



**UNIVERSIDAD ESTATAL  
“PENÍNSULA DE SANTA ELENA”  
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR  
CARRERA DE BIOLOGÍA MARINA**

**FILOGEOGRAFÍA DE LA “OSTRA NATIVA” (*STRIOSTREA  
PRISMATICA*. GRAY, 1825) EN LAS LOCALIDADES DE  
AYANGUE Y SALINAS, PROVINCIA DE SANTA ELENA,  
ECUADOR.**

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

Previo a la obtención del Título de:

**BIÓLOGO MARINO**

AUTOR

DAVID FERNANDO OÑATE OQUENDO

TUTORA

Blga. MARÍA H. CORNEJO RODRÍGUEZ Ph.D.

COTUTORES

Blga. NIEVES GONZÁLEZ HENRÍQUEZ Ph.D.

Blgo. JAVIER QUINTEIRO Ph.D.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2018

**UNIVERSIDAD ESTATAL**  
**“PENÍNSULA DE SANTA ELENA”**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR**  
**CARRERA DE BIOLOGÍA MARINA**

FILOGEOGRAFÍA DE LA “OSTRA NATIVA” (*STRIOSTREA PRISMATICA*. GRAY, 1825) EN LAS LOCALIDADES DE AYANGUE Y SALINAS, PROVINCIA DE SANTA ELENA, ECUADOR.

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Previo a la obtención del Título de:

**BIÓLOGO MARINO**

DAVID FERNANDO OÑATE OQUENDO

**TUTORA**

Blga. MARÍA H. CORNEJO RODRÍGUEZ Ph.D.

**COTUTORES**

Blga. NIEVES GONZÁLEZ HENRÍQUEZ Ph.D.

Blgo. JAVIER QUINTEIRO Ph.D.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2018

## **DECLARACIÓN EXPRESA**

La responsabilidad por hechos, ideas y resultados expuestos en este proyecto de investigación, me corresponden exclusivamente, y el patrimonio intelectual de la misma, a la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

---

David Oñate Oquendo

C.I.: 1722265343

## **DEDICATORIA**

Palabras no bastan para demostrar lo agradecido que estoy a mi familia; mis padres Isabel y José por el soporte incondicional que me han dado durante estos largos años. El ejemplo de superación y persistencia que inspira mi hermana, Carolina, se han convertido en el ánimo que me permite, hoy, alcanzar uno de mis sueños.

Mi profunda gratitud es hacia Ustedes.

David.

## **AGRADECIMIENTO**

A La Universidad Estatal Península de Santa Elena, entidad que dentro de sus salones junto con los docentes instruye los conocimientos y el pensamiento crítico necesario para ser un profesional de alto nivel.

A mi tutora de tesis Dra. María Herminia Cornejo por la paciencia que ha tenido conmigo desde que fue designada como mi guía para este proyecto, así como sus palabras de aliento durante todo el proceso.

Mis cotutores de tesis; la Dra. Nieves González quién me extendió la posibilidad de trabajar junto a ella permitiendo mejorar mis técnicas en el laboratorio, además de sus consejos y ánimo efusivo para trabajar sin ver las horas sino el objetivo. Al Dr. Javier Quintero por su gran ayuda en el análisis y correcta interpretación de los resultados.

A todos aquellos involucrados con mi desarrollo en pos de mi formación profesional les extiendo mis sinceros agradecimientos.

David Oñate

## **TRIBUNAL DE GRADUACIÓN**

---

Blgo Richard Duque Marín M.Sc.  
Decano (e)  
Facultad de Ciencias del Mar

---

Blga. Tanya González Banchón M.Sc.  
Directora (e)  
Carrera de Biología Marina

---

Blga. María H. Cornejo Rodríguez Ph.D.  
Docente Tutor

---

Blga. Laia Muñoz Abril M.Sc.  
Docente de Área

---

Abg. Víctor Coronel Ortiz M.Sc.  
Secretario General (e)

# Filogeografía de la “Ostra Nativa” (*Striostrea prismatica*. Gray, 1825) en las localidades de Ayangue y Salinas, provincia de Santa Elena, Ecuador.

David Oñate<sup>1</sup>, María H. Cornejo R.<sup>1</sup>, Javier Quinteiro<sup>2</sup>, Nieves González-Henríquez<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Estatal Península de Santa Elena, Ecuador.

<sup>2</sup> Departamento de Bioquímica y Biología molecular. Universidad de Santiago de Compostela España.

<sup>3</sup> Departamento de Biología de la Universidad de Las Palmas de Gran Canarias, España.  
e-mail: onatedavid89@gmail.com

## Resumen

La filogenia molecular es una herramienta que permite la diferenciación de especies a través de la comparación fragmentos o genomas completos de individuos y poblaciones, cuyas características morfológicas no permiten una clasificación taxonómica consistente basada únicamente en sus fenotipos. En el presente estudio se infiere las relaciones filogenéticas de dos poblaciones de la especie *Striostrea prismatica* en la provincia de Santa Elena (Ayangue y Salinas), Ecuador empleando aproximaciones de máxima probabilidad e inferencia bayesiana mediante la secuenciación de los genes mitocondriales citocromo oxidasa subunidad I (COX1) y 16S rRNA, con el fin de estimar su distribución y estado poblacional. Se obtuvieron 94 individuos de manera comercial (47 por localidad), los amplicones de COX1 (n=94) y 16S rRNA (n=11) fueron generados con cebadores específicos de la especie. Los modelos evolutivos fueron estimados con JmodelTest y los análisis filogenéticos se efectuaron en PAUP y MrBayes. La estructura poblacional fue evaluada con los paquetes ape y pegas (R) mediante un análisis de varianza molecular. Los resultados agruparon a los individuos en dos haplogrupos presentes en ambas poblaciones, sin una estructura poblacional definida ( $p < 0.01$ ). Los haplotipos son semejantes a aquellos descritos en la bibliografía, siendo el primero cercano a individuos estudiados en las costas de California y el segundo en Panamá. Finalmente, la topología de árboles consolida la ubicación de *Striostrea prismatica* como un grupo parafilético dentro de la familia Ostreidae, reforzando la creación de la subfamilia Striostreinae referida por primera vez en 1985 por Harry.

**Palabras clave:** Bivalvos, *Striostrea*, Filogeografía, COX1, 16S rRNA, haplotipo

## Abstract

Molecular phylogeny is a tool that allows the differentiation of species through the comparison of fragments or complete genomes of individuals and populations, whose morphological characteristics do not allow a consistent taxonomic classification based solely on their phenotypes. Phylogenetic relations were inferred in two populations of *Striostrea prismatica* species in the province of Santa Elena, Ecuador (Ayangue y Salinas), through maximum likelihood and bayesian approaches, by sequencing the mitochondrial genes Cytochrome Oxidase Subunit I (COX1) and 16S rRNA, in order to estimate its distribution and population status. We obtained 94 specimens by commercial means (47 per locality), the amplicons of COX1 (n=94) and 16S rRNA (n=11) were generated with specific primers developed for the species. Evolution models were estimated in JmodelTest and phylogenetics analyzes in PAUP and MrBayes, along with population statistics calculated using an Analysis of Molecular Variances in the ape and pegas packages (R). The results join the haplotypes in two major haplogroups present in both populations without a defined structure ( $p < 0.01$ ). This groups are similar to the ones described in previous bibliography, the first is close related to samples recollected in the Californian coast and the second to Panama. Finally, the topology of the trees consolidates the status of *Striostrea prismatica* as a paraphyletic group within Ostreidae family, asserting the creation of the Striostreinae subfamily referred for the first time by Harry in 1985.

**Keywords:** Bivalve, *Striostrea*, phylogeography, COX1, 16S rRNA, haplotype

## Introducción.

La filogenia molecular es una herramienta muy útil para interpretar procesos de adaptación evolutiva, especiación y diferenciación de morfo-tipos (Stettiner y Gabor, 2001; Krause y Reinert, 2011), a través del estudio entre fragmentos o genomas completos de individuos y poblaciones. Entre las herramientas utilizadas se hallan diversos marcadores moleculares como fuente de verificación para muchas especies cuyas características de plasticidad corporal dificultan su clasificación a nivel taxonómico y geográfico, por ejemplo, aquellos usados para los géneros *Saccostrea* (Lam y Morton 2006) y *Crassostrea* (Sekino y Yamashita 2013) cuyos resultados han permitido una diferenciación exitosa entre sus miembros y otros géneros cercanos de ostras.

Hasta el momento, la estrategia del uso del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad I (COX1) junto con el gen 16SrRNA es la más ampliamente citada en bibliografía y la más numerosa en la base de datos de repositorio del Centro Nacional para la Biotecnología (NCBI, EEUU), donde la familia *Ostreidae* (Rafinesque, 1815) registra miles de entradas para los dos marcadores moleculares, siendo *Crassostrea* la de mayor número, seguida por *Saccostrea* y *Ostrea*. En la base de datos del Registro Mundial de Especies Marinas (WORMS) dirigida hacia la vida marina, se registran actualmente 41 géneros para la familia *Ostreidae*, de las cuales, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO, 1995), estima 6 de ellos como los más importantes para la pesca comercial en el Área del Pacífico central y sur, listando a: *Crassostrea*, *Myraakeena* (Harry, 1985), *Ostrea* (Linnaeus, 1758), *Saccostrea* (Dollfus y Dautzenberg, 1920), *Striostrea* (Vialov, 1936) y *Undulostrea* (Harry, 1985) como los géneros de mayor comercialización.

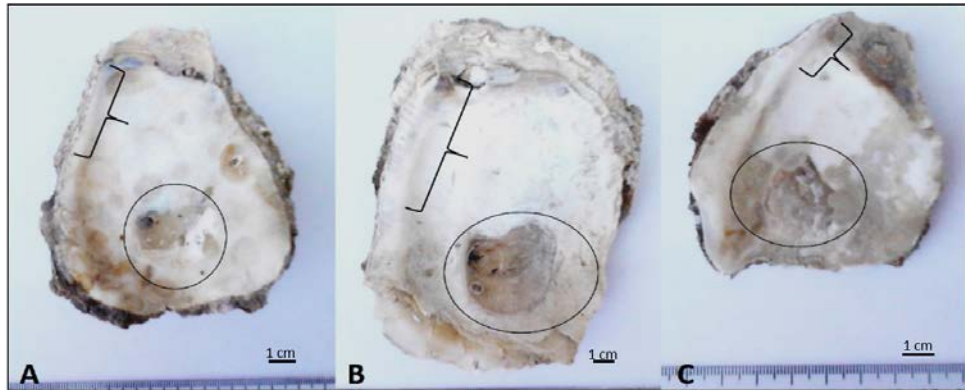
Ecuador al ser un país mega diverso, cuya base económica es altamente dependiente de los recursos naturales necesita de estudios filogenéticos para la planificación de estrategias de conservación de su biodiversidad. Actualmente los antecedentes de estos estudios presentan tendencia hacia la botánica y biología terrestre (Arteaga y otros, 2016) de las regiones interandinas y amazónicas, encontrando interesantes relaciones entre plantas (Gómez-Alpizar, y otros, 2008; Morales-Astudillo, y otros, 2004), mariposas (Jason, 2002) e incluso marsupiales (Reed y otros, 1994). Entre los recursos marinos más importantes que posee el país hallamos a los bivalvos, especialmente los ostiones, que han constituido desde tiempos antiguos, uno de los componentes de la gastronomía turística del sector (Richardson, 2012). Los principales representantes de la familia *Ostreidae* son los géneros *Crassostrea* y *Striostrea* con un gran interés económico a nivel regional (Lombeida, 1999; Álvarez y otros. 2008). A pesar de la existencia de múltiples trabajos, basados en secuencias del gen COX1, en regiones de América Central y del Norte (Lam y Morton 2003; Reece y otros 2007; Costa de Melo, Varela y otros 2010), concretamente el género *Striostrea* posee muy pocos registros de taxonomía molecular referidos a la región (Grasielle, 2010) con 6 entradas para el COX1 y 2 de 16S rRNA en GenBank® (Benson, y otros., 2012), registros extremadamente escasos comparándolos con los demás miembros de la familia.

El interés que promueve el estudio de especies de bivalvos comerciales a nivel molecular se debe a las diferencias que hasta ahora se han encontrado entre las valvas de las ostras extraídas de manera artesanal y comercializadas bajo el nombre de “ostra nativa” u “ostra de roca”, lo que se atribuye como especie putativa a *Striostrea prismática* (Figura 1), observando irregularidad en el número de dientes en la charnela y alta variabilidad de forma valvar. En la Guía FAO para la identificación de especies para fines comerciales (Fischer y otros, 1995) en su volumen 1 se indica esta carencia de patrones diagnósticos para la familia *Ostreidae*. Los individuos, se encuentran generalmente en zonas intersticiales y submareales de poca profundidad hasta de 7 metros adheridos a sustratos rocosos, alimentándose a través de filtración, sus picos de reproducción en el Ecuador se encuentran entre los meses de febrero y marzo (Loor. y Sonnenholzner, 2016) cuando los gametos son expulsados a la columna de agua y fecundados externamente.

En la actualidad no se reconocen morfotipos de *Striostrea* como diferentes especies o subespecies en las costas del Ecuador, por lo que el análisis molecular es imperativo para la conservación de las poblaciones y los recursos genéticos. La pérdida de la variabilidad genética conlleva a poblaciones con una estructura fija las que no se adaptan de manera adecuada a cambios en el ambiente (Ye y otros 2015), volviéndolas extremadamente vulnerables. El objetivo de este proyecto fue inferir la filogeografía de la “ostra nativa” *Striostrea prismatica*, en la Península de Santa Elena, mediante la



secuenciación y análisis de los genes mitocondriales COX1 y 16S rRNA a través de la creación de un banco genético y el uso de diferentes aproximaciones filogenéticas exponiendo las relaciones entre los clados de poblaciones locales y regionales.



**Figura 1.** Diferencias morfológicas en organismos capturados artesanalmente en la costa de Ecuador. A) Valva triangular con 7 dientes laterales; B) Valva rectangular con 13 dientes y; C) Valva irregular con 4 dientes. Se resalta además la marca dejada por la incrustación del músculo abductor.

## Materiales y Métodos

### Zona de estudio

El lugar de muestreo se ubicó en la Península de Santa Elena en dos sectores; Salinas ( $2^{\circ}17'30''$  S,  $80^{\circ}55'15''$  W) y Ayangue ( $1^{\circ}58'57''$  S,  $80^{\circ}45'14''$  W), ambas se encuentran separadas aproximadamente por 50 Km de costa y por el accidente geográfico que conforma a la península de Santa Elena (Fig.2). Cada uno de los individuos fue debidamente clasificado con códigos de localidad “SESA” para Salinas siendo las entradas 522 a 568 en la base de tejidos BANGEMAR de la UPSE y “SEAY” para Ayangue con las entradas 582 a 628.

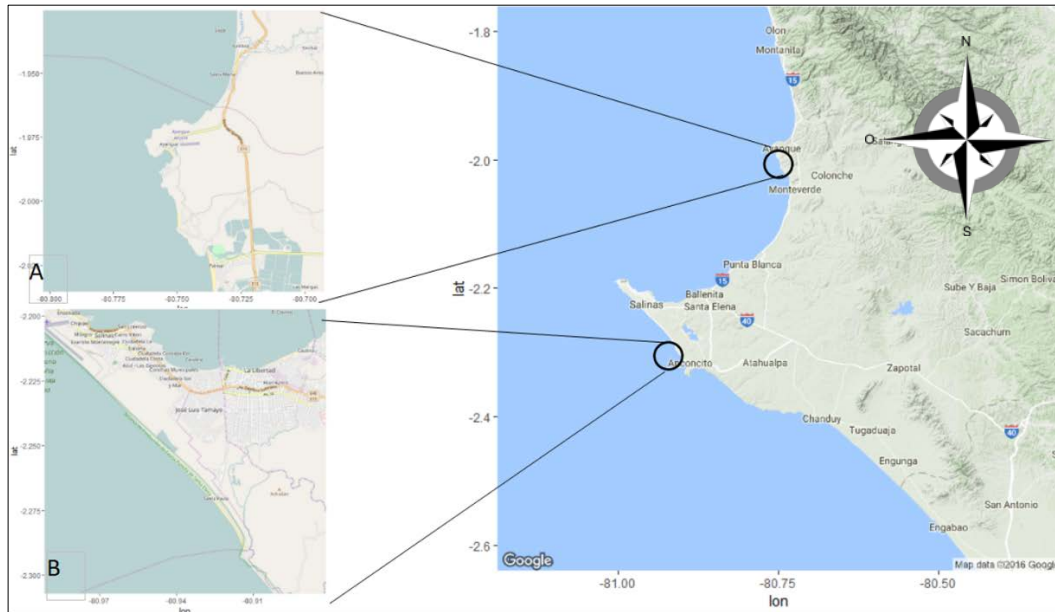
Los especímenes fueron obtenidos de comerciantes en los puertos pesqueros, de las zonas de estudio detalladas, la especie fue identificada según lo descrito por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO) del Pacífico Este Central (Fischer, y otros, 1995) y se mantuvieron en congelación durante su transporte. Los procesos de laboratorio se realizaron en el Instituto de Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico (INCYT) en las instalaciones del Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP) y del Centro de Investigación Biológica (CIBPA) de la Universidad Estatal Península de Santa Elena (UPSE). El diseño de cebadores y los productos de PCR de los fragmentos COX1 y 16S rRNA fueron amplificados y secuenciados en el Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Biología de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España.

### Extracción de ADN

A los individuos se les extrajo el músculo abductor y preservó en alcohol al 70% y a  $-20^{\circ}$  Celsius (C) en tubos criogénicos de 2 ml. Para la extracción de ADN se utilizó el kit “E.Z.N.A. Mollusc Kit” de Omega Bio-Tek, siguiendo las instrucciones del proveedor y modificando la temperatura y tiempo de digestión colocando aproximadamente 40 mg de tejido a  $55^{\circ}$  C durante 12 horas o toda la noche, con agitación continua, hasta obtener homogenización total.

## Cuantificación de ADN

El ADN obtenido fue visualizado en geles de agarosa al 1% con tinción de 2  $\mu\text{L}$  de SybrSafe (Invitrogen), en una cubeta modelo Classic CSSU1214 y visualizándose con un transiluminador UV del mismo fabricante (ThermoEC). La cuantificación y estimación de pureza se realizó en el Centro de Investigaciones Biotecnológicas de Ecuador (CIBE, ESPOL, Guayaquil), utilizando un NanoDrop 2000 Thermo Scientific, en una longitud de onda 260/280 nm.



**Figura 2.** Zona de muestreo, A) Ayangue; B) Punta Carnero (Salinas).

## Amplificación parcial del gen mitocondrial COX1

Los productos de PCR se obtuvieron con cebadores específicos (Tabla 1) diseñados a partir de secuencias disponibles en el genbank (KT317606.1, Raith y otros, 2015.). Cada reacción de amplificación en el gen COX1 fue llevada a 12.5  $\mu\text{L}$  con: 1  $\mu\text{L}$  de ADN genómico a 25 ng/ $\mu\text{L}$ , 2.5  $\mu\text{L}$  de Go Taq Colorless Flexi Buffer (Promega), 0.75  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  a 1.5 mM, 0.25  $\mu\text{L}$  PCR Nucleotide Mix a 0.8 mM, 0.0625 U de GoTaq Flexi DNA Polymerase a 5 U/ $\mu\text{L}$ , 0.9375  $\mu\text{L}$  del cebador Forward y Reverse cada uno a 1.5  $\mu\text{M}$  y 6.0625  $\mu\text{L}$  de Agua miliQ. El programa de termociclador MultiGene Optimax (Midwest Scientific) fue: 95°C de desnaturalización por 3 minutos, seguido de 40 ciclos a; 95°C por 30 segundos, 60°C por 30 segundos y 72°C por 40 segundos. Finalmente, a 72°C durante 10 minutos y 4°C durante 5 minutos.

## Amplificación parcial del gen 16S rRNA

Para la obtención de fragmentos del gen 16S rRNA se utilizaron reacciones a 25  $\mu\text{L}$  con cebadores específicos (Tabla 1) diseñados a partir de las secuencias depositadas en el genbank (KT317423.1, Raith y otros, 2015) empleando; 1  $\mu\text{L}$  de ADN genómico a 25 ng/ $\mu\text{L}$ , 5  $\mu\text{L}$  de GoTaq Colorless Flexi Buffer, 1.5  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  a 1.5 mM, 0.5  $\mu\text{L}$  PCR Nucleotide-Mix a 0.8 mM, 0.125  $\mu\text{L}$  GoTaq Flexi DNA Polymerase a 5 U/ $\mu\text{L}$ , 0.625  $\mu\text{L}$  de cada cebador a 2.5  $\mu\text{M}$  y finalmente 15.625  $\mu\text{L}$  de agua MiliQ. El programa del termociclador fue 95°C de desnaturalización durante 3 minutos, seguido de 40 ciclos a; 95°C por 30 segundos, 60°C por 30 segundos y 72°C por 40 segundos. Finalmente 72°C durante 10 minutos y 4°C por 5 minutos. Los productos de la amplificación fueron verificados mediante electroforesis en gel de agarosa al 2,5%.

**Tabla 1.** Cebadores específicos para COX1 (\*) y 16S rRNA (\*\*) diseñados para la especie *S. prismática* a partir de las secuencias KT317606.1 y KT317423.1 (Ratih y otros, 2015) respectivamente. Se especifican el porcentaje de Guanina-Citosina (%CG) y la Temperatura de melting en grados Celsius (Tm°C), junto con su secuencia (5'-3').

Nombre	%CG	Tm(°C)	Secuencia
Spri-COX1-1F-0*	55	66.4	CGATGAAGTTTATTTAACCCCTGGGGCTAA
Spri-COX1-2R-0*	46.1	65.4	GTTGGTGATCCAGTATTGTTTCAGCA
Spri-16S-1F**	37.9	69.1	GGTGCAAAGTGTAACGGCC
Spri-16S-2R**	44	65.7	CGTAGGGTATTAAAGGTCGAACAGAC

### Secuenciación de los productos de PCR

Previo a la secuenciación, los productos de PCR fueron sometidos a la acción de las enzimas fosfatasa y exonucleasa, contenidas en el kit ExoSAP-It (Affimetrix), siendo incubados a 37° C durante 15 minutos y luego a 80°C para su desnaturalización. Los productos de PCR fueron secuenciados con el kit BigDye v3.1 (Thermofisher Scientific) y analizados en un equipo ABI 3500 (Thermofisher Scientific).

### Análisis de secuencias

Para el alineamiento de secuencias se empleó el algoritmo de ClustalW (Sievers, Wilm y otros, 2011), incluido en el programa UGENE v1.25 (Okonechnikov, 2012), a través de los servidores en línea de Clustal. La edición manual de los arreglos múltiples se realizó en el mismo programa, así como la identificación de haplotipos mediante comparación directa entre secuencias. Cada haplotipo fue analizado con la herramienta BLAST (Altschul y otros, 1990), con una configuración estándar de parámetros. Se descargaron secuencias homólogas de los genes de especies cercanas de importancia comercial (Tabla 2) a través de la base de datos GenBank® (Benson, y otros., 2012), para anexarlas al alineamiento múltiple utilizado en el análisis filogenético.

Los haplotipos nos permiten diferenciar genotipos de los individuos gracias a las diferencias que se presentan como polimorfismo de nucleótido simple en sus secuencias. Para el análisis estadístico de los haplotipos del gen de COX1 se empleó el programa R (R Core Team, 2014) utilizando las librerías ape (Paradis y otros, 2004), pegas (Paradis, 2010) y hierfstat (de Meeûs y Goudet, 2007) y utilizando secuencias correspondientes a 94 individuos. La varianza entre y dentro de poblaciones se obtuvo mediante un análisis molecular de varianzas (Excoffier y otros 1992) y el valor de significancia (Fst) entre pares de poblaciones según es indicado por Nei (1973). La red haplotípica fue representada en PopArt (Leigh y Bryan 2015) con el método de Median Joining (Bandelt y otros, 1999).

Los modelos evolutivos más ajustados fueron definidos a través del programa jmodeltest2 (Darriba, Taboada y otros, 2012), seleccionando el mejor por criterios de información de Akaike (AIC). Para la búsqueda de la mejor topología reflejando las relaciones filogenéticas entre las secuencias consideradas se empleó PAUP v4.10a (Swofford y otros. 2002) y MrBayes v3.2 (Ronquist y otros., 2012), usando métodos de máxima probabilidad e inferencia bayesiana a fin de corroborar los resultados. Los parámetros para la búsqueda del mejor árbol fueron ingresados bajo el modelo de máxima probabilidad con 1000 réplicas en análisis heurístico. Para inferencia bayesiana se aplicó el algoritmo de MC<sup>3</sup> (Metropolis coupled Markov Chain Monte Carlo (Altekar y otros. 2004) con un millón de generaciones bajo el modelo General Time Reversible (GTR). Se adjuntaron las

secuencias de la especie *Isognomon recognitus* (Mabille, 1895) como grupo externo. Los árboles obtenidos fueron editados y exportados en Figtree v1.4. (Rambaut, 2012).

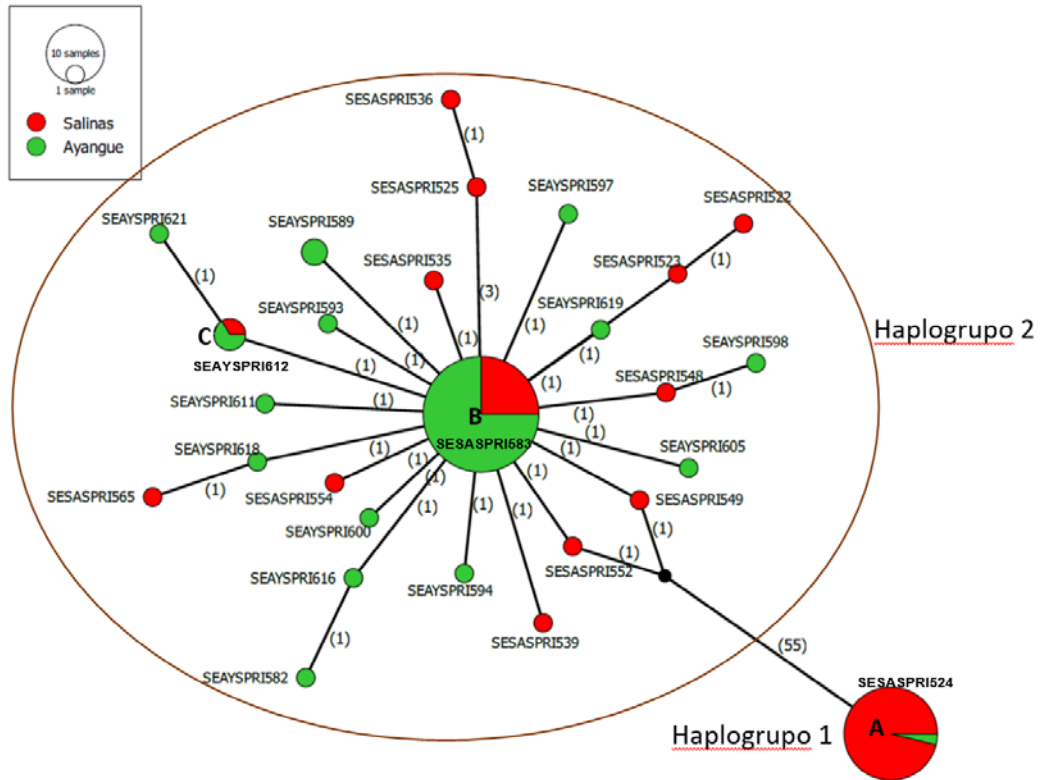
**Tabla 2.** Especies comerciales de la familia *Ostreidae*. Números de accesoión del GenBank utilizados en este estudio, marcadores mitocondriales, referencias de autores y año de publicación.

Especie	Números de accesoión	COX1	16S rRNA	Referencia
<i>Saccostrea palmula</i>	KT317604, KT317599, KT317594	X		Raith, M y otros, 2015.
	KT317416, KT317384, KT317362		X	
<i>Crassostrea columbiensis</i>	KP455055, KP455054, KP455052, KP455051, KP455017	X		Pagenkopp Lohan, K.M y otros, 2015
<i>Crassostrea corteziensis</i>	KT317088, EU733651, EU733652		X	Raith, M y otros, 2015. Perez-Enriquez y otros, 2008.
<i>Crassostrea gigas</i>	KT317439, KT317438, KT317437	X		Raith, M y otros, 2015.
	KT317404, KT317403, KT317402		X	
<i>Isognomon recognitus</i>	KT317610, KT3171609, KT317608, KT317607	X		Raith, M y otros, 2015.
	KT317427, KT317426, KT317425, KT317424		X	
<i>Ostrea angelica</i>	KT317451, KT317450, KT317449	X		Raith, M y otros, 2015.
	KT317142, KT317141, KT317139		X	
<i>Striostrea prismática</i>	KT317606, KT317605	X		Raith, M y otros, 2015. Pagenkopp Lohan, K.M y otros, 2015
	KP455046, KP455045, KP455010, KP455053	X		
	KT317423, KT317422		X	
<i>Striostrea margaritacea</i>	LT220875, LT220874, LT220873	X		Salvi, D. y Mariottini, P., 2016
	LT220864, LT220867, LT220868		X	

## Resultados

La concentración y pureza del ADN utilizando el kit para moluscos E.Z.N.A. de Omega Bio-Tek fueron constantes; 314.16 ng/ul y 1.95 respectivamente (Anexos: tablas 4 y 5), con pocos datos atípicos. Fueron secuenciados un total de 94 amplicones localizados en el gen COX1 (47 por zona) junto con 11 del gen ribosomal 16S rRNA (6 de Salinas y 5 de Ayangue). La longitud del fragmento de COX1 fue de 569 bp y de 440 bp para el fragmento 16S rRNA. Se identificaron 37 haplotipos diferentes siendo 34 de ellos únicos, utilizando solo las secuencias de COX1.

A partir del análisis de redes haplotípicas se diferenciaron 2 haplogrupos principales (figura 3), 25 individuos compartieron el haplogrupo 1 y los restantes 69 el haplogrupo 2, observando diferencias genéticas para el haplogrupo 2. El resultado de la herramienta BLAST identifica al haplogrupo 1 con un 98% de identidad a la entrada KP4550045 perteneciente a *Striostrea prismática* obtenida de las costas de California en Estados Unidos por Raith y otros en 2015 y el haplogrupo 2 (secuencia concenso) con el mismo porcentaje de identificación a la entrada KP455010 en las costas de Panamá documentada por Pagenkopp y otros en 2015.



**Figura 3.** Red haplotípica utilizando el gen mitocondrial COX1 graficada en PopArt. Se muestran las relaciones entre haplotipos y haplogrupos (Haplogrupo 1 = 25 individuos. Haplogrupo 2 = 69 individuos) en las dos localidades. El número de individuos compartiendo el mismo haplotipo es análogo al tamaño del círculo en la leyenda. Los números entre paréntesis representan la cantidad de mutaciones entre haplotipos. Los brazos no se encuentran a escala. Letras A, B y C, corresponden a haplotipos idénticos.

**Tabla 3.** Tabla de resultados del análisis molecular de varianzas del gen mitocondrial COX1 empleando 47 secuencias de cada zona de estudio.

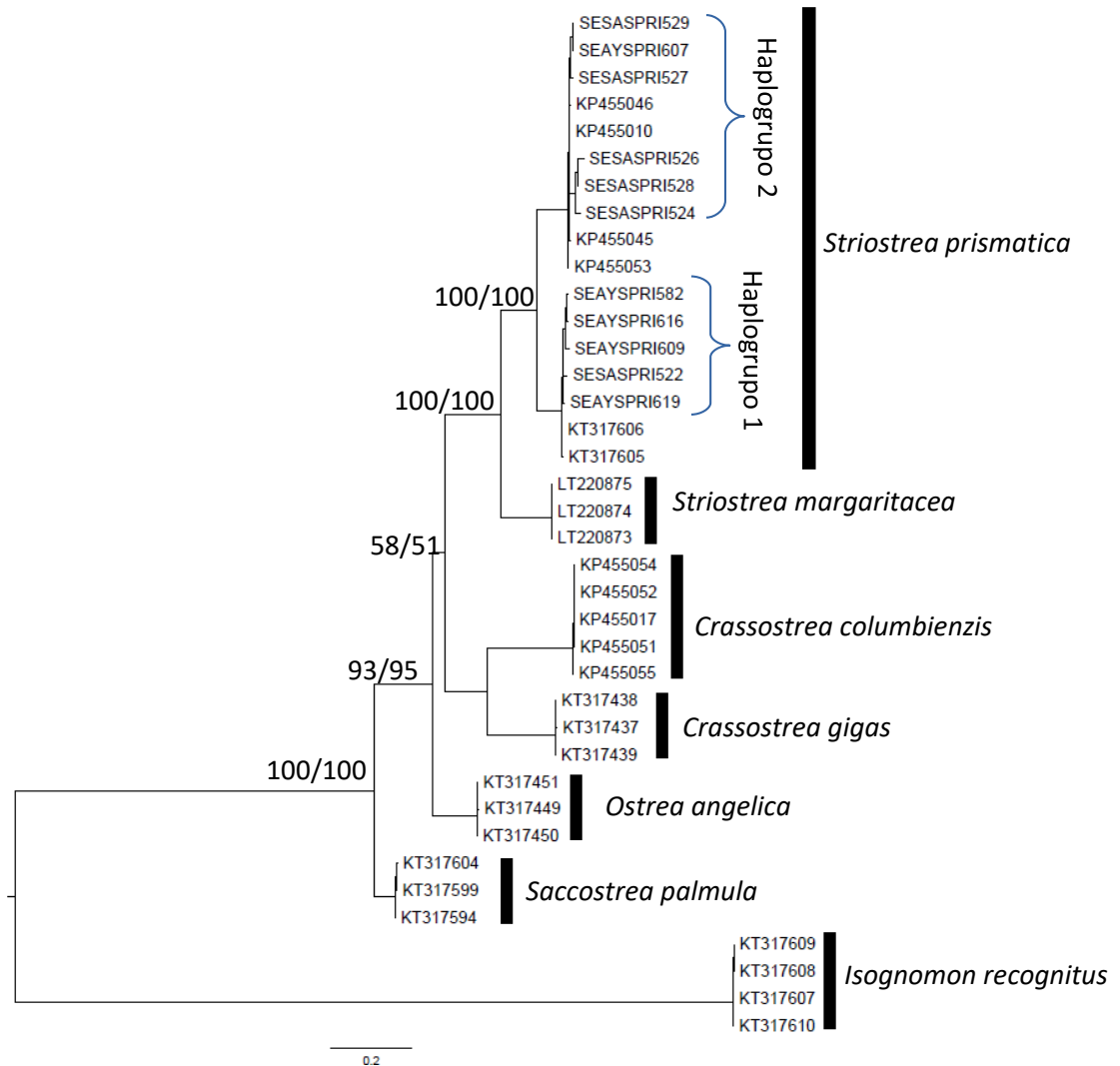
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componente de varianza	% de variación
Entre poblaciones	1	4.29787234	0.083807349	18.9294923
Dentro de poblaciones	92	33.0212766	0.35892692	81.0705077

El análisis de varianza muestra una mayor diversidad dentro de las poblaciones (Tabla 3), indicio de la falta de estructura poblacional entre los individuos. La menor diferencia entre poblaciones refleja uniformidad en las dos zonas de estudio, incluso cuando la prueba  $F_{st}$  de Nei (1973) indica una baja tasa de heterocigosidad  $F_{st}=0.1152$ , sin representar una diferencia estadística significativa entre las poblaciones.

Para la inferencia de las relaciones filogenéticas entre los haplotipos detectados, los modelos evolutivos fueron elegidos individualmente y los análisis filogenéticos se realizaron para cada gen por separado y concatenados en una secuencia final de aproximadamente 1000 bp, cada árbol fue calculado utilizando las 11 secuencias de individuos que compartían datos correspondientes a cada marcador molecular.

## COX1 (Citocromo Oxidasa subunidad I)

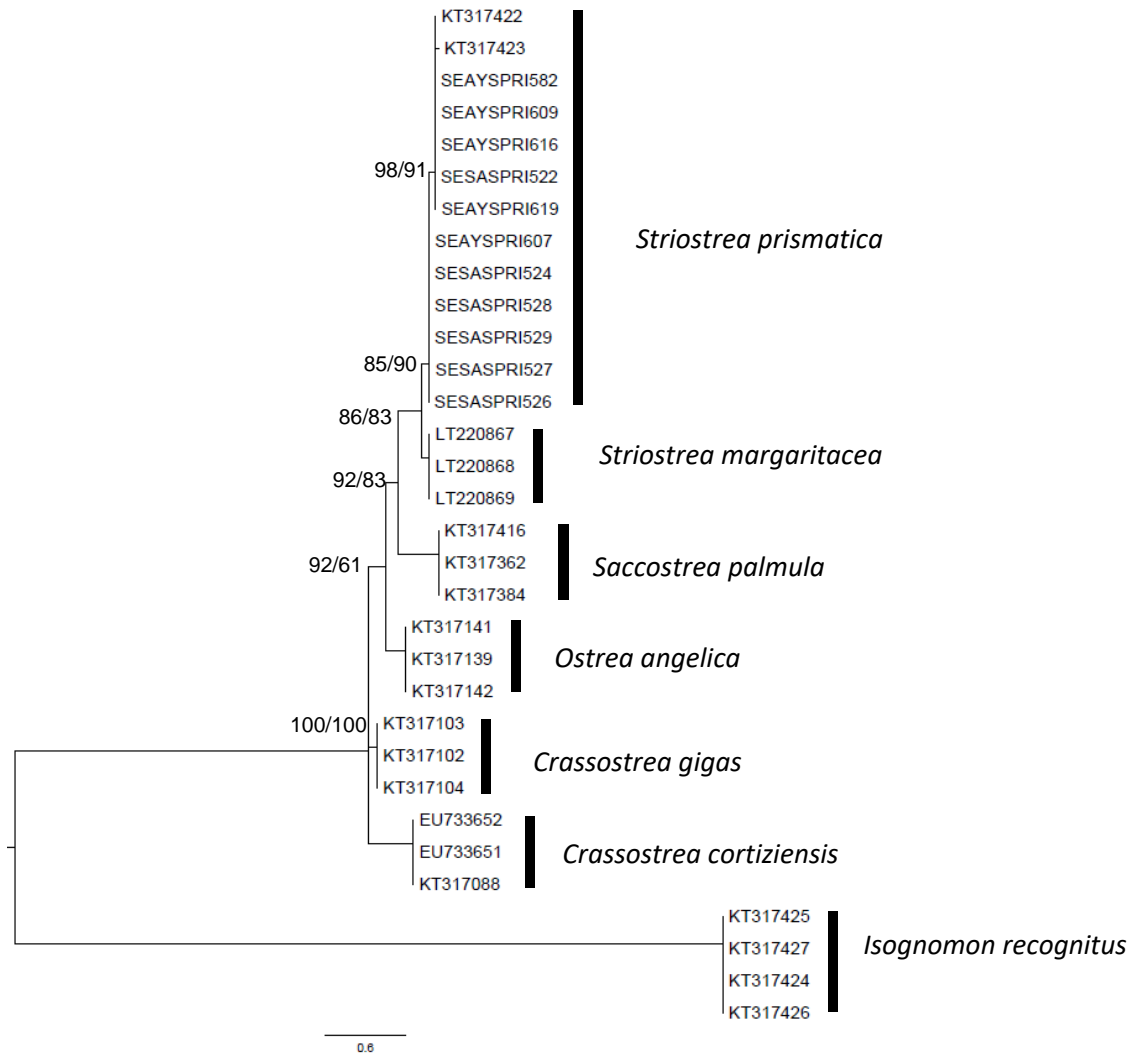
El modelo seleccionado para la matriz de secuencias alineadas fue el TPM1uf+G (Kimura, 1981); el cual estima valores diferentes para las transiciones (entre purinas o pirimidinas) y para transversiones (de purinas a pirimidinas) con variabilidad gama entre sitios. Se adjuntaron las secuencias obtenidas por Raith (2015) y Pagenkopp (2015); debido a su importancia como haplotipos de procedencia geográfica distante. En la figura 5 se observa como la distribución de los individuos sigue la asociación geográfica de las muestras obtenidas en California y el Caribe, colocándose dentro del clado con *Striostrea margaritacea* como grupo hermano monofilético al género *Crassostrea*, desplazando a *Ostrea* y *Saccostrea* como especies más divergentes.



**Figura 5.** Filograma de las especies representativas de la familia *Ostreidae* utilizando el gen mitocondrial COX1, a través de Máxima Probabilidad en el programa PAUP, bajo el modelo TPM1uf+G obtenido en Jmodeltest. El análisis involucra 38 secuencias. Las ramas están representadas a escala con su longitud correspondiente al número de sustituciones por sitio. Los números sobre los nodos ancestrales, representan el porcentaje obtenido en ML y probabilidad posterior. La especie *I. recognitus* perteneciente a la familia *Pteridae* se adjunta como grupo externo.

## 16S rRNA

El modelo seleccionado para el alineamiento fue el de Posada (2003); el cual estima valores diferentes para las transiciones y 4 valores diferentes para las transversiones. A pesar de encontrar ciertas diferencias con la agrupación de los clados (ver figura 6) especialmente en la asociación con el género *Crassostrea* colocada aquí como la más alejada seguida de *Ostrea*, presenta a *Saccostrea* como grupo hermano de *Striostrea*.

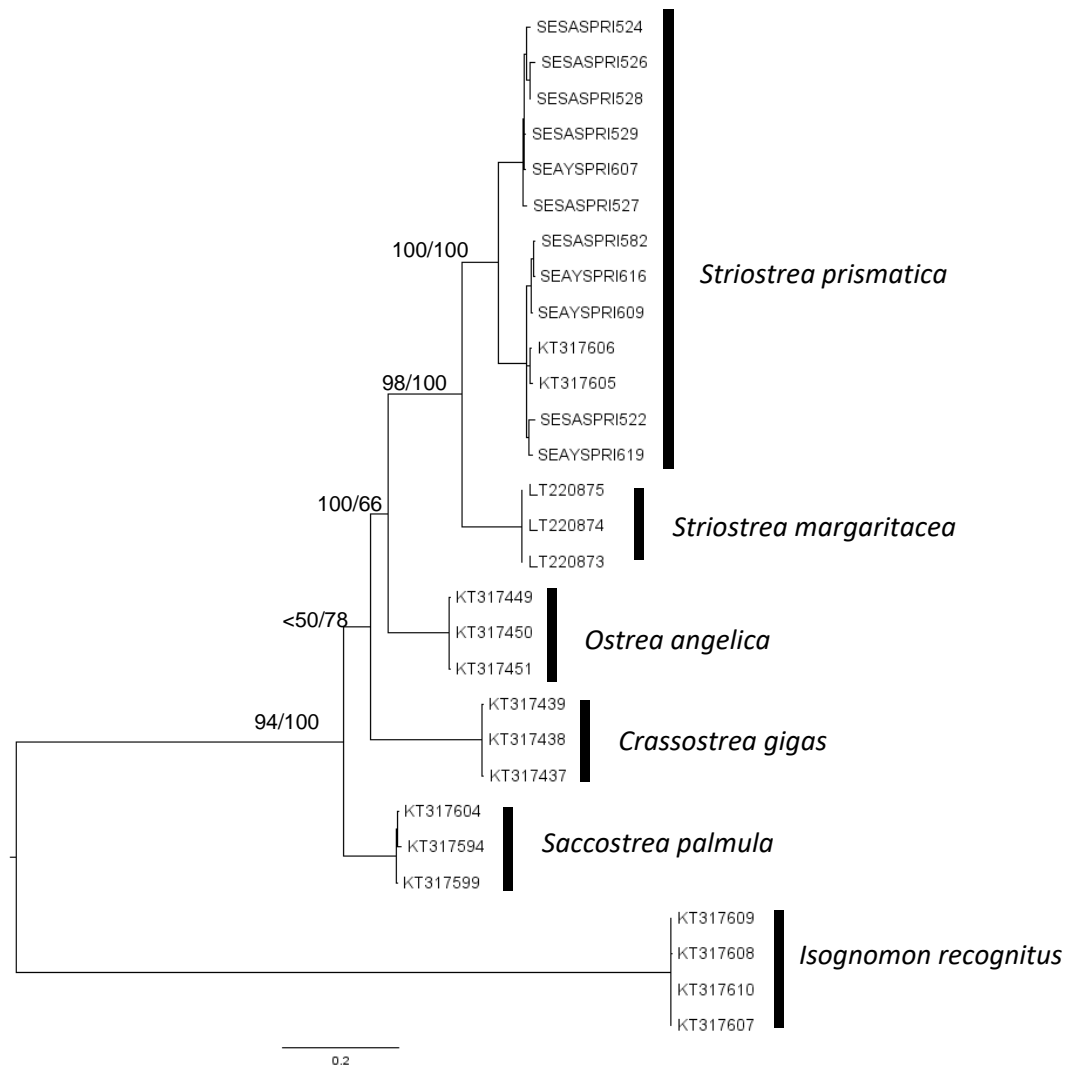


**Figura 6.** Filograma de las especies representativas de la familia *Ostreidae* utilizando el gen 16S rRNA, a través de Máxima Probabilidad en el programa PAUP e inferencia bayesiana en MrBayes, El análisis involucra 33 secuencias. Las ramas están representadas a escala con su longitud correspondiente al número de sustituciones por sitio. Los números sobre los nodos ancestrales, representan el porcentaje obtenido en ML y la probabilidad posterior. La especie *I. recognitus* se adjunta como grupo externo.

## Secuencias concatenadas (COX1+16S rRNA)

Los parámetros seleccionados para el análisis filogenético son iguales a los obtenidos para el gen COX1 por lo que se procede bajo el mismo modelo evolutivo. En este caso se presenta el resultado del análisis filogenético de la concatenación de los dos marcadores mitocondriales (16S rRNA y

COX1), manteniendo la tendencia monofilética del grupo, la topología del árbol indica la aproximación con los géneros *Ostrea*, *Crassostrea* y *Saccostrea* respectivamente (figura 7). Además, en el conjunto de las topologías obtenidas se observa como consenso la agrupación monofilética de las dos especies consideradas del género *Striostrea*.



**Figura 7.** Árbol Filogenético de las especies representativas de la familia *Ostreidae* combinando los marcadores moleculares COX1+16S obtenido a través de Máxima Probabilidad e inferencia bayesiana calculados en los programas PAUP v4.0. y MrBayes v3.2. El análisis involucra 29 secuencias. Las ramas están representadas a escala con su longitud correspondiente al número de sustituciones por sitio. Los valores en paréntesis arriba de los nodos ancestrales representan los porcentajes encontrados en las permutaciones (n=100) y la probabilidad posterior. La especie *I. recognitus* se adjunta como grupo externo.

## Discusión

Se describe la relación entre los haplotipos reportados en el presente trabajo con aquellos procedentes de California y Panamá por Raith (2015) y Pagenkopp (2015) respectivamente, identificando 2 haplogrupos similares. Las poblaciones divergen entre ellas según el análisis de varianzas ( $P < 0.05$ ), a pesar de que la prueba de  $F_{st}$  de Nei ( $F_{st} = 0.1152$ ) sugiere una baja heterocigosidad entre las dos zonas de muestreo. La mayor variación entre individuos se observa dentro de las poblaciones con un 81% de diferencia frente al 18.9% de variabilidad entre las poblaciones. El análisis de varianzas y la estadística  $F_{st}$  desestima una correlación entre las poblaciones al poseer una heterocigosidad suficientemente alta, sin embargo, el haplogrupo 1 está



conformado en su totalidad por un solo haplotipo, 24 de los 25 individuos que lo conforman, pertenecen a la población de Salinas.

La filogenética inferida para el gen del COX1 es similar a la reportada por Salvi y Mariottini en 2016 donde se estudiaron las relaciones de la familia *Ostreidae* con marcadores mitocondriales (COX1) y nucleares (28S) más no incluyeron al gen 16S como parte de los análisis para *S. prismatica*, donde ubican a la especie próxima al género *Crassostrea*. En otros estudios como en el descrito por Pagenkopp (2015) coloca a la especie como clado monofilético pero en politomía con los géneros *Saccostrea* y *Crassostrea* y separada de especies del género *Ostrea*, mientras que Raith (2015) ubica a la especie como un clado parafilético único

El análisis individual del gen mitocondrial 16S rRNA propuesto en este estudio sólo puede ser comparado con el de Raith (2015), pues es la única investigación en la que se incluye este marcador, aunque sólo presenta 2 individuos capturados en las costas de California la topología incluye al género *Saccostrea* como especie monofilética cercana, siendo este, un resultado divergente al de Raith pero curiosamente parecido al de Pagenkopp (2015) en su trabajo, por lo que la relación filogenética con este marcador no queda resuelto en su totalidad.

Durante el análisis de la concatenación de los genes mitocondriales las topologías son divergentes a las anteriores encontradas individualmente, sin embargo, la topología mantiene al género como grupo parafilético a las demás. El resultado más cercano al del presente estudio es de Salvi (2016), siendo clave la divergencia con el género *Saccostrea*, como el grupo más lejano seguido de *Crassostrea* y *Ostrea* respectivamente.

## Conclusiones

Los dos haplogrupos encontrados en este estudio son el primer reporte para América del Sur de fragmentos de las secuencias mitocondriales 16S rRNA y COX1. La red haplotípica agrupa a los individuos en 2 haplogrupos diferenciados por el número de mutaciones entre sus secuencias, siendo característico el haplogrupo 1 conformado casi en su totalidad por individuos de Salinas poseyendo un solo haplotipo, presentando una diferencia cercana al 10% respecto a los organismos del haplogrupo 2. El aislamiento de uno de los haplogrupos no es aún comprendido; puede atribuirse al tamaño de muestra utilizado en este estudio, a las condiciones de las corrientes oceánicas o a el estado poblacional de *S. prismatica* en la costa del Pacífico americano, lo que induce la dominancia de ciertos haplogrupos en su distribución. A nivel local, la distribución sin estructura de las dos poblaciones supone que el accidente geográfico de la península de Santa Elena, así como su extensión, no son factores que influyen en el asentamiento de bancos de la ostra nativa. Se crea, por ende, una línea base para su el desarrollo de planes de conservación y actividades de pesca que pueden ser manejadas de manera sustentable.

Trabajos anteriores han añadido un bajo número de secuencias en los análisis de la familia, por ende, este trabajo es significativo para la explicación entre sus relaciones filogenéticas al incluir 11 secuencias concatenadas de los dos marcadores moleculares. Sin embargo, aún existe discrepancia entre la agrupación de los integrantes de la familia *Ostreidae*, la topología de los árboles entre los géneros *Crassostrea* y *Saccostrea* varía entre los marcadores moleculares (COX1 y 16s rRNA), principalmente en su relación con el género *Ostrea*, a pesar de esto, *Striostrea* siempre permanece como grupo monofilético independiente de los demás, reforzando la creación de la subfamilia *Striostreinae*, propuesta por primera vez en 1985 por Harry.

## Referencias bibliográficas

- Altekar, G., Dwarkadas, S., Huelsenbeck, F. y PandRonquist, J., 2004. Parallel metropolis coupled Markov chain Monte Carlo for Bayesian phylogenetic inference. *Bioinformatics.*, Issue 20, pp. 407-415.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. y Lipman, D.J. 1990 "Basic local alignment search tool." *Journal of Molecular Biology.* 215:403-410.
- Alvarez, R., Cobo, L., Sonnenholzner, S. y Stern, S., 2008. Estado actual de la acuicultura de moluscos bivalvos en Ecuador. En A. Lovatelli, A. Farías e I. Uriarte (eds). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. *Actas de Pesca y Acuicultura FAO*, 12(1), pp. 129-133.
- Arteaga A., Pyron R.A., Peñafiel N., Romero-Barreto P., Culebras J., y otros. 2016 Comparative Phylogeography Reveals Cryptic Diversity and Repeated Patterns of Cladogenesis for Amphibians and Reptiles in Northwestern Ecuador. *PLOS ONE* 11(4): e0151746. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151746>
- Bandelt H., Forster P., Röhl A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol* 16(1):37-48.
- Benson D.A., Cavanaugh M., Clark K., Karsch-Mizrachi I., Lipman D.J., Ostell J., Sayers E.W..GenBank. 2012. [En línea] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> [Ingresado el 10 Abril 2014].
- Costa de melo, A. G. y otros., 2010. Molecular identification, Phylogeny and geographyc distribution of brazilian mangrove oyster (*Crassostrea*). *Genetics and molecular Biology*, 33(3), pp. 564-572.
- Darriba, D., Taboada, G., Doallo, R. y Posada, D., 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9(8), p. 772.
- de Meeûs, T. y Goudet J. 2007. A step-by-step tutorial how to use HierFstat to analyse populations hierarchically structured at multiple levels. *Infection, Genetics and Evolution* 7, pp 731-735.
- Excoffier, L., Smouse, P. E., & Quattro, J. M. 1992. Analysis of Molecular Variance Inferred from Metric Distances among DNA Haplotypes: Application to Human Mitochondrial DNA Restriction Data. *Genetics*, 131(2), 479-491.
- Fischer, W. y otros., 1995. Guía para la Identificación de especies comerciales para los fines de la pesca. Pacífico Oriental. Vol 1. Plantas e Invertebrados. Roma: s.n.
- Gómez-Alpizar, L. y otros., 2008. Phylogenetic relationships of *Phytophthora andina*, a new species from the highlands of Ecuador that is closely related to the Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans*.. *Mycología*, 100(2), pp. 590-602.
- Grasielle, A., y otros 2010. Molecular identification, phylogeny and geographic distribution of Brazilian mangrove oysters (*Crassostrea*). *Genetics and Molecular Biology*. 33, 3, pps. 564-572.
- Harry H.W. 1985. Synopsis of the supraspecific classification of living oysters (Bivalvia: *Gryphaeidae* and *Ostreidae*). *Veliger* 28: 121-158.
- Jason, H., 2002. Phylogeny of the riordinid butterfly subtribe *Theopeia* (Lepidoptera: *Riordinidae*: *Nymphidiini*). *Systematic Entomology*, 27(1), pp. 139-167.

- Krause, R. y Reinert, K., 2011. Phylogeny, the tree of the life. *Algorithmische Bioinformatik*, 17(1), pp. 12-23.
- Kimura, M. (1981). Estimation of evolutionary distances between homologous nucleotide sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.*, 78, 454–458.
- Lam, K. y Morton, B., 2003. Morphological and mitochondrial DNA Characteristics of two cultured species of Cupped-Oyster (bivalvia: *Ostreidae*) in Hong Kong: Towards a significant taxonomic name change. *Perspectives on Marine Environment Change in Hong Kong*, 40(1), pp. 1977-2001.
- Lam K. y Morton B. 2006 Morphological and mitochondrial-DNA analysis of the Indo-west Pacific rock oysters (*Ostreidae: Saccostrea* species). *J Molluscan Stud* 72:235–245
- Leigh, J.W., Bryant D. (2015). PopART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol Evol* 6(9):1110–1116.
- Lombeida T.P., 1999. Técnicas para el policultivo de Ostras *Crassostrea gigas* y Camarón *Penaeus vannamei* en Ecuador, Guayaquil-Ecuador: CENAIM.
- Loor, A. y Sonnenholzner, S. 2016, Reproductive cycle of the rock oyster, *Striostrea prismatica* (Gray, 1825) from two locations on the southern coast of Ecuador. *Aquaculture Research*, 47: 1432–1442. doi: 10.1111/are.12601
- Morales-Astudillo, A. R., Medina-Medina, D. L. y Yaguache-Camacho, B. D., 2004. Genetic diversity, phylogeny and geographic distribution of the genus *Vasconcellea* in Southern Ecuador. *Journal of Ecology and application*, 1(1), pp. 1-14.
- Nei M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc Natl Acad Sci U S A.*; 70(12): 3321–3323. doi: 10.1073/pnas.70.12.3321
- Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M., the UGENE team. 2012. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics* 28: 1166-1167. doi:10.1093/bioinformatics/bts091
- Pagenkopp Lohan, K.M., Hill, K.M., Torchin, M.E., Strong, E.E., Fleischer, R.C. and Ruiz, G.M., 2015. Molecular phylogenetics reveals first record and invasion of *Saccostrea* species in the Caribbean. *Marine Biology* in press.
- Paradis E., Claude J. & Strimmer K. 2004. APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics* 20: 289-290
- Paradis E. 2010. pegas: an R package for population genetics with an integrated-modular approach. *Bioinformatics* 26: 419-420.
- Perez-Enríquez, R. Ibarra, A.M. y Avila, S. 2008. Sumisión directa. Laboratory of Aquaculture Genetics, CIBNOR, Mar Bermejo 195, La Paz, BCS 23090, México.
- Posada, D. 2003. Using Modeltest and PAUP\* to select a model of nucleotide substitution. In *Current Protocols in Bioinformatics*, ed. A. D. Baxevanis, D. B. Davison, R. D. M. Page y otros., pp. 6.5.1–6.5.14. Chichester, UK: JohnWiley & Sons, Inc.
- R Core Team 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Raith, M., Zacherl, D.C., Pilgrim, E.M. and Eernisse, D.J., 2015. Phylogeny and species diversity of Gulf of California oysters (*Ostreidae*) inferred from mitochondrial DNA. *American Malacological Bulletin* 33 (2).

- Reece, K. S. y otros., 2007. Molecular phylogenies help resolve taxonomic confusion with Asian *Crassostrea* Oyster Species. *Marine Biology*, 10(1).
- Reed, B. y otros., 1994. A new species of Shrew-opossum (*Paucituberculata: Caenolestidae*) with a phylogeny of extant Caenolestids. *American Society of Mammalogists*, 94(5), pp. 967-982.
- Richardson, H., 2012. Cocina Porteña. *Ecuador gastronómico*, 220(1), pp. 62-68.
- Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Huelsenbeck, J. P. (2012). MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. *Systematic Biology*, 61(3), 539–542. <http://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
- Rambaut, A. FigTree v1.4.0. 2012. Tree Figure Drawing Tool. Institute of Evolutionary Biology. Universidad de Edinburgo. Herramienta en línea. Disponible en: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>.
- Salvi, D. and Mariottini, P., 2016. Molecular taxonomy in 2D: a novel ITS2 rRNA sequence structure approach guides the description of the oysters subfamily *Saccostreinae* and the genus *Magallana* (*Bivalvia: Ostreidae*). Unpublished. Universidad de Roma.
- Sekino M., Yamashita H. 2013 Mitochondrial DNA barcoding for Okinawan oysters: a cryptic population of the Portuguese oyster *Crassostrea angulata* in Japanese waters. *Fish Sci* 79:61–76.
- Seifried, S., 2004. The Importance of a Phylogenetic System for the Study of Deep-Sea Harpacticoid Diversity. *Zoological Studies*, 43(2), pp. 435-445.
- Sievers, F. y otros., 2011. Clustal. [en línea] Disponible en: <http://www.clustal.org/omeg> [Consultado el 20 de marzo 2015].
- Stettiner, O. y Gabor, R., 2001. Phylogenetics and Phylogenetic Trees. In: R. Shamir, ed. *Algorithms for Molecular Biology*. Tzvikia: Hartman, pp. 1-36.
- Swofford, D. L. 2002. PAUP\*. *Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other Methods)*. Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Ye, Y. Y., Wu, C. W., y Li, J. J. (2015). Genetic Population Structure of *Macridiscus multifarius* (Mollusca: Bivalvia) on the Basis of Mitochondrial Markers: Strong Population Structure in a Species with a Short Planktonic Larval Stage. *PLoS ONE*, 10(12), e0146260. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0146260>

## Anexos

### Secuencias de haplogrupos

#### Secuencia consenso de haplogrupo 1 del fragmento mitocondrial COX1 (formato fasta)

>Haplogrupo 1

```
CTAGcCATGCAtTAGTtATAAtTTTCTTcTTTGTAATGCCaGTAATAATcGGGGGGTTcGGT
AAAtTGaCTcGCACCcCTgATgATTCAgGTTTCcGAtATACAaTTTCCaCGTGTAATGCATTt
AGATTTTgAGTiCTTCCAATTTcTGTACTTTCTAGCTGTTTCgGGATTTGTGGAGAGAG
GGGtGGTACaGGTTGAACTATCTACCCaCCTTTATCAACATTTTCcTATCAtGGaATGTG
TGTaGATTTGGCAATTTAAGAtTgCACTTAGCTGGTCTTAGtTCAATTTTCAGGTCtATT
AACTTtTgGTGACaCTgAGAAATATGCGAACGtTgGAtGGGCATTTgTTGGTcTTATTtCCg
TGATCTATTAATAAATcACTTCATTTTTGCTAATGACAACACTTCCTGTcTgGCtGGTGGTc
TAACAATaCtTTTaACAGAtCGTCATTTcAACACtTCATTcTTTGATCCgGTgGtGGTGGtGA
cCcAGtAcT
```

#### Secuencia consenso de haplogrupo 2 del fragmento mitocondrial COX1 (formato fasta)

>Haplogrupo 2

```
CTAGaCATGCACtTAGTgATAATTTTCTTtTTTGTAATGCCgGTAATAATtGGGGGGTTtGGT
AAcTGgCTaGCACCcCTaATaATTCAaGTtTcGAcATACAgTTtCCgCGTGTAATGCATTcA
GATTTTgGTgCTTCCAATTTcTGTACTTTCTAGCTGTTTCtGGATTTGTGGAGAGAGG
GGTcGGTACgGGTTGAACTATCTACCCtCCTTTATCAACATTTTCtTATCAcGGgATGTGT
GTgGATTTGGCAATTTAAGAcTaCACTTAGCTGGTCTTAGcTCAATTTTCAGgTCTATTA
ACTTtTaGTGACtCTtAGAAAtATGCGAACGcTaGAcGGGCATTTaTTGGTtTTATTcCCcTG
ATCTATTAATAAATtACTTCATTTTTGCTAATGACAACACTTCCTGTcTgGcgGGTGGTtTAA
CAATgCTTTTgACAGAcCGTCATTTtAACACcTCATTtTTTGATCCaGTcGGcGGTGGtGAyC
CAGTAcT
```

#### Secuencia consenso del fragmento mitocondrial 16S rRNA (formato fasta)

>Consenso 16S rRNA

```
tTCCTtGccTTTtAaTTGTAGGCCTGCATGAATGGTtTgACGAGGGCTTAACTGTTTCTtACC
TTTAcAATGAAATTGAAATAaAGGTGAAGATGCCTTTATagAgAAATTAGACAAAAAGA
CCCCGTGCAACTTTTTTAAAATCGGTGAATTTAGAAGCTTtGAGATTTTtAGGTGGGGCG
CCTATAGAGtAAATCTAACCTCAAAAGTAAcTTAACTTACTAGTtTAGACCCGGCATA
TtGTTCGATCTAAGGAGAAGTTACGCCGGGATAACAGGCTTATCCAgCAGTAGAGCTC
GTATTGGCTGTtGGGATTGGCaCCTCGATGTTGAATCAGGGATGATACCTTcAaGGCGT
AGAAGCTtTGAAAGTGGGTCTGTTCGACCTTTAATACCCTACgAA
```

**Tabla 4.** Individuos recolectados de la población de Salinas, especie, codificación para la base de datos BANGEMAR, cantidad de tejido del que se extrajo el ADN mitocondrial, concentración y pureza de ADN obtenidos en el NANODROP.

#	Especie	Código	Cantidad (ul)	Concentración (ng/ul)	Pureza (260/280nm)
1	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI522	35	252.6	2.02
2	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI523	40	176.2	1.96
3	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI524	40	423.2	1.86
4	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI525	35	483.2	1.89
5	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI526	40	428.4	1.96
6	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI527	40	373.1	1.89
7	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI528	40	487.2	1.84
8	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI529	40	395.9	1.96
9	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI530	40	106.6	1.89
10	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI531	40	581.9	1.89
11	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI532	40	393.4	1.86
12	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI533	40	404.8	1.87
13	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI534	40	487.1	1.86
14	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI535	40	265.9	1.92
15	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI536	40	688.9	1.69
16	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI537	40	202.9	1.92
17	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI538	40	195.9	1.97
18	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI539	40	150	1.96
19	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI540	40	286.7	1.98
20	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI541	40	410.3	2.06
21	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI542	40	167.7	1.97
22	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI543	40	365.1	2.04
23	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI544	40	273.7	1.89
24	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI545	40	294.4	1.88
25	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI546	40	420.2	1.95
26	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI547	40	74	1.89
27	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI548	40	219.3	1.97
28	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI549	40	184.2	1.97
29	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI550	40	291	1.88
30	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI551	30	142.1	1.96
31	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI552	40	376	2.02
32	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI553	40	741.1	1.93
33	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI554	40	501.5	2.05
34	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI555	40	299.1	1.98
35	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI556	40	1085.8	1.97
36	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI557	40	171.4	1.96
37	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI558	40	503.7	2.01
38	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI559	40	560.2	1.85

39	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI560	40	287.7	1.95
40	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI561	40	304.2	2.02
41	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI562	40	250.5	1.94
42	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI563	40	260.8	1.91
43	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI564	40	241.5	1.92
44	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI565	40	244.7	1.97
45	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI566	40	223.1	1.91
46	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI567	40	63.6	1.87
47	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI568	40	471.3	1.86
48	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI569	40	46.6	1.89
49	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI570	40	125.3	1.98
50	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI571	30	260.3	2.04
51	<i>Striostrea prismatica</i>	SESASPRI572	40	279	2.05

**Tabla 5.** Individuos de la población de Ayangué, especie, codificación para la base de datos BANGEMAR, cantidad de tejido del que se extrajo el ADN mitocondrial, concentración y pureza de ADN obtenidos en el NANODROP.

#	Especie	Código	Cantidad (ul)	Concentración (ng/ul)	Pureza (260/280nm)
1	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI582	40	254.5	2.02
2	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI583	40	146.9	1.99
3	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI584	40	203.7	2.05
4	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI585	40	272.2	2
5	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI586	40	319.2	2.01
6	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI587	40	239.4	2
7	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI588	40	274.3	2.03
8	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI589	40	329.9	1.93
9	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI590	40	330.5	2.03
10	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI591	40	399.6	1.99
11	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI592	40	192.3	2.04
12	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI593	40	197.7	1.93
13	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI594	40	277.8	2.01
14	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI595	40	469.2	2.01
15	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI596	40	305.9	2
16	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI597	40	248.7	2.06
17	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI598	40	228.7	1.83
18	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI599	40	205.4	1.89
19	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI600	40	266.9	1.96
20	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI601	40	281.3	1.98
21	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI602	40	502.1	1.91
22	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI603	40	698.3	1.91
23	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI604	40	313.4	2

24	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI605	40	593.9	1.96
25	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI606	40	215	1.93
26	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI607	40	55.5	1.86
27	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI608	40	361.2	1.97
28	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI609	40	171.8	1.97
29	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI610	40	426.9	1.9
30	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI611	40	300.4	2
31	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI612	40	178.8	1.98
32	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI613	40	256.9	1.94
33	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI614	40	308.7	1.98
34	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI615	40	124.4	1.88
35	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI616	40	241.2	2
36	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI617	40	192.6	2.02
37	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI618	40	412.6	1.99
38	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI619	40	136.1	1.95
39	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI620	40	1024.6	1.98
40	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI621	40	350	2.03
41	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI622	40	463.3	2.04
42	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI623	40	284.4	2.02
43	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI624	40	252	2
44	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI625	40	191.8	1.95
45	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI626	40	382.2	1.96
46	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI627	40	203.2	1.96
47	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI628	40	285.4	1.95
48	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI629	40	121.2	1.95
49	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI630	40	175	1.94
50	<i>Striostrea prismatica</i>	SEAYSPRI631	40	139.4	1.91



### Claves dicotómicas para la identificación de *S. prismática* (FAO 1995)

- 1 a.** Contorno de la concha falcado, borde anterior convexo, borde posterior cóncavo; 2 a 4 ondulaciones muy grandes y altas que afectan fuertemente la comisura del lado anterior, pero que no son muy extendidas hacia adentro (Fig. 1) . . . . . *Undulostrea megodon*
- 1 b.** Concha de forma diferente . . . . . 2
- 2a.** Valva derecha con lamelas planas y concéntricas, densamente cubiertas por hilos radiales finos (que se observan mejor en conchas jóvenes o no erosionadas) (Fig. 2). . . . . *Striostrea prismatica*
- 2b.** Valva derecha sin lamelas cubiertas por hilos radiales finos . . . . . 3
- 3a.** Cómatas presentes a lo largo de todo el borde interno de la concha. Superficie interna con una serie semilunar de impresiones paleales entre la cicatriz del aductor posterior y el borde ántero-dorsal (Fig.3) . . . . . *Saccostrea palmula*
- 3b.** Cómatas ausentes o restringidas a la mitad dorsal de los bordes de la concha. Superficie interna sin una serie semilunar de impresiones paleales. . . . . 4
- 4a.** Bordes internos totalmente desprovistos de cómatas (Figs 4 y 5). . . . . 5
- 4b.** Bordes internos con cómatas a cada lado del área ligamental (Figs 6 y 7) . . . . . 6
- 5a.** Concha relativamente pequeña (hasta 9 cm). Coloración externa púrpura oscura a negruzca. Superficie interna con una franja marginal púrpura oscura (Fig. 4) . . . . . *Crassostrea columbiensis*
- 5b.** Concha muy grande (hasta 25 cm). Coloración externa bastante pálida. Sin franja purpúrea en los bordes internos (Fig. 5) . . . . . *Crassostrea corteziensis*
- 6a.** Concha gruesa, con numerosos pliegues radiales fuertes y angulados en ambas valvas, que se extienden hasta los bordes (Fig. 6). . . . . *Myrakeena angelica*
- 6b.** Concha delgada, sin pliegues radiales fuertes y angulados (Fig. 7) . . . . . *Ostrea conchaphila*

Lista de especies de interés para la pesca presentes en el área. Las especies descritas o ilustradas van seguidas de sus respectivos códigos.

<i>Crassostrea columbiensis</i> (Hanley, 1846)	OSTR Crass 5
<i>Myrakeena angelica</i> (Rochebrune, 1895)	OSTR Ostr4
<i>Saccostrea palmula</i> (Carpenter, 1857)	OSTR Strio 1
<i>Undulostrea megodon</i> (Hanley, 1846)	OSTR Ciass 4
<i>Crassostrea corteziensis</i> (Hertlein, 1951)	OSTR Myrak 1
<i>Ostrea conchaphila</i> Carpenter, 1857	OSTR Sacco 1
<i>Striostrea prismatica</i> (Gray, 1825)	OSTR Undul1

Representación gráfica para la identificación de *S. prismática* (FAO 1995)

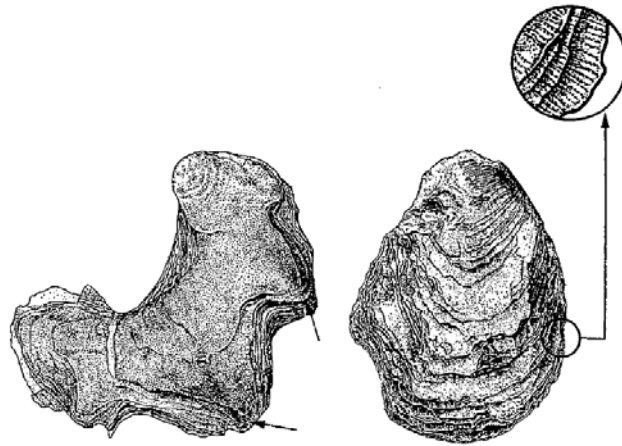


Fig. 1 *Undulostrea megodon*  
(exterior)

Fig. 2 *Striostrea prismatica*  
(exterior)

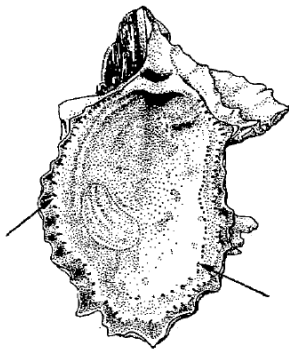


Fig. 3 *Saccostrea palmula*  
(interior)

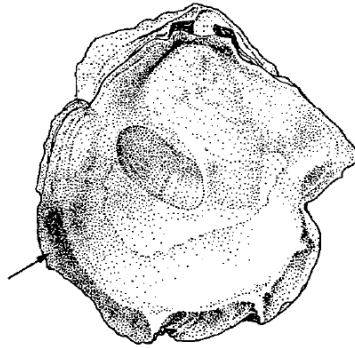


Fig. 4 *Crassostrea collumbiensis*  
(interior)

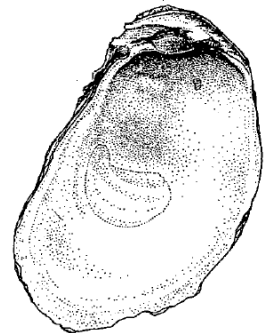


Fig. 5 *Crassostrea corteziensis*  
(interior)

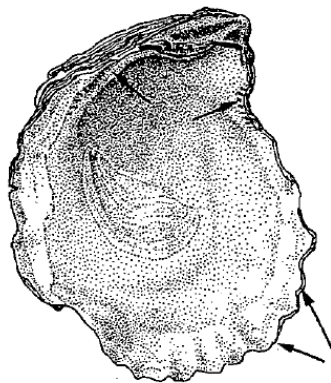


Fig. 6 *Myrakeena angelica*  
(interior)

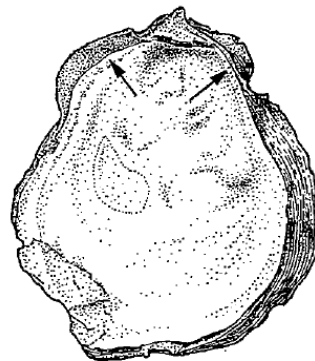


Fig. 7 *Ostrea conchaphila*  
(interior)