles y adultos de *Ascidiella aspersa* y *Ciona robusta*



Foto: N. Battini

## Capítulo 3: Depredadores de juveniles y adultos de *Ascidella aspersa* y *Ciona robusta*

### 3.1 Resumen

La depredación por parte de organismos bentónicos juega un rol clave en el éxito en la colonización de *Ascidella aspersa* y *Ciona robusta*. Sin embargo, este proceso puede tener efectos variables a lo largo del ciclo de vida de las ascidias y entre especies. Por estas razones, el objetivo de este capítulo es determinar las especies de depredadores (nativos y exóticos) de ambas especies de ascidias, tanto juveniles como adultas, en el área portuaria. La hipótesis es que la vulnerabilidad frente a la depredación varía entre juveniles y adultos, y entre ambas especies de adultos de ascidias exóticas. Para ello, se seleccionaron cuatro grupos distintos de depredadores a través de una búsqueda bibliográfica. Se realizaron experimentos en acuario para evaluar la mortalidad en presencia de estos depredadores, de (1) adultos de *A. aspersa*, (2) adultos de *C. robusta*, (3) juveniles de ascidias. Además se determinó el pH de la túnica de cada especie como referencia a una potencial defensa química frente a la depredación. Por último, se cuantificó la abundancia de los depredadores estacionalmente a lo largo de un año en el área de estudio. Tanto los depredadores nativos como los exóticos provocaron una mortalidad significativa a los juveniles de ascidias. Los adultos de *C. robusta* fueron consumidos por erizos de mar nativos (*Arbacia dufresnii*), mientras que la especie exótica *Carcinus maenas* (Linnaeus, 1758) provocó una mortalidad significativa sobre *A. aspersa* pero no logró consumir a los individuos completamente. Esto podría indicar una palatabilidad diferencial de ambas especies debida a una disminución del pH de la túnica de *A. aspersa* luego de ser dañada superficialmente. Estos resultados reafirman el rol de los depredadores bentónicos, tanto nativos como exóticos, en el éxito en la colonización de ascidias exóticas. Estudios futuros son necesarios para evaluar el rol de estos depredadores en la resistencia biótica frente a la dispersión de estas especies, y al establecimiento de nuevas especies introducidas.

### 3.2 Introducción

La vulnerabilidad frente a la depredación puede variar a lo largo del ciclo de vida y entre distintas especies de ascidias. Por un lado, los reclutas o juveniles de ascidias, es decir los individuos asentados en el sustrato luego de finalizar la metamorfosis de la larva, son los que sufren una mayor mortalidad por depredación (Osman y Whitlatch 2004; Nydam y Stachowicz 2007; Vieira et al. 2016). Esta mortalidad puede ocurrir de manera directa, i.e. los depredadores consumen a los juveniles (Vieira et al. 2016), o indirecta, i.e. los juveniles son desprendidos del sustrato al cual no pueden volver a asentarse, debido al desplazamiento de los organismos móviles (Nydam y Stachowicz 2007). Una vez alcanzado el tamaño adulto, las ascidias pueden escapar de la depredación mediante diversos mecanismos, ya sea presentando defensas físicas o químicas. En el caso de las defensas físicas, muchas especies presentan una túnica gruesa y dura con baja palatabilidad. Las dos ascidias exóticas más comunes del área portuaria, *Ascidrella aspersa* y *Ciona robusta*, podrían diferir en la palatabilidad de sus túnicas. Si bien ambas especies poseen una túnica de consistencia cartilaginosa (Berrill 1950; Hoshino y Tokioka 1967; Tatián et al. 2010), la de *A. aspersa* es más firme que la de *C. robusta*. Con respecto a las defensas químicas, algunas especies de ascidias presentan túnicas con un pH muy bajo, debido a la presencia de ácidos orgánicos o compuestos inorgánicos almacenados en vesículas de la túnica (Stoecker 1980a; Pisut y Pawlik 2002). Si *A. aspersa* y *C. robusta* presentan una palatabilidad distinta, ya sea por defensas físicas o químicas, ambas podrían ser consumidas por diferentes depredadores y podrían presentar una vulnerabilidad diferencial frente a la depredación. Estas diferencias podrían explicar la baja abundancia de *C. robusta* comparada a la de *A. aspersa* observada en el área portuaria de Puerto Madryn, y contraria a la de otros puertos.

Como se discutió en el capítulo anterior, el éxito en la colonización de ambas especies de ascidias exóticas depende de la presión de depredación de los organismos bentónicos sobre las distintas estructuras artificiales. En estos puertos templados-fríos, los depredadores bentónicos disminuyen la cobertura de ascidias en las comunidades incrustantes de los pilotes, mientras que en estructuras artificiales suspendidas, ambas especies tienen un alto éxito en la colonización, evidenciando que los depredadores

nectónicos, como los peces, no tienen efecto sobre las ascidias (ver Capítulo 2). Entre los organismos bentónicos, trabajos previos identifican a erizos, estrellas de mar, cangrejos, camarones, nudibranchios y otros gasterópodos como depredadores de ascidias solitarias y coloniales (Osman y Whitlatch 2004; Nydam y Stachowicz 2007; Epelbaum et al. 2009; Whitlatch y Osman 2009; Dumont et al. 2011a; entre otros). En las comunidades del área en estudio, son comunes los erizos de mar nativos, como *Arbacia dufresnii*, estrellas de mar nativas, como *Allostichaster capensis* entre otras, y varias especies de gasterópodos (Rechimont et al. 2013; Souto et al. 2014). Además, recientemente fueron detectadas dos nuevas especies exóticas en el área, la babosa de mar moteada nativa de Nueva Zelanda, *Pleurobranchaea maculata* (Quoy & Gaimard, 1832), y el cangrejo verde europeo, *Carcinus maenas*, nativo del Atlántico Noreste (Hidalgo et al. 2005; Farias et al. 2015; Torres y González-Pisani 2016). La babosa de mar moteada ha alcanzado altas abundancias tanto en fondos rocosos como blandos en un corto período de tiempo (Battini et al. 2019). El cangrejo verde es una especie exótica invasora en varios lugares del mundo, que compete con cangrejos nativos y tiene un impacto negativo en bivalvos de importancia económica como mejillones y almejas (Grosholz y Ruiz 1996; Grosholz et al. 2000). En ambos casos se trata de especies de introducción reciente al Golfo Nuevo, lo que hace interesante analizar cuáles podrían ser sus potenciales presas.

Por las razones descriptas, el objetivo de este capítulo es determinar las especies de depredadores (nativos e introducidos) de las ascidias exóticas en el área portuaria, y las fluctuaciones estacionales de las abundancias de los mismos. Específicamente, se evaluó la mortalidad de adultos y juveniles en presencia de dos depredadores nativos, erizos y estrellas de mar, y de dos exóticos, la babosa de mar moteada y el cangrejo verde. También se analizaron las potenciales defensas químicas de *A. aspersa* y *C. robusta* midiendo el pH de sus túnicas. La hipótesis que se postula es que la vulnerabilidad frente a la depredación varía entre juveniles y adultos, y entre ambas especies de adultos de ascidias exóticas. Se espera que los juveniles tengan una mortalidad mayor, y que presenten una mayor riqueza de depredadores que los adultos. A su vez, se espera que los adultos de *C. robusta* presenten mayor mortalidad en presencia de depredadores que los adultos de *A. aspersa*.

### 3.3 Materiales y métodos

#### 3.3.1 Depredadores de ascidias adultas

Los potenciales depredadores de ascidias solitarias fueron elegidos luego de una búsqueda bibliográfica de las dietas de los grupos de invertebrados más comunes del área de estudio, como las estrellas de mar, los erizos de mar y los cangrejos, entre otros. Los peces fueron descartados como potenciales depredadores debido a sus comportamientos de alimentación, y a observaciones previas de su interacción con ascidias (ver Capítulo 3 de esta tesis y Galván et al 2009). De manera similar, los cefalópodos fueron descartados como potenciales depredadores debido a que se observa que las cuevas y/o los colectores que se utilizan para sus capturas, generalmente están colonizados por ascidias solitarias, lo cual descarta su consumo por parte de esos organismos (N. Ortiz, com. pers.). De cada grupo de invertebrados seleccionado, se eligió una especie modelo, de acuerdo a diferentes factores, como su estatus nativo/exótico, su abundancia en el área portuaria y alrededores, y su adaptación al acuario (ver Anexo: Consideraciones metodológicas).

Los depredadores y las ascidias solitarias adultas (largo > 30 mm) fueron recolectados mediante buceo autónomo en el área portuaria, transportados en agua de mar hasta el acuario experimental, aclimatados y alimentados *ad libitum* durante siete días con un alimento control, i.e. el ítem principal de su dieta (Tabla 3.1). Antes de comenzar los experimentos, los depredadores fueron expuestos a un período de hambreado de duración variable según la especie (Tabla 3.1), el cual fue puesto a punto antes de comenzar los experimentos (ver Anexo: Consideraciones metodológicas). Los experimentos fueron realizados en tanques aislados subdivididos en compartimientos de igual tamaño (Figura 3.1A), uno para el tratamiento (T) y otro para el control (C). El tratamiento consistió de cuatro ascidias adultas de la misma especie y un individuo de una especie de depredador, mientras que en el control solo se encontraban cuatro ascidias adultas de la misma especie. Al final del experimento, cuya duración fue dependiente de la especie de depredador (Tabla 3.1, ver Anexo: Consideraciones metodológicas para más detalles), la mortalidad de ascidias (número de individuos muertos y/o consumidos) fue medida en cada compartimiento. Cuando la mortalidad



de ascidias era nula, los depredadores fueron alimentados con las presas control para confirmar el hambre.

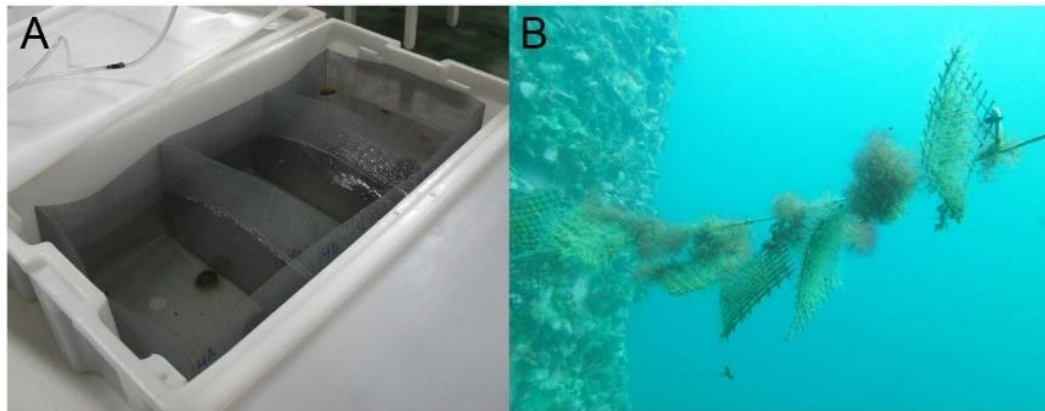


Figura 3.1: (A) Tanques aislados subdivididos donde se realizaron los experimentos, cada tanque contaba con suministro propio de aire. (B) Disposición de las redes plásticas en el muelle, para la recolección de juveniles de ascidias, cada una de las redes fue utilizada en un tratamiento o en un control. Fotos: N. Battini.

### 3.3.2 Depredadores de ascidias juveniles

Para la recolección de los juveniles de ascidias, redes plásticas de 10 x 10 cm fueron colgadas entre dos pilotes del muelle (Figura 3.1B) y controladas cada dos semanas. Una vez que los reclutas de ascidias eran visibles (largo < 30 mm), las redes fueron retiradas del agua, transportadas al acuario en agua de mar y alimentadas con fitoplancton hasta el inicio de los experimentos.

Los experimentos fueron realizados utilizando el mismo diseño que en el caso de las ascidias adultas, con los mismos depredadores potenciales. El tratamiento consistió en un individuo de una especie de depredador con una red plástica, mientras que el control únicamente con una red plástica. Ambas redes fueron fotografiadas al principio y al final del experimento, y el número de reclutas fue contabilizado en todas las fotografías utilizando el software Image J 1.52a (National Institute of Health, USA). Al final del experimento, cuya duración fue dependiente del depredador (Tabla 3.1, ver Anexo: Consideraciones metodológicas para más detalles), los depredadores fueron alimentados con las presas control para confirmar el hambre.

### 3.3.3 Análisis de defensas químicas

Para analizar posibles diferencias en el pH de la túnica de las ascidias adultas de ambas especies, se realizaron mediciones del pH utilizando tiras indicadoras (EM ColorpHast). Las tiras poseen un rango de 0 a 14 con una resolución de 1 unidad de pH. El pH de la túnica se midió de dos maneras diferentes, siguiendo a Pisut y Pawlik (2002). Primero, se retiraron las ascidias del agua y se les secó el excedente de la superficie. A continuación las tiras se apoyaron sobre la túnica seca durante unos segundos. Para evaluar la presencia de ácidos inorgánicos almacenados en vesículas sobre la túnica de ambas especies, ésta se raspó con una aguja de disección, ejerciendo una presión similar a la ejercida al escribir a mano alzada, y se midió nuevamente el pH sobre la superficie raspada. Las mediciones se realizaron sobre un total de 10 individuos por especie, y se informó el promedio de estas mediciones y el error estándar de las mismas.

### 3.3.4 Abundancia de depredadores, de *Ascidiella aspersa* y de *Ciona robusta* en el área portuaria

Para evaluar la abundancia de los potenciales depredadores, de *A. aspersa* y de *C. robusta* en el área portuaria, se realizaron dos tipos de muestreos, uno en los pilotes y otro en el fondo cercano al muelle. Se realizó un muestreo por estación, aproximadamente hacia la mitad de las mismas, y ambos (fondo y pilote) el mismo día (Verano, febrero 2018; Otoño, mayo 2018; Invierno, agosto 2018; Primavera, noviembre 2018). Para el muestreo de los pilotes, se tomaron 12 fotografías subacuáticas con un cuadrante de 20 x 20 cm en cada pilote ( $n = 10$ ) cubriendo un área de 0,48 m<sup>2</sup> por pilote. Los muestreos del fondo fueron realizados mediante la grabación de videos de 10 transectas de 1 m de ancho y 130 m de largo, cubriendo un área de 130 m<sup>2</sup> por transecta. Estas transectas fueron perpendiculares al muelle, por lo que se cubrió el fondo debajo del mismo y 100 m por fuera de este aproximadamente.

En cada fotografía se midió la abundancia de ambas especies de ascidias teniendo en cuenta tanto a las ascidias creciendo sobre el pilote como a las que estuvieran creciendo sobre otros organismos. Además, se midió la abundancia de todos los potenciales depredadores (estrellas, erizos de mar, cangrejos y babosas) utilizando el software Image J 1.52a (National Institute of Health, USA). De manera similar, la

abundancia de depredadores potenciales fue medida en toda la superficie capturada en el video. La abundancia de los potenciales depredadores fue comparada estacional y espacialmente, mientras que la de las ascidias fue comparada solo estacionalmente en los pilotes, debido a que el fondo es blando y la presencia de ascidias es dependiente de la disponibilidad de sustrato duro.

### 3.3.5 Análisis estadísticos

Para evaluar las diferencias entre los tratamientos y control de los experimentos con ascidias adultas, se realizó una prueba t de Student para cada especie de depredador y de ascidia. En los casos en los que la homogeneidad de varianzas de los datos no se cumplía, se realizó un test de t con aproximación de Welch.

En el caso de los experimentos con ascidias juveniles, las diferencias se analizaron mediante un modelo lineal generalizado con distribución binomial. El número de reclutas muertos o consumidos se consideró “éxito”, mientras que el número de sobrevivientes se consideró “fracaso”. Cuando la dispersión fue mayor a 1,5 se corrigió esta sobredispersión mediante la adición de un factor aleatorio al modelo (i.e. cada tanque individual). En el caso de los experimentos realizados con la babosa de mar, el número de ceros hizo imposible analizar los datos de la misma manera, por lo cual se realizó un test de Fisher (paquete *stats* (R Core Team 2017)) para analizar la proporción de babosas que consumieron reclutas de ascidias. En los casos en los que la mortalidad de reclutas fue significativa, se evaluaron las diferencias entre la mortalidad media causado por cada grupo de potencial depredador, mediante un test de t. Para estos análisis, los p-valores fueron ajustados utilizando el método de Bonferroni (Zar 2009) para controlar el alfa global de la prueba. Nuevamente, en los casos donde existía heterogeneidad de varianzas, se realizó un test de t con aproximación de Welch.

La abundancia de depredadores se analizó mediante análisis multivariados y modelos lineales generalizados. En primer lugar, la densidad de depredadores fue transformada mediante raíz cuarta y se realizó una matriz de similitud de Bray Curtis. Mediante un nMDS, se comparó la abundancia entre sitios y estaciones. De acuerdo al patrón de similitud observado en el nMDS (ver Sección 3.4.3), se realizó un modelo lineal generalizado con distribución de Poisson utilizando la Estación como factor fijo, para

cada sitio (fondo y pilotes). Cuando el índice de dispersión fue mayor que 1,5, se repitió el modelo agregando al pilote como factor aleatorio o utilizando la distribución Cornwall-Maxwell (paquete *glimmTMB* (Magnusson et al 2017)) para incorporar la sobredispersión al modelo. El mejor modelo fue elegido mediante el método de Akaike ( $\Delta AIC \leq 2$ ) (Zuur et al. 2007). Se realizaron pruebas de a pares entre los niveles del factor *Estación* usando la prueba de Tukey con una confianza del 95% (paquete *lsmeans* (Lenth 2016)). La abundancia de ascidias también fue analizada mediante un modelo lineal generalizado con distribución de Poisson, siguiendo los mismos parámetros explicados para los depredadores.

Para graficar la mortalidad de las ascidias en todos los experimentos y la abundancia de depredadores, de *C. robusta* y de *A. aspersa*, se utilizaron box-plot realizados con la librería *ggplot2* (Wickham 2009). En estas figuras, los bordes superior e inferior de la caja corresponden al tercer (*Q3*) y primer (*Q1*) cuartil respectivamente. La diferencia entre estos extremos es la distancia entre cuartiles (*DC*) y es utilizada para calcular los extremos de las líneas que nacen de la caja: el extremo superior corresponde al valor  $Q3 + 1,5 \times DC$ , mientras que el inferior es  $Q1 + 1,5 \times DC$ . Dentro de la caja, la línea negra representa la mediana de los datos y el cuadrado representa a la media. Todos los análisis estadísticos fueron realizados en el software R (R Core Team 2017).

**3.4 Resultados**

**3.4.1 Depredación sobre adultos y juveniles**

Los adultos de ambas especies de ascidias tuvieron diferentes depredadores.

Mientras que *A. aspersa* presentó una mortalidad significativa en presencia de cangrejos, *C. robusta* lo hizo en presencia de erizos (Figura 3.2 y Tabla 3.2). Con respecto a los depredadores restantes, la babosa de mar no consumió ni adultos de *C. robusta* ni de *A. aspersa* en ninguna de las réplicas (Figura 3.2, Tabla 3.2), mientras que las estrellas de mar, aunque causaron la mortalidad de algunos adultos de *C. robusta*, las diferencias no fueron significativas (Figura 3.2, Tabla 3.2). Además, estos organismos fueron capaces de causar diversos daños sobre la túnica de *A. aspersa*, pero sin afectar la mortalidad. De manera similar, tanto los erizos como las babosas, consumieron parte de los epibiontes presentes en la túnica de *A. aspersa* provocando daños superficiales al ramonear sobre la misma (Figura 3.3).

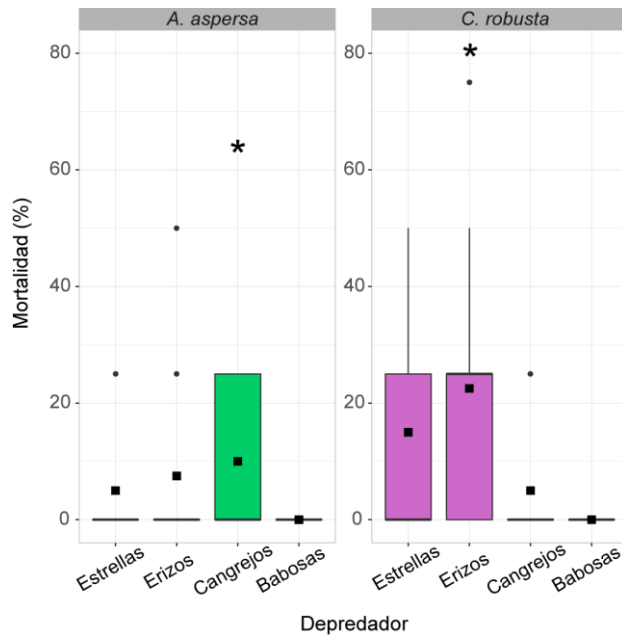


Figura 3.2: Box plot de la mortalidad (%) de individuos adultos de cada especie de ascidia, en presencia de depredador (solo se muestra el tratamiento, solo se analizaron réplicas donde los controles tuvieron mortalidad nula). Cuadrados negros: mortalidad media. Los asteriscos indican mortalidad significativa en presencia de ese depredador.

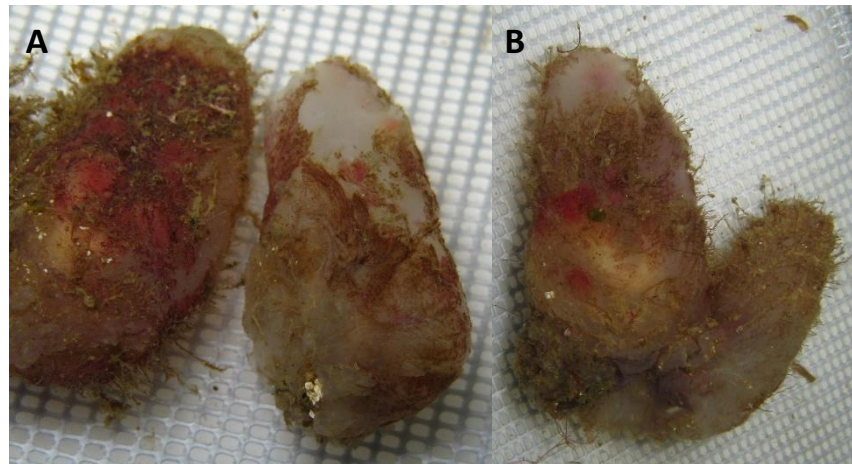


Figura 3.3: Individuos de *Ascidiella aspersa* con las tunicas parcialmente dañadas, debido al ramoneo causado por los erizos (A) y babosas (B).

Los juveniles de ascidias fueron más vulnerables a la depredación, siendo consumidos por los cuatro grupos de depredadores (Figura 3.4; Tabla 3.3; babosas, Fisher's test  $P = 0,01$ ). Entre los cuatro grupos, los erizos fueron los causantes de la mayor mortalidad de juveniles (Figura 3.5, comparaciones mediante test de  $t$ ,  $P < 0,01$  en todas las comparaciones), siendo los únicos capaces de excluir completamente a los juveniles de ascidias de las redes plásticas (Figura 3.6). El resto de los depredadores, estrellas, babosas y cangrejos, causaron una mortalidad media similar, menor a la de los erizos (Figura 3.5).

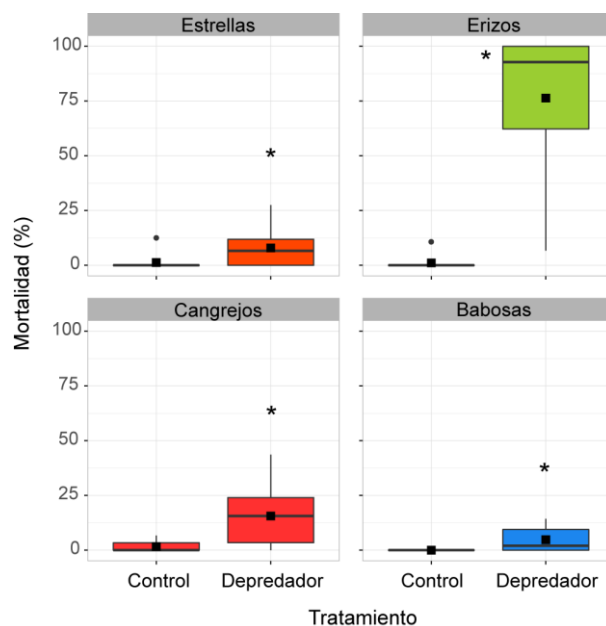


Figura 3.4: Box plot de la mortalidad (%) de juveniles de ascidias en presencia (depredador) y ausencia (control) de cada grupo de depredador. Cuadrados negros: mortalidad media. Asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos.

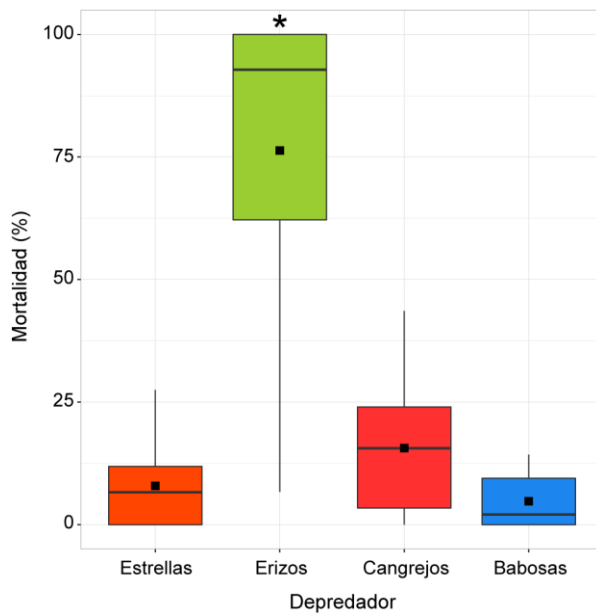


Figura 3.5: Box plot de la mortalidad (%) de juveniles de ascidias para cada grupo de depredador. Cuadrados negros: mortalidad media. Asteriscos indican diferencias significativas entre depredadores.

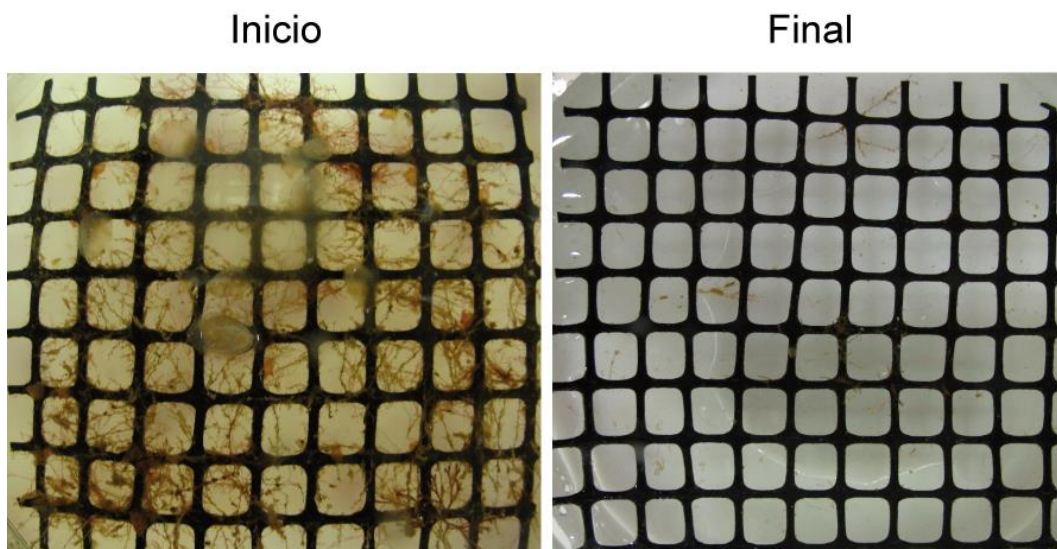


Figura 3.6: Ejemplo de redes plásticas utilizadas en uno de los experimentos con erizos. Se observa como este depredador es capaz de excluir completamente a los juveniles de ascidias.

### 3.4.2 Análisis de defensas químicas

Las túnicas secas de los adultos de *A. aspersa* y *C. robusta* presentaron un pH casi neutro. La túnica de *A. aspersa* presentó un pH medio de 6,4 (EE  $\pm$  0,16), mientras que el pH de la túnica de *C. robusta* fue de 6,3 (EE  $\pm$  0,15). Sin embargo, luego de rasparlas, la túnica de *A. aspersa* se tornó más ácida. Así, mientras el pH medio de la túnica de *A. aspersa* disminuyó a 2,6 (EE  $\pm$  0,16), la de *C. robusta* mantuvo su valor (pH medio: 6,1  $\pm$  EE 0,1).

3.4.3 Abundancia de depredadores, de *Ascidrella aspersa* y de *Ciona robusta* en el área portuaria

Los cuatro grupos de depredadores se encontraron tanto en el fondo como en el pilote, con densidades diferentes en cada sitio. Al analizar mediante análisis multivariados a estas comunidades, se observa una separación evidente entre las comunidades del fondo y las del pilote (Figura 3.7).

Dentro de cada sitio, las variaciones estacionales se analizaron por separado para cada grupo. En los pilotes, los erizos (*Arbacia dufresnii*) fueron el grupo taxonómico más abundante (Figura 3.8). La abundancia de erizos, babosas y

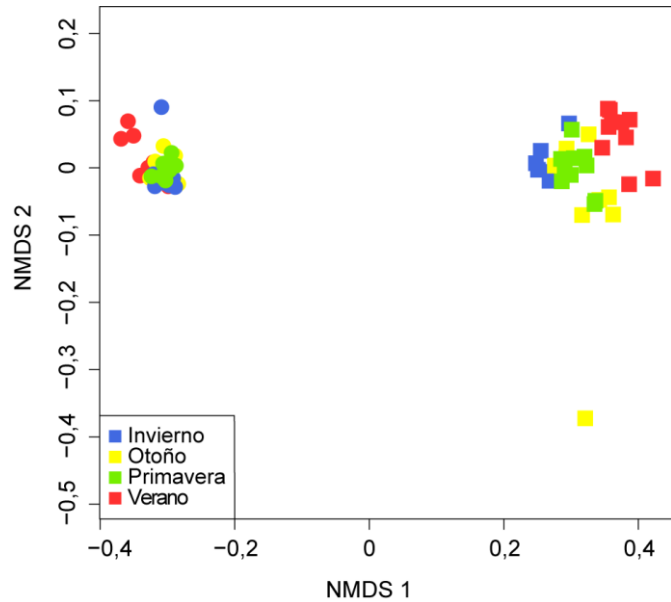


Figura 3.7: nMDS para las comunidades de depredadores, erizos, estrellas, babosas y cangrejos, comparando los sitios, fondo (■) y pilote (●), y las cuatro estaciones.

estrellas no varió a lo largo del año analizado (Figura 3.9, Tabla 3.4, Tabla 3.5, Tabla 3.6). Solo la abundancia de los cangrejos varió estacionalmente, siendo mayor durante verano y otoño (Tabla 3.7). En el fondo, se observó nuevamente a los erizos de mar como los más abundantes, aunque en este caso su abundancia si mostró diferencias entre estaciones (Figura 3.9, Tabla 3.8). La menor abundancia fue medida durante el verano (Tabla 3.8). Babosas de mar y cangrejos también mostraron diferencias entre las estaciones del año (Figura 3.9, Tabla 3.9, Tabla 3.10). En el primer caso, se observó una mayor abundancia durante el invierno (Tabla 3.9), mientras que los cangrejos presentaron una menor abundancia en verano (Tabla 3.10). Finalmente, la abundancia de las estrellas de mar fue la única que no varió durante el año (Figura 3.9, Tabla 3.11).



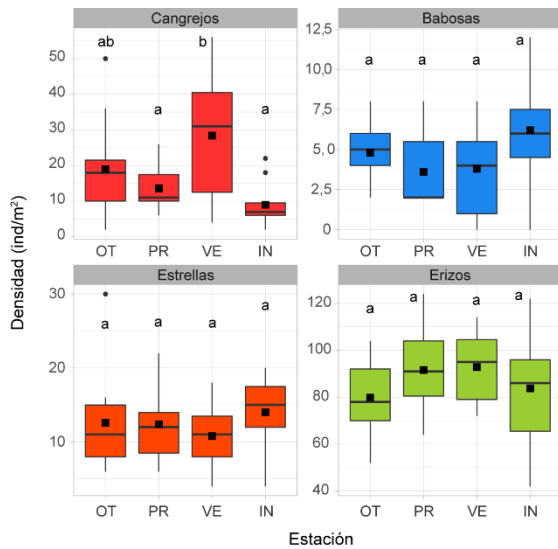


Figura 3.8: Box plot de la densidad de cada grupo de depredadores en los pilotes, en cada estación (OT, otoño; PR, primavera; VE, verano; IN, invierno). Cuadrados negros: densidad media. Letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ). Notar las diferentes escalas en los ejes Y.

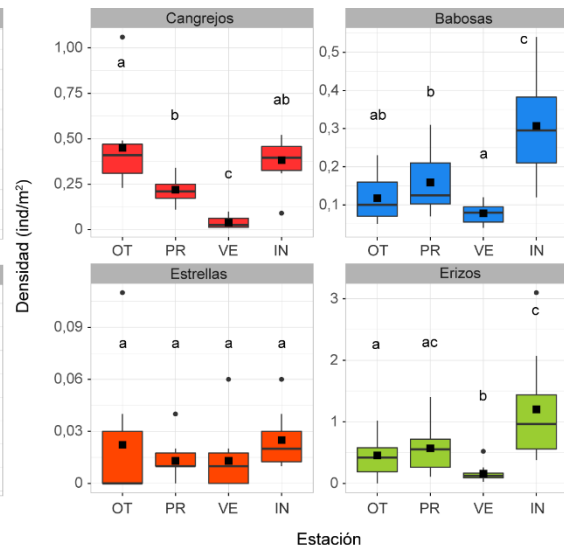


Figura 3.9: Box plot de la densidad de cada grupo de depredadores en el fondo, en cada estación (OT, otoño; PR, primavera; VE, verano; IN, invierno). Cuadrados negros: densidad media. Letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ). Notar las diferentes escalas en los ejes Y.

La abundancia de *A. aspersa* se mantuvo relativamente constante a lo largo del año, presentando un mínimo durante la primavera (media  $12,8 \pm EE 2,2$  individuos/m<sup>2</sup>), la cual solo difirió con la abundancia media del verano ( $28,4 \pm EE 2,0$  individuos/m<sup>2</sup>) (Figura 3.10, Tabla 3.12). En el caso de *C. robusta*, se observó un pico de abundancia máxima durante el otoño (media  $50,8 \pm EE 10,8$  individuos/m<sup>2</sup>) y un mínimo durante la primavera (media  $4,6 \pm EE 1,4$  individuos/m<sup>2</sup>), mientras que las medias de invierno y verano no difirieron entre ellas (Figura 3.10, Tabla 3.13). Las abundancias de ambas especies presentaron una dispersión mayor a 1,5. El mejor modelo para evaluar la abundancia de *A. aspersa* fue el realizado con una distribución de Cornwall-Maxwell la

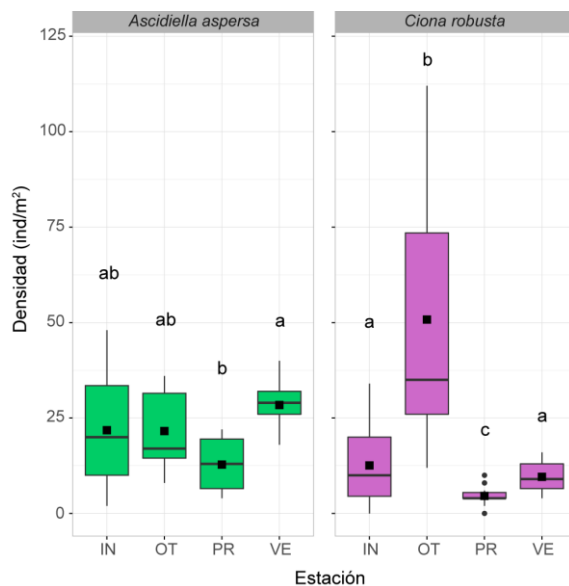


Figura 3.10: Box plot de la densidad de cada especie de ascidia en los pilotes de muelle, por estación (IN, invierno; OT, otoño; PR, primavera; VE, verano). Cuadrados negros: abundancia media. Letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

cual incorpora la sobredispersión al modelo (Tabla 3.12). En el caso de *C. robusta* el mejor modelo fue el que contenía al pilote como factor aleatorio (Tabla 3.13).

### 3.5 Discusión

Las ascidias juveniles son más vulnerables a la depredación que las adultas, y la diversidad de depredadores que poseen es mayor. A su vez, esta vulnerabilidad no varió entre especies una vez alcanzado el tamaño adulto. Solo un grupo de depredadores fue capaz de causar una mortalidad significativa para cada especie, los erizos en el caso de *Ciona robusta* y los cangrejos en el caso de *Ascidella aspersa*. Sin embargo, se observaron variaciones en los daños causados entre especies, lo cual podría ser indicador de una palatabilidad diferencial. Así, la hipótesis planteada al comienzo del capítulo, la vulnerabilidad frente a la depredación varía entre juveniles y adultos, y entre ambas especies de adultos, solo es apoyada en parte por los resultados obtenidos.

Como fue observado en otras áreas, los juveniles de ascidias fueron la etapa más vulnerable a la depredación (Nydam y Stachowicz 2007; Whitlatch y Osman 2009; Vieira et al. 2012). El efecto de los depredadores fue directo en todos los casos, i.e. en ninguno de los experimentos se observaron juveniles que hayan sido desprendidos de la reja plástica y no consumidos. Sin embargo, no se descarta que pueda existir un efecto indirecto sobre los reclutas ejercido por otros organismos bentónicos como gasterópodos o quitones. El rol de estos depredadores y la mortalidad, directa o indirecta, causada sobre juveniles de ascidias fue observado en áreas portuarias de California donde pueden tener un efecto en el desarrollo de las comunidades incrustantes (Nydam y Stachowicz 2007). También en aguas más cálidas del Atlántico Sudoccidental se observó consumo de juveniles por parte de pequeños moluscos, sin embargo los macrodepredadores tuvieron un mayor efecto sobre la composición y la cobertura de la comunidad (Vieira et al. 2012). En el área de estudio de esta tesis, a pesar de la fuerte depredación observada sobre los juveniles, ambas especies de ascidias presentan una abundancia relativamente alta en el área portuaria. Tal como se discutió en el capítulo 2, los reclutas de ascidias pueden encontrar refugio frente a la depredación entre los ejemplares adultos de bivalvos nativos, como cholgas y mejillones (*Aulacomya atra* y *Mytilus* spp.). Además, los reclutas de ascidias solitarias suelen asentarse cerca de sus parentales e incluso se asientan en un tiempo más corto en

presencia de adultos (Rius et al. 2010). Esto propicia una distribución agregada de las ascidias que puede ser beneficiosa para prevenir la depredación, ya que los juveniles podrían encontrar refugio entre los adultos. Cuando estos individuos alcanzan la talla adulta pueden presentar defensas físicas, como el tamaño y la dureza de la túnica (Dayton 1971; Jackson 1977; Koplovitz y McClintock 2011), y/o defensas químicas (Stoecker 1978; Stoecker 1980a), frente a los depredadores.

Las defensas físicas están relacionadas con la dureza y el grosor de las túnicas de las diferentes especies, lo cual les otorga una palatabilidad diferencial (Koplovitz y McClintock 2011). Por ejemplo, las ascidias *Molgula occidentalis* Traustedt, 1883 y *Styela plicata* (Lesueur, 1823) poseen una túnica lo suficientemente gruesa y dura para sobrevivir a la depredación por parte de peces en praderas de pastos marinos del Golfo de México (Koplovitz y McClintock 2011). Aunque esta variable no fue medida, mediante las descripciones de ambas especies se puede suponer que *A. aspersa* presenta una túnica relativamente más resistente o más difícil de dañar (Berrill 1950; Tatián et al. 2010) que la de *C. robusta*. Por otro lado, la palatabilidad también puede verse modificada por defensas químicas. Las ascidias pueden presentar ácidos inorgánicos en vesículas presentes en la túnica (Goodbody 1975; Stoecker 1978; Stoecker 1980a), los cuales pueden ser liberados cuando la túnica es dañada siendo una defensa frente a depredadores del tipo ramoneadores (Stoecker 1980b), como erizos y gasterópodos. La acidez de la túnica y de otros órganos de las ascidias, como las gónadas, fue evaluada varias veces como defensa frente a la depredación (Stoecker 1980a; Stoecker 1980b; Pisut y Pawlik 2002; Koplovitz et al. 2009; Koplovitz y McClintock 2011). Incluso, se observó que los ácidos presentes en especies como *Ascidia interrupta* Heller, 1878 y *Phallusia nigra* Savigny, 1816 prevalecen aún luego de que haber sido masticadas y rechazadas por los peces, siendo necesario el uso de bases fuertes para neutralizar estos ácidos (Pisut y Pawlik 2002). En esta tesis se muestra que, de ambas especies, solo *A. aspersa* contiene ácidos en su túnica y disminuye su pH luego de ser dañada superficialmente. Aunque los adultos de *C. robusta* no presentaron una mayor diversidad de depredadores que los de *A. aspersa*, una de las especies de depredadores (el erizo *Arbacia dufresnii*) fue capaz de consumir los adultos de *C. robusta* en un 100%, mientras que *A. aspersa* nunca fue consumida por completo. Por ejemplo, tanto los erizos *A. dufresnii* como las babosas *Pleurobranchaea maculata* lograron consumir parte

de los epibiontes, e incluso dañar parcialmente la túnica de *A. aspersa* pero no consumieron a la ascidia. Posiblemente el ramoneo que estos depredadores hacen sobre las túnicas rompe las vesículas presentes en ésta, provocando una disminución del pH, lo cual puede evitar la muerte de la presa (Stoecker 1980b).

Los depredadores nativos, los erizos *A. dufresnii* y las estrellas de mar *Allostichaster capensis*, fueron capaces de consumir tanto juveniles como adultos de ambas especies de ascidias exóticas. Incluso, los erizos fueron capaces de excluir a los juveniles y de consumir la totalidad o gran parte de un organismo adulto. Con estos resultados se muestra nuevamente que los organismos bentónicos nativos son depredadores activos en estas comunidades y pueden disminuir el éxito en la colonización y la abundancia de ascidias en las estructuras donde están presentes (ver Capítulo 2). Así, se plantea que los depredadores bentónicos nativos presentarían una resistencia biótica frente a las ascidias y, probablemente, frente a otras especies exóticas sésiles (Levine et al. 2004; Rius et al. 2014) lo cual debe ser estudiado en detalle.

En el caso de los depredadores exóticos, es llamativo que el cangrejo verde *Carcinus maenas*, no haya consumido individuos de *C. robusta* ya que está registrado como uno de los depredadores de especies cogenéricas (Carver et al. 2003). Sin embargo, ambos depredadores exóticos, el cangrejo verde *C. maenas* y la babosa de mar *P. maculata*, fueron introducidas recientemente en el Golfo Nuevo (Farias et al. 2015; Torres y González-Pisani 2016), por lo que las interacciones podrían no estar completamente establecidas o las ascidias podrían no ser aún reconocidas como una fuente de alimento (Epelbaum et al. 2009). No obstante, ambas especies tuvieron efectos significativos sobre los juveniles, por lo que también podrían cumplir un rol en el control de la dispersión de las ascidias. Previamente se han observado interacciones entre especies exóticas, donde una de ellas reduce el éxito de asentamiento o la abundancia de la otra (Collin y Johnson 2014; Marraffini y Geller 2015). A modo de ejemplo, en Canadá se observó que el caprelido exótico *Caprella mutica* Schurin, 1935 afecta negativamente el reclutamiento y supervivencia de las larvas de *Ciona* spp., también exótica en esa área (Collin y Johnson 2014). Por otro lado, Marraffini y Geller (2015) concluyen que la diversidad total de una comunidad, i.e. teniendo en cuenta especies nativas, exóticas y criptogénicas, tiene una influencia mayor en la resistencia biótica de la comunidad a las nuevas introducciones que la diversidad de especies

nativas por si solas. Tanto los resultados presentados aquí como las observaciones previas, muestran la importancia de considerar tanto a las especies nativas como a las exóticas al evaluar las interacciones presentes en las comunidades.

Observaciones previas en el área de estudio muestran que el efecto de la depredación sobre las comunidades incrustantes de los pilotes no varía con la estación (Giachetti et al. 2019). De hecho, se observó que las abundancias de los cuatro grupos de depredadores no variaron temporal o espacialmente de manera de explicar los patrones de abundancia observados para las ascidias exóticas en el muelle. Aunque *A. aspersa* fue más abundante que *C. robusta* tanto en estructuras fijas como flotantes y al excluir a los depredadores (ver Capítulo 2), no se observaron diferencias sustanciales en la depredación sufrida por ambas especies. Incluso, los erizos de mar, principales consumidores de adultos de *C. robusta*, presentan la mayor abundancia en los pilotes. Si la presión de depredación sobre *C. robusta* fuera mayor debido a la densidad de erizos, estas ascidias deberían haber aumentado su densidad en ausencia de depredadores (ver Capítulo 2), y no debieran observarse los máximos de abundancia de *C. robusta* durante el otoño en los pilotes del muelle. A su vez, estas diferencias no se deberían a una depredación diferencial de juveniles. Aunque los reclutas no pudieron ser identificados a nivel de especie, el efecto de los depredadores, incluidos a los erizos que fueron los mayores consumidores, no fue especie específico. Teniendo en cuenta estas observaciones, se plantea que los patrones de abundancia de ambas especies de ascidias exóticas podrían deberse a diferencias en su ecología reproductiva, lo cual se discute en el capítulo siguiente.

Los resultados presentados aquí reafirman el rol de los depredadores bentónicos sobre las ascidias exóticas en comunidades incrustantes de un puerto templado-frío. Tanto depredadores nativos como exóticos influyen en la estructura de estas comunidades, ya que el efecto observado sobre los juveniles de ascidias puede afectar indirectamente a la competencia por el espacio (Nydham y Stachowicz 2007) y definir las especies dominantes a largo plazo de la comunidad (Osman y Whitlatch 1996). Por otro lado, ponen en evidencia la necesidad de evaluar el efecto de la depredación en distintas etapas del desarrollo, para obtener un panorama claro de la potencial resistencia biótica que podría ejercer una comunidad (Rius et al. 2014). En este sentido son necesarios más estudios para evaluar el efecto de los depredadores sobre las etapas larvales de las

ascidias solitarias y sobre otras especies exóticas de reciente introducción, como son las ascidias coloniales.

### 3.6 Tablas

Tabla 3.1: Especie utilizada, presa control, período de hambreado y duración del experimento para cada grupo de depredadores potenciales.

Grupo	Especie	Presa control	Hambreado	Experimento adultos	Experimento juveniles
Erizos	<i>Arbacia dufresnii</i>	Algas verdes	2 días	7 días	6 días
Estrellas	<i>Allostichaster capensis</i>	Mejillines	9 días	10 días	5 días
Babosas	<i>Pleurobranchaea maculata</i>	Mejillines abiertos	4 días	2 días	4 días
Cangrejos	<i>Carcinus maenas</i>	Mejillines	6 días	7 días	7 días

Tabla 3.2: Test de Student para los experimentos de depredación sobre adultos de ascidias. Los asteriscos indican los casos donde fue necesario realizar la prueba con la aproximación de Welch. En negrita, p-valores significativos.

Depredador	Grados de libertad	Estadístico (t)	P-valor	Intervalo de confianza (95%)
<i>Ascidiella aspersa</i>				
Erizos	18	1,41	0,177	(-0,148; 0,748)
Estrellas	18	1,5	0,151	(-0.080; 0,480)
Cangrejos*	9	2,45	<b>0,037</b>	(0,030; 0,769)
<i>Ciona robusta</i>				
Erizos*	9	3	<b>0,015</b>	(0,246; 1,754)
Estrellas*	9	2,25	<b>0,051</b>	(-0.003; 1.203)
Cangrejos	18	1,5	0,151	(-0.080; 0,480)

Tabla 3.3: Modelos generalizados con distribución binomial para los experimentos de depredación sobre juveniles de ascidias. En negrita, p-valores significativos. Para las babosas se realizó un test de Fisher que se informa en el apartado 3.4.1.

	Parámetro	Error estándar	Estadístico (z)	P-valor (z)
Ordenada	-5,86	1,02	-5,76	8,53e <sup>-9</sup>
Erizos	7,89	0,91	8,65	<b>&lt; 2e<sup>-16</sup></b>
Ordenada	-5,18	0,87	-5,94	2,88e <sup>-9</sup>
Estrellas	2,18	0,76	2,87	<b>0,004</b>
Ordenada	-4,08	0,57	-7,13	1e <sup>-12</sup>
Cangrejos	2,18	0,55	3,97	<b>7,31e<sup>-5</sup></b>

Tabla 3.4: Modelo lineal generalizado con distribución de Poisson para la abundancia de erizos en los pilotes. En negrita, p-valores significativos (p < 0,05).

	Parámetro	Error estándar	Estadístico (z)	P-valor (z)
Ordenada	3,73	0,07	54,6	<b>&lt;2e<sup>-16</sup></b>
Otoño	-0,05	0,10	-0,50	0,617
Primavera	0,09	0,09	0,94	0,347
Verano	0,10	0,09	1,08	0,280

Tabla 3.5: Modelo lineal generalizado con distribución de Poisson para la abundancia de babosas de mar en los pilotes. En negrita, p-valores significativos (p < 0,05).

	Parámetro	Error estándar	Estadístico (z)	P-valor (z)
Ordenada	1,13	0,18	6,30	<b>2,99e<sup>-10</sup></b>
Otoño	-0,25	0,27	-0,94	0,346
Primavera	-0,54	0,29	-1,83	0,067
Verano	-0,49	0,29	-1,68	0,093



Tabla 3.6: Modelo lineal generalizado con distribución de Poisson para la abundancia de estrellas de mar en los pilotes. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

	Parámetro	Error estándar	Estadístico (z)	P-valor (z)
Ordenada	1,94	0,12	16,28	<b>&lt; 2e<sup>-16</sup></b>
Otoño	-0,10	0,17	-0,61	0,544
Primavera	-0,12	0,17	-0,70	0,487
Verano	-0,26	0,18	-1,43	0,152

Tabla 3.7: (A) Modelo lineal generalizado con distribución de Poisson para la abundancia de cangrejos en los pilotes. (B) Resultados de los análisis de a pares para la abundancia de cangrejos entre estaciones. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

(A)	Parámetro	Error estándar	Estadístico (z)	P-valor (z)
Ordenada	1,50	0,25	6,01	<b>1,81e<sup>-09</sup></b>
Otoño	0,75	0,32	2,36	<b>0,018</b>
Primavera	0,41	0,33	1,24	0,214
Verano	1,15	0,30	3,83	<b>&lt; 0,001</b>

(B)	Parámetro	Estadístico (z)	P-valor
Invierno*Otoño	-0,75	-2,36	0,085
Invierno*Primavera	-0,41	-1,24	0,599
Invierno*Verano	-1,15	-3,83	<b>0,001</b>
Otoño*Primavera	0,33	1,14	0,661
Otoño*Verano	-0,40	-1,58	0,392
Primavera*Verano	-0,74	-2,69	<b>0,036</b>

Tabla 3.8: (A) Modelo lineal generalizado con distribución de Poisson para la abundancia de erizos en el fondo. (B) Resultados de los análisis de a pares para la abundancia de erizos entre estaciones. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

(A)	Parámetro	Error estándar	Estadístico (z)	P-valor (z)
Ordenada	4,94	0,17	29,75	<b>&lt; 2e<sup>-16</sup></b>
Otoño	-0,92	0,29	-3,22	<b>0,001</b>
Primavera	-0,58	0,26	-2,20	<b>0,028</b>
Verano	-1,86	0,32	-5,85	<b>4,76e<sup>-09</sup></b>
(B)	Parámetro	Estadístico (z)	P-valor	
Invierno*Otoño	0,92	3,22	<b>0,007</b>	
Invierno*Primavera	0,58	2,20	0,123	
Invierno*Verano	1,86	5,85	<b>&lt; 0,001</b>	
Otoño*Primavera	-0,35	-1,13	0,672	
Otoño*Verano	0,93	2,60	<b>0,046</b>	
Primavera*Verano	1,28	3,80	<b>0,001</b>	

Tabla 3.9: (A) Modelo lineal generalizado con distribución de Poisson para la abundancia de babosas de mar en el fondo. (B) Resultados de los análisis de a pares para la abundancia de babosas entre estaciones. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

(A)	Parámetro	Error estándar	Estadístico (z)	P-valor (z)
Ordenada	3,67	0,12	30,12	<b>&lt; 2e<sup>-16</sup></b>
Otoño	-0,99	0,23	-4,34	<b>1,45e<sup>-05</sup></b>
Primavera	-0,51	0,19	-2,63	<b>0,008</b>
Verano	-1,17	0,23	-5,07	<b>4,07e<sup>-07</sup></b>
(B)	Parámetro	Estadístico (z)	P-valor	
Invierno*Otoño	0,99	4,34	<b>&lt; 0,001</b>	
Invierno*Primavera	0,51	2,63	<b>0,042</b>	
Invierno*Verano	1,17	5,07	<b>&lt; 0,001</b>	
Otoño*Primavera	-0,48	-1,95	0,207	
Otoño*Verano	0,18	0,64	0,919	
Primavera*Verano	0,66	2,65	<b>0,040</b>	

Tabla 3.10: (A) Modelo lineal generalizado con distribución de Poisson para la abundancia de cangrejos en el fondo. (B) Resultados de los análisis de a pares para la abundancia de cangrejos entre estaciones. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

(A)	Parámetro	Error estándar	Estadístico (z)	P-valor (z)
Ordenada	3,86	0,12	30,88	<b>&lt; 2e<sup>-16</sup></b>
Otoño	0,15	0,17	0,85	0,396
Primavera	-0,39	0,19	-2,02	<b>0.043</b>
Verano	-2,15	0,29	-7,32	<b>2.56e<sup>-13</sup></b>
(B)	Parámetro	Estadístico (z)	P-valor	
Invierno*Otoño	-0,15	-0,85	0,831	
Invierno*Primavera	0,39	2,02	0,179	
Invierno*Verano	2,15	7,32	<b>&lt; 0,001</b>	
Otoño*Primavera	0,54	2,81	<b>0,026</b>	
Otoño*Verano	2,30	7,84	<b>&lt; 0,001</b>	
Primavera*Verano	1,76	5,77	<b>&lt; 0,001</b>	

Tabla 3.11: (A) Modelo lineal generalizado con distribución de Poisson para la abundancia de estrellas de mar en el fondo. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

(A)	Parámetro	Error estándar	Estadístico (z)	P-valor (z)
Ordenada	1,03	0,30	3,42	<b>0,001</b>
Otoño	-0,18	0,45	-0,40	0,685
Primavera	-0,29	0,44	-0,65	0,517
Verano	-0,39	0,45	-0,86	0,390

Tabla 3.12: (A) Modelo lineal generalizado con distribución de Poisson para la abundancia de *Ascidiella aspersa*. (B) Resultados de los análisis de a pares para la abundancia de *A. aspersa* entre estaciones. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

(A)	Parámetro	Error estándar	Estadístico (z)	P-valor (z)
Ordenada	3,08	0,15	20,4	<b>&lt;2e<sup>-16</sup></b>
Otoño	-0,01	0,21	-0,04	0,96
Primavera	-0,53	0,24	-2,22	<b>0,03</b>
Verano	0,26	0,20	1,31	0,19
(B)	Parámetro	Estadístico (z)	P-valor	
Invierno*Otoño	0,01	0,04	1,000	
Invierno*Primavera	0,53	2,21	0,120	
Invierno*Verano	-0,26	-1,32	0,551	
Otoño*Primavera	0,52	2,17	0,132	
Otoño*Verano	-0,27	-1,36	0,524	
Primavera*Verano	-0,80	-3,45	<b>0,003</b>	

Tabla 3.13: (A) Modelo lineal generalizado con distribución de Poisson para la abundancia de *Ciona robusta*. (B) Resultados de los análisis de a pares para la abundancia de *C. robusta* entre estaciones. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

(A)	Parámetro	Error estándar	Estadístico (z)	P-valor (z)
Ordenada	2,36	0,21	11,13	<b>&lt; 2e<sup>-16</sup></b>
Otoño	1,39	0,10	14,05	<b>&lt; 2e<sup>-16</sup></b>
Primavera	-1,01	0,17	-5,87	<b>4.45e<sup>-9</sup></b>
Verano	-0,27	0,13	-2,01	<b>0.04</b>
(B)	Parámetro	Estadístico (z)	P-valor	
Invierno*Otoño	-1,39	-9,96	<b>&lt; 0,001</b>	
Invierno*Primavera	1,01	4,16	<b>&lt; 0,001</b>	
Invierno*Verano	0,27	1,43	0,482	
Otoño*Primavera	2,40	11,09	<b>&lt; 0,001</b>	
Otoño*Verano	1,67	10,64	<b>&lt; 0,001</b>	
Primavera*Verano	-0,73	-2,92	<b>0,019</b>	

### 3.7 Anexo: Consideraciones metodológicas<sup>1</sup>

El diseño metodológico utilizado en los experimentos de acuario de este capítulo fue puesto a punto tanto para definir a las especies modelo como el período de hambreado de las mismas y la duración del experimento. Como se explicó previamente (ver Sección 3.3.1), los grupos taxonómicos de depredadores fueron seleccionados a partir de una búsqueda bibliográfica. Sin embargo, para definir a las especies modelo se tuvo en cuenta su abundancia en el área de estudio y su adaptación al acuario. Los períodos de hambreado y de experimentación fueron definidos de acuerdo a cada especie, mediante pruebas previas a iniciar los experimentos. En esta sección, además de detallar las consideraciones realizadas para cada tipo de depredador, se especificarán los cuidados necesarios para mantener a las ascidias en acuario. Se espera que el contenido de este anexo sea de utilidad para futuros trabajos en acuario con estas especies u otras similares.

En el caso de los erizos de mar, *Arbacia dufresnii* es la especie más abundante del área de estudio y ha sido previamente utilizada en experimentos de acuario (Rubilar et al. 2016), por lo que se conocía su fácil adaptación al mismo. Esta especie logra aclimatarse en aproximadamente 24 hs al cautiverio, tiempo en el cual comienza a alimentarse regularmente. Debido a la experiencia previa, se eligieron a las algas verdes como presa control, ya que son sencillas de obtener, pueden ser mantenidas durante varios días en acuario, y los erizos se alimentan fácilmente de ellas. Además, se probaron algas rojas y mejillines abiertos, pero el consumo no fue tan eficaz para los tiempos experimentales como lo era con las algas verdes. El período de hambreado fue fácilmente definido calculando el tiempo en el cual se dejaban de observar heces en la pecera.

De las especies de estrellas presentes en el área de estudio, *Allostichaster capensis* fue la que mejor se aclimató al acuario y a las peceras aisladas (i.e. sin sistema de recirculación de agua), y también fue utilizada previamente en experimentos de acuario (Rubilar et al. 2011). Las restantes especies, *Cosmasterias lurida*, *Anasterias antartica* (= *minuta*) y *Cycethra verrucosa*, sufrieron decoloración, fisión y en algunos pocos casos mortalidad, claros signos de estrés, sin lograr completar el período de aclimatación las dos primeras. Las estrellas (*A. capensis*) fueron alimentadas con

mejillines, una presa fácil de coleccionar y de mantener en acuario por varias semanas. El período de hambreado fue ajustado a través de pruebas de alimentación con la presa control evaluando diferentes períodos de tiempo, ya que las heces de las estrellas no pudieron ser detectadas fácilmente. Es importante aclarar que estos depredadores fueron el grupo con el período de aclimatación más largo, demorando entre 5 y 7 días en alimentarse.

En el caso de los cangrejos y gasterópodos, se decidió utilizar como especies modelo a dos especies exóticas. Para los cangrejos fue elegida *Carcinus maenas*, debido a que es una especie reconocida como una eficaz depredadora, mientras que como representante de los gasterópodos se utilizó a *Pleurobranchaea maculata*, una especie de reciente introducción que alcanzó abundancias altas en corto tiempo (Battini et al. 2019). Ambas especies se aclimataron rápidamente al acuario y a las peceras aisladas, y comenzaron a alimentarse dentro de las 24 hs o menos tiempo. En ambos casos se utilizaron mejillines como presa control, los cuales eran abiertos antes de ofrecerlos a *P. maculata*. Para definir el período de hambreado, se calculó el tiempo en el cual se dejaban de ver heces en la pecera.

Con todos los depredadores se realizaron pruebas previas utilizando las presas control con el fin de ajustar la duración del experimento, y comprobar si demoraban en alimentarse luego del hambreado. Además, se realizaron pruebas con ascidias para registrar las marcas debidas al manipuleo y el comportamiento de los depredadores. Para erizos, babosas y cangrejos se observaron marcas superficiales sobre la túnica y los epibiontes (ver Sección 3.4.1), mientras que para las estrellas se registró que estas pasaban varios días sobre la ascidia intentando consumir parte de ella, logrando romperla en algunos casos. Estas pruebas volvieron a repetirse antes de comenzar los experimentos con juveniles, para los cuales se observó que los tiempos de manipuleo eran mucho menores, por lo cual se decidió reducir la duración del experimento (ver Tabla 3.1).

Para las ascidias, los cuidados fueron los mismos para todas las especies utilizadas. En primer lugar, al recolectarlas unidas entre sí formando “bochones” grandes (más de 5 ascidias juntas), fue necesario separarlas cuidadosamente en grupos pequeños, retirando los poliquetos y el sedimento que se asientan entre ellas. Esto aumenta la supervivencia de las ascidias durante el primer día de aclimatación, además

de mantener las condiciones óptimas del agua de la pecera durante un período más largo de tiempo. Las peceras donde se las aclimataba fueron controladas todos los días en búsqueda de ascidias muertas, para retirarlas rápidamente ya que la descomposición tiene lugar en un período de tiempo muy corto. Tanto durante la aclimatación como durante los experimentos, se las alimentó diariamente con fitoplancton comercial (Kent Marine®, Phytoplex), siguiendo las indicaciones del producto.

El uso de peceras sin sistema de recirculación es una ventaja en este tipo de experimentos, ya que se asegura que potenciales señales químicas liberadas por las presas y/o los depredadores no afecten a las restantes réplicas. Sin embargo se debe asegurar la calidad del agua en cada pecera. Durante las experiencias previas, se observó que la concentración de nitritos y nitratos era el factor que más afectaba a las especies utilizadas. Esta variable fue medida regularmente en las peceras mediante un test colorimétrico comercial y según los valores obtenidos se procedía a cambiar las tres cuartas partes o la totalidad del agua de la pecera. Aunque estos controles fueron especialmente importantes en las peceras donde se mantenían a los organismos hasta su uso en los experimentos, también se realizaron en las peceras experimentales. Entre las restantes variables, la temperatura y el fotoperiodo son variables controladas del Acuario Experimental de CCT CENPAT, mientras que la salinidad no sufría variaciones drásticas debido a que las peceras se encontraban tapadas y la evaporación era mínima.

Finalmente en la Tabla 3.14 se resumen las principales consideraciones metodológicas que se tuvieron en cuenta al trabajar en acuario con las especies utilizadas durante el desarrollo de este capítulo de tesis. Los tiempos mencionados se pusieron a punto de acuerdo a las condiciones del Acuario Experimental del CCT CENPAT-CONICET, en peceras sin sistema de recirculación, como se aclaró previamente.

Tabla 3.14: Consideraciones metodológicas principales para cada especie utilizada en los experimentos de acuario desarrollados en esta tesis.

Especie	Tiempo de aclimatación	Ítem presa preferido	Signos de stress	Cambios de agua
<i>Arbacia dufrenoyi</i>	≤ 24 hs	<i>Ulva</i> sp.	Pérdida de espinas	1 vez por semana*
<i>Allostichaster capensis</i>	5-7 días	<i>Mytilus</i> sp.	Decoloración	2 veces por semana
<i>Anasterias minuta</i>	No se aclimató	-	Decoloración Fisión	Cada 48 hs
<i>Comasterias lurida</i>	No se aclimató	-	Fisión Mortalidad	Cada 24 hs
<i>Cycethra verrucosa</i>	8-14 días	<i>Mytilus</i> sp.	Decoloración	2 veces por semana
<i>Carcinus maenas</i>	≤ 24 hs	<i>Mytilus</i> sp.	Falta de alimentación	1 vez por semana*
<i>Pleurobranchaea maculata</i> * <sup>1</sup>	≤ 24 hs	<i>Mytilus</i> sp.	Falta de alimentación Exposición de la branquia	Cada 48 hs
Ascidias	24 hs	Fitoplancton comercial	Mortalidad	Cada 48 hs* <sup>2</sup>

\*Se recomienda aumentar la frecuencia a dos veces por semana si el número de individuos por pecera es alto (más de 5 cangrejos o más de 10 erizos en pecera de 100 litros).

\*<sup>1</sup>Battini N (2019) Invasiones biológicas en áreas portuarias: Evaluando estrategias de éxito en un molusco exótico, potencialmente neurotóxico y con alto riesgo de expansión regional. Tesis Doctoral, FCEyN, Universidad de Buenos Aires.

\*<sup>2</sup> Dependiente de la densidad de ascidias en la pecera. El valor expresado es para una densidad alta en una pecera de 100 litros, i.e. la frecuencia máxima. Es recomendable controlar la concentración de nitritos y nitratos en agua para no realizar cambios de agua innecesarios.

1: Este anexo es parte de la Tesis doctoral de Clara B. Giachetti, titulada *Patrones y procesos ecológicos que determinan el éxito en la colonización de especies exóticas en áreas portuarias*, presentada en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires (2019).



**Capítulo 4**  
**Ecología reproductiva de**  
***Ascidiella aspersa* y *Ciona***  
***robusta***



## Capítulo 4: Ecología reproductiva de *Ascidrella aspersa* y *Ciona robusta*

### 4.1. Resumen

La ecología reproductiva de las ascidias está relacionada con variables ambientales, como la temperatura y la disponibilidad de alimento en forma de fitoplancton, y puede variar entre sitios según las fluctuaciones de estas variables. Así, la ecología reproductiva de las especies exóticas podría verse alterada respecto a la correspondiente a su distribución nativa o incluso entre distintas áreas invadidas, influyendo en el éxito en la colonización entre regiones. Este aspecto de la ecología de *Ascidrella aspersa* y *Ciona robusta*, puede contribuir a comprender los patrones de abundancia observados, i.e. la mayor abundancia de *A. aspersa* tanto en estructuras fijas como suspendidas y solo superada por la de *C. robusta* durante el otoño. Por estas razones, los objetivos de este capítulo son estudiar la ecología reproductiva anual de las ascidias exóticas dominantes y su relación con las variaciones temporales de parámetros ambientales. Para ello, se analizaron bajo microscopio óptico cortes histológicos de las gónadas de ambas especies para estudiar el desarrollo de las gametas a lo largo de un año. Durante ese tiempo, se registró la temperatura y se estimó la concentración de clorofila *a* (como medida indirecta de la disponibilidad de fitoplancton), para evaluar su potencial influencia en el desarrollo de las gametas. Se observó que mientras *A. aspersa* presenta gametas maduras durante los meses más cálidos del año, *C. robusta* presenta oocitos y espermatozoides maduros durante todo el año. Ambas especies difieren con lo observado en sus áreas nativas, e incluso en otras áreas donde fueron introducidas. Los resultados obtenidos no logran explicar por sí solos los patrones de abundancia relativa de ambas especies. Se concluye que otros procesos también podrían estar influyendo sobre diferentes etapas del ciclo de vida. Durante el verano, cuando ambas especies liberan gametas al medio y tiene lugar la fertilización, podría existir competencia o depredación diferencial de las gametas y/o de las larvas. Además, las larvas de *A. aspersa* podrían ser más exitosas en la búsqueda y colonización de un sustrato para su asentamiento que las de *C. robusta*. Estas nuevas hipótesis plantean la necesidad de más estudios que confirmen el rol de estos procesos.

## 4.2. Introducción

La Clase Ascidiacea presenta diversas formas de reproducción. Por un lado, las ascidias coloniales pueden reproducirse tanto asexual como sexualmente, mientras que las solitarias presentan reproducción sexual, siendo todas ellas hermafroditas. Tanto *Ascidiella aspersa* como *Ciona robusta*, pertenecen al Orden Phlebobranchia, en el cual la gónada hermafrodita se encuentra ubicada dentro del espacio formado por la curva del intestino o cercano a ésta (Berrill 1975). En el caso de *A. aspersa*, el intestino y las gónadas se encuentran del lado izquierdo del cuerpo, mientras que en *C. robusta* se encuentran mayormente ocupando todo el espacio del cuerpo por debajo del saco branquial. Tanto los ovarios como los testículos se disponen uno al lado del otro, a menudo en forma de racimo dentro de la curva intestinal o superando ese espacio, sobre las paredes del intestino, dependiendo del grado de desarrollo (Berrill 1950; Hoshino y Tokioka 1967). Las gametas maduras se almacenan en los gonoductos, oviducto y espermiducto por separado, los cuales corren paralelos al intestino y se abren al atrio cerca de la base del saco branquial (Hoshino y Tokioka 1967; Berrill 1975). Ambas especies son ovíparas, con fertilización externa cruzada, es decir no hay autofertilización. Los oocitos maduros están recubiertos por dos capas: la más interna por debajo de la membrana vitelina está formada por las células foliculares internas (*test cells*, en inglés), mientras que la más externa está formada por las células foliculares (Berrill 1975). Se le han otorgado diversas funciones a las células foliculares, principalmente durante la fecundación. Estas células estarían involucradas en el reconocimiento entre el óvulo y los espermatozoides homólogos, en evitar la poliespermia y en la flotación de los óvulos, tal como sucede en *Ascidiella* y *Ciona* (Miller 1975; Lambert y Lambert 1978; Lambert et al. 1995; Byrd y Lambert 2000).

La ecología reproductiva de las ascidias está relacionada con variables ambientales como la temperatura y la concentración de clorofila, la cual puede ser entendida como la disponibilidad y la calidad de alimento (fitoplancton), ya que son organismos filtradores (Millar 1971; Yamaguchi 1975; Becerro y Turon 1992). Teniendo en cuenta esto, los patrones reproductivos pueden variar entre sitios según las fluctuaciones de estas variables. Por ejemplo, las especies de aguas cálidas presentan ciclos reproductivos casi continuos, mientras que especies de aguas frías y templadas pueden tener uno o dos picos reproductivos marcados (Berrill 1975; Svane y Young

1989). Esto es de especial importancia en el caso de especies exóticas, ya que su ecología reproductiva podría variar con respecto a la de su distribución nativa o incluso entre distintas áreas invadidas, influyendo en el éxito en la colonización entre regiones. Por otro lado, este éxito también puede estar afectado por la presencia de otras especies de ascidias. Trabajos previos muestran que puede existir competencia interespecífica durante distintas etapas del ciclo de vida, pudiendo definir el éxito en la colonización de una especie exótica con respecto a especies nativas u otras exóticas (Rius et al. 2009b; Rius et al. 2014). Así, la fertilización puede verse disminuida en presencia de esperma de distintas especies, debido a un bloqueo temprano del oocito para evitar la poliespermia (Lambert 2000), o incluso el asentamiento de las larvas puede verse reducido en presencia de otras especies competitivamente dominantes (Rius et al. 2009b). A modo de ejemplo, en Australia las larvas de la ascidia nativa *Microcosmus squamiger* Michaelsen, 1927 y de la exótica *Styela plicata* evitan asentarse en presencia de la otra (Rius et al. 2009b). Mientras que en California, la ascidia nativa *Ascidia ceratodes* (Huntsman, 1912) parece disminuir la tasa de fertilización de *C. robusta*, exótica en esa área (Rius et al. 2014). En el caso de *A. aspersa* y *C. robusta*, ambas son excelentes competidoras por el espacio y presentan un alto éxito en la colonización en diversas estructuras antrópicas (ver Capítulo 1 y Capítulo 2). Sin embargo, como se discutió en los capítulos anteriores, se observan claras diferencias en los patrones de colonización de ambas ascidias en el área de estudio. En estructuras fijas y suspendidas *A. aspersa* presenta una mayor abundancia, mientras que la de *C. robusta* solo aumenta durante el otoño. Esto podría no solo ser resultado de los procesos analizados (depredación de adultos y juveniles), sino también de diferencias en la historia de vida de ambas especies.

Por estas razones, en este capítulo se discuten las diferencias en la ecología reproductiva de *A. aspersa* y *C. robusta*, y sus consecuencias en la estructura de las comunidades incrustantes estudiadas. Los objetivos de este capítulo son estudiar la ecología reproductiva anual de las ascidias exóticas dominantes y su relación con las variaciones temporales de parámetros ambientales. Las hipótesis puestas a prueba son que (1) las diferentes especies de ascidias exóticas presentan variaciones en la ecología reproductiva a lo largo del año, y que (2) la misma varía de acuerdo a las fluctuaciones de los parámetros ambientales físicos y biológicos.

### 4.3. Materiales y métodos

#### 4.3.1 Análisis histológicos

Para estudiar y comparar la ecología reproductiva de *A. aspersa* y *C. robusta*, se recolectaron cinco individuos de cada especie por mes durante un año (2014). Los ejemplares fueron relajados en mentol, hasta que no pudieran cerrar los sifones al tocarlos con una aguja de disección. En ese momento se midió su longitud antero-posterior con un calibre, para verificar que todos tuvieran una longitud mayor a 30 mm, y posteriormente fueron fijados en formalina 4% en agua de mar. Debido a la íntima relación de las gónadas y el sistema digestivo característico del Orden Phlebobranchia, el aislamiento total de las gónadas no es posible. Esto impide el uso del índice gonadal para evaluar la inversión energética en el desarrollo de las gónadas, comúnmente utilizado en análisis reproductivos de invertebrados marinos (Becerro y Turon 1992; Sahade et al. 2004; Averbuj et al. 2010; entre otros). Por esta razón, la ecología reproductiva de ambas especies fue estudiada a partir de la histología de las gónadas.

Para los cortes histológicos se diseccionaron la totalidad de los individuos. En el caso de *A. aspersa*, se removió la sección media del tubo digestivo, mientras que para *C. robusta* se removió el ovario y una porción del intestino. En ambos casos, el tejido fue preservado en cassetes para histología en etanol 70%. Para evitar posibles daños al cambiar el tejido del fijador al conservante, se realizó una deshidratación escalonada pasando por etanol 30%, etanol 50% y finalmente etanol 70%. El tejido fue procesado, siguiendo técnicas histológicas estandarizadas, en el Laboratorio de Histología del CCT CENPAT, donde fue montado en parafina y teñido con hematoxilina-eosina.

Cada corte fue analizado y fotografiado bajo microscopio óptico. A partir de las fotografías, se midió el diámetro de aquellos oocitos en los cuales se podía observar el nucléolo ( $100 > n > 70$ , siempre que fuera posible), incluyendo a las células accesorias y utilizando el software Image J 1.52a (National Institute of Health, USA). Para analizar el desarrollo de los folículos masculinos, se estableció una escala subjetiva de 4 etapas: temprana, desarrollo, maduro y residual (Figura 4.1 y Figura 4.2) (Becerro y Turon 1992; Rius et al. 2009a; Lynch et al. 2016). De manera similar, se determinó una escala para los oocitos según el desarrollo de las células foliculares (Figura 4.1 y Figura 4.2) (Becerro y Turon 1992; Rius et al. 2009a; Lynch et al. 2016).

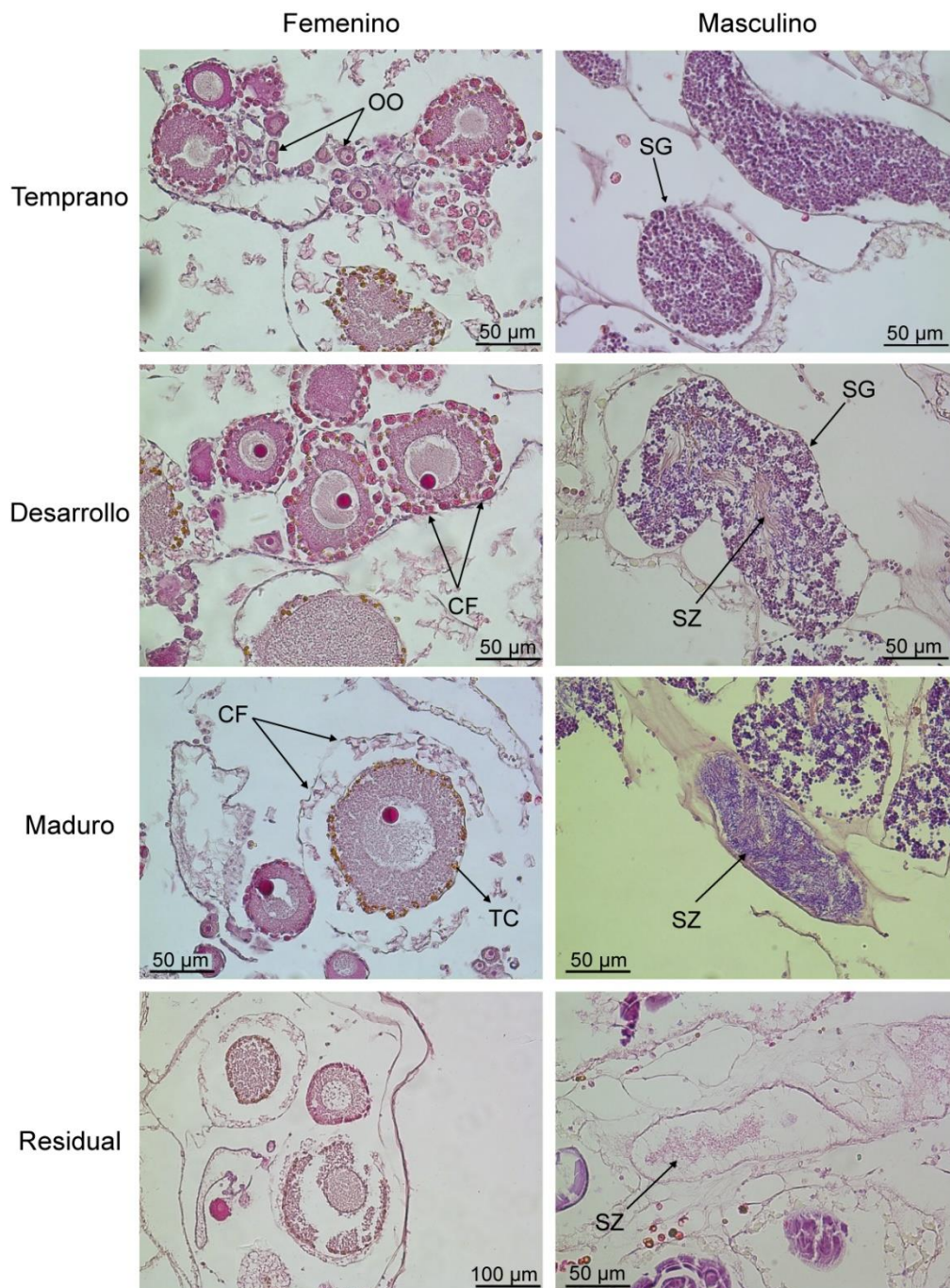


Figura 4.1: *Ascidella aspersa*. Estadios de desarrollo de las gametas femeninas y masculinas. OO, oocitos; CF, células foliculares; TC, test cell (células foliculares internas); SG, espermatogonias; SZ, espermatozoides.



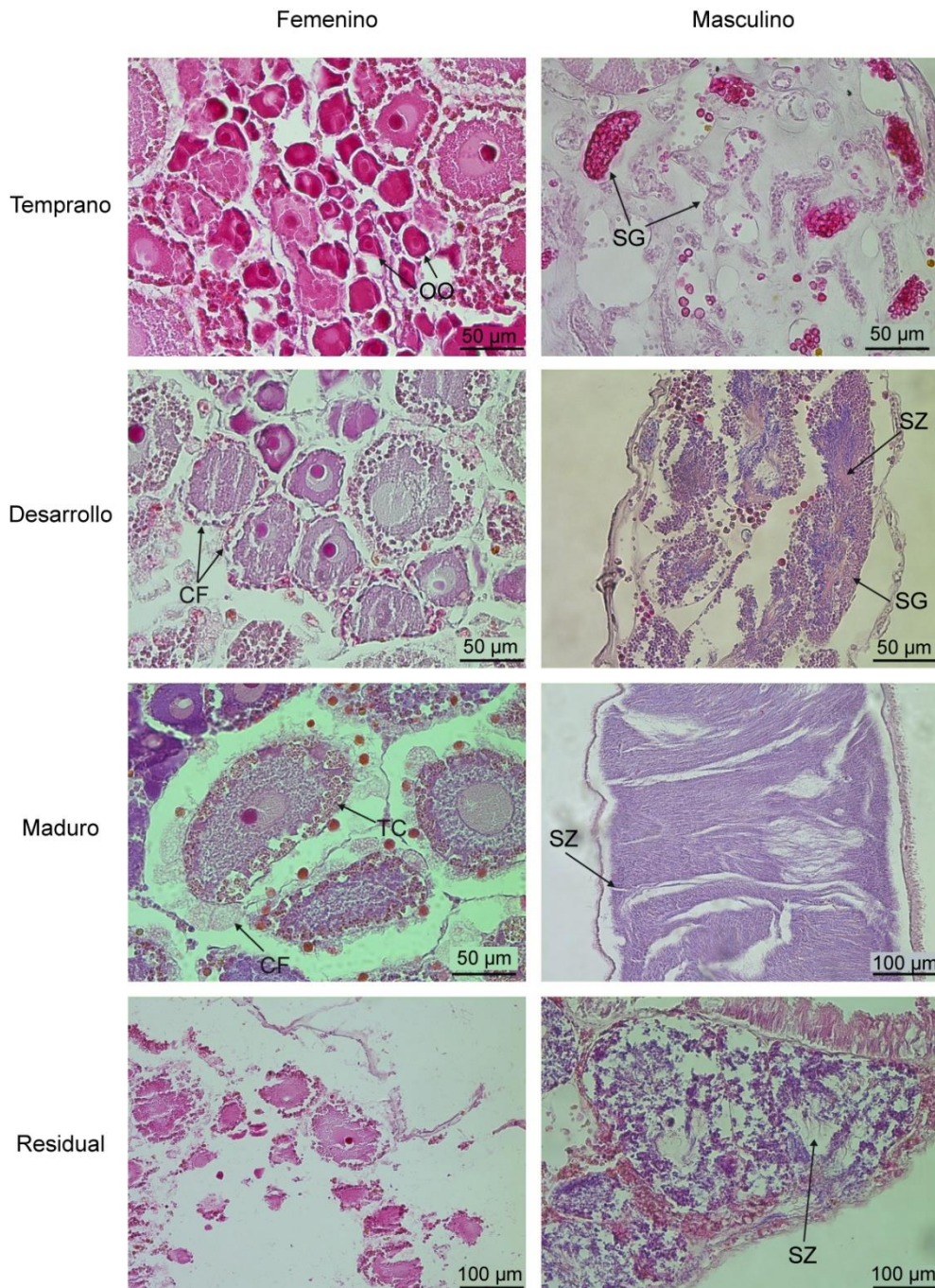


Figura 4.2: *Ciona robusta*. Estadios de desarrollo de las gametas femeninas y masculinas. OO, oocitos; CF, células foliculares; TC, test cell (células foliculares internas); SG, espermatogonias; SZ, espermatozoides.

#### 4.3.2 Relación con las variables ambientales

Durante el mismo período de recolección de ejemplares, se midió la temperatura del agua del mar y la concentración de clorofila  $a$ . La temperatura fue registrada de manera continua cada 30 minutos utilizando data loggers ( $n = 3$ ) ubicados en los pilotes del muelle. Para la concentración de clorofila  $a$ , se tomaron tres muestras de agua de

1,5 litros, y se trasladaron al laboratorio en oscuridad y frío. Una vez en el laboratorio, se filtró un litro de muestra para determinar fluorométricamente la concentración de clorofila siguiendo el método de Strickland y Parsons (1972) y Parsons (1984) con corrección por feopigmentos. Además, se utilizaron mediciones realizadas en el área de estudio durante los años 2012 y 2013, para evaluar cualitativamente la variabilidad interanual de ambas variables.

### 4.3.3 Análisis estadísticos

Las diferencias estacionales entre los diámetros de oocitos para cada especie de ascidia se analizaron a través de un modelo lineal (paquete *stats*). Se realizó un análisis para cada especie, utilizando la estación como factor fijo (verano: enero a marzo; otoño: abril a junio; invierno: julio a septiembre; primavera: octubre a diciembre). Se realizaron pruebas de a pares entre los niveles del factor *Estación* usando la prueba de Tukey con una confianza del 95% (paquete *lsmeans* (Lenth 2016)). Para estudiar la relación entre los diámetros de los oocitos y las variables ambientales (temperatura del agua de mar y concentración de clorofila *a*), se realizó un modelo lineal utilizando el diámetro como variable respuesta y la temperatura y clorofila como variables explicatorias. Para todos los análisis, la normalidad y la homogeneidad de varianzas fueron evaluadas mediante pruebas de Shapiro-Wilks y Levene, respectivamente. Todos los análisis estadísticos fueron realizados en el software R (R Core Team 2017).



**4.4. Resultados**

**4.4.1 Ecología reproductiva de *Ascidiella aspersa***

Para esta especie se observó un ciclo reproductivo con dos picos madurativos (Figura 4.3). Tanto las gametas femeninas como las masculinas poseen picos de maduración similares, con una leve inclinación a la protandria (Figura 4.3). Solo en dos ejemplares recolectados en el mes de mayo no se observaron gametas masculinas (Figura 4.3B). Sin embargo, durante los meses de abril y mayo las gónadas masculinas se encontraban en proceso de reabsorción post-liberación de espermatozoides por lo que esta podría ser la causante de su ausencia. Los estadios de desarrollo de cada tipo de gameta se ilustran en la Figura 4.1.

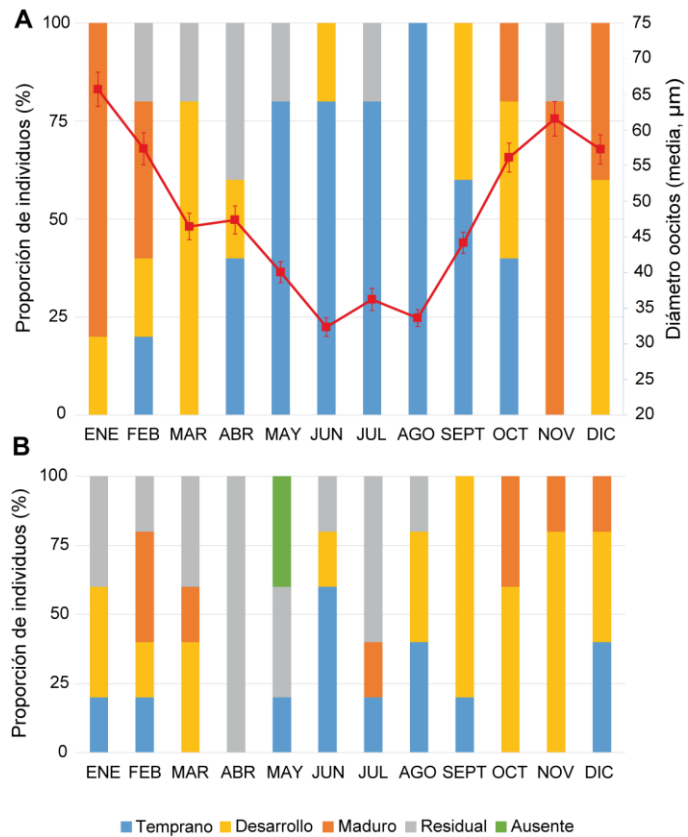


Figura 4.3: Desarrollo gonadal anual de *Ascidiella aspersa*. Se grafica la proporción de individuos en cada estadio gonadal. (A) Estadios femeninos, se muestra el promedio mensual ( $\pm$  EE) del diámetro de los oocitos ( $n = 5, 100 > n > 70$  oocitos cuando fue posible). (B) Estadios masculinos ( $n$

Los oocitos presentaron dos diámetros medios máximos durante enero ( $65,7 \pm 2,4 \mu\text{m}$ ) y noviembre ( $61,6 \pm 2,4 \mu\text{m}$ ), acompañados de una leve disminución durante febrero ( $57,4 \pm 2,2 \mu\text{m}$ ) y diciembre ( $57,3 \pm 2,0 \mu\text{m}$ ) (Figura 4.3A). De hecho, solo se observaron diferencias significativas entre las estaciones más cálidas y las más frías (Tabla 4.1 y Tabla 4.2), con oocitos de mayor tamaño en verano y primavera, y menores en otoño e invierno. Además, el diámetro de los oocitos presentó una relación significativa con la temperatura (Tabla 4.3), donde los diámetros máximos observados se correspondieron con los valores más altos de la temperatura del mar, durante el final

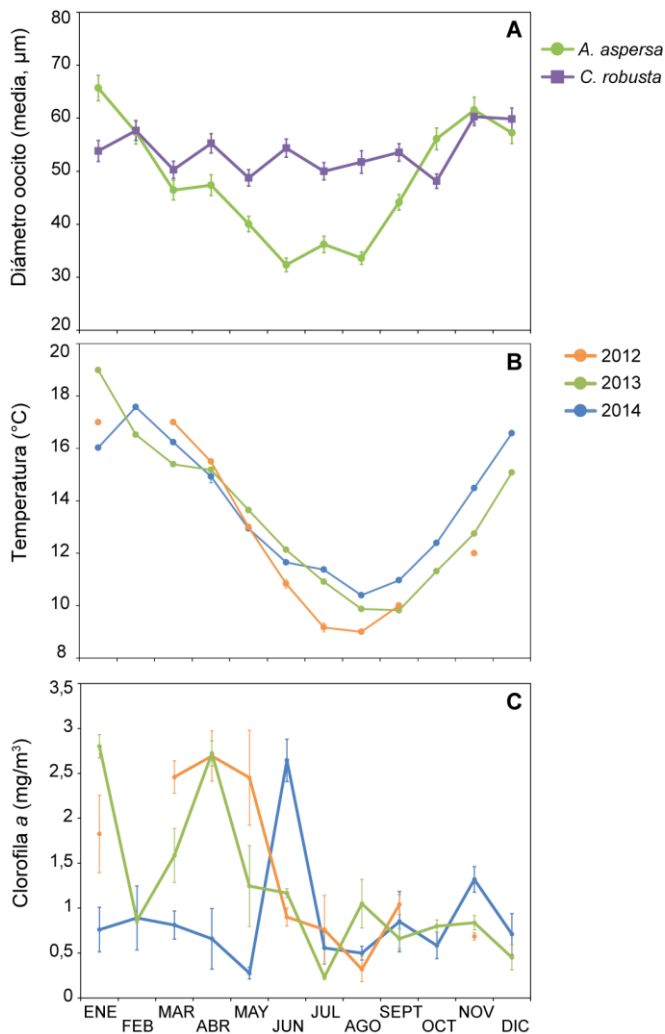


Figura 4.4: Variaciones a lo largo del año para (A) diámetro de los oocitos, (B) temperatura, (C) concentración de clorofila *a* (medias  $\pm$  EE). Para la temperatura, se grafica la media diaria del día en el cual se recolectaron los individuos.

de la primavera y durante el verano (Figura 4.4). De manera similar, los diámetros medios mínimos de los oocitos, se registraron durante los meses de menor temperatura y mayor concentración de clorofila *a*, junio ( $32,3 \pm 1,3 \mu\text{m}$ ), julio ( $36,2 \pm 1,5 \mu\text{m}$ ) y agosto ( $33,6 \pm 1,2 \mu\text{m}$ ) (Figura 4.3A; Figura 4.4). Los folículos masculinos presentaron un comportamiento similar, observándose espermatozoides a partir del mes de octubre y durante toda la temporada estival, teniendo lugar la reabsorción y proliferación de espermatozoides durante los meses fríos (Figura 4.3B).

Finalmente, las modas oocitarias mostraron un patrón similar a lo observado hasta el

momento. Desde marzo hasta agosto se observaron las modas más bajas ( $\leq 20 \mu\text{m}$ ) (Figura 4.5), indicando una proliferación de oocitos de mayo a agosto, y una liberación

de gametas de marzo y abril (Figura 4.5). No se observaron modas correspondientes a los mayores diámetros de oocitos registrados, lo que podría indicar que una generación de oogonias y oocitos de menor tamaño (< 60 µm) tiene lugar durante todo el año.

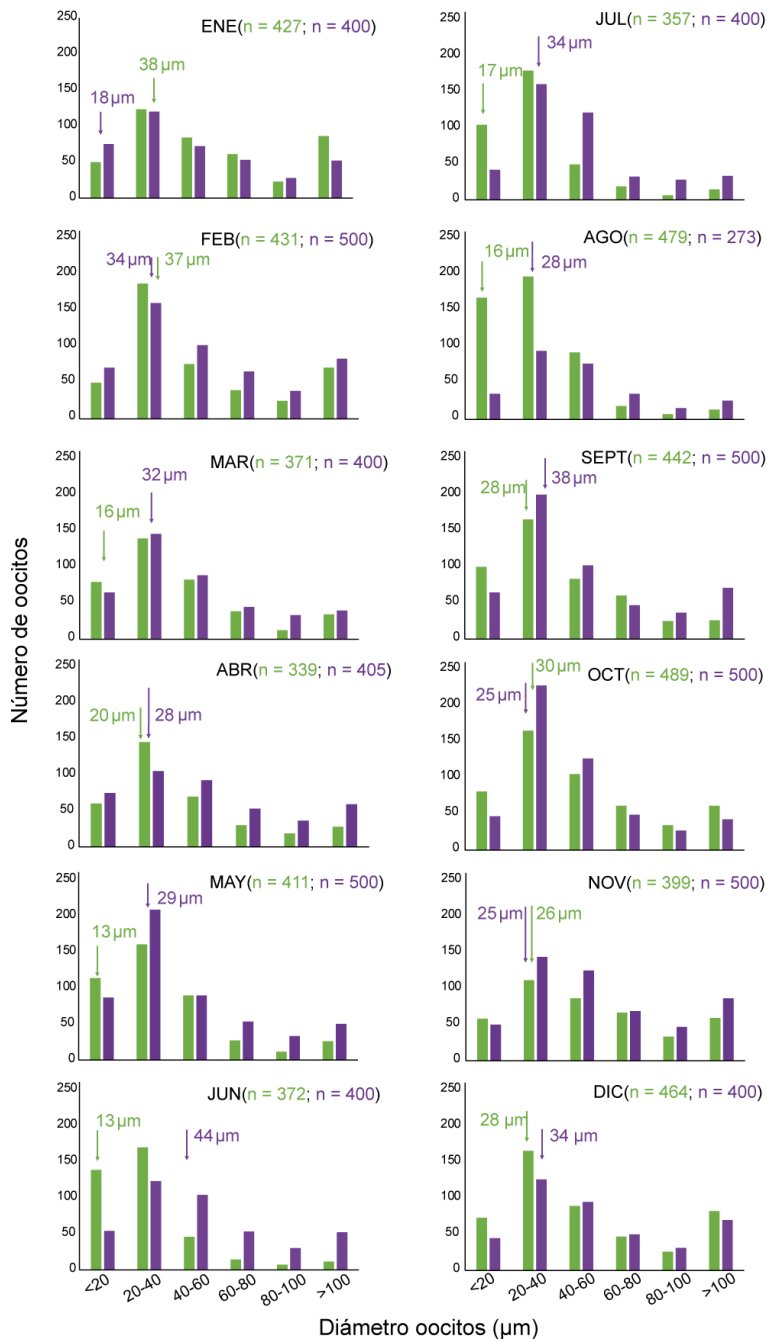


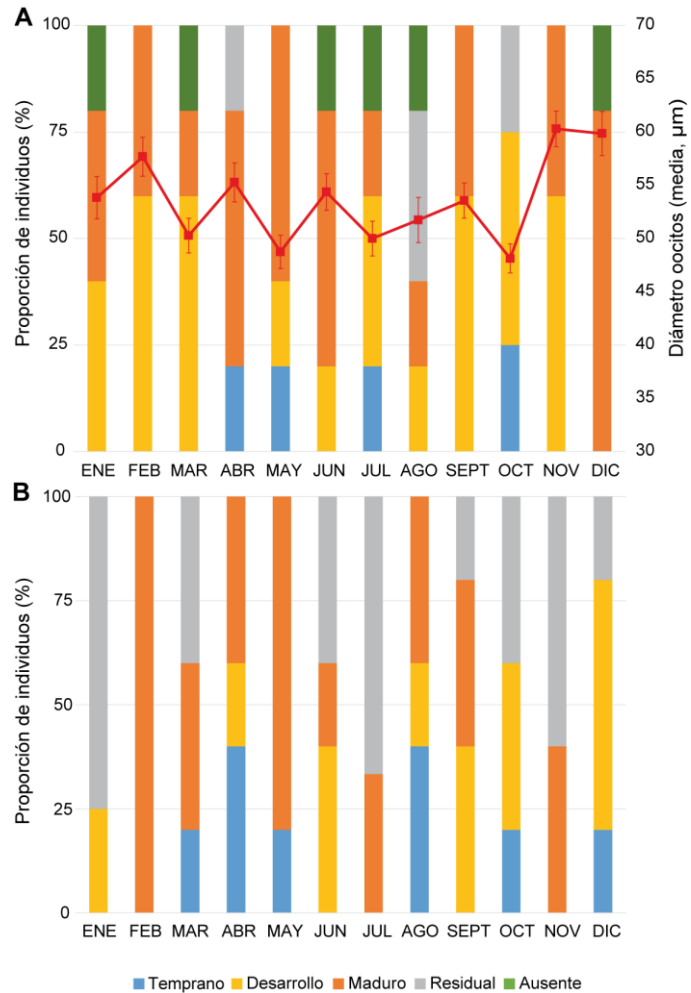
Figura 4.5: Modas oocitarias para ambas especies (■ *A. aspersa*; ■ *C. robusta*). Las flechas indican la moda mensual para cada especie (n = 5 individuos, 100 > n >70 oocitos siempre que fuera posible).

#### 4.4.2 Ecología reproductiva de *Ciona robusta*

El ciclo reproductivo de esta especie fue continuo a lo largo del año. De la totalidad de los ejemplares examinados, el 10% presentó únicamente gónadas masculinas, sin observarse un ovario desarrollado, mientras que todos los individuos

restantes poseían ambas gónadas desarrolladas (Figura 4.6). Sin embargo, podría deberse a un proceso de reabsorción del ovario (Figura 4.6A). Los estadios de desarrollo de cada tipo de gameta se ilustran en la Figura 4.2.

Durante todo el año se registraron individuos con gónadas femeninas maduras, observándose valores máximos e intermedios del diámetro medio del oocito (Figura 4.6A). Aunque no se observaron diferencias significativas de los diámetros de oocitos entre estaciones (Tabla 4.4), se registraron algunos máximos. Estos correspondieron a los meses de noviembre ( $60,3 \pm 1,7 \mu\text{m}$ ), diciembre ( $59,9 \pm 2,1 \mu\text{m}$ ), febrero ( $57,7 \pm 1,8 \mu\text{m}$ ) y abril ( $55,3 \pm 1,8 \mu\text{m}$ ) y se corresponden con los meses de temperaturas más altas en el mar (Figura 4.4). Los valores intermedios del diámetro medio del oocito fueron durante junio ( $54,4 \pm 1,7 \mu\text{m}$ ), agosto ( $51,7 \pm 2,1 \mu\text{m}$ ) y septiembre ( $53,6 \pm 1,6 \mu\text{m}$ ), meses durante los cuales se registran las menores



temperaturas del mar (Figura 4.4). Sin embargo, no se observó una relación significativa del diámetro de los oocitos con la temperatura y la clorofila (Tabla 4.5). Un comportamiento similar se observó en las gónadas masculinas, registrándose individuos con gametas maduras, en proceso de liberación y de reabsorción de espermatozoides durante todo el año (Figura 4.6B).

Las modas oocitarias muestran que esta especie presenta tanto oocitos de menor tamaño ( $< 60 \mu\text{m}$ ) como maduros ( $> 100 \mu\text{m}$ ) durante todo el año. Sin embargo,

durante agosto se observó una fuerte disminución de la cantidad de oocitos, indicando que tendría lugar la liberación de gametas al medio (Figura 4.5). De manera similar, se observó la moda más baja durante el mes de enero, y también podría deberse a la liberación de gametas durante el verano. Similar a lo observado en *A. aspersa*, no se registraron modas correspondientes a los mayores diámetros de oocitos registrados, lo que indicaría que la generación de oogonias y oocitos de menor diámetro ( $< 60 \mu\text{m}$ ) tiene lugar durante todo el año.

#### 4.5. Discusión

Los patrones de abundancia observados para *Ascidella aspersa* y *Ciona robusta* no pueden ser explicados completamente por las diferencias en la ecología reproductiva de ambas especies. Mientras que la época reproductiva de *A. aspersa* tiene lugar durante la primavera y el verano, en *C. robusta* ocurre durante todo el año. Sin embargo, durante la temporada estival, la abundancia de *C. robusta* no equipara a la de *A. aspersa* (ver Capítulo 3), indicando que podrían existir otros procesos que influyan en estos patrones. Finalmente, se observaron diferencias en la ecología reproductiva de ambas especies con respecto a lo registrado en otras áreas, tanto nativas como invadidas.

Como se esperaba, la ecología reproductiva de ambas ascidias no solo varió entre sí y a lo largo del año, sino también en relación a lo registrado en sus áreas nativas. Este resultado apoya la hipótesis postulada, es decir que las diferentes especies de ascidias exóticas presentan variaciones en la ecología reproductiva a lo largo del año. Sin embargo, la segunda hipótesis planteada que postula que la ecología reproductiva de ambas especies varía de acuerdo a las fluctuaciones de los parámetros ambientales físicos y biológicos, fue corroborada parcialmente. La relación con las variables ambientales no fue tan evidente en todos los casos. Se conoce que en otras áreas con una variación estacional de la temperatura, las ascidias presentan periodos reproductivos y periodos no reproductivos marcados (Millar 1974), observándose que para varias especies de ascidias la temperatura es uno de los principales reguladores de la reproducción (Becerro y Turon 1992; Rius et al. 2009a). Sin embargo, se pueden encontrar excepciones a este patrón como sucede con *Corella willmeriana* Herdman, 1898 y *Boltenia villosa* (Stimpson, 1864) en la costa este de Estados Unidos donde se reproducen y reclutan todo el año (Lambert 1968; Bingham 1997). Para *A. aspersa* se

observó una coincidencia entre los promedios máximos de diámetro de oocitos y mayor proporción de individuos con gónadas femeninas y masculinas maduras, con los meses más cálidos del año. En su área nativa presenta un ciclo continuo de reproducción, liberando gametas aun en meses fríos, e incluso registrándose ejemplares donde no se distinguen ambas gónadas durante todo el año (Lynch et al. 2016). El desarrollo de ambas gónadas en la totalidad de los individuos observados en el área de estudio podría ser la estrategia que le permite establecerse eficientemente en las áreas donde está introducida, como sucede con otras ascidias exóticas, como *Styela clava* (Bourque et al. 2007). Para *C. robusta*, se observó un ciclo reproductivo anual, con gónadas masculinas y femeninas maduras a lo largo de todo el año y una variación casi nula del diámetro de los oocitos, aún en épocas de baja temperatura. La falta de relación entre la temperatura y la reproducción y/o reclutamiento de *C. robusta* es discutida en trabajos previos (Yamaguchi 1975; Caputi et al. 2014). Esta especie, presenta un ciclo reproductivo continuo también en su área nativa (Yamaguchi 1975), mientras que en el Mar Mediterráneo, donde está introducida, presentó un ciclo estacional bimodal que se tornó continuo luego de una fuerte disminución de la población (Caputi et al. 2014). Además, *C. robusta* presenta una amplia tolerancia a la temperatura, estando presente tanto en áreas tropicales (Shenkar et al. 2018) como en regiones templadas frías con grandes amplitudes térmicas entre verano e invierno, como el Atlántico Sudoccidental y el Pacífico Noreste (Bouchemousse et al. 2016). Todas estas características podrían beneficiar a esta especie para establecerse exitosamente en varias regiones del mundo (Bouchemousse et al. 2016, fig. 1).

Es esperable que otras variables ambientales relacionadas con la temperatura, como la concentración de clorofila  $a$ , también influyan en la ecología reproductiva de estos organismos. Nuevamente, la reproducción continua de *C. robusta* no parece estar influenciada por esta variable. En el caso de *A. aspersa*, aunque los picos de concentración de clorofila no coinciden con la época reproductiva, sí lo hacen con los registros mínimos del diámetro del oocito, es decir durante la proliferación de oocitos tempranos. Esto podría indicar que una mayor concentración de clorofila, y por ende de nutrientes, influye durante los procesos tempranos de crecimiento y maduración del oocito, sin embargo son necesarios más estudios para confirmar esto. Trabajos previos identifican una estacionalidad marcada de la biomasa y abundancia celular de

fitoplancton, con máximos que se registran en verano y en otoño respectivamente (Barbosa 2014). Aunque estas variables generalmente están reflejadas en la concentración de clorofila *a* (Barbosa 2014), la radiación y la intensidad del viento pueden influenciar en el desarrollo de distintos tipos o grupos de algas. Durante el invierno, la baja radiación y la estratificación del cuerpo de agua favorecen el crecimiento de células flageladas grandes (Barbieri et al. 2002; Villafañe et al. 2004). En primavera-verano, la mezcla que se genera debido al aumento de la intensidad del viento característico de esta época, podría favorecer un aumento en la abundancia de nanoflagelados (Barbieri et al. 2002; Villafañe et al. 2004; Barbosa 2014). Por lo que la composición taxonómica de la comunidad fitoplanctónica podría ser una nueva variable a relacionar con la ecología reproductiva de ascidias en futuros estudios. Por ejemplo, en trabajos previos se observó que el tamaño de las algas puede influenciar el tiempo de filtrado de *Ciona* sp. (Pascoe et al. 2007). Finalmente, se debe tener en cuenta que para poder ejercer su influencia año tras año, los factores que determinan los ciclos reproductivos deben ser constantes en el tiempo (Bingham 1997). En este sentido, las variaciones de clorofila registradas del 2012 al 2014 muestran que el patrón puede variar interanualmente (Figura 4.4), observándose años que presentan máximos durante el verano y/o diferencias entre los máximos de invierno. Esto podría explicar por qué esta variable no estaría relacionada con los ciclos reproductivos de ninguna de las dos especies.

La estacionalidad del ciclo reproductivo de *A. aspersa* y el ciclo continuo de *C. robusta* fueron resultados inesperados, teniendo en cuenta que la abundancia de *A. aspersa* se mantiene constante durante el año y la de *C. robusta* solo tiene un máximo durante otoño (ver Capítulo 3). Este patrón se repitió todos los años de estudio en el área portuaria, donde los aumentos de abundancia de *C. robusta* en otoño fueron evidentes (obs. pers.). Estas diferencias podrían ser producto de otros procesos ecológicos, como la competencia interespecífica en distintas etapas del ciclo de vida (Rius et al. 2009b; Rius et al. 2014) y una depredación diferencial de huevos o larvas de ambas especies (Young y Bingham 1987; Lindquist et al. 1992; Pisut y Pawlik 2002). Con respecto a la competencia interespecífica, esta puede tener lugar a nivel espermático durante la fertilización. El reconocimiento esperma-óvulo tiene lugar a través de la liberación de glucosidasas por parte del óvulo, impulsado por la presencia del esperma

en el medio (Lambert 2000). Sin embargo, aunque la fertilización es especie específica, la liberación de glucosidasas no lo es. Las células foliculares del óvulo pueden liberar glucosidasas aún en presencia de espermatozoides de diferentes especies, teniendo lugar el reconocimiento que provoca el bloqueo del óvulo pero sin que suceda la fecundación (Lambert 2000). Tanto *A. aspersa* como *C. robusta* presentan mecanismos de bloqueo del óvulo para evitar la hibridización (Villa y Patricolo 1992; Byrd y Lambert 2000; entre otros). Así, durante los meses que ambas especies liberan gametas al medio (verano y primavera) la tasa de fecundación de *C. robusta* podría verse disminuida por la presencia del espermatozoides de *A. aspersa* mediante este mecanismo. Por otro lado, la competencia también puede suceder durante el asentamiento de las larvas al sustrato, el cual puede verse inhibido en presencia de adultos de especies más competitivas (Rius et al. 2009b). De hecho, se conoce que las larvas de *C. intestinalis* tienen estrategias de asentamiento más débiles que las de *A. aspersa* (Osman y Whitlatch 1996; Rajbanshi y Pederson 2007), por lo que podría suceder algo similar con *C. robusta*. Como consecuencia, las larvas necesitan un tiempo mayor de búsqueda del sustrato adecuado, aumentando el consumo de las reservas nutricionales lo que disminuye el éxito post-metamorfosis (Rius et al. 2009b, y referencias allí citadas). En comunidades incrustantes, donde el espacio disponible para asentarse es un recurso limitante, estos procesos pueden estar afectando el éxito en la colonización de *C. robusta* en presencia de *A. aspersa*.

Finalmente, se debe tener en cuenta la posibilidad de que tenga lugar una depredación diferencial sobre las larvas de ambas especies. Como se discutió en el capítulo anterior, las ascidias pueden presentar defensas químicas tanto en la túnica como en otros órganos, como las gónadas (ver Sección 3.5). Trabajos previos han identificado que estos metabolitos presentes en las gónadas podrían trasladarse a los huevos y a las larvas, otorgándoles una defensa frente a la depredación (Young y Bingham 1987; Lindquist et al. 1992; Pisut y Pawlik 2002). Por ejemplo, varias especies del Mar Caribe, del Océano Indo-Pacífico y del Golfo de California presentan metabolitos secundarios tanto en adultos como en las larvas, que le otorgan defensas frente a la depredación por peces (Lindquist et al. 1992). El traslado de metabolitos puede tener lugar a través de los nutrientes aportados por los parentales para la reserva energética de las larvas lecitotróficas (Pisut y Pawlik 2002). Teniendo en cuenta que se observó que *A. aspersa* podría presentar defensas químicas ausentes en *C. robusta* (ver Capítulo 3),



se debe considerar la posibilidad de que también sus huevos o larvas presentaran estas defensas y por ende sufran una presión de depredación menor que los huevos o larvas de *C. robusta*.

Los resultados obtenidos confirman la necesidad de conocer la ecología reproductiva de las especies exóticas en áreas donde son introducidas, debido a la variabilidad que presentan entre regiones y los procesos que se relacionan con ella. Nuevamente se evidencia la importancia de estudiar las interacciones entre las especies exóticas. Así como en el capítulo anterior se discutió la influencia de los depredadores exóticos en la abundancia de las ascidias también exóticas, aquí se observa que tanto la competencia entre ambas especies de ascidias como la depredación diferencial de sus huevos y larvas también podrían influir en el éxito en la colonización. Cabe aclarar que se espera que los procesos ecológicos aquí planteados influyan en conjunto, i.e. tengan efectos aditivos, sobre los patrones observados en las comunidades incrustantes del área portuaria. Son necesarios más estudios para definir en qué etapas tiene lugar la competencia, si los huevos y larvas de ambas especies podrían estar sufriendo una depredación diferencial, y si estos procesos logran terminar de explicar los patrones de abundancia observados, tanto locales como regionales.

**4.6 Tablas**

Tabla 4.1: (A) Modelo lineal general para el diámetro de los oocitos de *Ascidiella aspersa*. (B) Parámetros del ANOVA realizado a partir del modelo lineal seleccionado. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

(A) Efectos fijos	Parámetro	Error estándar	Estadístico (t)	P-valor
Ordenada	40,60	2,75	14,75	<b>&lt;2e<sup>-16</sup></b>
Estación verano	17,11	3,96	4,32	<b>6.57e<sup>-5</sup></b>
Estación primavera	18,85	3,89	4,84	<b>1,08e<sup>-5</sup></b>
Estación invierno	-2,89	3,89	-0,74	0,46
(B)	GL		Estadístico (F)	P-valor
Estación	3		16,63	<b>8,21e-8</b>

Tabla 4.2: Resultados de los análisis de a pares para el diámetro de los oocitos de *Ascidiella aspersa* entre estaciones (VE, verano; OT, otoño; IN, invierno; PR, primavera). En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

	Estadístico	P-valor
<b>OT x SM</b>	-4,32	<b>&lt; 0,001</b>
<b>OT x PR</b>	-4,84	<b>0,001</b>
<b>OT x IN</b>	0,74	0,879
<b>VE x PR</b>	-0,43	0,971
<b>VE x IN</b>	5,05	<b>&lt; 0,001</b>
<b>PR x IN</b>	5,59	<b>&lt; 0,001</b>

Tabla 4.3: Modelo lineal general para el diámetro de los oocitos de *Ascidiella aspersa* y su relación con las variables ambientales. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

Efectos fijos	Parámetro	Error estándar	Estadístico (t)	P-valor
Ordenada	40,93	4,68	8,74	<b>1,27e<sup>-9</sup></b>
Temperatura	0,68	0,27	2,49	<b>0,018</b>
Clorofila	0,04	2,87	0,01	0,990

Tabla 4.4: (A) Modelo lineal general para el diámetro de los oocitos de *Ciona robusta*. (B) Parámetros del ANOVA realizado a partir del modelo lineal seleccionado. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

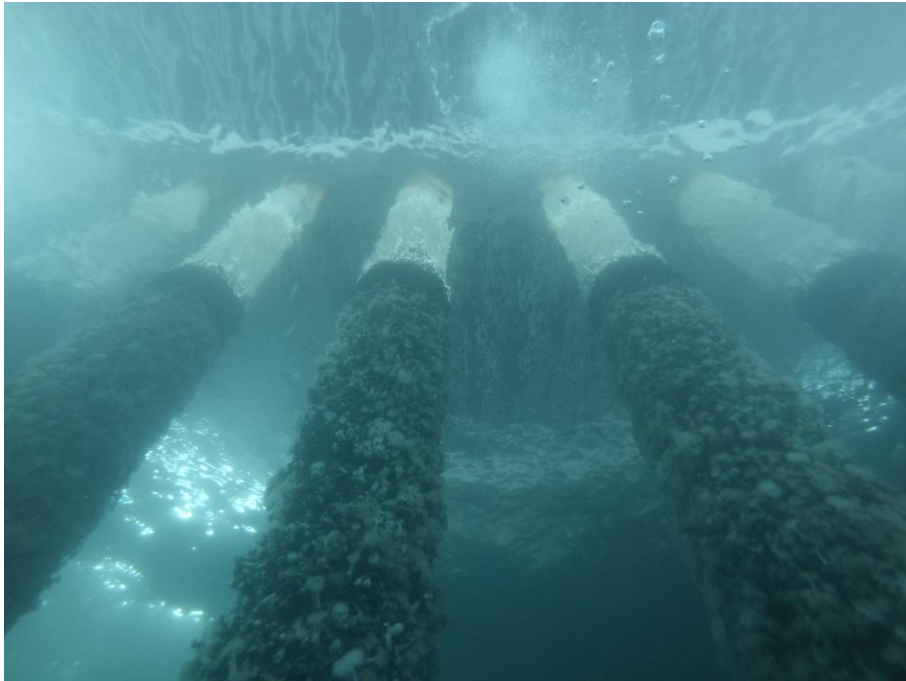
<b>Efectos fijos</b>	<b>Parámetro</b>	<b>Error estándar</b>	<b>Estadístico (t)</b>	<b>P-valor</b>
Ordenada	54,20	2,78	19,46	<b>&lt;2e<sup>-16</sup></b>
Estación verano	0,25	4,01	0,06	0,95
Estación primavera	1,62	3,94	0,41	0,68
Estación invierno	-1,98	4,01	-0,49	0,62
<b>(B)</b>	<b>GL</b>	<b>Estadístico (F)</b>	<b>P-valor</b>	
Estación	3	0,27	0,86	

Tabla 4.5: Modelo lineal general para el diámetro de los oocitos de *Ciona robusta* y su relación con las variables ambientales. En negrita, p-valores significativos ( $p < 0,05$ ).

<b>Efectos fijos</b>	<b>Parámetro</b>	<b>Error estándar</b>	<b>Estadístico (t)</b>	<b>P-valor</b>
Ordenada	45,44	11,51	3,95	<b>&lt; 0,001</b>
Temperatura	0,65	0,77	0,84	0,409
Clorofila	-0,08	2,80	-0,03	0,977

# Capítulo 5

## Discusión y conclusiones finales



## Capítulo 5: Discusión y conclusiones finales

Entender los procesos que favorecen el éxito de las especies exóticas en las áreas invadidas es uno de los principales objetivos de la Ecología de Invasiones. En ambientes marinos costeros, conocer estos procesos permite desarrollar tanto estrategias para la prevención de establecimiento de especies exóticas, así como estrategias de manejo y de uso sustentable de estructuras artificiales, tanto las presentes en áreas portuarias como las utilizadas en maricultura. En este sentido, el objetivo general de esta tesis fue comprender los patrones y procesos ecológicos involucrados en el éxito de la colonización por ascidias exóticas sobre diferentes estructuras antrópicas en un área portuaria. A su vez, la hipótesis que guió este estudio fue que las ascidias exóticas no colonizan exitosamente todos los tipos de estructuras que se encuentran en las áreas portuarias a lo largo del tiempo, debido a diferencias en la presión de depredación y en la ecología reproductiva de las especies. Aunque los resultados obtenidos apoyan en gran medida la hipótesis postulada, se observó que podrían existir otros procesos influenciando el éxito en la colonización de las ascidias exóticas. De los dos procesos ecológicos estudiados, mientras que la depredación tiene un rol significativo en la colonización de estructuras artificiales, la ecología reproductiva no parece influenciar por sí sola sobre los patrones de abundancia sino que podría estar haciéndolo conjuntamente con otros procesos, como la competencia.

El efecto de la depredación sobre la abundancia de especies exóticas en estructuras fijas y estructuras flotantes/suspendidas es notablemente variable entre regiones (ver Tabla 2.1). Los resultados presentados en esta tesis muestran que el efecto de la depredación ejercida por los organismos bentónicos explica el éxito diferencial de las ascidias en estas estructuras (Capítulo 2), y que este efecto es mayor durante las etapas tempranas del crecimiento de las ascidias, i.e. las etapas post-asentamiento (Capítulo 3). La resistencia biótica que pueden presentar las comunidades pocas veces logra evitar el establecimiento de las especies exóticas que ingresan, pero reduce su abundancia, fecundidad, rendimiento reproductivo y/o dispersión (Levine et al. 2004; Rius et al. 2014). Así, los depredadores bentónicos estarían ejerciendo resistencia biótica en estas comunidades, al reducir la abundancia de las ascidias exóticas en las estructuras donde están presentes. Sin embargo y a pesar de este fuerte efecto de la depredación,

ambas especies de ascidias son comunes en las comunidades de los pilotes aunque no llegan a ser dominantes como en las estructuras suspendidas. Esto podría deberse a que tanto los bivalvos nativos dominantes como las ascidias exóticas adultas generan refugios para los reclutas, ya que dificultan la movilidad de los organismos bentónicos y disminuyen sus efectos directos e indirectos sobre su mortalidad (Nydham y Stachowicz 2007). De esta manera, estos reclutas logran alcanzar el tamaño adulto y evitan la depredación.

Además de la depredación, y en relación con la ecología reproductiva, otros procesos también podrían estar influyendo sobre la abundancia de ascidias exóticas en las comunidades incrustantes, como la competencia interespecífica en distintas etapas del ciclo reproductivo o la depredación diferencial de huevos y/o larvas. Trabajos previos enfatizan la necesidad de estudiar los procesos que afectan todas las etapas de vida de las especies exóticas, para comprender su potencial éxito (Rius et al. 2009b; Rius et al. 2014), y lo mismo se resalta en esta tesis. Si solo se analizara el rol de la depredación en el sistema en estudio, se concluiría que los depredadores bentónicos ejercen un control sobre la abundancia de ascidias exóticas a través de la resistencia biótica. Sin embargo, al estudiar la ecología reproductiva se sugiere que la competencia entre especies también podría influir en su éxito en la colonización. Aunque el estudio de estas interacciones muchas veces se centra entre especies exóticas y nativas (Rius et al. 2009b; Simkanin et al. 2013; Rius et al. 2014; Rogers et al. 2016; entre otros), es importante conocer la intensidad y el tipo de interacciones entre especies exóticas ya que estas también pueden modular el éxito de estas especies (Agius 2007; Collin y Johnson 2014; Marraffini y Geller 2015; entre otros).

Al igual que en otras regiones, en puertos templados-fríos las estructuras artificiales no solo albergan una gran riqueza de especies exóticas, sino que también son un refugio para las mismas (Glasby y Connell 1999; Bulleri y Airoidi 2005; Airoidi et al. 2015; Johnston et al. 2017). Los puertos marinos de Argentina presentan un gran número de especies exóticas (Boltovskoy et al. 2011; Schwindt et al. 2014; Schwindt y Bortolus 2017; Albano y Obenat 2019), y se espera que estas continúen aumentando en número a lo largo de todo el Atlántico Sudoccidental (Castro et al. 2017; Lins et al. 2018; Sardain et al. 2019) en ausencia de medidas efectivas de prevención. Esto demuestra la urgente necesidad de un monitoreo continuo de éstas áreas y el desarrollo de planes de

manejo sostenibles en el tiempo. En los últimos años Argentina ha dado un paso adelante en este sentido, mediante la Estrategia Nacional de Especies Exóticas Invasoras. En el marco de esta estrategia, se desarrolló un plan de detección temprana y acción precoz de especies exóticas en áreas portuarias de Argentina (Schwindt y Bortolus 2017), y se elaboraron manuales de buenas conductas para prevenir la dispersión de estas especies a través de embarcaciones y otros artefactos recreativos (equipos de pesca, equipos de buceo, etc.; ver: [www.argentina.gob.ar/prefecturanaval/especies-exóticas-invasoras](http://www.argentina.gob.ar/prefecturanaval/especies-exóticas-invasoras)). Sin embargo, el manejo y uso sustentable de las estructuras artificiales aún se encuentra escasamente desarrollado. Varios autores (Dafforn et al. 2009; Airoidi et al. 2015; Dafforn 2017; Johnston et al. 2017) plantean diversas medidas que podrían aplicarse para reducir el establecimiento de especies exóticas en las mismas. Además de la utilización de pinturas o revestimientos antifouling no tóxicos, i.e. sin biocidas, se pueden desarrollar acciones que conserven o aumenten las interacciones bióticas que disminuyen el establecimiento de las especies exóticas (Airoidi et al. 2015; Johnston et al. 2017). A modo de ejemplo, y en relación a las observaciones realizadas en esta tesis, se podría priorizar el uso de estructuras artificiales fijas por sobre las suspendidas o flotantes (Dafforn et al. 2009) en las cuales los depredadores bentónicos puedan ejercer resistencia biótica sobre las especies exóticas presentes. Además, y considerando el rol de los depredadores nativos, es necesario conservar la biodiversidad de las áreas costeras a través de la creación de áreas protegidas, el monitoreo de especies nativas claves y/o la conservación de depredadores que ejercen control top-down (Dafforn 2017; Johnston et al. 2017; y referencias allí citadas). Finalmente, y en relación al reclutamiento de las larvas, es posible diseñar estructuras artificiales que conserven la complejidad del hábitat natural y disminuyan el sombreado, lo cual beneficia el asentamiento de organismos incrustantes (Dafforn 2017; Johnston et al. 2017; y referencias allí citadas). Los próximos avances para prevenir el establecimiento y dispersión de especies exóticas en áreas portuarias debieran darse en esta dirección, asegurando un uso sustentable de las áreas costeras.

En función de lo expuesto en esta sección, se proponen las siguientes líneas de trabajo que pueden ser desarrolladas en un futuro próximo:

- Re-evaluar las interacciones bióticas a diferentes latitudes, teniendo en cuenta a todas las comunidades de depredadores presentes.
- Evaluar la resistencia biótica ejercida por los depredadores bentónicos en comunidades de áreas rocosas por fuera de las áreas portuarias.
- Evaluar el rol de los bivalvos dominantes (i.e. cholgas y mejillones), como ingenieros ecosistémicos en las estructuras artificiales otorgando refugio frente a la depredación para las especies exóticas.
- Estudiar los procesos involucrados en el éxito de la colonización de especies exóticas en estructuras artificiales con diferentes regímenes de disturbio, e.g. escolleras, estructuras de maricultura, etc.
- Evaluar la relación entre la densidad de ascidias exóticas y la diversidad de la comunidad de organismos bentónicos.
- Estudiar la competencia interespecífica entre *Ascidiella aspersa* y *Ciona robusta* durante la fertilización y el asentamiento y metamorfosis de las larvas.
- Desarrollar y poner a prueba planes de manejo que disminuyan el establecimiento de especies exóticas en estructuras artificiales.



# Bibliografía

## - A -

- Agius BP (2007) Spatial and temporal effects of pre-seeding plates with invasive ascidians: Growth, recruitment and community composition. *J Exp Mar Bio Ecol* 342:30–39. doi: 10.1016/j.jembe.2006.10.012
- Airoldi L, Bulleri F (2011) Anthropogenic disturbance can determine the magnitude of opportunistic species responses on marine urban infrastructures. *PLoS One* 6:e22985. doi: 10.1371/journal.pone.0022985
- Airoldi L, Turon X, Perkol-Finkel S, Rius M (2015) Corridors for aliens but not for natives: effects of marine urban sprawl at a regional scale. *Divers Distrib* 21:755–768. doi: 10.1111/ddi.12301
- Albano MJ, Obenat SM (2009) Assemblage of benthic macrofauna in the aggregates of the tubicolous worm *Phyllochaetopterus socialis* in the Mar del Plata harbour, Argentina. *J Mar Biol Assoc United Kingdom* 89:1099–1108. doi: 10.1017/S0025315409000472
- Albano MJ, Obenat SM (2019) Fouling assemblages of native, non-indigenous and cryptogenic species on artificial structures, depths and temporal variation. *J Sea Res* 144:1–15. doi: 10.1016/j.seares.2018.10.002
- Aldred N, Clare AS (2014) Mini-review: impact and dynamics of surface fouling by solitary and compound ascidians. *Biofouling* 30:259–70. doi: 10.1080/08927014.2013.866653
- Amor A (1964) *Ascidias nuevas para la fauna argentina*. *Physis* 24:351.
- Anderson MJ, Underwood AJ (1994) Effects of substratum on the recruitment and development of an intertidal estuarine fouling assemblage. *J Exp Mar Bio Ecol* 184:217–236. doi: 10.1016/0022-0981(94)90006-X
- Astudillo JC, Leung KMY, Bonebrake TC (2016) Seasonal heterogeneity provides a niche opportunity for ascidian invasion in subtropical marine communities. *Mar Environ Res* 122:1–10. doi: 10.1016/j.marenvres.2016.09.001
- Auker LA, Majkut AL, Harris LG (2014) Exploring biotic impacts from *Carcinus maenas* predation and *Didemnum vexillum* epibiosis on *Mytilus edulis* in the Gulf of Maine. *Northeast Nat* 21:479–494. doi: 10.1656/045.021.0314
- Averbuj A, Bigatti G, Penchaszadeh PE (2010) Gametogenic cycle and size at first maturity of the Patagonic edible snail *Buccinanops cochlidium* from Argentina. *Mar Biol* 157:2229–2240. doi: 10.1007/s00227-010-1488-3

## - B -

- Barbieri ES, Villafañe VE, Helbling EW (2002) Experimental assessment of UV effects on temperate marine phytoplankton when exposed to variable radiation regimes. *Limnol Oceanogr* 47:1648–1655. doi: 10.4319/lo.2002.47.6.1648
- Barbosa RV (2014) Variación temporal de las comunidades fitoplanctónicas del Muelle Storni , Puerto Madryn (Chubut, Argentina). Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Tesina de Licenciatura.
- Bastida R (1968) Preliminary notes of the marine fouling at the port of Mar del Plata Argentina. 2nd International Congress on Marine Corrosion and Fouling, Grecia.

- Battini N, Farías N, Giachetti CB, Schwindt E, Bortolus A (2019) Staying ahead of invaders: can we cope with niche shifts? *Mar Ecol Prog Ser* 612:127–140. doi: 10.3354/meps12878
- Becerro MA, Turon X (1992) Reproductive cycles of the ascidians *Microcosmus sabatieri* and *Halocynthia papillosa* in the Northwestern Mediterranean. *Mar Ecol* 13:363–373. doi: 10.1111/j.1439-0485.1992.tb00360.x
- Berrill NJ (1950) The Tunicata with an account of the British species. Ray Society, London
- Berrill NJ (1975) Chordata: Tunicata. En: Giese AC, Peane JS (eds) *Reproduction of marine invertebrates*. Academic Press, New York, pp 241–282
- Bigatti G, Primost MA, Cledón M, Averbuj A, Theobald N, Gerwinski W, Arntz W, Morriconi E, Penchaszadeh PE (2009) Biomonitoring of TBT contamination and imposex incidence along 4700 km of Argentinean shoreline (SW Atlantic: From 38°S to 54°S). *Mar Pollut Bull* 58:695–701. doi:10.1016/j.marpolbul.2009.01.001
- Bigatti GI, Averbuj A, Castro IB, Primost M, Carranza A, Commendatore M, Fillmann G, Delgado E, Scarabino F, del Brío F, Franco M, Letamendía M, Martínez G, Saucó S, Penchaszadeh PE (2014). Situación de contaminación en las costas del sur de Brasil, Uruguay y Argentina, luego de la prohibición mundial de TBT. *Nuevas miradas a la problemática de los ambientes costeros: Sur de Brasil, Uruguay y Argentina*, 1, 277-301.
- Bingham B (1997) Light cycles and gametogenesis in three temperate ascidian species. *Invertebr Biol* 116:61–70. doi: 10.2307/3226925
- Blackburn TM, Pyšek P, Bacher S, Carlton JT, Duncan RP, Jarošík V, Wilson JR, Richardson DM (2011) A proposed unified framework for biological invasions. *Trends Ecol Evol* 26:333–339. doi: 10.1016/j.tree.2011.03.023
- Blum JC, Chang AL, Liljesthröm M, Schenk ME, Steinberg MK, Ruiz GM (2007) The non-native solitary ascidian *Ciona intestinalis* (L.) depresses species richness. *J Exp Mar Bio Ecol* 342:5–14. doi: 10.1016/j.jembe.2006.10.010
- Bolton D, Mayer-Pinto M, Clark GF, Dafforn KA, Brassil WA, Becker A, Johnston EL (2017) Coastal urban lighting has ecological consequences for multiple trophic levels under the sea. *Sci Total Environ* 576:1–9. doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2016.10.037
- Boltovskoy D, Almada P, Correa N (2011) Biological invasions: assessment of threat from ballast-water discharge in Patagonian (Argentina) ports. *Environ Sci Policy* 14:578–583. doi: 10.1016/j.envsci.2011.03.007
- Bouchemousse S, Bishop JDD, Viard F (2016) Contrasting global genetic patterns in two biologically similar, widespread and invasive *Ciona* species (Tunicata, Ascidiacea). *Sci Rep* 6:24875. doi: 10.1038/srep24875
- Bourque D, Davidson J, MacNair NG, Arsenault G, LeBlanc AR, Landry T, Miron G (2007) Reproduction and early life history of an invasive ascidian *Styela clava* Herdman in Prince Edward Island, Canada. *J Exp Mar Bio Ecol* 342:78–84. doi: 10.1016/j.jembe.2006.10.017
- Brunetti R, Gissi C, Pennati R, Caicci F, Gasparini F, Manni L (2015) Morphological evidence that the molecularly determined *Ciona intestinalis* type A and type B are different species: *Ciona robusta* and *Ciona intestinalis*. *J Zool Syst Evol Res*. doi: 10.1111/jzs.12101
- Bulleri F, Airoidi L (2005) Artificial marine structures facilitate the spread of a non-indigenous green alga, *Codium fragile* ssp. *tomentosoides*, in the north Adriatic Sea. *J Appl Ecol* 42:1063–1072. doi: 10.1111/j.1365-2664.2005.01096.x

- Byrd J, Lambert CC (2000) Mechanism of the block to hybridization and selfing between the sympatric ascidians *Ciona intestinalis* and *Ciona savignyi*. *Mol Reprod Dev* 55:109–116.
- Byrnes JE, Stachowicz JJ (2009) The consequences of consumer diversity loss: different answers from different experimental designs. *Ecology* 90:2879–2888. doi: 10.1890/08-1073.1

## - C -

- Campbell ML, Gould B, Hewitt CL (2007) Survey evaluations to assess marine bioinvasions. *Mar Pollut Bull* 55:360–378. doi: 10.1016/j.marpolbul.2007.01.015
- Caputi L, Andreakis N, Mastrototaro F, Cirino P, Vassillo M, Sordino P (2007) Cryptic speciation in a model invertebrate chordate. *Proc Natl Acad Sci* 104:9364–9369. doi: 10.1073/pnas.0610158104
- Caputi L, Crocetta F, Toscano F, Sordino P, Cirino P (2014) Long-term demographic and reproductive trends in *Ciona intestinalis* sp. A. *Mar Ecol* 2014:1–11. doi: 10.1111/maec.12125
- Carlton JT (1989) Man's role in changing the face of the ocean: Biological invasions and implications for conservation of near-shore environments. *Conserv Biol* 3:265–273.
- Carlton JT (1996a) Biological invasions and cryptogenic species. *Ecology* 77:1653–1655.
- Carlton JT (1996b) Pattern, process, and prediction in marine invasion ecology. *Biol Conserv* 78:97–106.
- Carlton JT, Geller JB (1993) Ecological roulette: The global transport of nonindigenous marine organisms. *Science* 261:78–82.
- Carman M, Lindell S, Green-Beach E, Starczak V (2016) Treatments to eradicate invasive tunicate fouling from blue mussel seed and aquaculture socks. *Manag Biol Invasions* 7:101–110. doi: 10.3391/mbi.2016.7.1.12
- Carver CE, Chisholm A, Mallet AL (2003) Strategies to mitigate the impact of *Ciona intestinalis* (L.) biofouling on shellfish production. *J Shellfish Res* 22:621–631. doi: 10.2983/035.029.0302
- Castilla JC, Lagos NA, Cerda M (2004) Marine ecosystem engineering by the alien ascidian *Pyura praeputialis* on a mid intertidal rocky shore. *Mar Ecol Prog Ser* 268:119–130. doi: 10.3354/meps268119
- Castro KL, Giachetti CB, Battini N, Bortolus A, Schwindt E (en prensa) Cleaning by beaching: introducing a new alternative for hull biofouling management in Argentina. *Aquat. Invasions*
- Castro MCT, Fileman TW, Hall-Spencer JM (2017) Invasive species in the Northeastern and Southwestern Atlantic Ocean: A review. *Mar Pollut Bull*. doi: 10.1016/j.marpolbul.2016.12.048
- Chapman JW, Carlton JT (1991) A test of criteria for introduced species: the global invasion by the isopod *Synidotea laevidorsalis* (Miers, 1881). *J Crustac Biol* 11:386–400.
- Cheng BS, Ruiz GM, Altieri AH, Torchin ME (2018) The biogeography of invasion in tropical and temperate seagrass beds: Testing interactive effects of predation and propagule pressure. *Divers Distrib* ddi.12850. doi: 10.1111/ddi.12850

- Cifuentes M, Kamlah C, Thiel M, Lenz M, Wahl M (2007) Effects of temporal variability of disturbance on the succession in marine fouling communities in northern-central Chile. *J Exp Mar Bio Ecol* 352:280–294. doi: 10.1016/j.jembe.2007.08.004
- Cifuentes M, Krueger I, Dumont CP, Lenz M, Thiel M (2010) Does primary colonization or community structure determine the succession of fouling communities? *J Exp Mar Bio Ecol* 395:10–20. doi: 10.1016/j.jembe.2010.08.019
- Claar DC, Edwards KF, Stachowicz JJ (2011) Positive and negative effects of a dominant competitor on the settlement, growth, and survival of competing species in an epibenthic community. *J Exp Mar Bio Ecol* 399:130–134. doi: 10.1016/j.jembe.2011.02.014
- Cohen BF, Currie DR, McArthur MA (2000) Epibenthic community structure in Port Phillip Bay, Victoria, Australia. *Mar Freshw Res* 51:689–702.
- Collin SB, Johnson LE (2014) Invasive species contribute to biotic resistance: Negative effect of caprellid amphipods on an invasive tunicate. *Biol Invasions* 16:2209–2219. doi: 10.1007/s10530-014-0659-4
- Commendatore MG, Esteves JL (2007) An assessment of oil pollution in the coastal zone of Patagonia, Argentina. *Environ Manage* 40:814–821. doi:10.1007/s00267-005-0221-3
- Connell SD (2000) Floating pontoons create novel habitats for subtidal epibiota. *J Exp Mar Bio Ecol* 247:183–194. doi: 10.1016/S0022-0981(00)00147-7
- Cuvier G (1815). Mémoire sur les ascidies et sur leur anatomique. *Ann. Mus. Hist. Nat. Paris* 2:10-39, pls. 1-3.

- D -

- Dafforn KA (2017) Eco-engineering and management strategies for marine infrastructure to reduce establishment and dispersal of non-indigenous species. *Manag Biol Invasions* 8:153–161.
- Dafforn KA, Johnston EL, Glasby TM (2009) Shallow moving structures promote marine invader dominance. *Biofouling* 25:277–287. doi: 10.1080/08927010802710618
- Dafforn KA, Glasby TM, Johnston EL (2012) Comparing the invasibility of experimental “reefs” with field observations of natural reefs and artificial structures. *PLoS One* 7:e38124. doi: 10.1371/journal.pone.0038124
- Darbyson EA, Locke A, Hanson JM, Martin Willison JH (2009a) Marine boating habits and the potential for spread of invasive species in the Gulf of St. Lawrence. *Aquat Invasions* 4:87–94. doi: 10.3391/ai.2009.4.1.9
- Darbyson EA, Hanson JM, Locke A, Martin Willison JH (2009b) Settlement and potential for transport of clubbed tunicate (*Styela clava*) on boat hulls. *Aquat Invasions* 4:95–103. doi: 10.3391/ai.2009.4.1.10
- Davis AR, Walls K, Jeffs A (2018) Biotic consequences of a shift in invertebrate ecosystem engineers: Invasion of New Zealand rocky shores by a zone-forming ascidian. *Mar Ecol* 39:e12502. doi: 10.1111/maec.12502
- Dayton PK (1971) Competition, disturbance, and community organization: The provision and subsequent utilization of space in a rocky intertidal community. *Ecol Monogr* 41:351–389. doi: 10.2307/1948498

Dumont C, Gaymer C, Thiel M (2011a) Predation contributes to invasion resistance of benthic communities against the non-indigenous tunicate *Ciona intestinalis*. *Biol Invasions* 13:2023–2034. doi: 10.1007/s10530-011-0018-7

Dumont C, Harris L, Gaymer C (2011b) Anthropogenic structures as a spatial refuge from predation for the invasive bryozoan *Bugula neritina*. *Mar Ecol Prog Ser* 427:95–103. doi: 10.3354/meps09040

### - E -

Ells V, Filip N, Bishop CD, DeMont ME, Smith-Palmer T, Wyeth RC (2016) A true test of colour effects on marine invertebrate larval settlement. *J Exp Mar Bio Ecol* 483:156–161. doi: 10.1016/j.jembe.2016.07.011

Epelbaum A, Pearce CM, Barker DJ, Paulson A, Therriault TW (2009) Susceptibility of non-indigenous ascidian species in British Columbia (Canada) to invertebrate predation. *Mar Biol* 156:1311–1320. doi: 10.1007/s00227-009-1172-7

### - F -

Farias N, Obenat S, Goya A (2015) Outbreak of a neurotoxic side-gilled sea slug (*Pleurobranchaea* sp.) in Argentinian coasts. *New Zeal J Zool* 42:51–56. doi: 10.1080/03014223.2014.990045

Forrest BM, Fletcher LM, Atalah J, Piola RF, Hopkins GA (2013) Predation limits spread of *Didemnum vexillum* into natural habitats from refuges on anthropogenic structures. *PLoS One* 8:e82229. doi: 10.1371/journal.pone.0082229

Freestone AL, Osman RW (2011) Latitudinal variation in local interactions and regional enrichment shape patterns of marine community diversity. *Ecology* 92:208–217. doi: 10.1890/09-1841.1

Freestone AL, Osman RW, Ruiz GM, Torchin ME (2011) Stronger predation in the tropics shapes species richness patterns in marine communities. *Ecology* 92:983–993. doi: 10.1890/09-2379.1

Freestone AL, Ruiz GM, Torchin ME (2013) Stronger biotic resistance in tropics relative to temperate zone: Effects of predation on marine invasion dynamics. *Ecology* 94:1370–1377. doi: 10.1890/12-1382.1

### - G -

Galván DE, Botto F, Parma AM, Bandieri L, Mohamed N, Iribarne OO (2009) Food partitioning and spatial subsidy in shelter-limited fishes inhabiting patchy reefs of Patagonia. *J Fish Biol* 75:2585–2605. doi: 10.1111/j.1095-8649.2009.02453.x

Gestoso I, Ramalhosa P, Canning-Clode J (2018) Biotic effects during the settlement process of non-indigenous species in marine benthic communities. *Aquat Invasions* 13:247–259.

Giachetti CB, Battini N, Bortolus A, Tatián M, Schwindt E (2019) Macropredators as shapers of invaded fouling communities in a cold temperate port. *J Exp Mar Bio Ecol* 518:151177. doi: 10.1016/j.jembe.2019.151177

Giarratano E, Gil MN, Malanga G (2013) Assessment of antioxidant responses and trace metal accumulation by digestive gland of ribbed mussel *Aulacomya atra atra* from Northern

- Patagonia. *Ecotoxicol Environ Saf* 92:39–50. doi:10.1016/j.ecoenv.2013.02.007
- Gil MN, Harvey MA, Esteves JL (1999) Heavy metals in intertidal surface sediments from the Patagonian Coast, Argentina. *Bull Environ Contam Toxicol* 63:52–58. doi:10.1007/s001289900947
- Glasby TM (1999a) Effects of shading on subtidal epibiotic assemblages. *J Exp Mar Bio Ecol* 234:275–290. doi: 10.1016/S0022-0981(98)00156-7
- Glasby TM (1999b) Interactive effects of shading and proximity to the seafloor on the development of subtidal epibiotic assemblages. *Mar Ecol Prog Ser* 190:113–124.
- Glasby TM (2000) Surface composition and orientation interact to affect subtidal epibiota. *J Exp Mar Bio Ecol* 248:177–190. doi: 10.1016/S0022-0981(00)00169-6
- Glasby TM (2001) Development of sessile marine assemblages on fixed versus moving substrata. *Mar Ecol Prog Ser* 215:37–47. doi: 10.3354/meps215037
- Glasby TM, Connell SD (1999) Urban structures as marine habitats. *Ambio* 28:595–598. doi: 10.2307/4314964
- Glasby TM, Connell SD, Holloway MG, Hewitt CL (2007) Nonindigenous biota on artificial structures: could habitat creation facilitate biological invasions? *Mar Biol* 151:887–895. doi: 10.1007/s00227-006-0552-5
- Goodbody I (1975) The physiology of ascidians. *Adv Mar Biol* 12:1–149.
- Grosholz ED, Ruiz GM (1996) Predicting the impact of introduced marine species: Lessons from the multiple invasions of the European green crab *Carcinus maenas*. *Biol Conserv* 78:59–66. doi: 10.1016/0006-3207(94)00018-2
- Grosholz ED, Ruiz GM, Dean CA, Shirley KA, Maron JL, Connors PG (2000) The impacts of a nonindigenous marine predator in a California Bay. *Ecology* 81:1206–1224.

## - H -

- Hidalgo FJ, Barón PJ, Orensanz JM (2005) A prediction come true: The green crab invades the Patagonian coast. *Biol Invasions* 7:547–552. doi: 10.1007/s10530-004-5452-3
- Holloway MG, Connell SD (2002) Why do floating structures create novel habitats for subtidal epibiota? *Mar Ecol Prog Ser* 235:43–52. doi: 10.3354/meps235043
- Hoshino Z, Nishikawa T (1985) Taxonomic studies of *Ciona intestinalis* (L.) and its allies. *Publ Seto Mar Biol Lab* 30:61–79.
- Hoshino Z, Tokioka T (1967) An unusually robust *Ciona* from the northeastern coast of Honsyu Island, Japan. *Publ Seto Mar Biol Lab* 15:275–290.

## - I -

- Isola T (2017) Aspectos tecnológicos y bio-ecológicos del asentamiento de mejillón, *Mytilus edulis platensis*, sobre colectores artificiales. Universidad Nacional del Sur. Tesis Doctoral.

## - J -

Jackson JBC (1977) Competition on marine hard substrata: The adaptive significance of solitary and colonial strategies. *Am Nat* 111:743–767.

Johnston EL, Dafforn KA, Clark GF, Rius M, Floerl O (2017) How anthropogenic activities affect the establishment and spread of non-indigenous species post-arrival. En: Hawkins SJ, Hughes DJ, Smith IP, Dale AC, Firth LB, Evans, AJ (eds) *Oceanography and Marine Biology. An Annual Review*. Taylor & Francis, pp 2–33

### - K -

Koehl MAR (1982) The interaction of moving water and sessile organisms. *Sci Am* 274:124–134.

Koehl MAR (1984) How do benthic organisms withstand moving water? *Am Zool* 24:57–70. doi: 10.1093/icb/24.1.57

Koplovitz G, McClintock JB (2011) An evaluation of chemical and physical defenses against fish predation in a suite of seagrass-associated ascidians. *J Exp Mar Bio Ecol* 407:48–53. doi: 10.1016/j.jembe.2011.06.038

Koplovitz G, McClintock JB, Amsler CD, Baker BJ (2009) Palatability and chemical anti-predatory defenses in common ascidians from the Antarctic Peninsula. *Aquat Biol* 7:81–92. doi: 10.3354/ab00188

Kremer LP, da Rocha RM (2016) The biotic resistance role of fish predation in fouling communities. *Biol Invasions* 18:3223–3237. doi: 10.1007/s10530-016-1210-6

### - L -

Lambert CC (2000) Germ-cell warfare in ascidians: Sperm from one species can interfere with the fertilization of a second species. *Biol Bull* 198:22–25. doi: 10.2307/1542799

Lambert CC, Lambert G (1978) Tunicate eggs utilize ammonium ions for flotation. *Science* 200:64–65. doi: 10.1126/science.200.4337.64

Lambert CC, Lambert G (1998) Non-indigenous ascidians in southern California harbors and marinas. *Mar Biol* 130:675–688. doi: 10.1007/s002270050289

Lambert CC, Lambert G (2003) Persistence and differential distribution of nonindigenous ascidians in harbors of the Southern California Bight. *Mar Ecol Prog Ser* 259:145–161. doi: 10.3354/meps259145

Lambert CC, Lambert I, Lambert G (1995) Brooding strategies in solitary ascidians: *Corella* species from north and south temperate waters. *Can J Zool* 73:1666–1671.

Lambert G (1968) The general ecology and growth of a solitary ascidian, *Corella willmeriana*. *Biol Bull* 135:296–307.

Lambert G (2007) Invasive sea squirts: A growing global problem. *J Exp Mar Bio Ecol* 342:3–4. doi: 10.1016/j.jembe.2006.10.009

Leclerc J-C, Viard F (2018) Habitat formation prevails over predation in influencing fouling communities. *Ecol Evol* 8:477–492. doi: 10.1002/ece3.3654

Lenth R V (2016) Least-Squares Means: The R package lsmeans. *J Stat Softw* 69(1), 1–33. doi:10.18637/jss.v069.i01



- Levine JM, Adler PB, Yelenik SG (2004) A meta-analysis of biotic resistance to exotic plant invasions. *Ecol Lett* 7:975–989. doi: 10.1111/j.1461-0248.2004.00657.x
- Lindquist N, Hay ME, Fenical W (1992) Defense of ascidians and their conspicuous larvae: Adult vs. larval chemical defenses. *Ecol Monogr* 62:547–568. doi: 10.2307/2937316
- Linnaeus C (1767). *Systema naturae per regna tria naturae: secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis*. Ed. 12. 1., Regnum Animale. 1 & 2. Holmiae, Laurentii Salvii. Estocolmo. pp. 1-532, pp. 533-1327
- Lins DM, de Marco P, Andrade AFA, Rocha RM (2018) Predicting global ascidian invasions. *Divers Distrib* 24:692–704. doi: 10.1111/ddi.12711
- Lockwood JL, Cassey P, Blackburn TM (2009) The more you introduce the more you get : the role of colonization pressure and propagule pressure in invasion ecology. *Divers Distrib* 15:904–910. doi: 10.1111/j.1472-4642.2009.00594.x
- Lockwood JL, Hoopes MF, Marchetti MP (2013) *Invasion Ecology*, 2nd. Edition. Wiley-Blackwell
- Lord JP (2016) Impact of seawater temperature on growth and recruitment of invasive fouling species at the global scale. *Mar Ecol*. doi: 10.1111/maec.12404
- Lynch SA, Darmody G, O'Dwyer K, Gallagher MC, Nolan S, McAllen R, Culloty SC (2016) Biology of the invasive ascidian *Ascidella aspersa* in its native habitat: Reproductive patterns and parasite load. *Estuar Coast Shelf Sci* 181:249–255. doi: 10.1016/j.ecss.2016.08.048

- M -

- Ma KCK, Hawk HL, Goodwin C, Simard N (2019) Morphological identification of two invading ascidians: new records of *Ascidella aspersa* (Müller, 1776) from Nova Scotia and *Diplosoma listerianum* (Milne-Edwards, 1841) from New Brunswick and Quebec. *Biol Invasions Rec* 8:50–64.
- Magnusson A, Skaug H, Nielsen A, Berg C, Kristensen K, Maechler M, van Bentham K, Bolker B, Brooks M (2017) glmmTMB: Generalized linear mixed models using template model builder. R package version 0.1.1. <https://CRAN.R-project.org/package=glmmTMB>
- Marraffini ML, Ashton G V., Brown CW, Chang AL, Ruiz GM (2017) Settlement plates as monitoring devices for non-indigenous species in marine fouling communities. *Manag Biol Invasions* 8:559–566. doi: 10.3391/mbi.2017.8.4.11
- Marraffini ML, Geller JB (2015) Species richness and interacting factors control invasibility of a marine community. *Proc R Soc B Biol Sci*. doi: 10.1098/rspb.2015.0439
- McClintock JB, Amsler MO, Amsler CD, Southworth KJ, Petrie C, Baker BJ (2004) Biochemical composition, energy content and chemical antifeedant and antifoulant defenses of the colonial Antarctic ascidian *Distaplia cylindrica*. *Mar Biol* 145:885–894. doi: 10.1007/s00227-004-1388-5
- McKenzie C, Matheson K, Reid V, Wells T, Moulard D, Green D, Pilgrim B, Perry G (2016) The development of a rapid response plan to control the spread of the solitary invasive tunicate, *Ciona intestinalis* (Linnaeus, 1767), in Newfoundland and Labrador, Canada. *Manag Biol Invasions* 7:87–100. doi: 10.3391/mbi.2016.7.1.11
- Millar RH (1953) *Ciona*. In: Colman JS (ed.), L.M.B.C. *Memoirs of Typical British Marine Plants and Animals*, XXXV. Liverpool University Press, Liverpool, pp 123.
- Millar RH (1971) The biology of ascidians. *Adv Mar Biol* 9:1–100.

- Millar RH (1974) A note on the breeding season of three ascidians on coral reefs at Galeta in the Caribbean Sea. *Mar Biol* 28:127–129. doi: 10.1007/BF00396303
- Miller R (1975) Chemotaxis of the spermatozoa of *Ciona intestinalis*. *Nature* 254:244–245. doi: 10.1038/254244a0
- Miller RJ, Etter RJ (2008) Shading Facilitates Sessile Invertebrate Dominance in the Rocky Subtidal Gulf of Maine. *Ecology* 89:452–462.
- Monteiro SM, Chapman MG, Underwood AJ (2002) Patches of the ascidian *Pyura stolonifera* (Heller, 1878): Structure of habitat and associated intertidal assemblages. *J Exp Mar Bio Ecol* 270:171–189. doi: 10.1016/S0022-0981(02)00020-5
- Muñoz AA, Ojeda PF (1997) Feeding guild structure of a rocky intertidal fish assemblage in central Chile. *Environ Biol Fishes* 49:471–479.
- Murray CC, Pakhomov EA, Therriault TW (2011) Recreational boating: A large unregulated vector transporting marine invasive species. *Divers Distrib* 17:1161–1172. doi: 10.1111/j.1472-4642.2011.00798.x

- N -

- Nuñez Velazquez S, Rumbold CE, Obenat SM (2017) Population dynamics of *Caprella dilatata* and *Caprella equilibra* (Peracarida: Amphipoda) in a Southwestern Atlantic harbour. *Mar Biol Res* 13:888–898. doi: 10.1080/17451000.2017.1317101
- Nydam M, Stachowicz JJ (2007) Predator effects on fouling community development. *Mar Ecol Prog Ser* 337:93–101. doi: 10.3354/meps337093

- O -

- Orensanz JM, Schwindt E, Pastorino G, Bortolus A, Casas G, Darrigran G, Elías R, López Gappa JJ, Obenat S, Pascual M, Penchaszadeh P, Piriz ML, Scarabino F, Spivak E, Vallarino EA (2002) No longer the pristine confines of the world ocean: a survey of exotic marine species in the southwestern Atlantic. *Biol Invasions* 4:115–143.
- Oricchio FT, Flores AA V, Dias GM (2016) The importance of predation and predator size on the development and structure of a subtropical fouling community. *Hydrobiologia* 776:209–219. doi: 10.1007/s10750-016-2752-4
- Osman RW, Whitlatch RB (1995) Predation on early ontogenetic life stages and its effect on recruitment into a marine epifaunal community. *Mar Ecol Prog Ser* 117:111–126. doi: 10.3354/meps117111
- Osman RW, Whitlatch RB (1996) Processes affecting newly-settled juveniles and the consequences to subsequent community development. *Invertebr Reprod Dev* 30:217–225. doi: 10.1080/07924259.1996.9672548
- Osman RW, Whitlatch RB (2004) The control of the development of a marine benthic community by predation on recruits. *J Exp Mar Bio Ecol* 311:117–145. doi: 10.1016/j.jembe.2004.05.001

- P -

- Papacostas KJ, Freestone AL (2019) Stronger predation in a subtropical community dampens an invasive species-induced trophic cascade. *Biol Invasions* 21:203–215. doi: 10.1007/s10530-018-1819-8
- Parsons T (1984) A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, Oxford
- Pascoe PL, Parry HE, Hawkins AJS (2007) Dynamic filter-feeding responses in fouling organisms. *Aquat Biol* 1:177–185. doi:10.3354/ab00022
- Pereira Masi B, Zalmon I, Coutinho R (2016) Effects of structural factors on upwelling fouling community, Southeast Brazil. *Brazilian J Oceanogr* 64:387–400. doi: 10.1590/S1679-87592016128706404
- Perkol-Finkel S, Zilman G, Sella I, Miloh T, Benayahu Y (2006) Floating and fixed artificial habitats: effects of substratum motion on benthic communities in a coral reef environment. *Mar Ecol Prog Ser* 317:9–20.
- Pezzani S, Perez M, Stupak M (1996) Macrofouling community at Mar Del Plata Harbor during a one-year period (1991-1992). *Corros Rev* 14:73–86. doi: 10.1515/CORRREV.1996.14.1-2.73
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D, R Core Team (2017). nlme: Linear and nonlinear mixed effects models. R package version 3.1-131. <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>.
- Pisanó A, Rengel D (1972) Comparative observations about self fertilization in *Ciona intestinalis* and *Ciona robusta* in Mar del Plata (Argentina). *Acta Embryol Exp* 1972:323–332.
- Pisanó A, Rengel D, Bustuoabad O (1971) Finding of *Ciona robusta* in Argentine seas. *Annu dell Istituto e Mus di Zool della Univ di Napoli* 19:1–10.
- Pisanó A, Rengel D, Bustuoabad O (1972) Una ascidia todavía no señalada para Mar del Plata. *Physis* 31:179–183.
- Pisut DP, Pawlik JR (2002) Anti-predatory chemical defenses of ascidians: secondary metabolites or inorganic acids? *J Exp Mar Bio Ecol* 270:203–214. doi: 10.1016/S0022-0981(02)00023-0

## - R -

- Rajbanshi R, Pederson J (2007) Competition among invading ascidians and a native mussel. *J Exp Mar Bio Ecol* 342:163–165. doi: 10.1016/j.jembe.2006.10.033
- R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Rechimont M, Galván D, Sueiro MC, Casas G, Piriz ML, Diez ME, Primost M, Zabala MS, Márquez F, Brogger M, Alfaya JEF, Bigatti G (2013) Benthic diversity and assemblage structure of a north Patagonian rocky shore: A monitoring legacy of the NaGISA project. *J Mar Biol Assoc United Kingdom* 93:2049–2058. doi: 10.1017/S0025315413001069
- Richardson DM, Pisek P, Rejmánek M, Barbour MG, Panetta FD, West CJ (2000) Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Divers Distrib* 6:93–107.
- Rico A, Peralta R, López Gappa J (2009) Recruitment variation in subtidal macrofouling assemblages of a Patagonian harbour (Argentina, Southwestern Atlantic). *J Mar Biol Assoc United Kingdom*. doi: 10.1007/s10152-012-0293-4
- Rico A, Peralta R, López Gappa J (2012) Succession in subtidal macrofouling assemblages of a

- Patagonian harbour (Argentina, SW Atlantic). *Helgol Mar Res* 66:577–584. doi: 10.1007/s10152-012-0293-4
- Rico A, Peralta R, López-Gappa J (2015) Effect of large predators on the fouling assemblage of a Patagonian harbour (Argentina, SW Atlantic). *Hydrobiologia*. doi: 10.1007/s10750-015-2372-4
- Rimondino C, Torre L, Sahade R, Tatián M (2015) Sessile macro-epibiotic community of solitary ascidians, ecosystem engineers in soft substrates of Potter Cove, Antarctica. *Polar Res* 34:24338. doi: 10.3402/polar.v34.24338
- Rius M, Branch GM, Griffiths CL, Turon X (2010) Larval settlement behaviour in six gregarious ascidians in relation to adult distribution. *Mar Ecol Prog Ser* 418:151–163. doi: 10.3354/meps08810
- Rius M, Heasman KG, McQuaid CD (2011) Long-term coexistence of non-indigenous species in aquaculture facilities. *Mar Pollut Bull* 62:2395–2403. doi: 10.1016/j.marpolbul.2011.08.030
- Rius M, Pineda MC, Turon X (2009a) Population dynamics and life cycle of the introduced ascidian *Microcosmus squamiger* in the Mediterranean sea. *Biol Invasions* 11:2181–2194. doi: 10.1007/s10530-008-9375-2
- Rius M, Potter EE, Aguirre JD, Stachowicz JJ (2014) Mechanisms of biotic resistance across complex life cycles. *J Anim Ecol* 83:296–305. doi: 10.1111/1365-2656.12129
- Rius M, Turon X, Marshall DJ (2009b) Non-lethal effects of an invasive species in the marine environment: The importance of early life-history stages. *Oecologia* 159:873–882. doi: 10.1007/s00442-008-1256-y
- Rogers TL, Byrnes JE, Stachowicz JJ (2016) Native predators limit invasion of benthic invertebrate communities in Bodega Harbor, California, USA. *Mar Ecol Prog Ser* 545:161–173. doi: 10.3354/meps11611
- Rubilar T, Epherra L, Deias-Spreng J, Díaz De Vivar ME, Avaro M, Lawrence AL, Lawrence JM (2016) Ingestion, absorption and assimilation efficiencies, and production in the sea urchin *Arbacia dufresnii* fed a formulated feed. *J Shellfish Res* 35:1083–1093. doi: 10.2983/035.035.0431
- Rubilar T, Villares G, Epherra L, Díaz de Vivar ME, Pastor de Ward CT (2011) Fission, regeneration, gonad production and lipids storage in the pyloric caeca of the sea star *Allostichaster capensis*. *J Exp Mar Bio Ecol* 409:247–252. doi: 10.1016/j.jembe.2011.09.004
- Ruiz GM, Carlton JT (2003) Invasion Vectors: a conceptual framework for management. En: Ruiz GM, Carlton JT (eds) *Invasive Species: Vectors and Management Strategies*. Island Press, Washington DC, pp 459–504

- 5 -

- Sahade R, Tatián M, Esnal G (2004) Reproductive ecology of the ascidian *Cnemidocarpa verrucosa* at Potter Cove, South Shetland Islands, Antarctica. *Mar Ecol Prog Ser* 272:131–140. doi: 10.3354/meps272131
- Sardain A, Sardain E, Leung B (2019) Global forecasts of shipping traffic and biological invasions to 2050. *Nat Sustain* 2:274–282. doi: 10.1038/s41893-019-0245-y

- Sato A, Satoh N, Bishop JDD (2012) Field identification of “types” A and B of the ascidian *Ciona intestinalis* in a region of sympatry. *Mar Biol* 159:1611–1619. doi: 10.1007/s00227-012-1898-5
- Schwindt E, Bortolus A (2017) Aquatic invasion biology research in South America: Geographic patterns, advances and perspectives. *Aquat Ecosyst Health Manag* 20:322–333. doi: 10.1080/14634988.2017.1404413
- Schwindt E, López Gappa J, Raffo MP, Tatián M, Bortolus A, Orensanz JM, Alonso G, Diez ME, Doti B, Genzano G, Lagger C, Lovrich G, Piriz ML, Mendez MM, Savoya V, Sueiro MC (2014) Marine fouling invasions in ports of Patagonia (Argentina) with implications for legislation and monitoring programs. *Mar Environ Res* 99:60–68. doi: 10.1016/j.marenvres.2014.06.006
- Shenkar N, Shmuel Y, Huchon D (2018) The invasive ascidian *Ciona robusta* recorded from a Red Sea marina. *Mar Biodivers* 48:2211–2214. doi: 10.1007/s12526-017-0699-y
- Shenkar N, Swalla BJ (2011) Global Diversity of Ascidiacea. *PLoS One* 6:e20657. doi: 10.1371/journal.pone.0020657
- Simkanin C, Dower JF, Filip N, Jamieson G, Therriault TW (2013) Biotic resistance to the infiltration of natural benthic habitats: Examining the role of predation in the distribution of the invasive ascidian *Botrylloides violaceus*. *J Exp Mar Bio Ecol* 439:76–83. doi: 10.1016/J.JEMBE.2012.10.004
- Souto V, Escolar M, Genzano G, Bremec C (2014) Species richness and distribution patterns of echinoderms in the Southwestern Atlantic Ocean (34-56° S). *Sci Mar* 78:269–280.
- Stoecker D (1978) Resistance of a Tunicate to fouling. *Biol Bull* 155:615–626.
- Stoecker D (1980a) Relationships between chemical defense and ecology in benthic ascidians. *Mar Ecol Prog Ser* 3:257–265. doi: 10.3354/meps003257
- Stoecker D (1980b) Chemical defenses of ascidians against predators. *Ecology* 61:1327–1334. doi: 10.2307/1939041
- Strickland J, Parsons T (1972) A practical handbook of seawater analysis-Fisheries Research Board of Canada. Bulletin 167, 2nd Edition.
- Svane I, Young C (1989) The ecology and behaviour of ascidian larvae. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 27:45–90.

## - T -

- Tatián M, Schwindt E, Lagger C, Varela MM (2010) Colonization of Patagonian harbors (SW Atlantic) by an invasive sea squirt. *Spixiana* 33:111–117. doi: 10.1007/978-1-4614-3909-7
- Torres PJ, González-Pisani X (2016) Primer registro del cangrejo verde, *Carcinus maenas* (Linnaeus, 1758), en Golfo Nuevo, Argentina: Un nuevo límite norte de distribución en costas patagónicas. *Ecol Austral* 26:134–137.
- Tyrrell MC, Byers JE (2007) Do artificial substrates favor nonindigenous fouling species over native species? *J Exp Mar Bio Ecol* 342:54–60. doi: 10.1016/j.jembe.2006.10.014

## - U -

Ulman A, Ferrario J, Forcada A, Seebens H, Arvanitidis C, Occhipinti-Ambrogi A, Marchini A, (2019) Alien species spreading via biofouling on recreational vessels in the Mediterranean Sea. *J Appl Ecol* 00:1–10. doi: 10.1111/1365-2664.13502

## - V -

Valentine P, Carman MR, Blackwood D (2016) Observations of recruitment and colonization by tunicates and associated invertebrates using giant one-meter<sup>2</sup> recruitment plates at Woods Hole, Massachusetts. *Manag Biol Invasions* 7:115–130. doi: 10.3391/mbi.2016.7.1.14

Vieira EA, Dias GM, Flores AAV (2016) Effects of predation depend on successional stage and recruitment rate in shallow benthic assemblages of the Southwestern Atlantic. *Mar Biol* 163:1–12. doi: 10.1007/s00227-016-2872-4

Vieira EA, Dias GM, Flores AA V (2018) Adding early-stage engineering species affects advanced-stage organization of shallow-water fouling assemblages. *Hydrobiologia* 818(1):211–222. doi: 10.1007/s10750-018-3612-1

Vieira EA, Duarte LFL, Dias GM (2012) How the timing of predation affects composition and diversity of species in a marine sessile community? *J Exp Mar Bio Ecol* 412:126–133. doi: 10.1016/j.jembe.2011.11.011

Villa L, Patricolo E (1992) Ascidian interspecific fertilization I. Preliminary data on the involvement of the follicle cell layer. *Eur Arch Biol* 103:25–30.

Villafañe VE, Barbieri ES, Helbling EW (2004) Annual patterns of ultraviolet radiation effects on temperate marine phytoplankton off Patagonia, Argentina. *J Plankton Res* 26:167–174. doi: 10.1093/plankt/fbh011

## - W -

Wahl M, Jensen PR, Fenical W (1994) Chemical control of bacterial epibiosis on ascidians. *Mar Ecol Prog Ser* 110:45–57. doi: 10.3354/meps110045

Whitlatch RB, Osman RW (2009) Post-settlement predation on ascidian recruits: Predator responses to changing prey density. *Aquat Invasions* 4:121–131. doi: 10.3391/ai.2009.4.1.13

Wickham H (2009) *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. Springer-Verlag, New York

## - Y -

Yamaguchi M (1975) Growth and reproductive cycles of the marine fouling ascidians *Ciona intestinalis*, *Styela plicata*, *Botrylloides violaceus* and *Leptoclinum mitsukurii* at Aburatsubo-Moroiso Inlet (Central Japan). *Mar Biol* 29:253–259.

Young CM, Bingham BL (1987) Chemical defense and aposematic coloration in larvae of the ascidian *Ecteinascidia turbinata*. *Mar Biol* 96:539–544. doi: 10.1038/470444a

## - Z -

Zar JH (2009) *Biostatistical analysis* (5<sup>ta</sup> Edición). Pearson.

- Zbawicka M, Trucco MI, Wenne R (2018) Single nucleotide polymorphisms in native South American Atlantic coast populations of smooth shelled mussels: hybridization with invasive European *Mytilus galloprovincialis*. *Genet Sel Evol* 50: 5. doi: 10.1186/s12711-018-0376-z
- Zhan A, Briski E, Bock DG, Ghabooli S, MacIsaac HJ (2015) Ascidians as models for studying invasion success. *Mar Biol* 162(12): 2449–2470. doi: 10.1007/s00227-015-2734-5
- Zuur AF, Ieno EN, Smith GM (2007) *Analysing Ecological Data*. Springer.