



Universidad de la República
Facultad de Ciencias
Maestría en Ciencias Biológicas PEDECIBA
Subárea Zoología

Diversidad de Corbiculidae (Mollusca: Bivalvia) en Uruguay

Lic. Cristhian Clavijo

Orientador: Dr. Cristián Ituarte
Co-orientador: Dra. Graciela García

Tribunal: Dr. Sergio Martínez
Dra. Susana González
Dr. Miguel Simó

“..basándonos en los estudios de J. J. Parodiz, admitiremos como especies válidas las ya mencionadas (*limosa* y *paranensis*), aunque creemos que se pudieran agregar 3 o 4 buenas especies más, con un criterio no tan unionista, ni tampoco tan divisionista como el de Marshall. Estudios posteriores tenderán a definir esta cuestión.”

Alfredo Figueiras (1965)

Agradecimientos

Asumir esta tesis no hubiera sido posible sin el apoyo de personas e instituciones que aportaron su tiempo, fuerza, paciencia, dinero, ideas, etc. por eso agradezco:

El apoyo que recibí de Nadia permitió que me pudiera encerrar a escribir esta tesis, ordenara ideas, explorara otras. En varias instancias compartí con ella el trabajo (generalmente el más aburrido).

A Cristián Ituarte por asumir el desafío de orientarme, y tutorearme (evitar que me torciera) y también permitirme tomar caminos que el no hubiera tomado, por compartir mates y discusiones intensas sobre la validez de los resultados presentados en esta tesis. A Graciela García por abrirme su laboratorio y orientarme, por hacerme preguntas y darme los elementos para que yo me las hiciera.

Al tribunal por haber priorizado la corrección de esta tesis a sus actividades, por sus aportes y consejos

A los integrantes del Laboratorio genética evolutiva en peces y otros modelos animales: Néstor Ríos, Verónica Gutiérrez y Cecilia Delgado quienes tuvieron la ardua tarea de enseñarme a realizar las extracciones, los experimentos de PCR y en parte el análisis de los resultados.

A Fabrizio Scarabino quien proveyó literatura y consejos y con quien compartimos varias de las preguntas que dieron lugar a esta tesis y las que surgieron de la misma.

A José Olazarri por haber realizado la ardua tarea de recolectar *Cyanocyclas* en cuanto arroyo se le cruzó sin la cual no tendríamos noción de la diversidad y distribución de este y otros géneros de moluscos dulceacuícolas del Uruguay. En 2009 José Olazarri donó su colección al Museo Nacional de Historia Natural de Montevideo legando así patrimonio natural a todos los uruguayos.

A todas las instituciones y curadores de las colecciones malacológicas estudiadas: Fabrizio Scarabino (MNHN) Mónica Tassara (MLP), Alejandro Tablado (MACN), Vanessa Faccioli (MSF), Alexandre Pimenta (MNRJ), Ingrid Heydrich y Silvia Drugg (FZB). A Jonathan Ablett (BNHM) por las fotos del material tipo de *Cyanocyclas obsoleta*.

El trabajo de campo fue parcialmente financiado por los proyectos: Gestión Pesquera en Uruguay (DINARA/FAO), Aguape: Conservación de fauna en el encuentro de los ríos Paraná,

Uruguay y de la Plata (Centro de Apoyo Socio Ambiental and Green Grants), Conservando los montes al norte de Salto Grande (Embajada Suiza en Uruguay y Sistema Nacional de Áreas Protegidas), Collaborative research: US-Uruguay-Brazil IRES AMPLIFIED: Ampullariidae Model using Phylogeography, Laboratory Integration with Field Investigations into Ecology and Diversity (National Science Foundation).

A Nadia Bou, Gastón Martínez, Maria Cristina Mansur, Igor Miyahira, Viveka Sabaj, Fabrizio Scarabino, Wilson Serra y Sabina Wlodek quienes ayudaron en el trabajo de campo. Wilson Serra y Nestor Ríos dedicaron parte de su tiempo en las excursiones en busca de peces para juntar almejas.

A Maria Cristina Mansur y Rosane Lanzer por los datos aportados y a Daniel Graf quien cuestionó la información que presentaba esta tesis para hacerla mejor.

Las Sociedad malacológica de Londres y la Sociedad Brasileira de Malacología apoyaron mis viajes a congresos en los cuales presenté resultados parciales de esta tesis y fueron instancias especialmente enriquecedoras para el intercambio. Quiero agradecer especialmente a la Dra. Sonia Barbosa de los Santos por el esfuerzo que hace para unir a los malacólogos latinoamericanos.

Alvaro Soutullo me ha mostrado razones y dejado participar en instancias donde los datos de esta maestría son o pueden ser útiles.

No dejo de agradecer a mi familia y a todas las familias que como la mía estimulan y apoyan a sus hijos, hermanos y nietos a seguir sus sueños, cada vez será necesario más biólogos para asegurar un uso racional de los recursos naturales que permita una buena calidad de vida y en último termino la sobrevivencia de la humanidad.

Esta maestría contó con la financiación de PEDECIBA a través de las alcúotas de estudiante y las becas concursables para cursos y pasantías en el exterior y de la ANII a través de las beca de posgrado nacional.

El éxito de esta tesis se podrá medir por las preguntas que se le generen al lector más que en las respuestas que obtendrá, agradezco desde ya todas las preguntas que vendrán por una lectura con genuino interés.

Resumen.....	1
Capítulo I Introducción general	
1.1 El género <i>Cyanocyclus</i> en Uruguay.....	3
1.2 El género <i>Corbicula</i> en Uruguay.....	4
1.3 Estado de conservación de <i>Cyanocyclus</i> e interacción con especies de <i>Corbicula</i>	4
1.4 Diversidad de especies nativas de Corbiculidae en Uruguay.....	5
1.5 Construcción de hipótesis de trabajo.....	5
1.6 Hipótesis y objetivos.....	6
1.7 Estructura de la tesis.....	7
Capítulo II Morfología de Corbiculidae de Uruguay	
2.1 Introducción.....	8
2.1.1 Aspectos nomenclaturales de los taxones estudiados.....	8
2.1.2 El género <i>Cyanocyclus</i> en Uruguay.....	10
2.1.3 El género <i>Corbicula</i> en Uruguay.....	11
2.2 Metodología.....	12
2.3 Resultados.....	14
2.3.1 <i>Cyanocyclus</i> de Férussac 1818.....	14
2.3.2 <i>Cyanocyclus limosa</i> (Maton, 1811).....	14
2.3.3 <i>Cyanocyclus exquisita</i> (Marshall, 1924)	17
2.3.4 <i>Cyanocyclus felipponei</i> (Marshall, 1924)	20
2.3.5 <i>Cyanocyclus fortis</i> (Marshall, 1924)	22
2.3.6 <i>Cyanocyclus guahybensis</i> (Marshall, 1927)	26
2.3.7 <i>Cyanocyclus paranensis</i> (d' Orbigny, 1835)	29
2.3.8 <i>Cyanocyclus simplex</i> (Marshall, 1927)	32
2.3.9 <i>Cyanocyclus undulata</i> (Marshall, 1927)	34
2.3.10 <i>Corbicula</i> Megerle von Muhlfield, 1811.....	37
2.3.11 <i>Corbicula fluminalis</i> (Müller, 1774).....	38
2.3.12 <i>Corbicula fluminea</i> (Müller, 1774).....	39
2.3.13 <i>Corbicula largillierti</i> (Philippi, 1844).....	42
2.3.14 <i>Corbicula</i> sp.	44
2.4 Comentarios sobre especies nominales de Corbiculidae citadas para Uruguay no estudiadas en la tesis.....	46

Capitulo III Morfometría de Corbiculidae de Uruguay

3.1 Introducción.....	52
3.2 Metodología.....	53
3.2.1 Toma de datos.....	55
3.2.2 Análisis de datos.....	56
3.3 Resultados.....	57
3.3.1 Morfometría lineal.....	57
3.3.1.1 Relación Largo/Alto.....	58
3.3.1.2 Relación Ancho/Alto.....	61
3.3.1.3 Relación Ancho/Largo.....	65
3.3.2 Morfometría geométrica.....	68
3.4 Discusión.....	71

Capitulo IV Sistemática molecular y filogeografía de Corbiculidae de Uruguay

4.1 Introducción.....	73
4.1.1 Sistemática molecular de Corbiculidae.....	73
4.1.2 El ADN mitocondrial como herramienta en los estudios filogenéticos y poblacionales.....	74
4.2 Metodología.....	75
4.2.1 Muestras y colectas.....	75
4.2.2 Extracción del ADN.....	76
4.2.3 Amplificación del ADN genómico.....	76
4.2.4 Alineamiento y edición de secuencias.....	77
4.2.5 Análisis estadísticos de las secuencias.....	77
4.2.6 Análisis filogenético.....	78
4.2.7 Análisis poblacionales.....	79
4.3 Resultados.....	79
4.3.1 Análisis de secuencias y polimorfismo de ADN.....	79
4.3.2 Distancias genéticas.....	81
4.3.3 Test de neutralidad.....	83
4.3.4 Análisis filogenéticos en Corbiculidae.....	83
4.3.5 Análisis poblacional.....	93
4.4 Discusión.....	98

Capitulo V Distribución histórica y actual de <i>Cyanocyclas</i> en Uruguay	
5.1 Introducción.....	100
5.2 Metodología.....	101
5.3 Resultados.....	101
5.4 Discusión.....	103
Capitulo VI Conclusiones y perspectivas	
6.1 Familia Corbiculidae.....	106
6.2 Género <i>Cyanocyclas</i>	106
6.3 Género <i>Corbicula</i>	107
6.4 Estatus actual de conservación en <i>Cyanocyclas</i> de Uruguay.....	108
6.5 Perspectivas.....	109
Bibliografía.....	110

Resumen

Los bivalvos dulceacuícolas de la familia Corbiculidae están representados en Uruguay por un género nativo (*Cyanocyclus*) y otro exótico (*Corbicula*). De las cerca de 20 especies de *Cyanocyclus* descritas para el Río de la Plata y el sistema Patos-Merim, sólo dos son actualmente consideradas válidas (*Cyanocyclus limosa* y *Cyanocyclus paranensis*). Sin embargo varios morfotipos pueden ser reconocidos dentro de la variación incluida en estas dos especies. En 1979 fueron registrados para Uruguay dos especies del género *Corbicula*, *C. fluminea* y *C. largillierti*, existiendo registros de otras dos especies (*C. fluminalis* y *Corbicula* sp.) para Rio Grande do Sul (Brasil). Desde la llegada de estas especies se ha registrado la declinación de varias poblaciones de bivalvos nativos en especial del género *Cyanocyclus*. Con el fin de aclarar el estatus taxonómico de los morfotipos de *Cyanocyclus* y *Corbicula* presentes en Uruguay se revisaron las colecciones de los museos nacionales y regionales, y se realizaron muestreos en varias localidades de Uruguay, Argentina y Brasil. Este material fue estudiado con distintas aproximaciones: morfología, morfometría lineal, morfometría geométrica, anatomía y filogenia molecular basada en secuencias de la subunidad I del gen mitocondrial de la citocromo-oxidasa (COI). Además se realizó un estudio comparativo de la distribución histórica y actual del género *Cyanocyclus* en Uruguay revisitando el 75 % de las localidades con registros históricos. Como resultado de esta tesis se registraron por primera vez para Uruguay *Cyanocyclus guahybensis*, *Corbicula* sp. y *Corbicula fluminalis*. Los estudios y análisis morfológicos, anatómicos y morfométricos permitieron discriminar los morfotipos *Cyanocyclus exquisita*, *C. felipponei*, *C. fortis*, *C. guahybensis*, *C. limosa*, *C. paranensis*, *C. simplex* y *C. undulata*, mientras que para *Corbicula* los morfotipos fueron *Corbicula* sp., *C. fluminea*, *C. largillierti* y *C. fluminalis*. Los análisis filogenéticos del género *Cyanocyclus* en base a información molecular, confirmaron su monofilia y la monofilia de *C. exquisita*, *C. fortis*, *C. guahybensis*, *C. limosa* y *C. paranensis*, especies que se consideran validadas. *Cyanocyclus undulata* se ubicó en parafilia respecto a *C. exquisita* con una distancia baja por lo que se considera a *C. undulata* como sinónimo junior de *C. exquisita*. *Cyanocyclus limosa* presentó una topología particular con las secuencias reunidas en dos clados monofiléticos separados, lo que podría deberse a la presencia de entidades crípticas o a la existencia de heteroplasma. La falta de material con partes blandas de *C. felipponei* y de material adecuadamente conservado para extraer ADN de *C. simplex* imposibilitaron estudios

moleculares en estos morfotipos. La distribución del género *Cyanocyclus* en Uruguay se ha reducido drásticamente encontrándose ejemplares vivos en el 7,1 % de las localidades históricas revisadas (75% de ellas). La situación de conservación de *C. exquisita* y *C. paranensis* se considera crítica (una única localidad con ejemplares aislados) al igual que *C. fortis* (una población establecida y dos localidades). En el género *Corbicula* se identificaron tres clados correspondientes a las formas A, B y C descritas para América por otros autores. Las secuencias de *C. fluminalis* se agruparon junto con la mayoría de las secuencias de *C. largillierti* en un único clado lo que indicaría que los ejemplares asignados a *C. fluminalis* en Uruguay y Brasil corresponden o bien a variaciones morfológicas de *C. largillierti* o revelan eventos de hibridización. La taxonomía y sistemática de los géneros de *Cyanocyclus* y *Corbicula* dista mucho de ser correctamente entendida, identificándose varias complejidades que deben ser exploradas. Nuevos esfuerzos deben ser dedicados a identificar, evaluar y conservar poblaciones de *Cyanocyclus* en especial de *C. exquisita*, *C. felipponei*, *C. fortis* y *C. simplex* especies que se encuentran en peligro crítico.

Capítulo I

Introducción general

1.1 El género *Cyanocyclus* en Uruguay

El género de bivalvos dulceacuícolas *Cyanocyclus* (Blainville, 1818) es endémico de América del Sur, abarcando su distribución la cuenca del Río de la Plata, las cuencas Atlánticas uruguaya y brasilera y parte de la cuenca sur del Amazonas (Parodiz 1969); existen además reportes de registros para la cuenca del Orinoco (Simone 2006). Dentro de este género se han descrito cerca de una decena de especies con localidad tipo en el bajo río Uruguay y Río de la Plata (Pilsbry 1896, Marshall 1924, Marshall 1927), de las que actualmente se reconocen válidas solo dos especies: *Cyanocyclus limosa* (Maton, 1809) y *Cyanocyclus paranensis* (d'Orbigny, 1835) (Parodiz & Hennings 1965). Una tercer especie, *Cyanocyclus paysanduensis* (Marshall 1924), no fue incluida en la sinonimia propuesta por Parodiz & Hennings (1965), aunque no queda claro su estatus en el esquema planteado; mientras que *Cyanocyclus undulata* (Marshall, 1927) tampoco fue considerada en dicho análisis, pero Figueiras (1965b) la incluyó en la sinonimia de *C. limosa*. Esta sinonimia fue desconocida por Simone (2006) quien considera la especie como válida.

Las especies de *Cyanocyclus* son hermafroditas de tipo simultáneo e incuban embriones y larvas en ambas hemibranquias internas hasta ser liberados como individuos juveniles (Ituarte 1984). El hecho de ser hermafroditas simultáneos habilita la posibilidad de autofecundación. Esta característica reproductiva y la limitación de intercambio genético que impone la falta de un estadio larval libre, sería responsable de que los individuos de una misma población sean morfológicamente muy similares entre sí, pudiendo diferir marcadamente con otros conjuntos co-específicos geográficamente próximos, incluso dentro de un mismo curso de agua (Figueiras 1965a, Parodiz & Hennings 1965). Esta forma particular de reproducción y dispersión hace de *Cyanocyclus* un buen modelo para estudios taxonómicos integrados, utilizando información proveniente de estudios morfológicos y de genética poblacional.

1.2 El género *Corbicula* en Uruguay

Perteneciente a la misma familia que *Cyanocyclus*, los bivalvos invasores *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) y *Corbicula largillieriti* (Philippi, 1844), originarios del sudeste asiático, se han dispersado mundialmente, siendo registrados en Europa, América del Norte y América del Sur (Ituarte 1981, Mouthon 1981, McMahon 1982). En Uruguay fueron registrados por primera vez en la costa del departamento de Colonia en el año 1979 (Veitenheimier-Mendes & Olazarri 1981) y actualmente se encuentran distribuidos en todas las cuencas del país (Clavijo *et al.* 2009). Esta extensa distribución, así como la amplia variación morfológica de las numerosas especies nominales descritas, ha promovido el interés en la caracterización genética tanto de las poblaciones originarias de *Corbicula* como de los linajes invasores a fin de esclarecer el estatus de las especies introducidas en América. Lee *et al.* (2005) reconocen a partir de un análisis basado en información molecular, tres linajes (que denominan formas A, B y C) presentes en América, mientras que Mansur *et al.* (2011) citan cuatro especies para Brasil: *Corbicula fluminea* (Müller, 1774), *C. largillieriti* (Philippi, 1844), *C. fluminalis* (Müller, 1774) y *Corbicula* sp.

Al igual que *Cyanocyclus* las especies de *Corbicula* incuban sus embriones en las branquias internas (con algunas especies de incubación tetrabranquial). A diferencia de *Cyanocyclus*, las especies de *Corbicula* tienen un periodo de incubación muy corto, liberando más de 10000 embriones en una etapa temprana de veliger o pediveliger (Ituarte 1994).

1.3 Estado de conservación de *Cyanocyclus* e interacción con especies de *Corbicula*

Las capacidades reproductivas de los corbiculidos autóctonos son sensiblemente inferiores a la de las especies exóticas (Ituarte 1984), por lo que el impacto de la invasión de especies exóticas de *Corbicula* puede preverse como significativo en desmedro de la fauna local. Veitenheimier-Mendes & Olazarri (1981) refirieron el desplazamiento de *Cyanocyclus* por *Corbicula* en la Bahía de Colonia (Uruguay). Esta interacción fue estudiada en detalle por Mansur & Garces (1988) en la estación ecológica de Taim y áreas adyacentes en la planicie costera de Rio Grande do Sul (Brasil), concluyendo en la existencia de interferencias entre especies de ambos géneros que resultaron en el desplazamiento de las formas nativas. Trabajos más recientes indican que la reducción en la distribución de *Cyanocyclus* en el Uruguay es drástica, desapareciendo de la mayoría de las localidades donde su presencia se hallaba registrada (Scarabino 2004, Scarabino &

Mansur 2007, Clavijo *et al.* 2010). En base a los antecedentes bibliográficos e información de campo, Scarabino & Clavijo (2009) proponen la inclusión de las especies del género *Cyanocyclus* presentes en Uruguay en la lista de especies prioritarias para la conservación para Uruguay.

1.4 Diversidad de especies nativas de Corbiculidae en Uruguay

La hipótesis de la existencia de sólo dos especies de *Cyanocyclus* en el Río de la Plata propuesta por Parodiz & Hennings (1965) fue ampliamente aceptada, a tal punto que A. Figueiras respetando la autoridad de J.J. Parodiz dice “basándonos en los estudios de J. J. Parodiz, admitiremos como especies válidas las ya mencionadas (*limosa* y *paranensis*), aunque creemos que se pudieran agregar 3 o 4 buenas especies más, con un criterio no tan unionista, ni tampoco tan divisionista como el de Marshall. Estudios posteriores tenderán a definir esta cuestión.” (Figueiras 1965b). Posteriormente Garces *et al.* (1989) en base a las diferencias encontradas en análisis morfométricos, cuestionan la validez de algunas especies incluidas en la sinonimia de *C. limosa*, pero sin aclarar el estatus específico propuesto para estas. Recientes colectas han confirmado la presencia de poblaciones de *C. limosa*, *C. paranensis* y al menos tres morfotipos de *Cyanocyclus* no asimilables a una u otra de las dos especies reconocidas como válidas por Parodiz & Hennings (1965) en el bajo río Uruguay. Por lo tanto, la reducción de la distribución de *Cyanocyclus* podría tener resultados más severos de los previstos, involucrando a poblaciones de hasta cinco especies nativas en lugar de solo dos. Esto justifica la necesidad de realizar estudios como el presente a fin de establecer con precisión la real diversidad de corbiculidos nativos del Uruguay. Del mismo modo, cierta indefinición en la identidad de algunos morfotipos correspondientes a *Corbicula*, justifica la revisión de las especies presentes en Uruguay.

1.5 Construcción de hipótesis de trabajo

La falta de detalle y precisión en las descripciones originales y la marcada similitud morfológica entre especies de Corbiculidae ha originado dudas en cuanto a la correcta identificación específica de diversas poblaciones, así como numerosas asignaciones específicas erróneas. En la literatura regional, al definirse una especie, es común el uso de términos vagos como "inflada", "alta", "gorda" para referirse a las relaciones de proporción entre las medidas

lineales (alto, largo y ancho) habitualmente consideradas como descriptivas de algunos aspectos morfológicos de la conchilla de los bivalvos dulceacuícolas (ver Figueiras 1965a, Castellanos & Landoni 1990). Estas relaciones morfométricas expresadas en forma no precisa, han sido incluidas en claves de identificación para bivalvos dulceacuícolas (Olazarri 1966, Castellanos & Landoni 1990, Mansur & Pereira 2006) e incluso ofrecidas como caracteres diagnósticos en trabajos taxonómicos sobre el género *Cyanocyclus* (Parodiz & Hennings 1965), generando no pocos errores posteriores de identificación. De ahí, la necesidad de obtener parámetros morfométricos descriptivos expresados en adecuada forma, como índices, cuyas eventuales diferencias intra e interespecíficas deberán ser analizadas en cuanto a su significación estadística a fin de establecer su real valor. Del mismo modo, la información de estudios moleculares permitirá agregar valor en el discernimiento de la significación de las diferencias anatómicas y morfológicas encontradas, además de aportar información acerca de la estructura poblacional de las especies de corbiculidos en Uruguay.

1.6 Hipótesis y objetivos

Hipótesis general: La diversidad de especies de corbiculidos en Uruguay es superior a la actualmente reconocida.

Objetivo general: Estudiar los morfotipos y las especies de Corbiculidae presentes en Uruguay a través del análisis morfológico y genético, analizando su estatus específico y el estado de conservación de las especies nativas.

Hipótesis 1: Las especies y morfotipos de Corbiculidae de Uruguay pueden discriminarse a partir de caracteres morfológicos y anatómicos.

Objetivo específico 1: Estudiar la existencia de diferencias morfológicas y anatómicas que permitan discriminar las especies y morfotipos de Corbiculidae de Uruguay.

Hipótesis 2: Las especies y morfotipos de Corbiculidae de Uruguay difieren significativamente en las relaciones morfométricas: largo/alto, ancho/alto, ancho/largo, y/o en la geometría de sus valvas (relación espacial de la disposición de landmarks).

Objetivo específico 2: Contribuir a la discriminación de especies y morfotipos de Corbiculidae presentes en Uruguay a partir de estudios de morfometría lineal y geométrica.

Hipótesis 3: Los morfotipos de Corbiculidae en estudio son especies válidas constituyendo grupos de monofilia recíproca y aislados reproductivamente.

Objetivo específico 3: Determinar a través del análisis de sistemática molecular y genético-poblacional la existencia de monofilia recíproca y el posible aislamiento reproductivo entre los grupos en estudio.

Hipótesis 4: Las poblaciones de *Cyanocyclus* han declinado sensiblemente o desaparecido en la mayoría de las localidades en las que históricamente han sido reportadas.

Objetivo específico 4: Determinar la distribución geográfica actual del género *Cyanocyclus* en Uruguay y efectuar un estudio comparativo con los registros históricos.

1.7 Estructura de la tesis

En el **Capítulo II** se describe la morfología y anatomía de las unidades estudiadas. El **Capítulo III** presenta los estudios de morfometría lineal y morfometría geométrica. Las relaciones filogenéticas y genético poblacionales de las especies estudiadas son analizadas a partir de información molecular en el **Capítulo IV**. La distribución histórica y actual del género *Cyanocyclus* es comparada en el **Capítulo V**. Finalmente en las **Conclusiones** se integran los resultados de las diferentes aproximaciones, aportando una lista crítica de las especies nominales sinonimizadas.

Capítulo II

Morfología de los Corbiculidae de Uruguay

2.1 Introducción

2.1.1 Aspectos nomenclaturales de los taxones estudiados

Las especies estudiadas en este trabajo de tesis han sido históricamente incluidas en la familia Corbiculidae Gray, 1847; sin embargo la nomenclatura de esta familia ha sido recientemente analizada por Carter & Coan (2010) considerando que el nombre Cyrenidae Gray, 1840 es un sinónimo *senior* que, por haber sido usado, no puede considerarse como un *nomen oblitum* y por tanto es el nombre que corresponde para la familia. A pesar de esto, considerando esencial contribuir a la estabilidad nomenclatural, más allá de los aspectos formales, se prefiere el uso del nombre Corbiculidae ampliamente difundido y usado por más de 150 años, para referirse a los géneros y especies que en este trabajo se estudian.

La nomenclatura del género de Corbiculidae dulciacuícola nativo de América del Sur presente en Uruguay no es menos confusa y su cronología es la siguiente:

- 1811. Maton describe la primera especie dulciacuícola de Corbiculidae nativa de América como *Tellina limosa* Maton, 1811.
- 1818. de Férussac en Blainville (1818:280)¹ describe *Cyanocyclas* de Férussac, 1818 como un subgénero de *Cyclas* Lamarck, 1798, incluyendo varias especies de *Corbicula* Megerle von Mühlfeld, 1811 y la única especie dulciacuícola de Corbiculidae nativa de América conocida hasta el momento.
- 1835-1846. d'Orbigny (1835) describe la segunda especie nominal de Corbiculidae nativa de América del Sur como *Cyclas (Cyrena) variegata* y usa el mismo nombre en el Voyage de 1846 (d'Orbigny 1846).

¹ Varios autores consideran a Blainville 1818 como autor de *Cyanocyclas*, pero el texto es claro sobre la autoría del género por parte de de Férussac.

- 1854-1900. Tanto Deshayes, Prime, Pilsbry como Formica Corsi usan el nombre genérico *Corbicula* para nombrar las especies americanas.
- 1897. Fischer (1897) crea *Neocorbicula* como una sección de *Corbicula* para clasificar las especies de América que tienen los sifones relativamente largos, separados y poseen seno paleal. En la misma descripción se designa *Cyrena variegata* d'Orbigny, 1835 como especie tipo.
- Dall (1903) designa *Tellina limosa* Maton, 1811 como especie tipo de *Cyanocyclus*.
- 1924-1927. Marshall (1924, 1927) usa *Cyanocyclus* como subgénero de *Corbicula*.
- 1961. Olazarri (1961) teniendo en cuenta la designación de Dall (1903) de *Tellina limosa* Maton, 1811 como especie tipo de *Cyanocyclus* utiliza este como el nombre genérico para *Corbicula (Cyanocyclus) delicata* Marshall, 1924.
- 1963-1996. Parodiz (1963) revalida el nombre *Neocorbicula* el que, a partir de entonces, fue utilizado durante más de treinta años por la mayoría de los autores que trabajaron en el género.
- 1996. El propio Parodiz en una revisión de especies de moluscos fósiles justifica el uso del género *Cyanocyclus* ya que: "...*Cyanocyclus* Blainville, 1818 y *Neocorbicula* Fischer, 1887, son sinónimos subjetivos. Esta sinonimia no fue correctamente reconocida en Parodiz & Hennings (1965). Prefiero tratar *Cyanocyclus* como un género distinto de *Corbicula* porque las especies que lo forman tienen seno paleal, sifones más largos y están restringidos a la región neotropical..."² (Parodiz 1996:266).
- 2013. Graf, en su página WEB de *Mussel Project Web* (Graf & Cummings 2013) vuelve a utilizar el nombre *Neocorbicula* dado que "*Cyanocyclus* fue introducido como un nombre de remplazo innecesario para *Corbicula*. Por lo tanto es un sinónimo objetivo de *Corbicula* y *Neocorbicula* es el siguiente nombre disponible para las especies americanas." (Graf com. pers.).
- 1996-al presente. Se mantiene en uso el nombre *Neocorbicula* principalmente por parte de autores extraregionales, mientras que la mayoría de los autores regionales utilizan *Cyanocyclus*.

² "*Cyanocyclus* Blainville, 1818, and *Neocorbicula* Fischer, 1887, are subjective synonyms. This synonymy was not recognized correctly in Parodiz & Hennings (1965). I prefer to treat *Cyanocyclus* as a genus distinct from *Corbicula* because species of the former have a pallial sinus, longer siphons, and are restricted to the Neotropical Region."

Considerando que la asignación de especie tipo de Dall (1903) confirma la prioridad de *Cyanocyclus* sobre *Neocorbicula*, y que varios autores han reafirmado la validez del género, en este trabajo se utiliza el nombre *Cyanocyclus* para nombrar a las especies nativas aquí estudiadas.

2.1.2 El género *Cyanocyclus* en Uruguay

El género *Cyanocyclus* de Férussac, 1818 tiene una profusa historia taxonómica en el Río de la Plata. *Tellina limosa* Maton, 1811 fue la primera especie descrita junto con otras seis especies de bivalvos y gasterópodos recibidas del Río de la Plata sin ningún detalle preciso sobre su localidad de colecta. La primera cita precisa de *C. limosa* para Uruguay es dada por Pilsbry & Rush (1896). Posteriormente a la descripción de Maton (1811), d'Orbigny (1835) describe dos especies: *Cyclas (Cyrena) paranacensis* y *Cyclas (Cyrena) variegata* esta última considerada posteriormente sinónimo de *Cyanocyclus limosa*. Más tarde Deshayes (1854) describe *Corbicula obsoleta* indicando como localidad: "Uruguay" y Pilsbry (1896) describe *Corbicula coloniensis* proveniente de la costa de Colonia (Uruguay). Posteriormente, el estadounidense William Marshall (1924, 1927) estudió el material de *Cyanocyclus* enviado desde América del Sur por Felippone, Teisseire, Ihering y Olea. En base a material uruguayo describió las especies *Corbicula (Cyanocyclus) circularis*, *Corbicula (Cyanocyclus) compacta*, *Corbicula (Cyanocyclus) delicata*, *Corbicula (Cyanocyclus) exquisita*, *Corbicula (Cyanocyclus) felipponei*, *Corbicula (Cyanocyclus) fortis*, *Corbicula (Cyanocyclus) oleana*, *Corbicula (Cyanocyclus) paysanduensis* y *Corbicula (Cyanocyclus) teisseirei*, *Corbicula (Cyanocyclus) simplex*, *Corbicula (Cyanocyclus) undulata*, *Corbicula (Cyanocyclus) platensis* mientras que en base a material brasilero describió dos especies: *Corbicula (Cyanocyclus) guahybensis* y *Corbicula (Cyanocyclus) iheringi*. En 1923 se publicaron los manuscritos del naturalista uruguayo Larrañaga, quien describió *Tellina vivipara* Larrañaga, 1923. Posteriormente no fueron descritas otras especies actuales para el género. Parodiz & Hennings (1965) revisaron las especies de la cuenca Paraná-Uruguay, incluyendo el listado de especies nominales descriptas para América del Sur. Como resultado de esta revisión Parodiz & Hennings (1965) reconocen como válidas solo dos especies *Cyanocyclus limosa* y *Cyanocyclus paranensis* (ambas como *Neocorbicula*). Una tercera especie (*Cyanocyclus paysanduensis*) no fue incluida en la sinonimia de las anteriores, aunque no queda claro su estatus en el esquema planteado; finalmente, *Cyanocyclus undulata* no fue incluida en la revisión. Posteriormente Figueiras (1965b) incluye a *C. paysanduensis* y *C. undulata* en la sinonimia de *C. limosa*.

Como es común en los trabajos malacológicos previos al final del siglo XIX, las

descripciones de nuevas especies son breves, muchas veces imprecisas, basadas en las valvas de pocos ejemplares, sin considerar la variación que naturalmente presentan las especies ni describiendo las partes blandas del animal. Si bien las descripciones de Marshall (1924, 1927) son completas en cuanto a la morfología de las valvas y siempre se figuran los ejemplares tipo, sus descripciones parecen no haber considerado la variabilidad intraespecífica. Al respecto Parodiz & Hennings (1965) señalan que “una de las razones para el fallo de Marshall al evaluar la intergradación de sus especies fue la procedencia de sus materiales. Estos provenían del Dr. F. Felippone, quien enviaba ejemplares únicos de diferentes lotes, no tomados aleatoriamente sino eligiendo especialmente los más divergentes dentro de cada lote...”³.

En cuanto a los conocimientos sobre anatomía de *Cyanocyclas*, la primera referencia es realizada por Dall (1902) quien basado en material seco describe la incubación de las crías por parte de las madres sin dar más detalle sobre las partes blandas del animal. Ninguna de las amplias descripciones de Marshall (Marshall 1924, 1927) contienen información sobre la anatomía ya que solo poseía valvas, e incluso la gran revisión del género realizada por Parodiz & Hennings (1965) no ofrece información sobre la anatomía de las especies, aunque sí sobre algunos aspectos reproductivos. Recién en Baraibar (1961) se puede encontrar las primeras referencias a la anatomía de *Cyanocyclas limosa*, única especie para la cual hay descripciones anatómicas; otros antecedentes para esta especie son Ituarte (1984, 1986, 1994) y Mansur & Meier-Brook (2000). Si bien la anatomía de los bivalvos no provee de suficientes caracteres que permitan hacer distinciones específicas, resulta esencial conocer básicamente la anatomía de cada especie como complemento de su definición como tal.

2.1.3 El género *Corbicula* en Uruguay

Otro género de Corbiculidae presente en Uruguay, *Corbicula* Megerle von Mühlfeld, 1811 es originario del sudeste asiático y África, y se ha dispersado mundialmente, siendo registrado en Europa, América del Norte (Mouthon 1981, McMahon 1982) e introducido en el Río de la Plata entre 1965 y 1975 (Ituarte 1994). Hasta el presente se han citado para la región cuatro especies del género: *Corbicula fluminea* (Müller, 1774), *Corbicula largillierti* (Philippi, 1844), *Corbicula fluminalis* (Müller, 1774) (Ituarte 1994, Martins *et al.* 2006, Mansur *et al.* 2011) y una especie no identificada: *Corbicula sp.* (Mansur *et al.* 2011). De las cuatro especies dos han sido formalmente

³ One of the reasons for Marshall's failure to evaluate the intergradations of his species was the source of his materials. These were received from Dr. F. Felippone who sent single specimens of different lots, not taken at random but specially chosen as strongly divergent within each lot...”

citadas para Uruguay: *C. fluminea* y *C. largillierti* (Olazarri 1986), y otras dos fueron registradas en los muestreos realizados en el presente estudio.

En este capítulo se describen las valvas y principales rasgos anatómicos de los morfotipos de *Cyanocyclas* y *Corbicula* presentes en Uruguay en base al estudio de material depositado en colecciones y colectas de campo.

2.2 Metodología

Para el presente trabajo de tesis se estudiaron las colecciones del Museo Nacional de Historia Natural (MNHNM), Montevideo; Museo Argentino de Ciencias Naturales (MACN), Buenos Aires; Museo de La Plata (MLP), La Plata; Museo Provincial de Ciencias Naturales (MFA), Santa Fé; Fundação Zoobotânica (FZB), Porto Alegre; Museo Nacional de Rio de Janeiro (MNRJ), Rio de Janeiro y material colectado por el autor en diversas localidades de Argentina, Brasil, Uruguay y Portugal (Anexo I). Además se utilizaron las descripciones originales e imágenes del material tipo depositados en: Academy of Natural Sciences (ANSP), Philadelphia; British Museum of Natural History (BMNH), Londres; Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN), París y National Museum of Natural History (USNM), Washington.

La descripción morfológica de las valvas se centró en los siguientes caracteres: forma general y contorno de las valvas, talla máxima, índice de convexidad (Ci) calculado como ancho sobre alto⁴, color⁵, patrones de diseño de color y escultura de la superficie externa, características del periostraco, morfología de los dientes de la charnela, características de las impresiones de músculos aductores y desarrollo de la línea y seno paleal (Figura 2.1). El material fue fotografiado con una cámara Zeiss Axiocam MRC incorporada a una lupa Zeiss Stemi 2000-C. Las imágenes se procesaron inicialmente con el programa Zeiss Axiovision rel. 4-8-2.

Para las descripciones anatómicas se utilizaron, siempre que fue posible, cinco ejemplares de cada especie. En la descripción de partes blandas se observaron específicamente caracteres estudiados por Mansur & Meier-Brook (2000); morfología de sifones (forma, forma de la apertura,

⁴ Esta y las otras relaciones de proporción entre las medidas de longitud alto, largo y ancho que hasta cierto punto definen la forma de las valvas, se analizan en el capítulo II.

⁵ Varios de los ejemplares observados han sido conservados por más de 50 años en las colecciones por lo que parte de la variación observada en la coloración se puede deber a los diferentes estados de conservación.

pigmentación)⁶, presencia de papilas (número, forma, pigmentación, disposición), musculatura radial del borde del manto, palpos labiales y ctenidio. El material fue fotografiado con la misma cámara con que se fotografiaron las valvas.

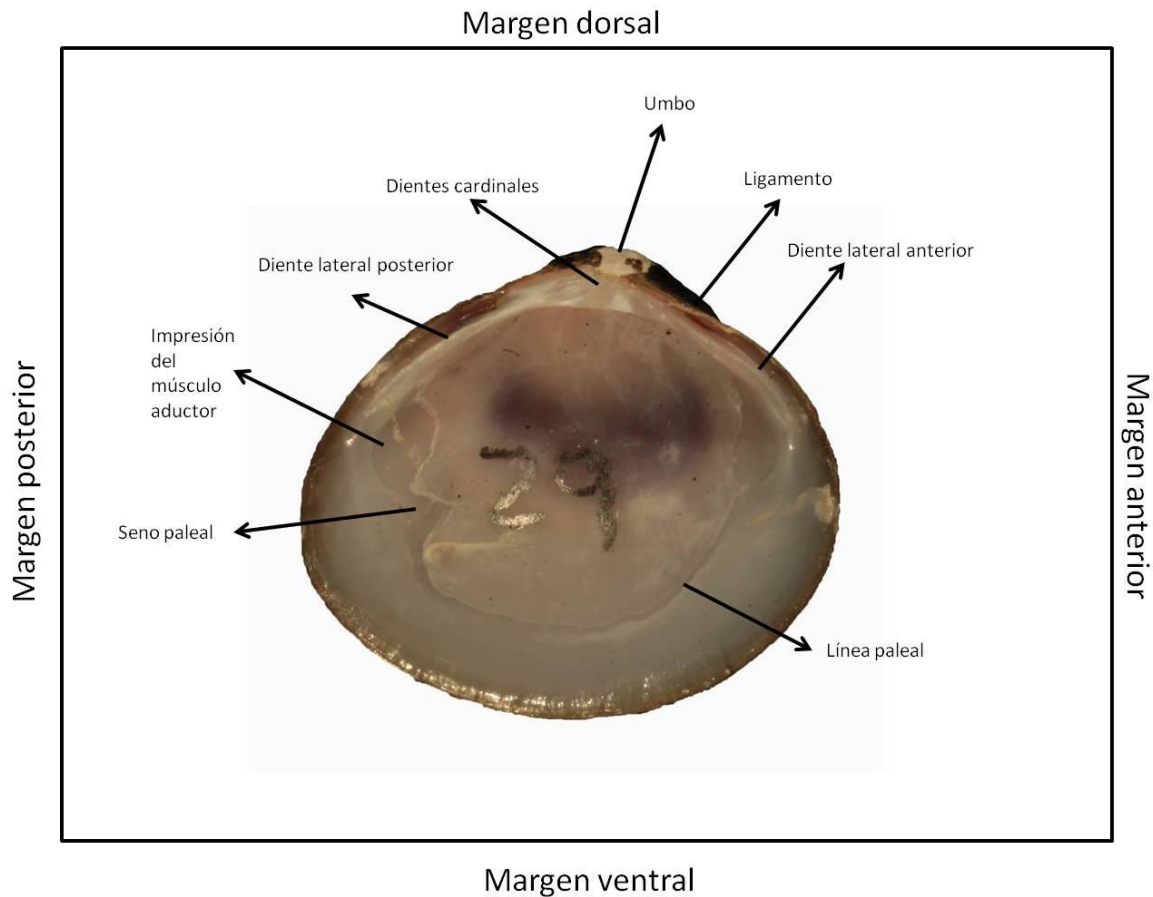


Figura 2.1. Vista interna de una valva izquierda de *Cyanocyclas* mostrando algunos de los caracteres observados en los ejemplares estudiados.

⁶ La observación de las características de los sifones se vio dificultada debido a que la mayor parte del material fue fijado sin la correcta relajación de los animales previa a su fijación.

2.3 Resultados

Descripción de los morfotipos estudiados

2.3.1 *Cyanocyclas* de Férussac 1818

Especie tipo: *Tellina limosa* Maton, 1811 por designación posterior de Dall (1903)

Diagnos: Especies de tamaño mediano, entre dos y cuatro centímetros de talla máxima. Concha de contorno generalmente triangular, a veces algo oval, más o menos alta. Charnela heterodonta. Valva derecha con dos dientes laterales anteriores y dos posteriores, crenulados en su cara interna, que corren desde debajo del umbo hasta sobrepasar las impresiones de los músculos aductores anterior y posterior. Valva izquierda con un diente lateral anterior y un diente lateral posterior, ambos con la cara externa crenulada. Tres dientes cardinales en cada valva, el anterior de la valva derecha y el posterior de la izquierda son generalmente más pequeños. Periostraco en general de color verde oscuro a verde amarillento, a veces algo foliáceo, en la mayoría de las especies presenta líneas o bandas de color radiales oscuras. Superficie de las valvas con estrías conmarginales de grosor variable, generalmente finas y bajas. Seno paleal bien marcado, usualmente profundo, más o menos anguloso (con raras excepciones).

2.3.2 *Cyanocyclas limosa* (Maton, 1811)

Figura 2.2, Láminas 2.1 y 2.2

Designación original: *Tellina limosa* Maton, 1811

Localidad tipo: Río de la Plata

Material estudiado: Dibujo original de *Tellina limosa* (Maton 1811); MLP 5464, MACN 10590; MNHNM 1161, 5176, 6161 y 19908-19918.

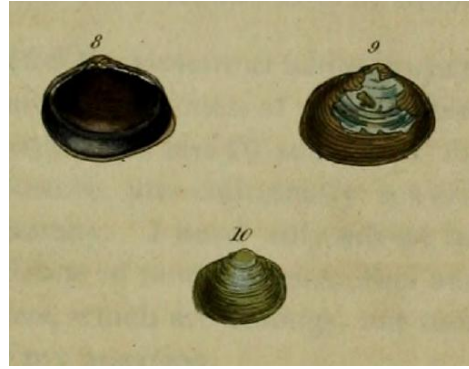


Figura 2.2. Figura original de *Tellina limosa* (tomada de Maton 1811).

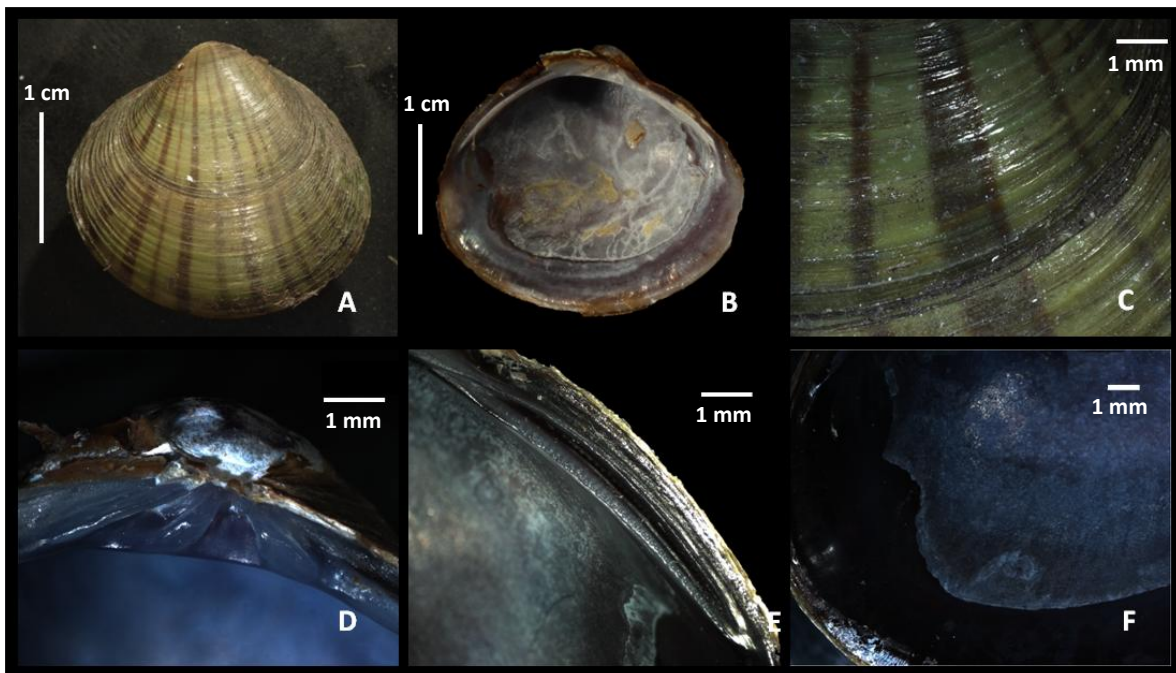


Lámina 2.1. Morfología de las valvas de *Cyanocyclas limosa*. A. Valva izquierda, vista externa. B. Valva izquierda, vista interna. C. Escultura de la superficie externa, periostraco y estrías radiales. D. Dientes cardinales en valva izquierda. E. Dientes laterales en valva derecha. F. Seno paleal. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Descripción: Especie de tamaño mediano a grande dentro del género, longitud máxima observada 30,17 mm, comprimida lateralmente ($Ci = 0,605 \pm 0,041$). Concha ovalada, algo trigonal en vista externa, moderadamente baja, levemente inequilateral, relativamente frágil. Margen dorsal amplio, uniformemente curvo, con débil angulosidad debajo del umbo. Margen anterior curvo, insensiblemente unido al margen ventral, que es amplio y uniformemente curvo. Margen posterior moderadamente agudo, levemente proyectado. Ligamento corto, poco pronunciado. Umbos bajos, algo agudos, no inflados, poco visibles por sobre el margen dorsal en vista interna.

Superficie externa de color variable, verde a verde amarillento, con numerosas líneas radiales oscuras que en algunos ejemplares llegan a ser bandas deltoides de ancho variable. Estrías conmarginales finas. Periostraco algo lamelar, opaco a brillante. Dientes delicados, con las características del género, placa charnelar no sólida. Línea paleal bien marcada, paralela al borde ventral, con seno paleal moderadamente redondeado, a veces algo agudo y profundo. Impresiones de los músculos aductores suavemente marcadas. Superficie interna de las valvas azul violáceo, más intenso en la parte externa a la línea paleal.

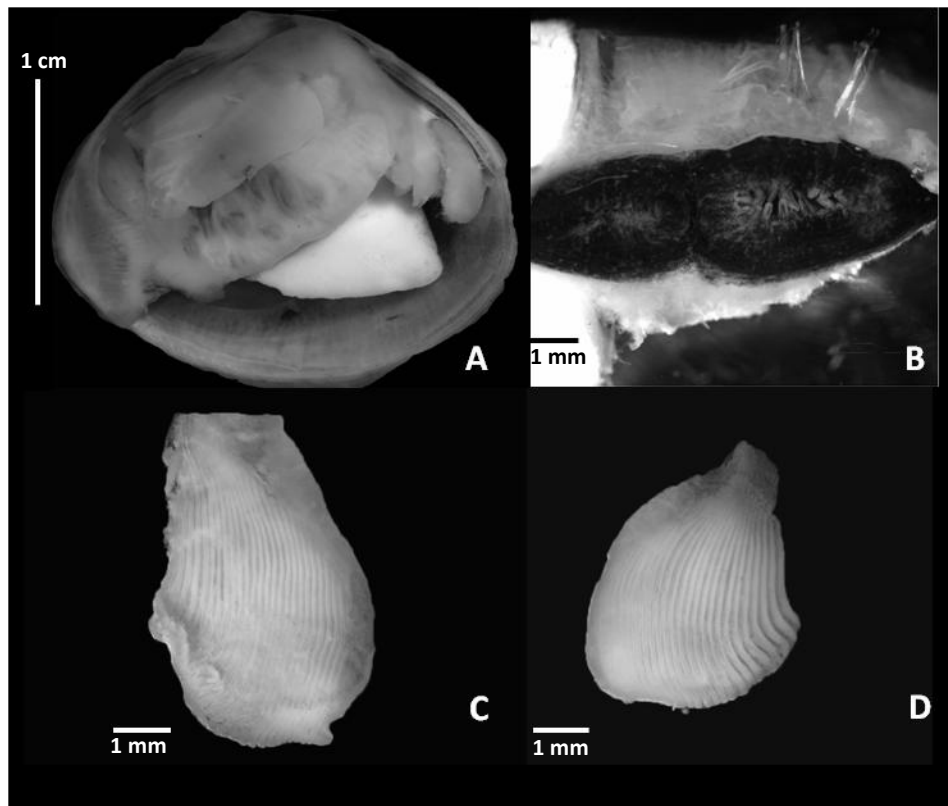


Lámina 2.2. Anatomía de *Cyanocyclas limosa*. A. Vista general del animal. B. Sifones. C. Palpo labial externo. D. Palpo labial interno. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Anatomía: Musculatura del borde del manto dispuesta en haces de fibras que se entrecruzan. Tercio posterior del borde libre del manto con protuberancias a modo de papilas que se agrandan en la proximidad de los sifones. Palpo labial externo con forma trapezoide, con 26 surcos ciliares. Palpo labial interno con base de forma algo lanceolada y 24 surcos ciliares. Branquias externas cubriendo la mitad de la branquia interna, que puede contener crías de hasta cuatro milímetros de longitud. Extremo de los sifones muy pigmentados con excepción de los tentáculos que no

poseen pigmentación. Sifón exhalante sin tentáculos. Sifón inhalante con 20-21 tentáculos de 0,1-0,2 mm dispuestos en un solo verticilo.

Discusión: La moderada fragilidad de la conchilla, su forma suborbicular a algo triangular, no inflada y la charnela delicada son caracteres destacados de la especie que permiten diferenciarla del resto. En este trabajo, *Cyanocyclus limosa* fue encontrada en el río Uruguay (Nuevo Berlín) viviendo en simpatría con *Cyanocyclus fortis* y en la desembocadura del Aº Yaguareté en el río Uruguay con *Cyanocyclus exquisita*, *C. fortis*, *Cyanocyclus paranensis* y *Cyanocyclus undulata*.

2.3.3 *Cyanocyclus exquisita* (Marshall, 1924)

Figura 2.3, Lámina 2.3 y 2.4

Designación original: *Corbicula (Cyanocyclus) exquisita* Marshall, 1924

Localidad tipo: Departamento de Colonia, Uruguay

Material estudiado: Fotografía del holotipo de *Corbicula (Cyanocyclus) exquisita* (USNM 347866); FZB 24994; MACN 10367, 13004/1, 15500, 15499, 32103; MNHNM 4860, 6061, 6147, 19919.



Figura 2.3. Holotipo de *Corbicula (Cyanocyclus) exquisita* USNM 347866.

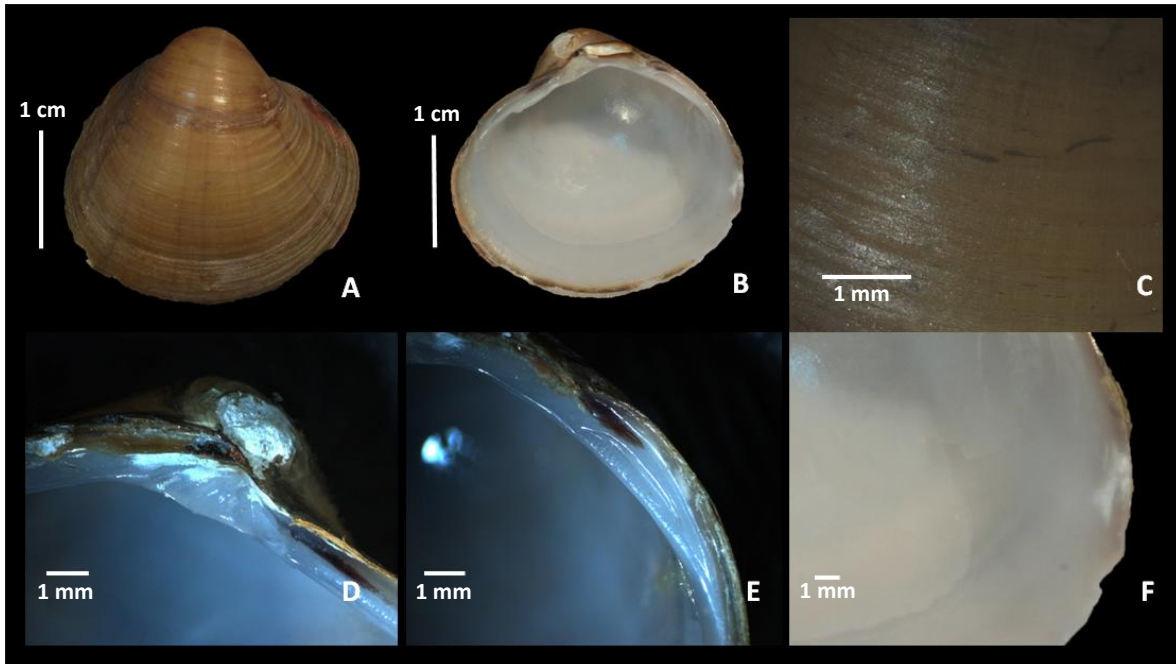


Lámina 2.3. Morfología de las valvas de *Cyanocyclas exquisita*. A. Valva derecha, vista externa. B. Valva derecha, vista interna. C. Escultura de la superficie externa y periostraco. D. Dientes cardinales y lateral izquierdo. E. Dientes laterales posterior derecho. F. Seno paleal. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Descripción: Concha de talla mediana, longitud máxima observada: 26,86 mm, frágil, de contorno subcircular trapezoide, inflada ($Ci = 0,715 \pm 0,068$). Borde ventral suavemente curvo o sub recto, sin engrosamiento en el margen. Borde anterior uniformemente curvo, bastante agudo, borde posterior ampliamente curvo, truncado. Ligamento corto, poco elevado. Mitad anterior del margen dorsal subrecta, más baja que la mitad posterior, marcadamente curva. Umbones prominentes, bastante agudos, bien visibles por sobre el margen dorsal en vista interna. Dos o tres elevaciones radiales posteriores a modo de cóstulas muy bajas, discontinuas. Periostraco color castaño claro (tendiendo a salmón o rosado en ejemplares recientemente colectados) de aspecto liso, débilmente foliáceo hacia el borde ventral. En los adultos escasas líneas de pigmentación radial, finas y de color castaño oscuro, mientras que en los individuos juveniles estas son abundantes. Superficie externa con estrías conmarginales muy finas, bajas, más marcadas en la zona de los umbones (en algunos ejemplares aparecen particularmente marcadas). Charnela: dientes laterales posteriores cortos, particularmente el externo. Dientes laterales anteriores subrectos, finos, con una curva a la altura del tercio distal por sobre el músculo aductor anterior. Dientes cardinales: el central con un surco medio bien marcado. Línea paleal poco marcada, seno

paleal triangular agudo, profundo. Impresiones de los músculos aductores poco marcadas. Superficie interna color lila a blanco.

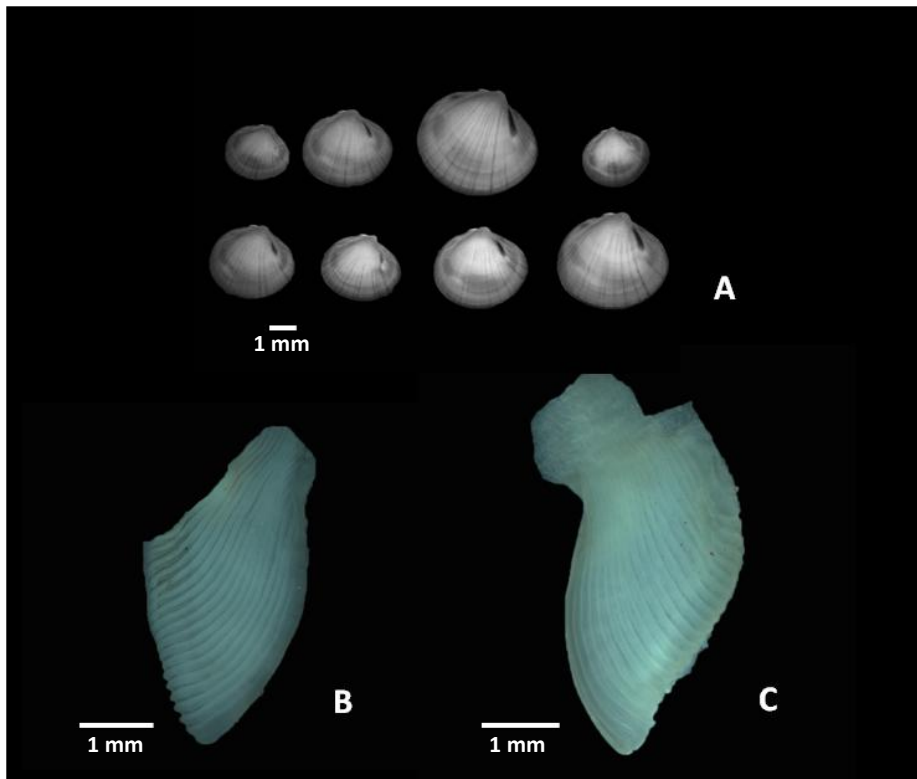


Lámina 2.4. Anatomía de *Cyanocyclus exquisita*. A. Crías encontradas en las branquias internas. B. Palpo labial externo. C. Palpo labial interno. (Los ejemplares estudiados de esta especie no permitieron fotografiar con la calidad adecuada los sifones ni el individuo completo). Las barras horizontales representan 1 mm.

Anatomía: Musculatura del borde del manto dispuesta en haces de fibras que se entrecruzan. Mitad posterior del borde libre del manto con protuberancias a modo de papilas bajas que se agrandan en la proximidad de los sifones. Palpo labial externo forma trapezoidal, con 22 surcos ciliares. Palpo labial interno lanceolado, con 22 surcos ciliares. Branquias externas cubriendo 3/5 de la branquia interna, que puede contener crías de hasta cuatro mm de longitud. Sifones con pigmentación, algo más intensa en el sifón anal. Sifón exhalante sin tentáculos. Sifón inhalante con 8 a 10 tentáculos de 0,1 mm dispuestos en un solo verticilo.

Discusión: *Cyanocyclus exquisita* se diferencia del resto de las especies del género por el contorno alto, de aspecto trapezoide y la fragilidad de su concha, la coloración del periostraco castaño claro uniforme a salmón o rosado, de textura casi lisa, y por la presencia de elevaciones a modo de

cóstulas bajas y discontinuas en la porción posterior de la superficie de las valvas. El diente cardinal central esta levemente hendido y las impresiones musculares de los aductores son casi imperceptibles. Marshall (1924) dice “Esta especie es completamente diferente a las conocidas hasta ahora y será fácil de reconocer. Estructura, color, forma y otras características de la concha son tan superiores a las *Corbicula* usuales que han sugerido el nombre específico. Un tinte rosado o salmón en general tiñe toda la concha”⁷. Si bien Parodiz & Hennings (1965) consideran *C. exquisita* sinónimo de *C. limosa*, destacan sin embargo que usualmente presenta caracteres que fácilmente la distinguen, aunque la existencia de formas intermedias entre *C. exquisita* y *C. limosa* a su juicio impiden considerarlas como una especie válida. *Cyanocyclus exquisita* fue encontrada en este trabajo en la desembocadura del Aº Yaguareté en el río Uruguay viviendo en simpatria con *C. fortis*, *C. limosa*, *C. paranensis* y *C. undulata*.

2.3.4 *Cyanocyclus felipponei* (Marshall, 1924)

Figura 2.4, Lámina 2.5

Designación original: *Corbicula (Cyanocyclus) felipponei* Marshall, 1924

Localidad tipo: Departamento de Colonia, Uruguay

Material estudiado: Fotografía del holotipo de *Corbicula (Cyanocyclus) felipponei* (USNM 347868), MNHNM 3733, 6169; MACN 10643, 15100, 15497.



Figura 2.4. Holotipo de *Corbicula (Cyanocyclus) felipponei* USNM 347868.

⁷ “This species is entirely different from any hitherto know and will be easy to recognize. Structure, color, form, and other features of the shell are so superior to the usual *Corbicula* that they have suggested the specific name. A general pinkish or salmon tinge pervades the whole shell.” Marshall (1924:6)

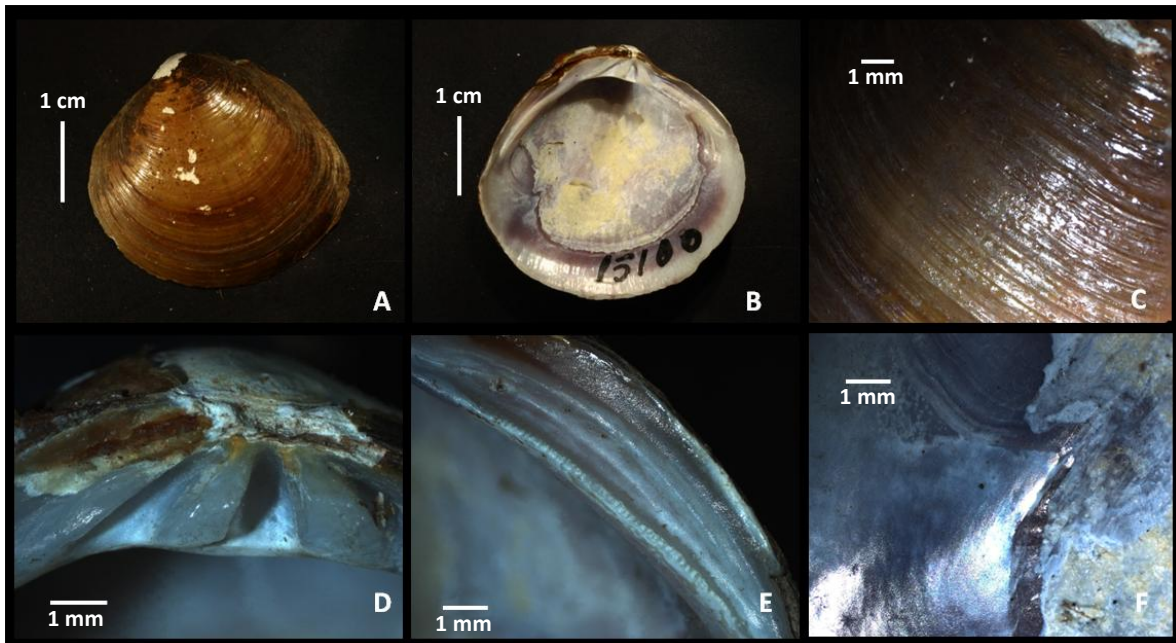


Lámina 2.5. Morfología de las valvas de *Cyanocyclus felipponei*. A. Valva izquierda, vista externa. B. Valva izquierda, vista interna. C. Escultura de la superficie externa y periostraco. D. Dientes cardinales valva izquierda. E. Dientes laterales valva derecha. F. Seno paleal de la valva izquierda. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Descripción: La mayor especie de *Cyanocyclus* que se conoce, longitud máxima observada: 40,28 mm. Concha moderadamente sólida, subcircular, algo comprimida lateralmente ($Ci= 0,593 \pm 0,081$). Borde dorsal curvo, margen anterior ampliamente curvo, margen posterior truncado sub recto, agudo hacia la porción inferior en su unión con el margen ventral, algo proyectado en un "rostro" corto. Borde ventral uniformemente redondeado, engrosado en la parte anterior. Ligamento largo (>10 mm) y protruido. La longitud del ligamento periostracal es aproximadamente 1/5 de la del ligamento primario. Umbos bajos, poco prominentes, muy poco visibles sobre el borde dorsal en vista interna. Superficie externa con un par de costillas bajas o cordones radiales poco marcados próximos al borde posterior. Periostraco brillante, no lamelar, color oliváceo o castaño claro, en algunos ejemplares negro en la superficie antero-dorsal. Líneas de color radiales muy finas, poco marcadas, a veces inconspicuas, en número variable, próximo a 10. Superficie externa de las valvas con estrías conmarginales muy finas. Charnela: Valva derecha: dientes laterales con crenulación poco marcada, los anteriores internos con una marcada curva a la altura del tercio distal, el lateral posterior interno recto, el externo ampliamente curvo, generando un amplio surco entre ambos. Dientes laterales anterior y posterior izquierdos con crenulación poco

marcada. Dientes cardinales más desarrollados que en las otras especies del género. Línea paleal bien marcada, paralela al borde ventral con seno paleal agudo y breve, no profundo. Impresiones de los músculos aductores bien marcadas, en algunos casos profundas, la impresión del aductor posterior coalescente con la del retractor del pie, bien marcado. Superficie interna de las valvas de color violáceo, área entre la línea paleal y el borde de la valva puede ser blanco y siempre es brillante.

Anatomía: En ninguna de las colecciones estudiadas se encontraron ejemplares de *Cyanocyclus felipponei* con partes blandas. Varios muestreos en su área de distribución fueron infructuosos para encontrar ejemplares vivos.

Discusión: *Cyanocyclus felipponei* fue sinonimizada con *C. limosa* por Parodiz & Hennings (1965). *C. felipponei* se distingue de las otras especies del género por su gran tamaño y por poseer el margen posterior proyectado, aunque débilmente, en un "rostro" debajo y por detrás de la impresión de los aductores posteriores; presenta además una leve pero bien perceptible cresta o cordón radial posterior en la superficie externa, que resulta característica; ligamento largo y protruido. El gran tamaño, la solidez, el contorno de la concha, así como el amplio espacio entre los dientes laterales posteriores interno y externo y la poco marcada crenulación de sus dientes laterales, la asemejan a las especies del género *Polymesoda* (Corbiculidae), del norte de América del Sur y sur de América del Norte.

2.3.5 *Cyanocyclus fortis* (Marshall, 1924)

Figuras 2.5 y 2.6, Láminas 2.6 y 2.7

Designación original: *Corbicula (Cyanocyclus) fortis* Marshall, 1924

Localidad tipo: Departamento de Colonia, Uruguay

Material estudiado: Fotografía del holotipo de *Corbicula (Cyanocyclus) fortis* (USNM 347874); MNHNM 19920, 19921

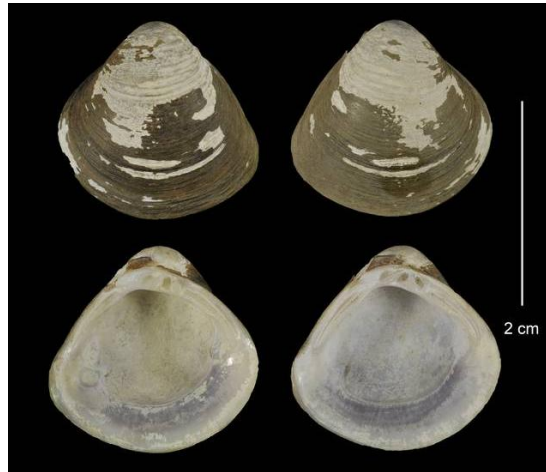


Figura 2.5. Holotipo de *Corbicula (Cyanocyclus) fortis* USNM 347874.

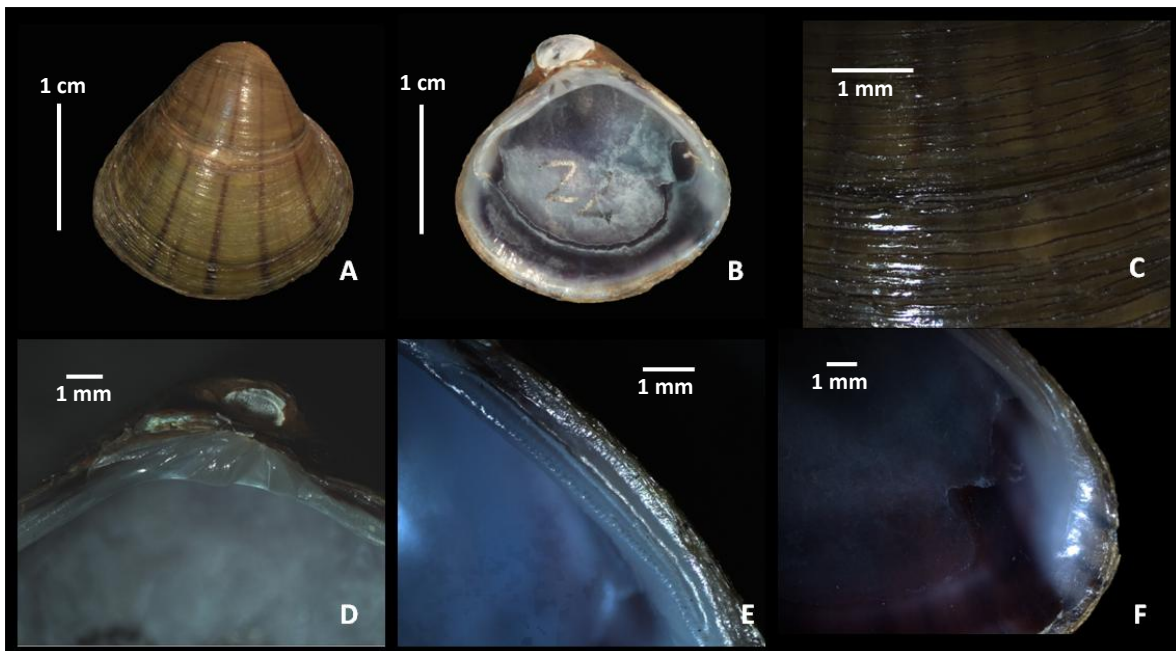


Lámina 2.6. Morfología de las valvas de *Cyanocyclus fortis*. A. Valva derecha, vista externa. B. Valva derecha, vista interna. C. Escultura de la superficie externa y periostraco. D. Dientes cardinales de la valva izquierda. E. Dientes laterales de la valva derecha. F. Seno paleal. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Descripción: Especie de talla mediana a pequeña, longitud máxima observada: 22,06 mm. Concha no frágil, llegando a sólida, inflada ($Ci = 0,752 \pm 0,03$), de forma variable, desde triangular alta, equilateral a redondeada con la porción posterior algo proyectada en un rostro (Figura 6). Margen anterior suavemente curvo, amplio, el posterior sub-recto, formando un ángulo definido en su

unión con el margen ventral, que es ampliamente curvo, de curvatura algo más acentuada en el punto medio. Ligamento corto y moderadamente protruido. Umbos prominentes, bien visibles por sobre el borde dorsal en vista interna, inflados. Periostraco erizado en lamelas muy bajas. Superficie de las valvas color verdoso, a veces algo amarillento, con numerosas líneas de color radiales, marrones a púrpura, bien visibles, moderadamente gruesas en toda la superficie, que no alcanzan a los umbos. Superficie externa con estrías conmarginales finas y uniformemente espaciadas. Charnela: en ambas valvas los dientes laterales anteriores son cortos con extremo distal curvado, mientras que los dientes laterales posteriores largos, todos con crenulación bien marcada. En ambas valvas el diente cardinal central posee una hendidura. Línea paleal bien marcada, paralela y alejada del borde. Seno paleal triangular, anguloso y bastante profundo. Impresiones musculares suavemente marcadas. Superficie interna color violeta intenso, a veces algo blanquecino en la superficie interna a la línea paleal. Borde interno de las valvas algo biselado, con breves líneas de color oscuro variablemente marcadas.



Figura 2.6. Variación en el contorno (vista externa) de las valvas en *Cyanocyclas fortis*. Ejemplares de Bahía del Yaguareté, río Uruguay.

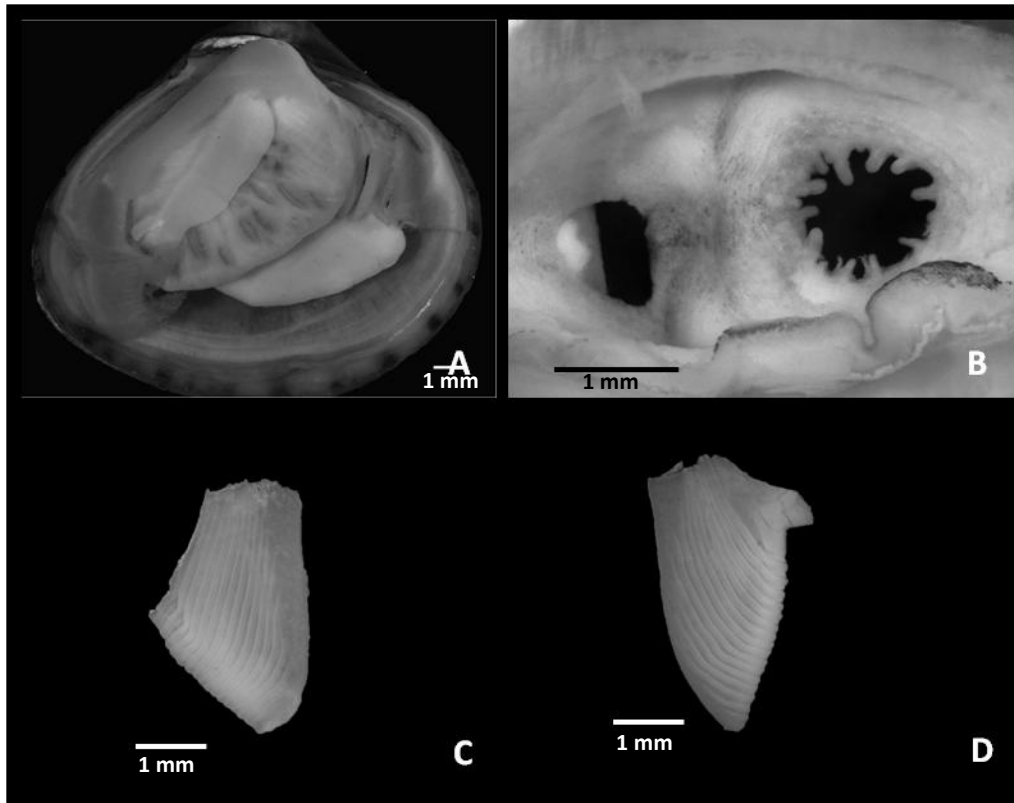


Lámina 2.7. Anatomía de *Cyanocyclus fortis*. A. Vista general del animal. B. Sifones. C. Palpo labial externo. D. Palpo labial interno. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Anatomía: Musculatura del borde del manto dispuesta en haces que confluyen para unirse sobre la inserción en la concha. Borde libre del manto con protuberancias muy bajas, sin llegar a constituirse en papilas. Palpo labial externo ensanchado hacia la extremidad, con 16 surcos ciliares; palpo labial interno con 16 surcos ciliados. Crías de hasta 3 mm alojadas en las branquias. Branquias externas cubriendo un poco menos de la mitad de la branquia interna. Sifones con escasa o nula pigmentación, algo más marcada en la unión entre ambos Sifón exhalante de borde liso, sifón inhalante con alrededor de 15 tentáculos de 0,1-0,2 mm dispuestos en un solo verticilo.

Discusión: *Cyanocyclus fortis* fue sinonimizada con *C. paranensis* por Parodiz & Hennings (1965). Consideramos que *C. fortis* se distingue de las demás especies de *Cyanocyclus* por su contorno triangular alto y la solidez de sus valvas. Figueiras (1965a) dice que está estrechamente relacionada con *C. felipponei*, sin embargo consideramos que es la especie más parecida a *C. paranensis*, particularmente en la robustez de las valvas y el contorno alto de la concha. *Cyanocyclus fortis* fue encontrada en el río Uruguay (Nuevo Berlín) viviendo en simpatria con *C.*

limosa y en la desembocadura del Aº Yaguareté en el río Uruguay con *C. exquisita*, *C. limosa*, *C. paranensis* y *C. undulata*.

2.3.6 *Cyanocyclus guahybensis* (Marshall, 1927)

Figuras 2.7, 2.8, 2.9, Láminas 2.8 y 2.9

Designación original: *Corbicula (Cyanocyclus) guahybensis* Marshall, 1927

Localidad tipo: Río Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil

Material estudiado: Fotografía del holotipo de *Corbicula (Cyanocyclus) guahybensis* (USNM 171426) y *Corbicula (Cyanocyclus) iheringi* (USNM 171423); FZB 24269, 34449, 34514; MNRJ 16157; MNHNM 4014



Figura 2.7. Holotipo de *Corbicula (Cyanocyclus) guahybensis*, USNM 171426 (Fotografía tomada de Simone 2006).

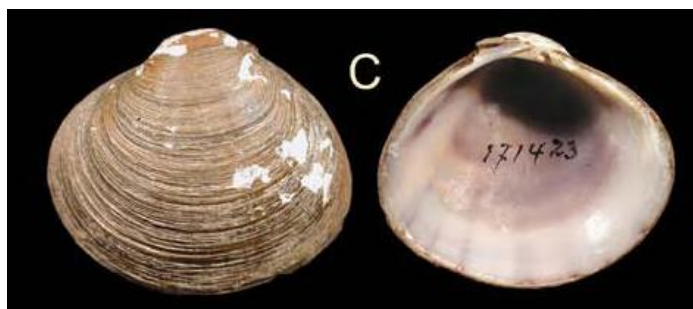


Figura 2.8. Holotipo de *Corbicula (Cyanocyclus) iheringi* (Fotografía tomada de Simone 2006).

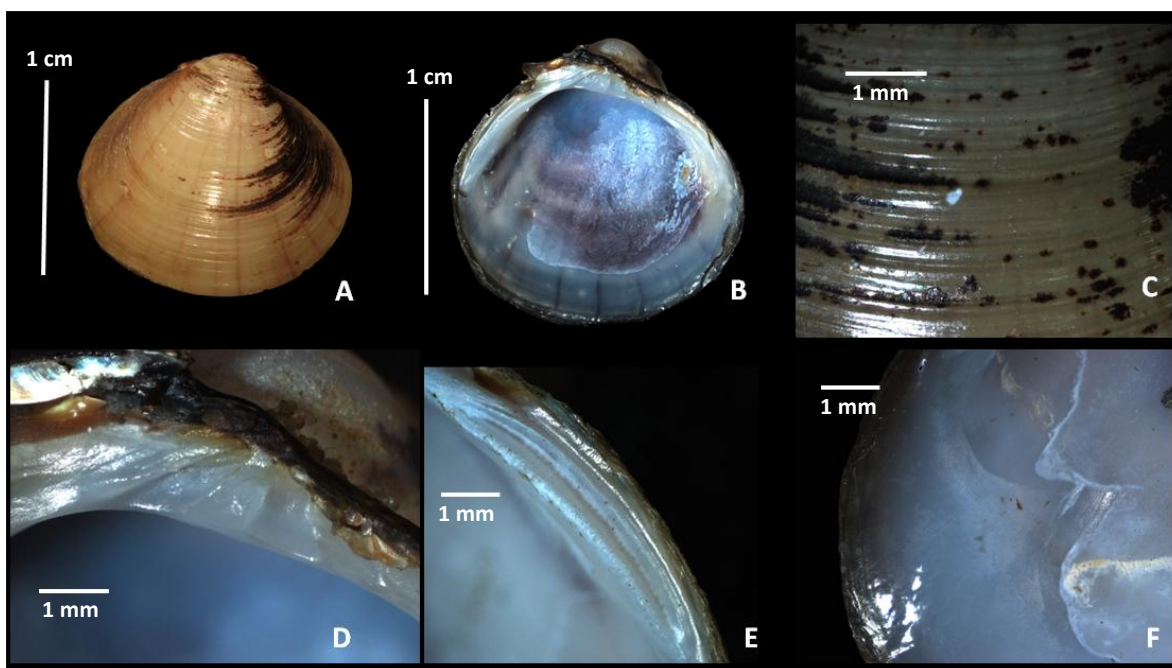


Lámina 2.8. Morfología de las valvas de *Cyanocyclus guahybensis*. A. Valva derecha, vista externa. B. Valva izquierda, vista interna. C. Escultura de la superficie externa y periostraco. D. Dientes cardinales de la valva izquierda. E. Dientes laterales de la valva derecha. F. Seno paleal de la valva izquierda. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Valvas: Concha pequeña a mediana, longitud máxima observada: 24,19 mm, aunque raramente supera los 20 mm. Concha bastante inflada ($Ci = 0,699 \pm 0,038$) de forma subcircular baja ovalada hasta algo alta (Figura 2.9), levemente inequilateral, porción posterior de las valvas algo más breve, no frágil. Margen dorsal con un ángulo marcado bajo el umbo, margen anterior breve, uniformemente curvo, margen posterior sub recto, margen ventral amplio, suavemente curvo. Ligamento corto, poco pronunciado. Umbos moderadamente inflados, bien visibles sobre el borde dorsal en vista interna. Periostraco brillante. Superficie externa con estrías conmarginales de grosor variable, irregularmente distribuidas, color verde amarillento, algo más oscuro en la porción media de la superficie externa. Cuando presentes, las líneas radiales son numerosas. Charnela: en ambas

valvas los dientes laterales débilmente crenulados y los cardinales anterior y posterior son pequeños o apenas distinguibles. Línea paleal bien marcada, paralela al borde, con seno poco profundo y agudo o redondeado. Impresiones musculares poco marcadas. Color interno violáceo, algo blanquecino en algunos ejemplares.

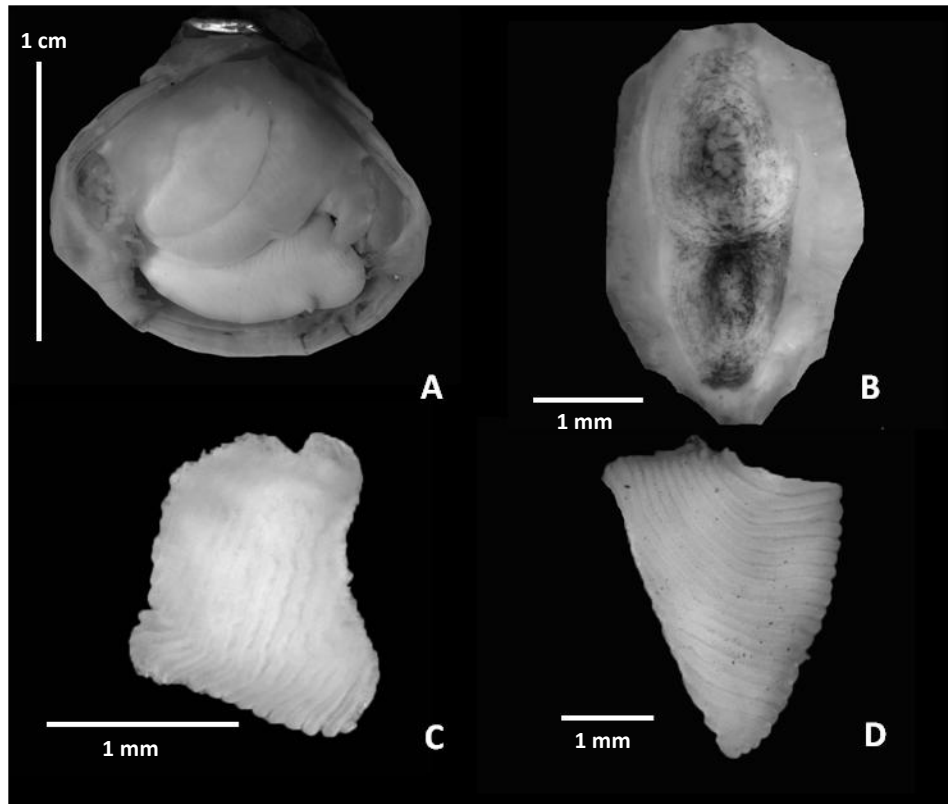


Lámina 2.9. Anatomía de *Cyanocyclas guahybensis*. A. Vista general del animal B. Sifones C. Palpo labial externo D. Palpo labial interno. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Anatomía: Musculatura del lóbulo externo del borde del manto dispuesta en haces que se unen sobre la inserción en la concha. Borde libre del manto con protuberancias a modo de papilas en el área del sifón inhalante. Palpo labial externo trapezoidal, con entre 15 y 17 surcos ciliares. Palpo labial interno lanceolado, con entre 15 y 17 surcos ciliares. Branquias externas cubriendo la mitad de la branquia interna. Sifón inhalante escasamente pigmentado, el exhalante solo posee pigmentación en la base del verticilo de tentáculos. Sifón exhalante sin tentáculos. Sifón inhalante con entre 17 y 19 tentáculos de 0,1-0,2 mm dispuestos en un solo verticilo.

Discusión: *Cyanocyclus guahybensis* fue sinonimizada con *C. limosa* por Parodiz & Hennings (1965). Esta especie presenta amplia variación en el contorno de las valvas (Figura 2.9) en la que queda incluida la otra especie descrita para el río Guaíba *Cyanocyclus iheringi* que sería sinónimo junior. Como señala Marshall (1924), *Cyanocyclus guahybensis* es similar a *C. limosa*, de la que se separa consistentemente por su menor talla máxima, contorno algo más alargado y mayor convexidad. Mansur *et al.* (1991) y Mansur & Pereira (2006) describen morfológicamente *C. guahybensis* bajo el nombre de *Neocorbicula limosa* o *Cyanocyclus limosa* respectivamente.

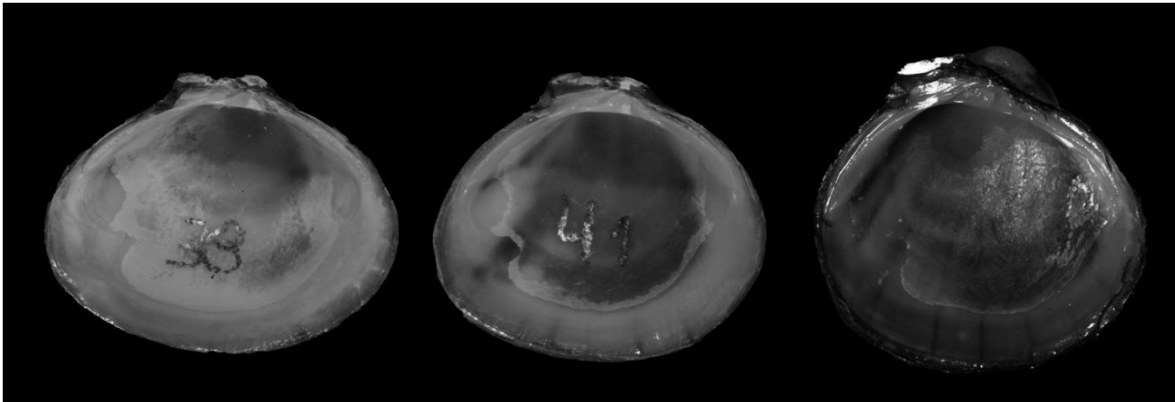


Figura 9. Variación del contorno (vista interna) de las valvas en *C. guahybensis*. Ejemplares de Praia do Veludo, Río Guaíba, Río Grande do Sul, Brasil.

2.3.7 *Cyanocyclus paranensis* (d'Orbigny, 1835)

Figuras 2.10 y 2.11, Lámina 2.10

Designación original: *Cyclas (Cyrena) paranacensis* d'Orbigny, 1835

Localidad tipo: Río Paraná, entre Buenos Aires y aguas abajo de la ciudad de Corrientes

Material estudiado: Dibujo de *Cyclas paranensis* d'Orbigny 1846; Fotografía de los sintipos de *C. oleana* (USNM 109261); FZB 24268; MFA 99, 2825; MLP 5795, 6673; MNHNM 19923

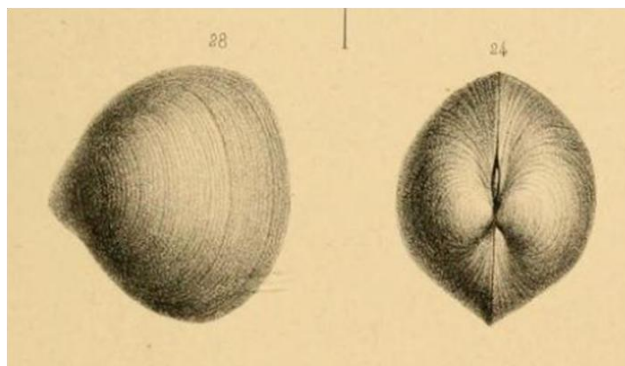


Figura 2.10. Dibujos de *Cyanocyclus paranensis*, tomado de d'Orbigny 1846.

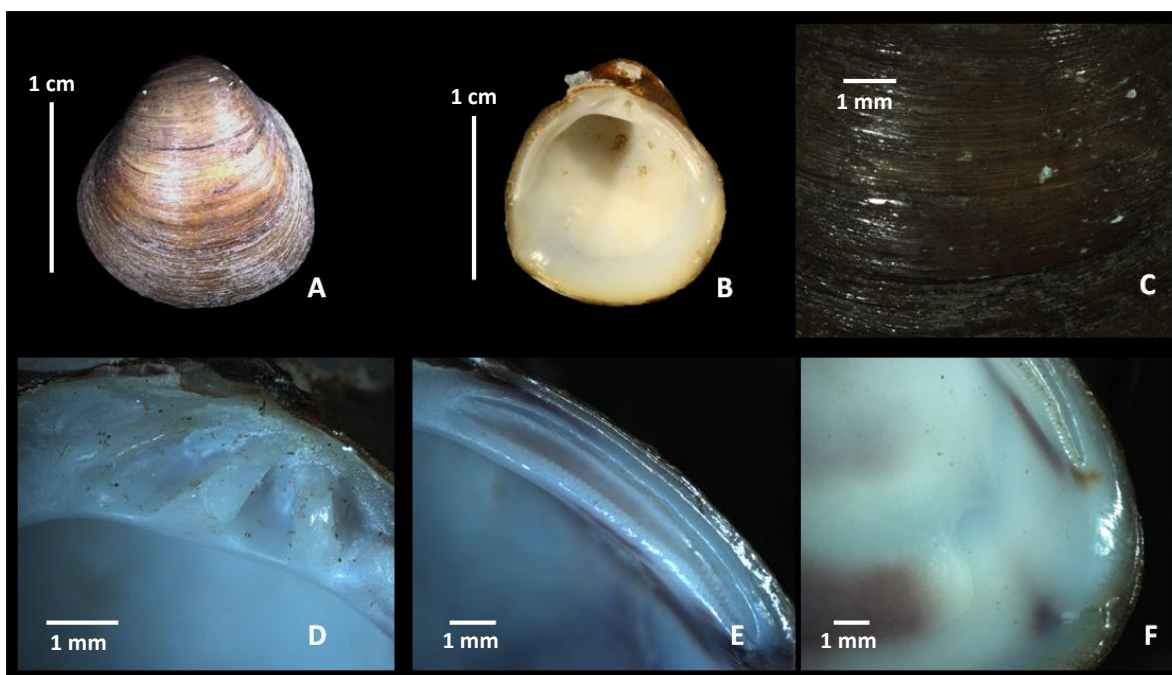


Lámina 2.10. Morfología de las valvas de *Cyanocyclus paranensis*. A. Valva izquierda, vista externa. B. Valva izquierda, vista interna. C. Escultura de la superficie externa y periostraco. D. Dientes cardinales izquierdos. E. Dientes laterales derechos posteriores. F. Seno paleal de la valva derecha. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Descripción: Especie de talla mediana a pequeña, longitud máxima observada: 22,26 mm. Concha triangular alta a muy alta (Figura 2.11), sólida, inequilateral, inflada ($Ci = 0,774 \pm 0,060$). Borde dorsal muy curvo, algo anguloso en el centro. Márgenes anterior y ventral redondeados, amplios. Margen posterior suavemente curvo con un ángulo algo marcado en el punto de unión con el margen ventral. Ligamento corto, pronunciado. Umbos anchos, muy prominentes e inflados, francamente dirigidos hacia adelante. Periostraco casi opaco, con lamelas muy bajas y apretadas. Superficie externa de las valvas con estriaciones conmarginales muy bajas y finas. Periostraco de

color verde oliva claro, a veces amarillento, muy pocos ejemplares con escasas líneas de color radiales, oscuras. Charnela y placa charnelar sólidas. En ambas valvas tanto los dientes laterales anteriores como los posteriores son largos y alcanzan la mitad de la altura de cada valva, todos fuertemente crenulados. Dientes cardinales bien desarrollados. Línea paleal bien marcada, paralela al borde ventral con seno paleal redondeado, poco profundo. Impresiones musculares suavemente marcadas. Color de la superficie interna de las valvas, blanco.

Anatomía: Sólo se pudo estudiar un ejemplar colectado en 1961 por lo que las características aquí expuestas se consideran preliminares. Musculatura del lóbulo externo del borde del manto dispuesta en haces que se entrecruzan. Palpo labial externo de forma trapezoide, con 20 surcos ciliares. Palpo labial interno con 16 surcos ciliares. Branquias externas cubriendo la mitad de la branquia interna, a veces reteniendo crías de hasta tres milímetros. Sifones sin pigmentación. No fue posible observar tentáculos en el sifón inhalante.

Discusión: *C. paranensis* resulta fácilmente identificable entre las especies de *Cyanocyclus* por la solidez de su conchilla, el contorno triangular muy alto y la proyección anterior de los umbos, que son muy inflados. Si bien la grafía original del epíteto específico es *paranacensis* el mismo autor de la especie en un trabajo posterior (d' Orbigny 1846) refiere a *C. paranacensis* como *C. paranensis*, nombre ampliamente difundido. Simone (2006) vuelve a usar el epíteto original. Siguiendo el artículo 32.5 del Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (Comisión Internacional de Nomenclatura Zoológica 1999) se considera *paranensis* una corrección válida. *Cyanocyclus paranensis* fue encontrada en la desembocadura del Aº Yaguareté en el río Uruguay viviendo en simpatria con *C. exquisita*, *C. fortis*, *C. limosa* y *C. undulata*.



Figura 2.11. Variación del contorno (vista interna) de las valvas de *C. paranensis*. Ejemplares de Laguna Setúbal, Santa Fé, Argentina.

2.3.8 *Cyanocyclus simplex* (Marshall, 1927)

Figura 2.12, Láminas 2.11 y 2.12

Designación original: *Corbicula (Cyanocyclus) simplex* Marshall, 1927

Localidad tipo: Arroyos en el departamento de Colonia, Uruguay

Material estudiado: Fotografía del holotipo de *Corbicula (Cyanocyclus) simplex* (USNM 365385); MLP 4428-2, 5482, 6674, 9507; MNHNM 5177



Figura 2.12. Holotipo de *Cyanocyclus simplex* USNM 365385.

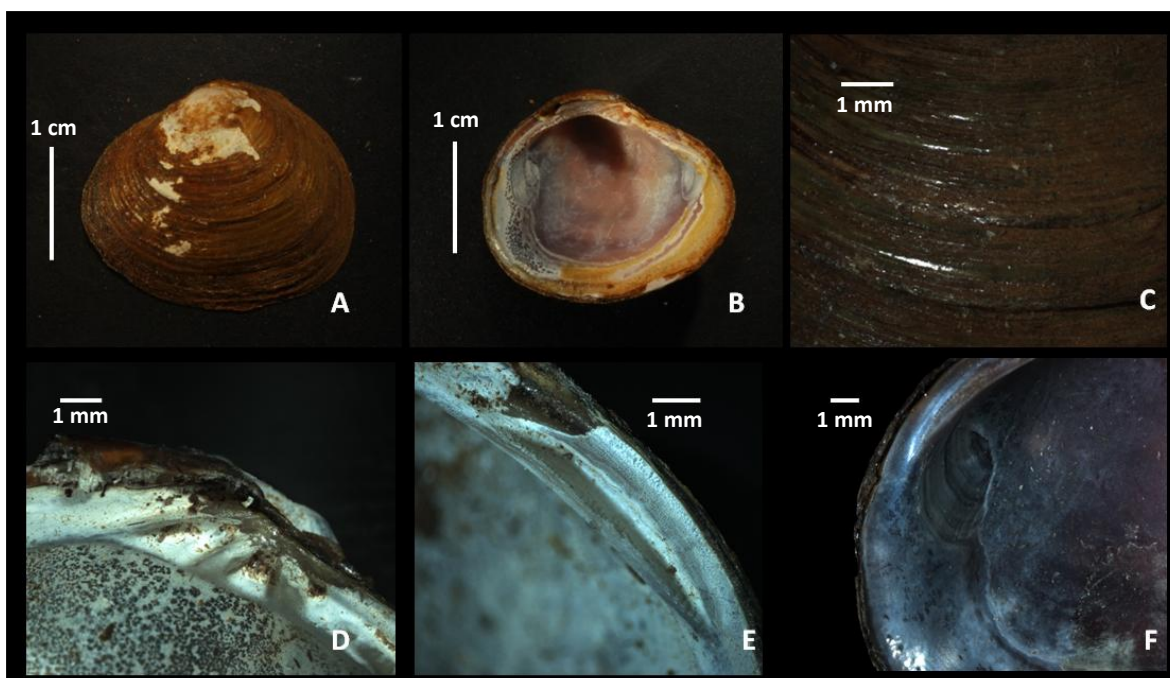


Lámina 2.11. Morfología de las valvas de *Cyanocyclus simplex*. A. Valva izquierda, vista externa. B. Valva izquierda, vista interna. C. Escultura de la superficie externa y periostraco. D. Dientes cardinales izquierdos. E. Dientes laterales derechos. F. Seno paleal, valva izquierda. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Descripción: Especie de tamaño mediano, longitud máxima observada: 26,53 mm. Concha ovalada, inequilateral, más alta y algo truncada en el extremo posterior, moderadamente inflada ($Ci= 0,650 \pm 0,050$), de fragilidad moderada. Margen anterior breve, muy curvo; margen ventral amplio, suavemente curvo; margen posterior casi recto. Ligamento largo, poco pronunciado. Umbos bajos, amplios, poco inflados, usualmente erosionados. Superficie de la concha color castaño oscuro, sin líneas radiales visibles con excepción de los individuos juveniles. Estrías con marginales finas, bien marcadas, especialmente en la parte anterior, irregularmente espaciadas. Charnela: En ambas valvas los dientes laterales anteriores son largos con extremo distal curvado, mientras que los dientes laterales posteriores son cortos y muy separados de los cardinales, los que a su vez están muy separados entre sí. Línea paleal bien marcada, paralela al borde ventral con seno paleal apenas marcado como una escotadura amplia muy poco profundo. Impresiones de los músculos aductores débilmente marcadas. Superficie interna de las valvas color violeta, con áreas rosadas en algunos ejemplares, con parte externa de la línea paleal blanquecina.

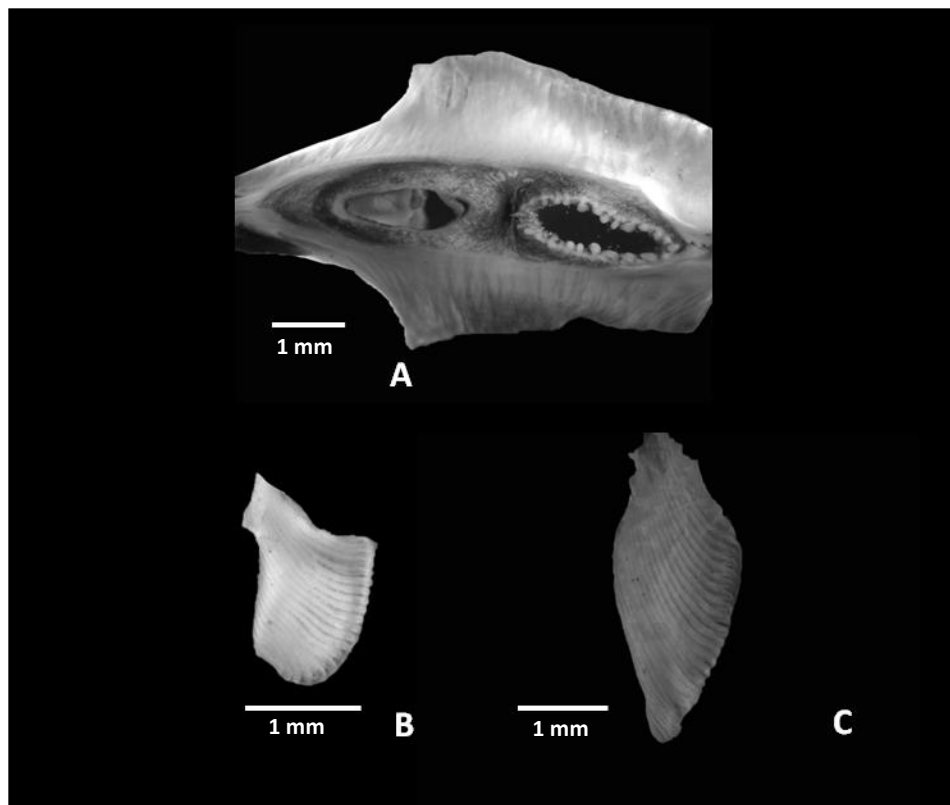


Lámina 2.12. Anatomía de *Cyanocyclas simplex*. A. Sifones. B. Palpo labial externo. C. Palpo labial interno. Las barras representan 1 mm.

Anatomía: Sólo se pudo estudiar en cuatro ejemplares, dos colectados en 1968 y dos en 1986, por lo que las características aquí expuestas se consideran preliminares. Musculatura del lóbulo externo del borde del manto dispuesta en haces que se entrecruzan. Palpo labial externo rectangular, con entre 16 y 18 surcos ciliares. Palpo labial interno triangular y alargado, con 23 surcos ciliares. Crías de hasta 3,5 mm. Branquia externa cubriendo la mitad de la branquia interna. Sifones cortos con pigmentación más intensa en la unión entre ambos. Sifón exhalante sin tentáculos. Sifón inhalante con alrededor de 25 tentáculos de menos de 0,1 mm de longitud, dispuestos en un solo verticilo.

Discusión: *Cyanocyclus simplex* fue considerada sinónimo de *C. limosa* por Parodiz & Hennings (1965). *C. simplex* es claramente identificable por su contorno oval alargado, inequilateral, concha inflada con los umbos siempre muy erosionados. Además, un carácter destacado es el seno paleal muy poco profundo, similar a lo observado en especies de *Corbicula*. Esta especie habita cursos de agua de relativamente alta energía, lo que podría ser determinante en parte de su peculiar morfología y el escaso desarrollo en longitud de los sifones que se manifestaría en el poco pronunciado seno paleal.

2.3.9 *Cyanocyclus undulata* (Marshall, 1927)

Figura 2.13, Láminas 2.13 y 2.14

Designación original: *Corbicula (Cyanocyclus) undulata* Marshall, 1927

Localidad tipo: Bahía de Colonia, Río de la Plata, Uruguay

Material estudiado: Fotografía del holotipo de *Corbicula (Cyanocyclus) undulata* (USNM 365392); MACN 9378-19, 11328, 21497; MNHNM 2953, 3720, 5937, 6147, 1924



Figura 2.13. Holotipo de *Cyanocyclus undulata* USNM 365392.

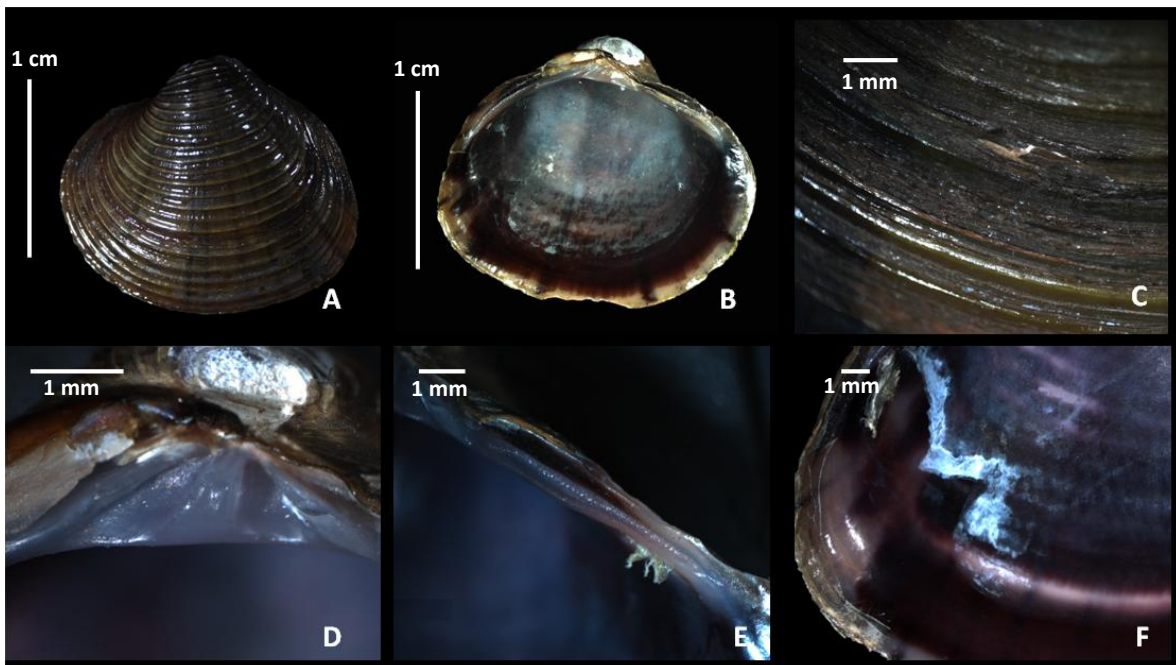


Lámina 2.13. Morfología de las valvas de *Cyanocyclus undulata*. A. Valva izquierda, vista externa. B. Valva izquierda, vista interna. C. Escultura de la superficie externa y periostraco. D. Dientes cardinales de la valva izquierda. E. Dientes laterales de la valva derecha. F. Seno paleal de la valva izquierda. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Descripción: Especie de talla mediana, longitud máxima observada: 23,00 mm. Concha de contorno trigonal, algo inflada ($Ci = 0,682 \pm 0,043$), no frágil, inequilateral, más marcadamente en ejemplares de mayor talla. Margen ventral amplio, suavemente curvo, margen anterior corto, muy curvo. Margen posterior recto, truncado, formando un ángulo en su unión con el margen ventral, margen dorsal curvo en la mitad posterior, subrecto o recto en la mitad anterior. Ligamento corto, fuerte y pronunciado. Umbones inflados, prominentes, claramente visibles en vista interna por

sobre el margen dorsal. Charnela y placa charnelar moderadamente sólida. Valva derecha: dientes laterales anteriores relativamente cortos, sub rectos, paralelos entre sí, el interno con el extremo distal curvado; dientes laterales posteriores cortos, suavemente curvo el interno, de curvatura acentuada el externo, acompañando la curvatura del margen dorsal posterior. En ambas valvas, las crenulaciones de los dientes laterales son bien marcadas. Dientes cardinales con las características del género. Periostraco color verde oliva, con líneas de color radiales numerosas, oscuras a veces anchas, formando bandas deltoides de hasta 4 mm en la base. Estrías con marginales muy marcadas, regularmente espaciadas. Línea paleal bien marcada con seno anguloso y profundo. Impresiones de los músculos aductores casi imperceptibles. Superficie interna de color violeta con áreas blanquecinas, violeta intenso en la parte externa a la línea paleal.

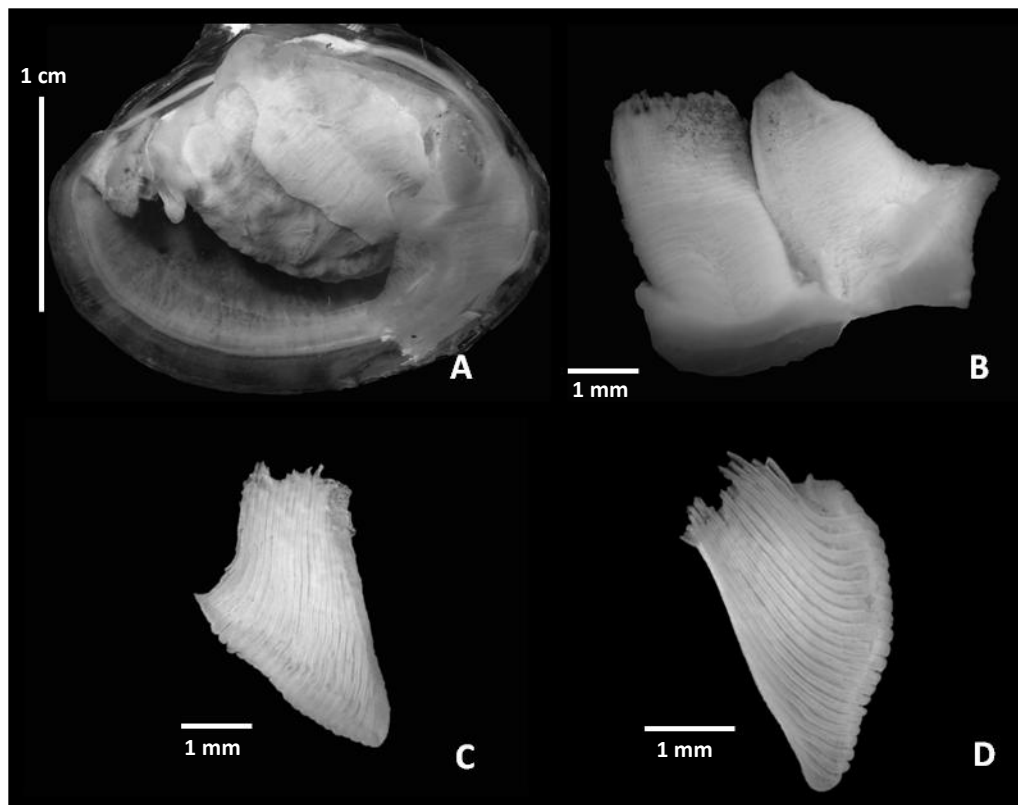


Lámina 2.14. Anatomía de *Cyanocyclus undulata*. A. Vista general del animal. B. Sifones en vista lateral. C. Palpo labial externo. D. Palpo labial interno. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Anatomía: Musculatura del lóbulo externo del borde del manto dispuesta en haces que se entrecruzan. Palpo labial externo de forma trapezoide, con 23 surcos ciliares. Palpo labial interno en forma de trapecio, posee 20 surcos ciliares. Branquias externas cubriendo 2/5 de la branquia interna, que puede retener crías de hasta 3,5 mm. Sifones muy largos con escasa pigmentación.

Sifón exhalante sin tentáculos. Sifón inhalante con aproximadamente 15 tentáculos de 0,1 mm dispuestos en un solo verticilo.

Discusión: *Cyanocyclus undulata* es similar en contorno a *C. exquisita*, y se diferencia claramente del resto de las especies del género por su contorno trigonal alto, por la presencia del umbo muy inflado y prominente, y por la escultura de la superficie externa de la concha con estrías conmarginales muy marcadas y regularmente espaciadas. Su morfología la asemeja externamente a una especie de *Corbicula*, de la que se separa fácilmente por la presencia de un seno paleal bien marcado y profundo. Esta especie no fue incluida en la revisión de Parodiz & Hennings (1965) pero posteriormente fue sinonimizada con *C. limosa* por Figueiras (1965b). En el presente trabajo, *Cyanocyclus undulata* fue encontrada en la desembocadura del Aº Yaguareté en el río Uruguay viviendo en simpatría con *C. exquisita*, *C. fortis*, *C. limosa* y *C. paranensis*.

2.3.10 *Corbicula* Megerle von Muhlfield, 1811

Especie tipo: *Tellina fluminalis* Müller, 1774

Diagnosís: Especies de tamaño mediano a grande entre dos y cinco centímetros de talla máxima. Concha de contorno triangular. Charnela con dentición heterodonta. Valva derecha con dos dientes laterales anteriores y dos posteriores que se extienden desde debajo del umbo hasta cubrir las impresiones de los músculos aductores. Valva izquierda con un diente lateral anterior y uno posterior. Todos los dientes laterales presentan crenulación en sus caras internas. Tres dientes cardinales en cada valva el anterior de la valva derecha y el posterior de la izquierda son generalmente más pequeños. Periostraco brillante, no elevado en lamelas; superficie de la concha con estrías conmarginales generalmente bien marcadas y regularmente espaciadas. Sifones cortos, ambos con tentáculos, en el inhalante, dispuestos en más de un verticilo. Línea paleal íntegra, con una muy leve escotadura que corresponde al seno paleal.

2.3.11 *Corbicula fluminalis* (Müller, 1774)

Lámina 2.15

Designación original: *Tellina fluminalis* Müller, 1774

Material estudiado: MNHNM 19925, 19926

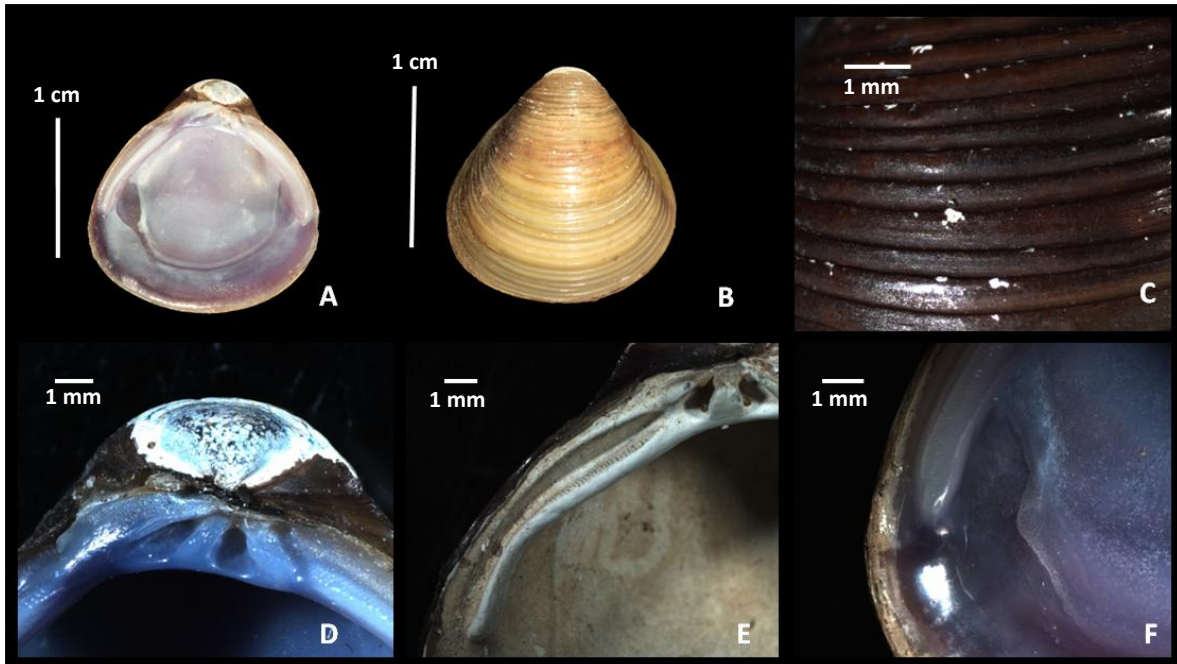


Lámina 2.15. Morfología de las valvas de *Corbicula fluminalis*. A. Valva izquierda, vista externa. B. Valva izquierda, vista interna. C. Escultura de la superficie externa y periostraco. D. Dientes laterales anteriores de la valva derecha. E. Dientes cardinales. F. Detalle de la escotadura correspondiente al seno paleal. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Descripción: Especie de talla pequeña, longitud máxima observada: 19,52 mm Concha triangular alta, casi equilateral, muy sólida, inflada ($Ci = 0,782 \pm 0,025$). Márgenes redondeados, el posterior algo proyectado. Ligamento externo, corto pero pronunciado. Umbos inflados y prominentes. Periostraco castaño claro a oscuro hacia los umbones. Estrías bien marcadas, ubicadas a una distancia menor a un milímetro una de otras. Charnela: en ambas valvas la charnela es muy curvada y los dientes laterales anteriores y posteriores del mismo largo. Dientes cardinales cortos y robustos. Línea paleal bien marcada e íntegra, paralela al borde ventral. Impresiones musculares levemente marcadas, ambas circulares. Color interno violeta pálido.

Anatomía: El estado de conservación de las muestras colectadas no permitió el estudio anatómico de esta especie. Según Martins *et al.* (2006) los sifones no poseen pigmentación en su superficie externa, los tentáculos del sifón inhalante están organizados en tres o cuatro verticilos, con el verticilo externo formado por tentáculos más cortos y los más internos con tentáculos de mayor tamaño; la branquia externa cubre la mitad de la superficie de la branquia interna.

Discusión: *Corbicula fluminalis* se diferencia claramente de las otras especies exóticas de *Corbicula* presentes en América del Sur por su mayor altura relativa e índice de convexidad, la curvatura de su charnela más acentuada, así como la robustez de sus dientes cardinales.

2.3.12 *Corbicula fluminea* (Müller, 1774)

Láminas 2.16 y 2.17

Designación original: *Tellina fluminea* Müller, 1774

Material estudiado: MFA 1425, 1754, 3123; MNHNM 19927 - 19934; MNRJ 8584, 9830

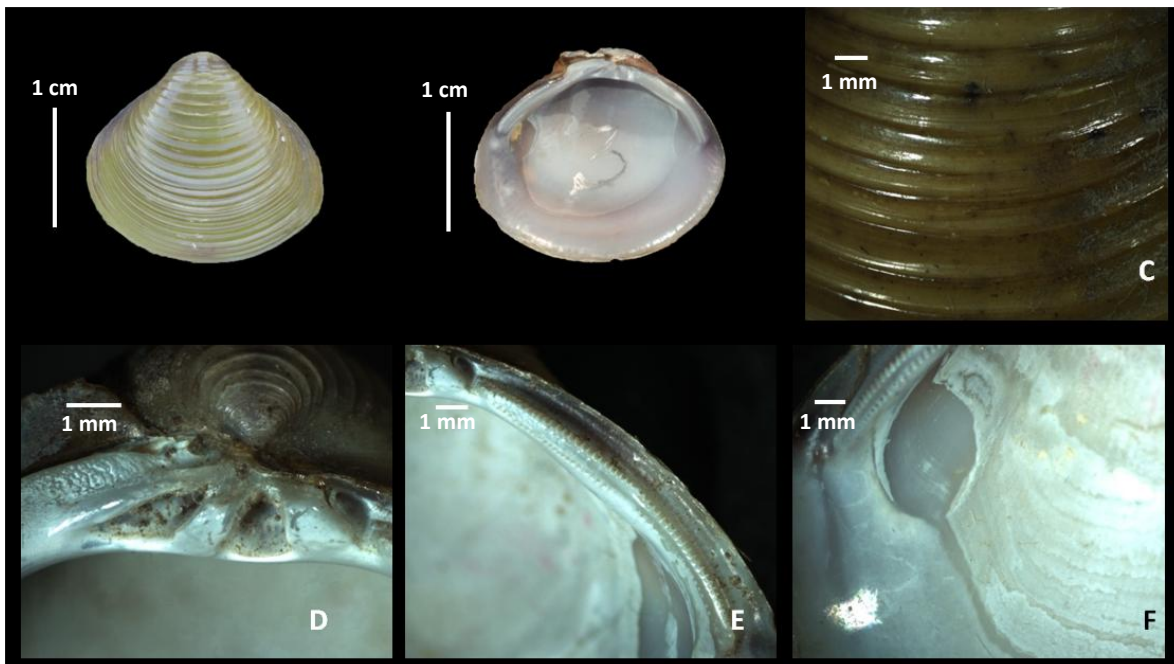


Lámina 2.16. Morfología de las valvas de *Corbicula fluminea*. A. Valva izquierda, vista externa. B. Valva izquierda, vista interna. C. Escultura de la superficie externa y periostraco. D. Dientes cardinales de la valva izquierda. E. Diente lateral posterior izquierdo. F. Detalle de la escotadura correspondiente al seno paleal. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Descripción: *C. fluminea* es la especie de *Corbicula* de mayor tamaño, longitud máxima observada: 52,71 mm. Concha triangular alta, inequilateral, con rostro posterior pronunciado en grado variable, más acentuado en los ejemplares de mayor talla. Concha gruesa, moderadamente inflada ($Ci = 0,692 \pm 0,036$). Margen anterior marcadamente curvo, insensiblemente continuo con el margen ventral que es amplio y de curvatura más acentuada en la mitad anterior. Margen posterior breve, muy curvo. Margen posterior proyectado en un rostro que se acentúa en ejemplares adultos. Ligamento corto y pronunciado. Umbos prominentes, inflados, destacados de la superficie de la concha. Periostraco liso y brillante, de coloración variable amarillento, verdoso, castaño e incluso negro. Estrías conmarginales bien marcadas y regularmente espaciadas (más de un milímetro una de otra). Charnela: en ambas valvas los dientes laterales anteriores presentan una pequeña curvatura en la porción sobre la impresión de los músculos aductores. Dientes laterales posteriores rectos, con crenulación bien marcada. Dientes cardinales con las características del género. Línea paleal bien marcada, sin seno paleal marcado, en su lugar, una muy débil inflexión de la línea paleal que corresponde a la inserción de los músculos retractores de los sifones, que son muy cortos. Impresiones musculares muy marcadas. Superficie interna de color variable, la parte interior de la línea paleal es blanca y la parte externa es violácea o blanca.

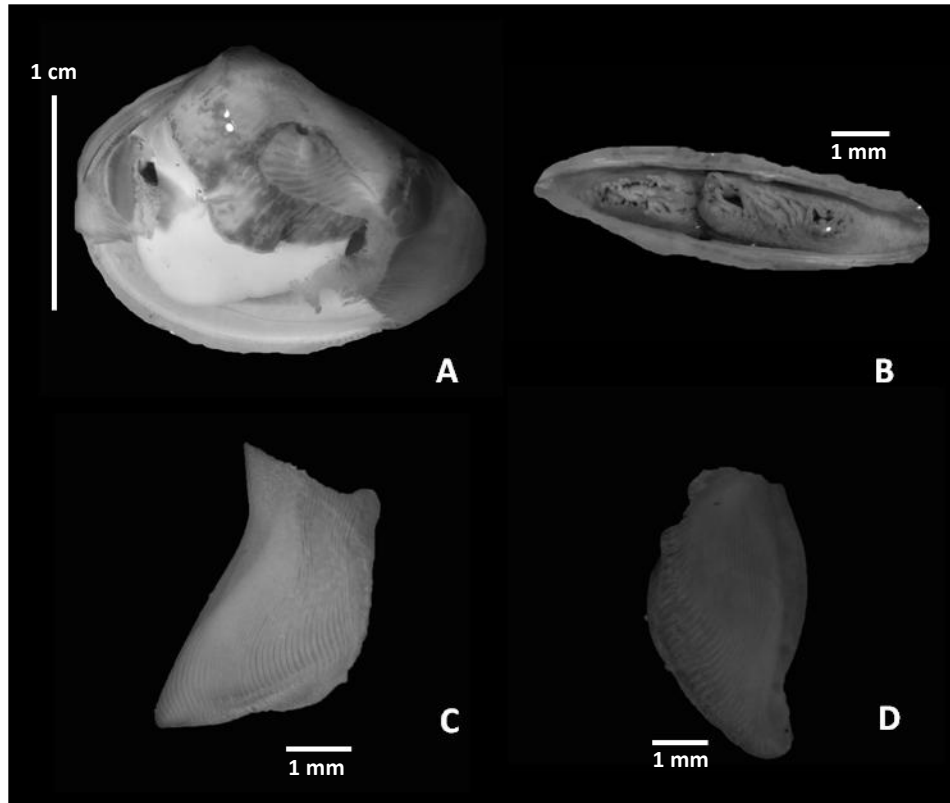


Lámina 2.17. Anatomía de *Corbicula fluminea*. A. Vista general del animal. B. Sifones C. Palpo labial externo. D. Palpo labial interno. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Anatomía: Musculatura del borde del manto dispuesta en haces que se entrecruzan. Borde del manto cubierto de papilas en toda su extensión, que son más grandes hacia la parte posterior. Palpo labial externo con 29 surcos ciliares; palpo labial interno con 30 surcos ciliares. Branquias externas cubriendo la mitad a $\frac{2}{5}$ de la superficie de la branquia interna. Ambos sifones presentan abundante pigmentación. Sifón exhalante e inhalante con dos verticilos de tentáculos, el externo más pequeño.

Discusión: Especie de fácil identificación dentro del género por su rostro proyectado, particularmente en ejemplares de gran talla, y sus estrías bien marcadas y espaciadas más de un milímetro una de otra.

2.3.13 *Corbicula largillierti* (Philippi, 1844)

Láminas 2.18 y 2.19

Designación original: *Cyrena largillierti* Philippi, 1844

Material estudiado: MNHNM 19936 - 19941

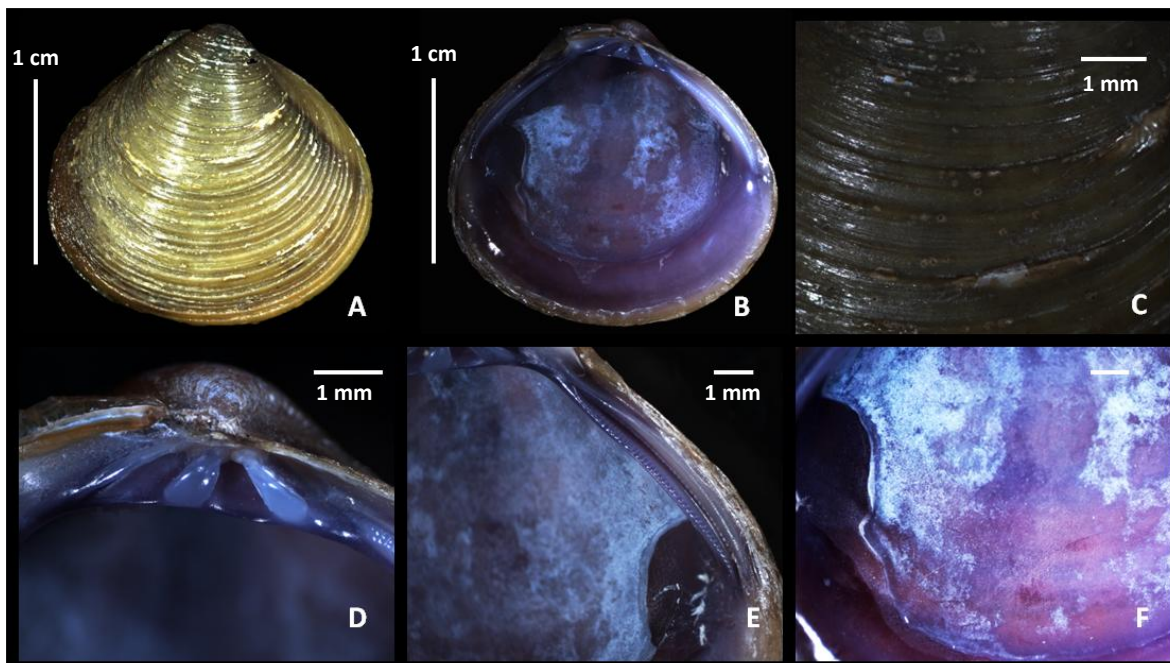


Lámina 2.18. Morfología de las valvas de *Corbicula largillierti*. A. Valva izquierda, vista externa. B. Valva izquierda, vista interna. C. Escultura de la superficie externa y periostraco. D. Dientes cardinales de la valva izquierda. E. Dientes laterales de la valva derecha. F. Detalle de la escotadura correspondiente al seno paleal en la valva izquierda. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Descripción: Especie de talla pequeña a mediana, longitud máxima observada: 25,91 mm. Concha de contorno variable, desde oval a oval trigona, equilátera, no inflada ($Ci = 0,661 \pm 0,040$), algo frágil. Margen dorsal corto en los ejemplares de contorno trigonal, más extenso en ejemplares de contorno oval alto. Margen anterior curvo, insensiblemente unido al margen ventral, que es amplio y uniformemente curvo. Margen posterior levemente proyectado. Ligamento corto, pronunciado. Umbos pequeños, bajos y no prominentes, poco destacados por sobre la línea del margen dorsal en vista interna. Estrías conmarginales finas, uniformemente espaciadas. Charnela: en ambas valvas los dientes laterales anteriores y posteriores son del mismo largo, con crenulación bien marcada. Los dientes cardinales son pequeños y delicados. Línea paleal, paralela

al borde ventral, sin seno paleal, que está sólo representado por una leve escotadura. Impresiones musculares bien marcadas. Superficie interna de color violeta intenso, con áreas blanquecinas en algunos ejemplares. Periostraco color castaño claro o verde amarillento, pocos ejemplares en algunas poblaciones presentan líneas radiales oscuras.

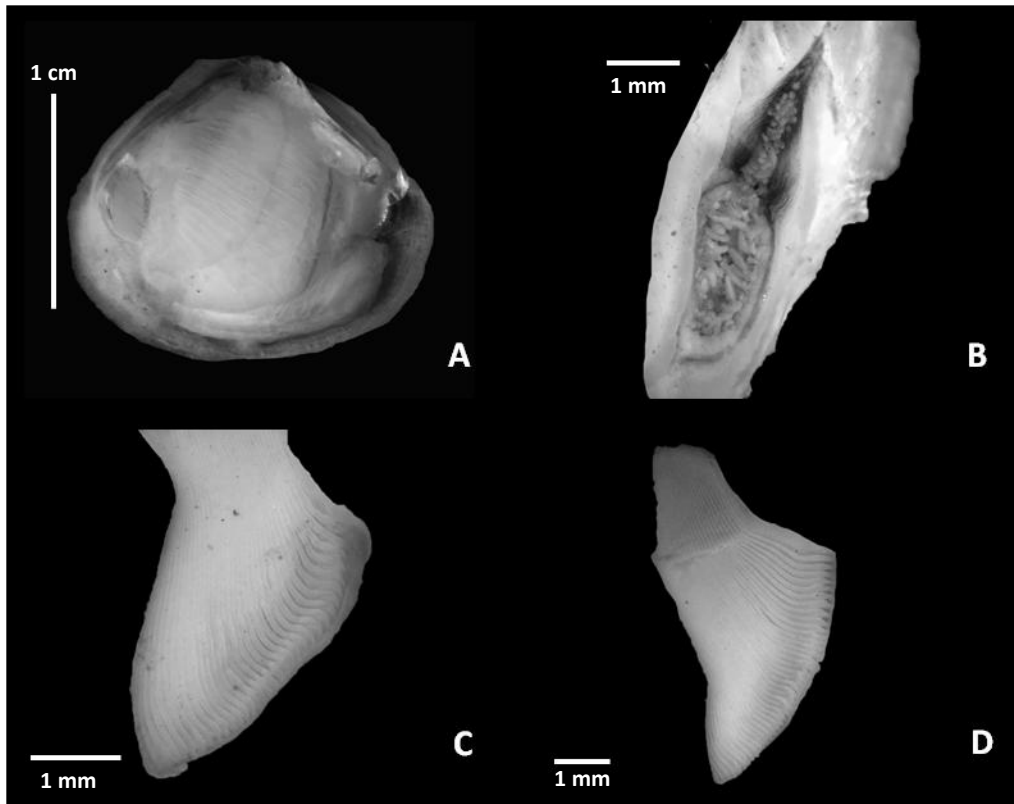


Lámina 2.19. Anatomía de *Corbicula largillierti*. A. Vista general del animal. B. Sifones. C. Palpo labial interno. D. Palpo labial externo. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Anatomía: Musculatura del borde del manto dispuesta en haces que se entrecruzan. Borde del manto completamente cubierto de papilas que son más grandes hacia la porción posterior. Palpo labial externo trapezoidal con 33 surcos ciliares. Palpo labial interno lanceolado, con 40 surcos ciliares. Branquias externas cubriendo 1/3 de la branquia interna. Sifón exhalante levemente pigmentado, sifón inhalante sin pigmentación, ambos con tres verticilos de tentáculos. Los tentáculos del sifón inhalante son más largos que los del sifón exhalante.

Discusión: *Corbicula largillierti* se diferencia de las restantes especies del género introducidas en América del Sur por el contorno oval trígono u oval de las valvas (carácter que según Ituarte (1994)

varía de acuerdo a las condiciones de la hidrodinámica y sustrato del hábitat que ocupa), la estriación de la superficie de las valvas fina y regularmente distribuida, y por poseer dientes cardinales pequeños. La concha menos sólida y falta de proyección del extremo posterior la diferencia claramente de *C. fluminea*.

2.3.14 *Corbicula* sp.

Láminas 2.20 y 2.21

Material estudiado: MNHNM 19942-19944

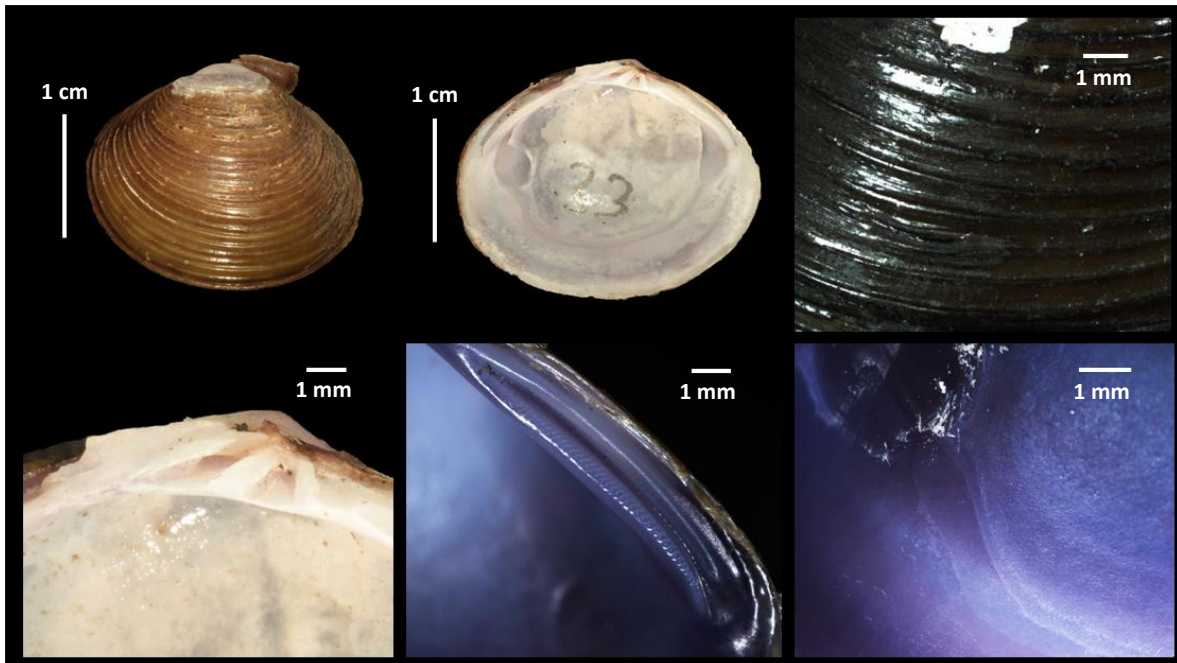


Lámina 2.20. Morfología de las valvas de *Corbicula* sp. A. Valva izquierda, vista externa. B. Valva izquierda, vista interna. C. Escultura de la superficie externa y periostraco. D. Dientes cardinales de la valva izquierda. E. Dientes laterales de la valva derecha. F. Detalle de la escotadura correspondiente al seno paleal en la valva izquierda. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Descripción: Especie de talla mediana a grande, longitud máxima observada: 45,58 mm Concha de contorno acentuadamente oval, equilateral, gruesa, moderadamente inflada ($Ci = 0,672 \pm 0,021$). Márgenes dorsal y ventral ampliamente curvos, margen posterior algo agudo, el posterior más amplio. Ligamento largo y saliente. Umbos, inflados aunque sin llegar a sobresalir del contorno de la concha. Periostraco de color castaño amarillento. Estrías conmarginales regularmente espaciadas un milímetro una de otras. Charnela: en ambas valvas los dientes laterales anteriores

presentan una curva marcada en el tercio distal. Dientes laterales posteriores rectos. Ambos pares de dientes con crenulación marcada. Dientes cardinales bien desarrollados. Línea paleal íntegra, paralela al borde ventral; escotadura paleal muy poco marcada. Impresiones musculares bien marcadas, la posterior casi circular. Superficie interna blanca a veces con leves tonos lilas.

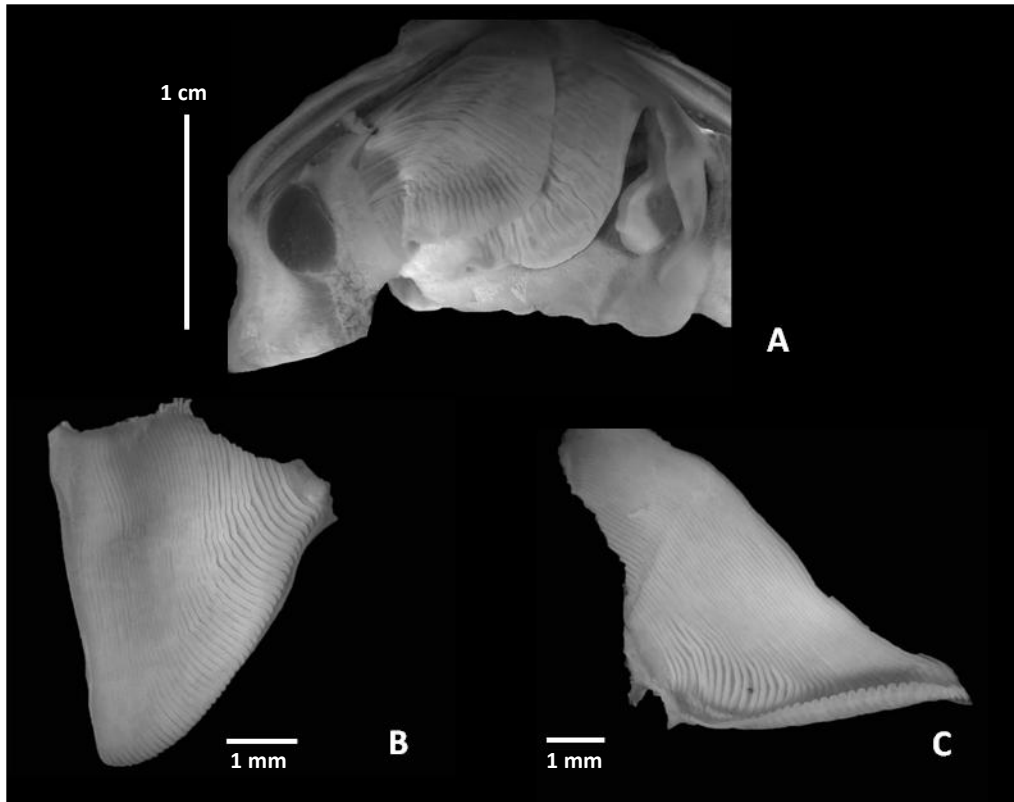


Lámina 2.21. Anatomía de *Corbicula* sp. A. Vista general del animal. B. Palpo labial interno. C. Palpo labial externo. Las barras horizontales representan 1 mm y las verticales 1 cm.

Anatomía: Musculatura del borde del manto dispuesta en haces que se entrecruzan. Borde del manto enteramente cubierto de papilas que son más grandes hacia la porción posterior. Palpo labial externo forma trapezoizal, con 43 surcos ciliares. Palpo labial interno forma lanceolada, con 50 surcos ciliados. Branquias externas cubriendo la mitad de la branquia interna. Sifones sin pigmentación. Ambos sifones poseen tentáculos dispuestos en dos verticilos.

Discusión: La forma acentuadamente ovalada y la distancia entre las estrías conmarginales son características que permiten distinguir esta especie de las otras especies de *Corbicula* presentes en

Uruguay. La primera referencia a esta forma de *Corbicula* para América del Sur fue realizada por Mansur *et al.* (2004). Un morfotipo similar, fue caracterizado para América del Norte por Briton & Morton (1986) como *Corbicula* forma B.

2.4 Comentarios sobre especies nominales de Corbiculidae citadas para Uruguay no estudiadas en la tesis

Se incluye en esta sección información y comentarios sobre una serie de especies de *Cyanocyclus* de las que por insuficiencia de material se ha preferido posponer cualquier decisión taxonómica en este trabajo de tesis.

2.4.1 *Corbicula (Cyanocyclus) circularis* Marshall, 1924

Figura 2.14



Figura 2.14. Holotipo de *Corbicula (Cyanocyclus) circularis* (USNM 347860).

Comentarios taxonómicos: Marshall (1924) distingue esta especie del resto de las descritas por su contorno casi circular, la concha comprimida lateralmente, y la regularidad de la convexidad de la valva. Parodiz & Hennings (1965) incluyen erróneamente esta especie como sinónima de *C. paranensis*. El contorno francamente circular, la compresión lateral y la relativa fragilidad de *Cyanocyclus circularis* constituyen la más clara diferencia con *C. paranensis* por lo que no puede tratarse de un sinónimo. En las colecciones estudiadas no se encontraron lotes de esta especie sino algunos ejemplares de esta forma incluidos en lotes de *C. limosa*.

2.4.2 *Corbicula (Cyanocyclus) compacta* Marshall, 1924

Figura 2.15



Figura 2.15. Holotipo de *Corbicula (Cyanocyclus) compacta* (USNM 349175).

Comentarios taxonómicos: Marshall (1924) señala que “la forma gruesa, compacta, el color rosáceo, y especialmente los muy pequeños dientes laterales posteriores ofrecen fáciles medios de identificación de esta especie”. Parodiz & Hennings (1965) incluyen esta especie en la sinonimia de *C. paranensis* sin embargo, por su contorno, no es claro que se trate de un sinónimo de esta especie.

2.4.3 *Corbicula coloniensis* Pilsbry, 1896

Figura 2.16



Figura 2.16. Holotipo de *Corbicula (Cyanocyclus) coloniensis* (ANSP 69679).

Comentarios taxonómicos: Esta especie fue considerada sinónimo de *C. limosa* por Parodiz & Hennings (1965). Figueiras (1965a) señala que esta especie es de “Forma mayor y más triangular”

que *N. limosa*. Los dientes laterales inusualmente largos y los cardinales ampliamente divergentes”. Estas características pueden deberse al tamaño extremo del ejemplar (32,5 mm). Este nombre fue referido por error por Simone (2006) como *Cyanocyclus colombiensis*.

2.4.4 *Corbicula (Cyanocyclus) delicata* Marshall, 1924

Figura 2.17



Figura 2.17. Sintipos de *Corbicula (Cyanocyclus) delicata* (USNM 347862).

Comentarios taxonómicos: Esta especie fue considerada sinónimo de *C. limosa* por Parodiz & Hennings (1965). El propio autor de la especie dice en su descripción: “Su más cercano pariente es *limosa* Maton, de la cual difiere ligeramente en forma y extremadamente en color.” Parodiz & Hennings (1965) consideran que el nombre debe ser eliminado por encontrarse preocupado por Pilsbry (1907) para una subespecie de *Corbicula nipponensis*.

2.4.5 *Corbicula obsoleta* Deshayes, 1854

Figura 2.18



Figura 2.18. Sintipos de *Corbicula obsoleta* (BMNH 1956.12.3.15-16).

Localidad tipo: Ríos de Uruguay

Comentarios taxonómicos: *Cyanocyclus obsoleta* fue considerada sinónimo de *C. limosa* por Parodiz & Hennings (1965). Las líneas conmarginales bien marcadas y el borde posterior proyectado como un rostro hacen que esta especie se asemeje a las especies de *Cyanocyclus* del norte de Brasil y Guayanas. La localidad tipo es “ríos de la República del Uruguay” pero no se puede descartar que se trate de un error, siendo su localidad de origen Brasil.

2.4.6 *Corbicula (Cyanocyclus) teisseirei* Marshall, 1927

Figura 2.19



Figura 2.19. Holotipo de *Corbicula (Cyanocyclus) teisseirei* (USNM 365382).

Comentarios taxonómicos: Morfotipo comprendido en la variación natural de *C. limosa*. Parodiz & Hennings (1965) la consideran sinónimo de *C. limosa*, mientras que Figueiras (1965a) la vincula erróneamente con *C. simplex*.

2.4.7 *Cyclas (Cyrena) variegata* d'Orbigny, 1835

Figura 2.20



Figura 2.20. Probables sintipos de *Cyclas (Cyrena) variegata* (MNHN 3555).

Comentarios taxonómicos: Morfotipo comprendido en la variación natural de *C. limosa*. El propio autor de la especie la considera sinónimo en un trabajo posterior (d'Orbigny 1846), y así ha sido considerado por autores posteriores: Marshall (1927), Figueiras (1965a), Parodiz & Hennings (1965) Scarabino & Mansur (2007).

2.4.8 *Tellina vivipara* Larrañaga, 1923

Comentarios taxonómicos: Especie descrita en el siglo XIX por el naturalista Dámaso Antonio Larrañaga (1771-1848) pero publicada póstumamente en 1923 junto con el resto de sus manuscritos. Nombrada originalmente como *Tellina vivípara*, la localidad tipo es un río cerca de Canelones. El epíteto específico hace referencia a que el autor encontró entre 8 y 10 ejemplares juveniles dentro de cada individuo adulto. No se publicaron dibujos ni se encontró ejemplar tipo por lo que se considera un *nomen dubium*.

Capítulo III

Morfometría de Corbiculidae de Uruguay

3.1 Introducción

La morfología de las valvas (tamaño, contorno, relaciones entre sus medidas de longitud) es un carácter fundamental en la descripción e identificación de especies de bivalvos. En la literatura regional es común el uso de términos como inflada, alta, gorda, para referirse a la relación entre las medidas lineales (alto, largo y ancho) de los bivalvos dulceacuícolas (ver Figueiras 1965, Castellanos & Landoni 1990). Este conjunto de datos contiene relativamente poca información acerca de la forma y alguna información puede ser ambigua (Zeldich *et al.* 2004), sin embargo tal terminología ha sido incluida en claves de identificación para bivalvos dulceacuícolas (Olazarri 1966, Castellanos & Landoni 1990, Mansur & Pereira 2006) e incluso consideradas como caracteres, en alguna medida diagnósticos, en trabajos taxonómicos sobre el género *Cyanocyclas* (Parodiz & Hennings 1965). A las tradicionales descripciones de las relaciones morfométricas se les ha ido sumando un conjunto de análisis y cálculo de índices que permiten cuantificar el valor de estos caracteres como elementos significativos en la diagnosis, existiendo además una gran variedad de herramientas de software para el análisis y comparación de la geometría de las formas a través de puntos homólogos denominados *landmarks*.

Las especies de Corbiculidae de América del sur han sido estudiadas mediante morfometría lineal por Parodiz & Hennings (1965), Garces *et al.* (1989) e Ituarte (1994), no existiendo antecedentes de estudios de morfología de valvas mediante aplicación de técnicas de estudio de morfometría geométrica.

El objetivo de este capítulo es contribuir a la discriminación de especies y morfotipos de Corbiculidae presentes en Uruguay a partir de estudios de morfometría lineal y geométrica.

Hipótesis: Las especies de Corbiculidae de Uruguay difieren significativamente en sus relaciones morfométricas: largo/alto, ancho/alto, ancho/largo y/o en la relación espacial de la disposición de *landmarks* en sus valvas.

3.2 Metodología

Para el presente estudio se utilizaron muestras de todas las especies de Corbiculidae presentes en Uruguay y muestras provenientes de Argentina, Brasil y Portugal (Tabla 3.1). Las muestras fueron estudiadas con dos aproximaciones: morfometría lineal y morfometría geométrica.

Tabla 3.1. Material utilizado para el estudio de morfometría lineal y geométrica.

Morfotipo	Localidad	n Morfometría lineal	n Morfometría geométrica
<i>Corbicula fluminalis</i>	Aº de las Vacas, Pº del Merino (Colonia, Uruguay)	100	24
<i>Corbicula fluminea</i>	Albufera de Azibo, Vale de Prado (Portugal)	34	-
<i>Corbicula fluminea</i>	Aº Cololó, Pº del Varro (Soriano, Uruguay)	38	-
<i>Corbicula fluminea</i>	Aº Pan de Azúcar, Pan de Azúcar (Maldonado, Uruguay)	54	-
<i>Corbicula fluminea</i>	Arroyo Bequeló, Paso Tabarez (Soriano, Uruguay)	137	-
<i>Corbicula fluminea</i>	Januaria (Minas Gerais, Brasil)	31	-
<i>Corbicula fluminea</i>	Río Santa Lucía chico, ciudad de Florida (Florida, Uruguay)	42	-
<i>Corbicula fluminea</i>	Río Uruguay, desembocadura, Aº Yaguareté (Río Negro, Uruguay)	146	30
<i>Corbicula largillierti</i>	Aº Bequeló, Pº Tábarez (Soriano, Uruguay)	25	30
<i>Corbicula largillierti</i>	Laguna Itapeva (RGS, Brasil)	37	-
<i>Corbicula</i> sp.	Río Negro, Pº Mazangano (Rivera, Uruguay)	93	-
<i>Corbicula</i> sp.	Río Yaguarón, estancia La Gloria (Cerro Largo, Uruguay)	35	28
<i>Cyanocyclas exquisita</i>	Varias localidades de Uruguay	15	-
<i>Cyanocyclas felipponei</i>	Departamento de Colonia (Uruguay)	47	30

<i>Cyanocyclus fortis</i>	Río Uruguay, desembocadura, Aº Yaguareté (Río Negro, Uruguay)	154	31
<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Laguna Peixoto (RGS, Brasil)	154	30
<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Río Cebollatí (Uruguay)	53	-
<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Río Guaíba, Florida (RGS, Brasil)	45	-
<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Río Guaíba, Praia Veludo, Belem Novo (RGS, Brasil)	78	-
<i>Cyanocyclus limosa</i>	Aº Sauce de Batoví, R.59 (Tacuarembó, Uruguay)	36	-
<i>Cyanocyclus limosa</i>	Arroyo Colla (Colonia, Uruguay)	54	-
<i>Cyanocyclus limosa</i>	Arroyo Miguelin, Punta Lara, Ensenada (Buenos Aires, Argentina)	40	29
<i>Cyanocyclus limosa</i>	Arroyo San Carlos, San Carlos (Maldonado, Uruguay)	24	-
<i>Cyanocyclus limosa</i>	Arroyo Sopas, Paso Muñoz (Salto, Uruguay)	27	-
<i>Cyanocyclus limosa</i>	Arroyo Timote (Florida, Uruguay)	36	-
<i>Cyanocyclus limosa</i>	Canal en ingenio Espinillar (Salto, Uruguay)	55	-
<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Cebollatí (Lavalleja, Uruguay)	62	-
<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Cuareim, Quarai (RGS, Brasil)	23	-
<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Negro, Pº Mazangano (Rivera, Uruguay)	16	-
<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Uruguay, desembocadura, Aº Yaguareté (Río Negro, Uruguay)	39	-
<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Yi (Florida, Uruguay)	24	-
<i>Cyanocyclus paranensis</i>	Laguna Guadalupe, Santa Fe, (Santa Fe, Argentina)	31	30
<i>Cyanocyclus simplex</i>	Río Uruguay, Salto Chico (Salto, Uruguay)	22	-
<i>Cyanocyclus simplex</i>	Salto M'Bigua, cataratas del Iguazú (Misiones, Argentina) y Aº Uruguai (Misiones, Argentina)	61	21
<i>Cyanocyclus undulata</i>	Varias localidades de Uruguay	16	-

3.2.1 Toma de datos

Según la disponibilidad de material para el estudio de morfometría lineal se tomaron, para cada una de las unidades de estudio, tres medidas de longitud (largo, alto y ancho de la valva, Figura 3.1) mediante un calibre digital de precisión 0,01 mm. En base a estas tres medidas se calcularon tres relaciones: largo/alto, alto/ancho y largo/ancho.

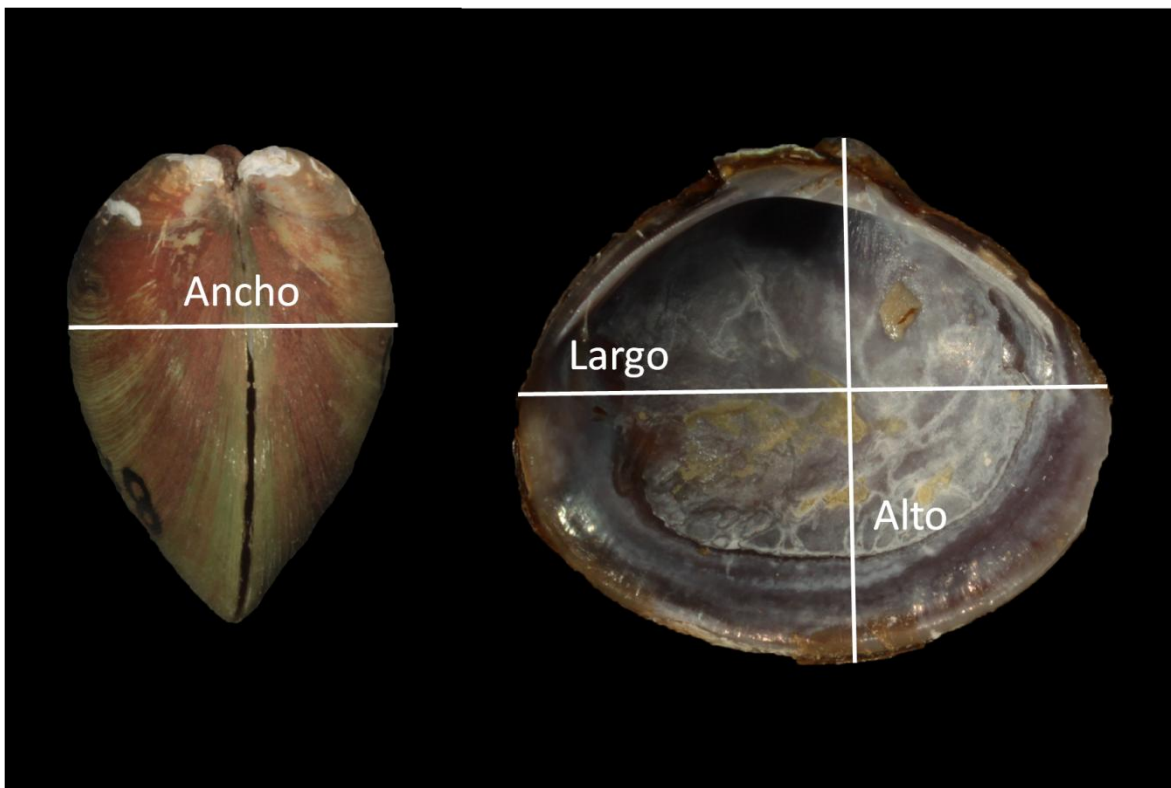


Figura 3.1. Disposición de las medidas largo, alto y ancho sobre las valvas de Corbiculidae.

Para el estudio de morfometría geométrica se utilizó una cámara digital Canon EOS REBEL T1i de 15.1 megapíxeles. Alrededor de 30 valvas izquierdas de cada especie (con excepción de *Cyanocyclus exquisita* y *Cyanocyclus undulata* para las que no se obtuvo suficiente material, ver tabla 3.1) fueron fotografiadas en vista interna desde una distancia de 35 cm ayudado con una mesa de fotografía. Sobre cada imagen se marcaron 14 *landmarks* (Figura 3.2). Los *landmarks* elegidos fueron usados en anteriores estudios de bivalvos con características similares a *Cyanocyclus* (Márquez *et al.* 2010, Sousa *et al.* 2007). Las imágenes se convirtieron al formato TPS

usando el programa TPSUtil, se escalaron las imágenes y digitalizaron los *landmarks* con TPSDig2 y la forma de consenso se obtuvo con el programa TPSRelw.

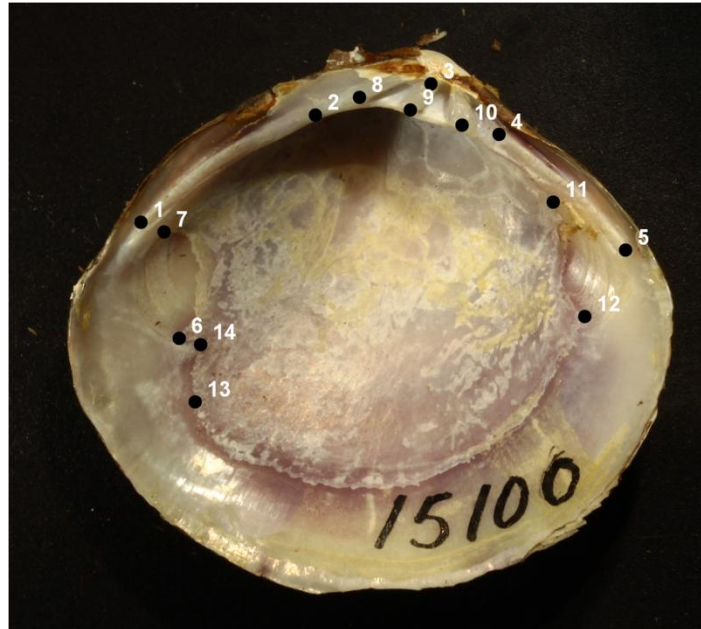


Figura 3.2. Disposición de los landmarks sobre una valva izquierda de *Cyanocyclas*. 1) extremo ventral del diente lateral posterior, 2) extremo dorsal del diente lateral posterior, 3) extremo dorsal del diente cardinal central, 4) extremo dorsal del diente lateral anterior, 5) extremo ventral del diente lateral anterior, 6) y 7) extremos de la marca del musculo aductor posterior, 8) extremo ventral del diente cardinal posterior, 9) extremo ventral del diente cardinal central, 10) extremo ventral del diente cardinal anterior, 11) marca del musculo retractor del pie, 12) extremo ventral de la marca del musculo aductor anterior, 13) margen ventral del seno o escotadura paleal y 14) extremo interno del seno paleal.

3.2.2 Análisis de datos

Todos los análisis y gráficos de morfometría lineal se realizaron utilizando el programa PAST 2.09 (Hammer *et al.* 2001). Se calcularon los estadísticos básicos (mínimo, máximo, media y desvío estándar). Para la comparación entre las especies se utilizó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis, debido a que los datos no cumplían con los supuestos básicos de normalidad y homogeneidad de varianza. El análisis usado es el más potente de los no paramétricos para analizar más de 2 grupos (95 % del poder predictivo del ANOVA; Zar 1999).

Test de Kruskal-Wallis

H₀: los datos no son diferentes significativamente

H_a: los datos tienen diferencias significativas

$\alpha = 0.05$

Criterio de decisión: Si $p > 0.05$ acepto H₀

$p < 0.05$ rechazo H₀

Los análisis de morfometría geométrica se realizaron con el programa MorphoJ (Klingenberg 2011). A partir de las formas consenso obtenidas se calculó la matriz de varianza sobre co-varianza y en base a esta se realizó un análisis de componentes principales y un análisis de variación canónica sobre la que se calculó la distancia de Mahalanobis y la distancia de Procrustes. La significancia estadística fue obtenida en base a 10000 corridas de permutaciones en el cálculo de distancias. La distancia de Mahalanobis determina la similitud entre variables aleatorias, y tiene en cuenta las correlaciones entre las variables utilizando sólo la información de cada variable no redundante. La distancia de Procrustes se define como la raíz cuadrada de las sumas al cuadrado de las distancias entre dos configuraciones de *landmarks* centradas, escaladas, y rotadas.

3.3 Resultados

3.3.1 Morfometría lineal

Se tomaron medidas de 1884 individuos de 12 morfotipos: *Cyanocyclas limosa* (436 individuos, 12 localidades), *C. guahybensis* (330 individuos, cuatro localidades), *C. fortis* (154 individuos, una localidad), *C. simplex* (83 individuos, dos localidades), *C. felipponei* (47 individuos, una localidad), *C. paranensis* (31 individuos, una localidad), *C. undulata* (16 individuos, cuatro localidades), *C. exquisita* (15 individuos, cinco localidades), *Corbicula fluminea* (482 individuos, siete localidades), *Corbicula* sp. (128 individuos, dos localidades), *Corbicula fluminalis* (100 individuos, una localidades) y *C. largillierti* (62 individuos, dos localidades) (Tabla 3.1).

3.3.1.1 Relación Largo/Alto

Corbicula sp., *Cyanocyclus limosa* y *Cyanocyclus simplex* presentaron los mayores valores de promedio en la relación Largo/Alto Media: 1,240; 1,184 y 1,145 respectivamente, mientras que en *Corbicula fluminalis* el valor fue menor a uno y en *Cyanocyclus paranensis* apenas lo superó (1,008) (Tabla 3.2). El resto de las especies (7) presentaron valores medios en un rango acotado entre 1,081 y 1,112. *C. limosa* y *C. simplex* fueron las especies que presentaron mayor diferencia entre sus valores máximos y mínimos, en cambio tres especies de *Corbicula* (*Corbicula* sp., *C. largillierti* y *C. fluminalis*) ocuparon los últimos lugares en ese ranking lo que estuvo asociado a los menores valores de desvío estándar (Figura 3.3).

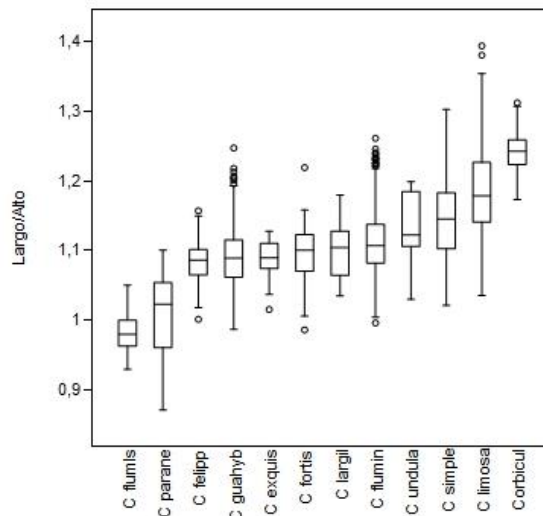


Figura 3.3. Gráfica de boxplot de la relación Largo/Alto.

Utilizando el test de Kruskal-Wallis no se encontraron diferencias significativas entre las relaciones Largo/Alto de *Cyanocyclus guahybensis* y cuatro especies: *Cyanocyclus exquisita* ($p=0,990$), *C. felipponei* ($p=0,247$), *C. fortis* ($p=0,186$) y *Corbicula largillierti* ($p=0,156$). Dentro de este grupo de especies tampoco fue posible diferenciar *C. fortis* de *C. largillierti* ($p=0,403$), ni de *C. exquisita* ($p=0,322$). Esta última especie tampoco se pudo diferenciar de *C. felipponei* ($p=0,332$) ni de *C. largillierti* ($p=0,255$). Otra especie para la cual el test aceptó la hipótesis nula fue *Cyanocyclus simplex* respecto a *C. undulata* ($p=0,707$) y *Corbicula fluminea* ($p=0,06$) (Tabla 3.3).

Tabla 3.2. Media, desvío estándar, máximo y mínimos para la relación Largo/Alto para cada especie de Corbiculidae presente en Uruguay.

	<i>Csimplex</i>	<i>Climosa</i>	<i>Cfortis</i>	<i>Cundulata</i>	<i>Cfelipponei</i>	<i>Cexquisita</i>	<i>Cparanensis</i>	<i>Cquahybensis</i>	<i>Cfluminea</i>	<i>Corbicula sp</i>	<i>Cfluminalis</i>	<i>Clargillerti</i>
N	83	436	154	16	47	15,000	31	330	482	128	100	62
Mínimo	1,020	1,034	0,984	1,028	1,000	1,014	0,869	0,985	0,994	1,172	0,928	1,034
Máximo	1,302	1,393	1,218	1,198	1,156	1,126	1,099	1,246	1,260	1,311	1,049	1,179
Media	1,145	1,184	1,092	1,132	1,081	1,084	1,008	1,091	1,112	1,240	0,981	1,098
Desvío Estandar	0,064	0,060	0,038	0,052	0,032	0,033	0,058	0,043	0,046	0,025	0,029	0,037

Tabla 3.3. Significancia del Test de Kruskal-Wallis para la relación Largo/Alto para cada par de especies de Corbiculidae de Uruguay. En gris se destacan los valores > 0,05.

	<i>C simplex</i>	<i>C limosa</i>	<i>C fortis</i>	<i>C undulata</i>	<i>C felipponei</i>	<i>C exquisita</i>	<i>C paranensis</i>	<i>C guahybensis</i>	<i>C fluminea</i>	<i>Corbicula sp</i>	<i>C fluminalis</i>	<i>C largillierti</i>
<i>C simplex</i>	0	4,00E-07	4,67E-11	0,7073	3,10E-09	0,0002072	4,26E-14	2,25E-13	1,53E-06	1,08E-22	5,31E-31	1,30E-06
<i>C limosa</i>		0	1,53E-51	0,001537	1,01E-23	5,16E-09	4,02E-20	4,30E-80	1,76E-68	4,17E-26	7,27E-55	1,86E-23
<i>C fortis</i>			0	0,002828	0,02592	0,332	2,75E-12	0,1862	0,0002148	4,07E-47	2,90E-39	0,403
<i>C undulata</i>				0	0,0002567	0,003669	5,88E-07	0,001002	0,06038	1,22E-10	2,47E-10	0,0178
<i>C felipponei</i>					0	0,5431	1,64E-08	0,2465	6,51E-06	4,29E-24	1,19E-21	0,03452
<i>C exquisita</i>						0	2,74E-05	0,8999	0,03397	2,59E-10	1,69E-09	0,255
<i>C paranensis</i>							0	9,20E-13	1,08E-16	6,50E-18	0,003606	3,01E-11
<i>C guahybensis</i>								0	1,23E-10	3,84E-61	1,49E-49	0,1556
<i>C fluminea</i>									0	4,76E-64	3,73E-55	0,0484
<i>Corbicula sp</i>										0	2,40E-38	6,37E-29
<i>C fluminalis</i>											0	1,89E-26
<i>C largillierti</i>												0

3.3.1.2 Relación Ancho/Alto

Corbicula fluminalis, *Cyanocyclus paranensis* y *Cyanocyclus fortis* fueron las especies con mayor relación Ancho/Alto (Media: 0,782; 0,774 y 0,752 respectivamente), mientras que *Cyanocyclus felipponei* y *Cyanocyclus limosa* presentaron los menores valores medios (1,679 y 1,791 respectivamente)(Tabla 3.4). Las medias del resto de las especies se ubicó en un estrecho margen entre 0,628 (*Cyanocyclus undulata*) y 0,715 (*Cyanocyclus exquisita*). Al igual que lo observado en la relación Largo/Alto las especies de *Corbicula* presentaron en general menores diferencias entre sus valores máximos y mínimos, mientras que *C. felipponei* y *C. paranensis* los rangos más amplios. En el caso de *C. felipponei* esto estuvo asociado a la existencia de varios *outliers* (valores atípicos) (Figura 3.4). Es destacable que la relación Ancho/Alto en *C. paranensis* alcanzó un valor máximo de 0,913.

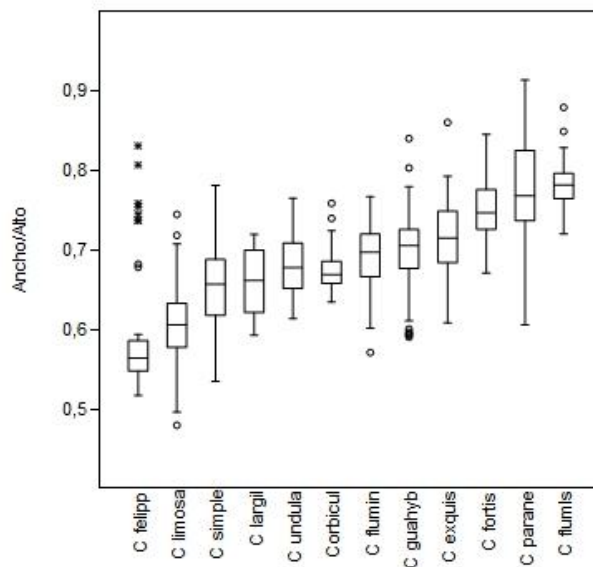


Figura 3.4. Gráfica de boxplot de la relación Ancho/Alto.

Siete especies compartieron una estrecha amplitud de valores de la relación Ancho/Alto. Cinco especies fueron imposibles de separar de *Cyanocyclus undulata*: *Corbicula* sp. ($p=0,353$), *C. fluminea* ($p=0,247$), *Cyanocyclus guahybensis* ($p=0,068$), *Corbicula largillierti* ($p=0,133$) y *Cyanocyclus exquisita* ($p=0,101$) (Tabla 3.5). Esta última especie tampoco se pudo discriminar de *C. guahybensis* ($p=0,247$) ni de *C. fluminea* ($p=0,114$). A su vez *C. largillierti* no presentó diferencias

significativas con *Cyanocyclus simplex* ($p=0,170$) ni con *Corbicula* sp. ($p=0,168$). Otras dos especies por fuera de este grupo *Corbicula fluminalis* y *Cyanocyclus paranensis* presentaron un $p=0,245$ por lo que se aceptó la hipótesis nula.

Tabla 3.4. Media, desvío estándar, máximo y mínimos para la relación Ancho/Alto para cada especie de Corbiculidae presente en Uruguay.

	<i>Csimplex</i>	<i>Climosa</i>	<i>Cfortis</i>	<i>Cundulata</i>	<i>Cfelipponei</i>	<i>Cexquisita</i>	<i>Cparanensis</i>	<i>Cguahybensis</i>	<i>Cfluminea</i>	<i>Corbicula sp</i>	<i>Cfluminalis</i>	<i>Clargillerti</i>
N	83	436	154	16	47	15	31	330	482	128	100	62
Mínimo	0,534	0,479	0,670	0,613	0,516	0,608	0,605	0,590	0,570	0,634	0,720	0,592
Máximo	0,781	0,744	0,845	0,765	0,831	0,860	0,913	0,840	0,767	0,758	0,879	0,719
Media	0,650	0,605	0,752	0,682	0,593	0,715	0,774	0,699	0,692	0,672	0,782	0,661
Desvío Estandar	0,050	0,041	0,035	0,043	0,081	0,068	0,060	0,038	0,036	0,021	0,025	0,040

Tabla 3.5. Significancia del Test de Kruskal-Wallis para la relación Ancho/Alto para cada par de especies de Corbiculidae de Uruguay. En gris se destacan los valores > 0,05.

	<i>Csimplex</i>	<i>Climosa</i>	<i>Cfortis</i>	<i>Cundulata</i>	<i>Cfelipponei</i>	<i>Cexquisita</i>	<i>Cparanensis</i>	<i>Cguahybensis</i>	<i>Cfluminea</i>	<i>Corbicula sp</i>	<i>Cfluminalis</i>	<i>Clargillerti</i>
<i>Csimplex</i>	0	2,18E-14	9,60E-32	0,02581	9,80E-08	0,0004957	1,30E-13	6,87E-16	2,10E-13	0,000866	2,37E-30	0,1698
<i>Climosa</i>		0	2,17E-75	2,86E-08	6,75E-06	3,60E-08	2,49E-19	1,40E-101	6,27E-117	8,19E-50	6,95E-55	4,97E-17
<i>Cfortis</i>			0	1,99E-07	3,14E-17	0,009003	0,01818	7,51E-36	4,32E-47	2,15E-43	2,62E-12	3,37E-27
<i>Cundulata</i>				0	5,85E-05	0,1009	4,41E-06	0,06824	0,2471	0,3534	8,85E-10	0,1327
<i>Cfelipponei</i>					0	1,33E-05	1,43E-10	1,04E-14	8,88E-15	6,46E-11	9,88E-19	6,26E-09
<i>Cexquisita</i>						0	0,004925	0,2468	0,1137	0,001583	1,54E-05	0,00198
<i>Cparanensis</i>							0	1,34E-12	3,28E-14	2,85E-15	0,2454	7,62E-13
<i>Cguahybensis</i>								0	0,01377	4,43E-16	1,87E-47	5,63E-10
<i>Cfluminea</i>									0	3,86E-11	9,25E-54	1,24E-07
<i>Corbicula sp</i>										0	3,96E-38	0,1676
<i>Cfluminalis</i>											0	1,26E-26
<i>Clargillerti</i>												0

3.3.1.3 Relación Ancho/Largo

Corbicula fluminalis, *Cyanocyclus paranensis* y *Cyanocyclus exquisita* fueron las especies con mayor valor medio de relación Ancho/Largo (Media: 0,798; 0,768 y 0,708 respectivamente), en el otro extremo *Cyanocyclus limosa*, *Corbicula* sp. y *Cyanocyclus felipponei* presentaron los menores valores (0,511; 0,548 y 0,542 respectivamente)(Tabla 3.6). Al igual que en el caso de la relación Alto/Ancho *C. felipponei* presentó una amplitud de valores particular con numerosos *outliers* (Figura 3.5).

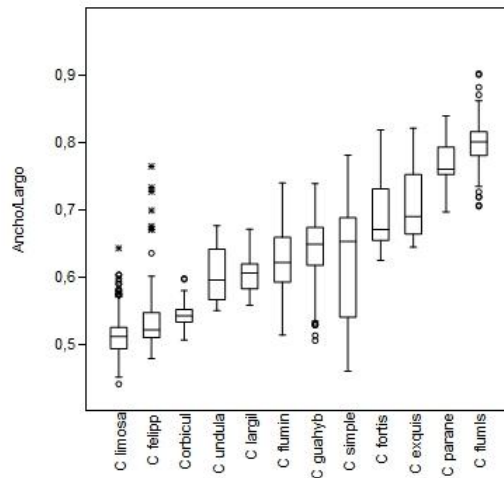


Figura 3.5. Gráfica de boxplot de la relación Ancho/largo.

Sólo en seis ocasiones fue aceptada la hipótesis nula de que la relación Ancho/Largo no fue diferente significativamente. *Cyanocyclus undulata* fue similar a *C. largillerti* ($p=0,967$), *Corbicula fluminea* ($p=0,054$) y *Cyanocyclus simplex* ($p=0,125$). Esta última especie no se discriminó de *Cyanocyclus guahybensis* ($p=0,403$) ni de *C. fluminea* ($p=0,143$). Finalmente *Cyanocyclus fortis* y *Cyanocyclus exquisita* presentaron un valor de $p=0,145$ (Tabla 3.7).

Tabla 3.6. Media, desvío estándar, máximo y mínimos para la relación Ancho/Largo para cada especie de Corbiculidae presente en Uruguay.

	<i>Csimplex</i>	<i>Climosa</i>	<i>Cfortis</i>	<i>Cundulata</i>	<i>Cfelipponei</i>	<i>Cexquisita</i>	<i>Cparanensis</i>	<i>Cguahybensis</i>	<i>Cfluminea</i>	<i>Corbicula sp</i>	<i>Cfluminalis</i>	<i>Clargillerti</i>
N	83	436	154	16	47	15	31	330	482	128	100	62
Mínimo	0,459	0,440	0,624	0,549	0,478	0,644	0,696	0,504	0,512	0,505	0,705	0,557
Máximo	0,781	0,642	0,818	0,676	0,764	0,821	0,839	0,738	0,739	0,597	0,902	0,671
Media	0,622	0,511	0,689	0,603	0,548	0,708	0,768	0,642	0,623	0,542	0,798	0,602
Desvío Estandar	0,082	0,028	0,048	0,038	0,074	0,051	0,033	0,046	0,042	0,017	0,037	0,025

Tabla 3.7. Significancia del Test de Kruskal-Wallis para la relación Ancho/Largo para cada par de especies de Corbiculidae de Uruguay. En gris se destacan los valores > 0,05.

	<i>Csimplex</i>	<i>Climosa</i>	<i>Cfortis</i>	<i>Cundulata</i>	<i>Cfelipponei</i>	<i>Cexquisita</i>	<i>Cparanensis</i>	<i>Cguahybensis</i>	<i>Cfluminea</i>	<i>Corbicula sp</i>	<i>Cfluminalis</i>	<i>Clargillerti</i>
<i>Csimplex</i>	0	3,11E-25	1,99E-07	0,1247	1,04E-05	0,0003821	3,51E-15	0,4033	0,1432	8,32E-10	1,95E-30	0,003691
<i>Climosa</i>		0	4,87E-76	8,47E-11	0,0006154	4,48E-11	1,31E-20	8,35E-118	1,11E-142	2,83E-32	6,57E-55	1,98E-35
<i>Cfortis</i>			0	1,15E-08	9,84E-17	0,1452	8,37E-12	6,89E-17	2,13E-37	2,34E-47	4,53E-34	4,52E-28
<i>Cundulata</i>				0	0,0002132	1,05E-05	2,75E-08	0,0006371	0,05415	1,00E-08	1,54E-10	0,9655
<i>Cfelipponei</i>					0	1,05E-06	6,09E-13	9,14E-15	7,87E-14	0,0001826	5,09E-22	2,92E-08
<i>Cexquisita</i>						0	0,0002812	1,43E-05	9,44E-08	2,59E-10	2,80E-07	4,67E-09
<i>Cparanensis</i>							0	9,77E-20	1,24E-20	6,50E-18	4,82E-05	4,96E-15
<i>Cguahybensis</i>								0	4,20E-10	1,00E-53	1,75E-51	4,65E-13
<i>Cfluminea</i>									0	3,73E-59	8,55E-56	3,53E-05
<i>Corbicula sp</i>										0	2,40E-38	4,52E-27
<i>Cfluminalis</i>											0	1,26E-26
<i>Clargillerti</i>												0

3.3.2 Morfometría geométrica

Los tres primeros componentes del análisis de componentes principales representaron el 48,6 % de la variación. Las especies se agruparon en dos conjuntos, uno formado por *Corbicula fluminalis*, *Corbicula largillierti* y *Cyanocyclus paranensis*, y el resto de las especies en un segundo grupo (Figura 3.6).

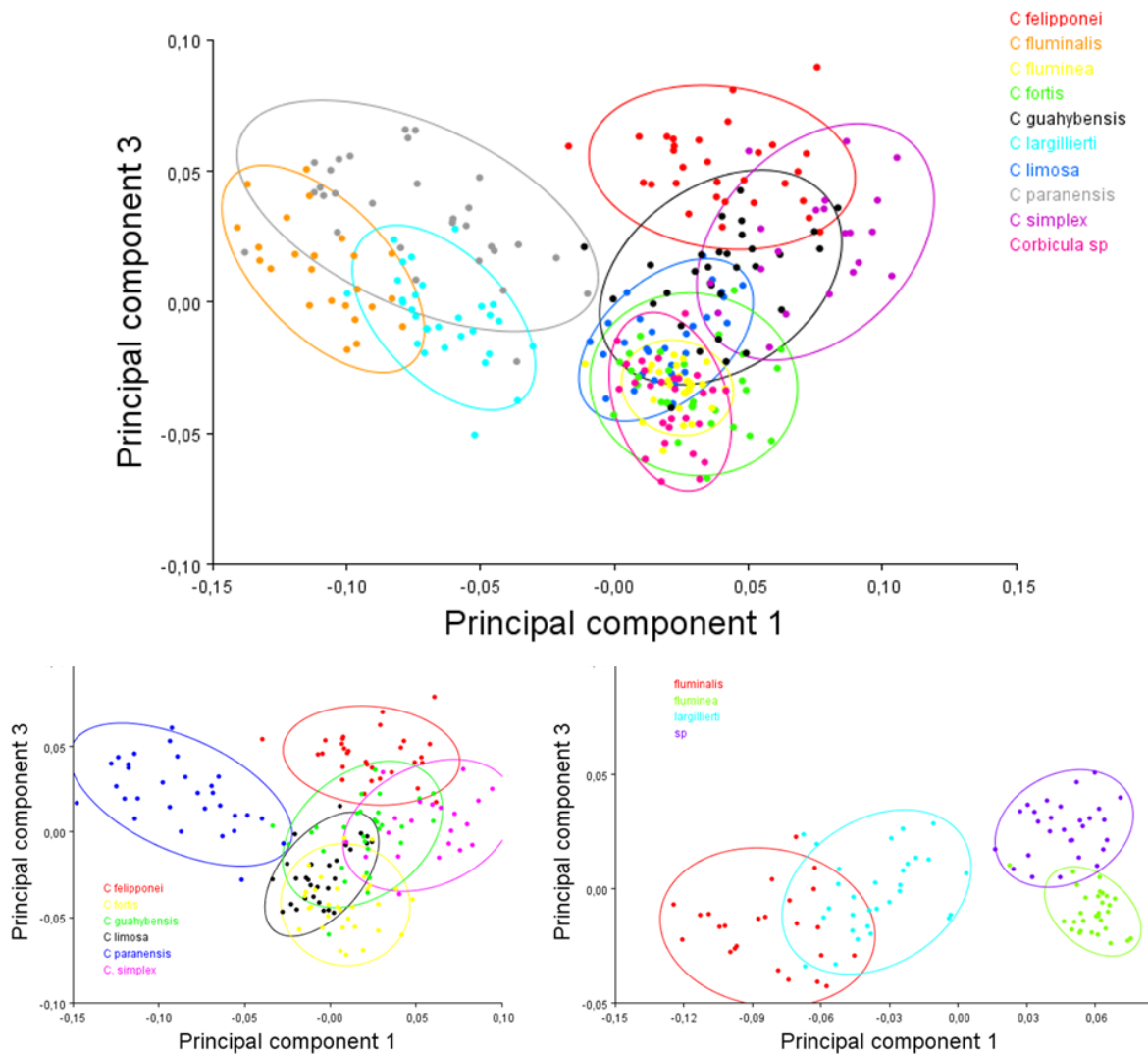


Figura 3.6. Análisis de componentes principales para todas las especies estudiadas (arriba) para las especies de *Cyanocyclus* (abajo a la izquierda) y para las especies de *Corbicula* (abajo a la derecha). Las elipses de confianza para cada especie son del 90%.

La primera y segunda variables canónicas contribuyeron con el 39,4 y 20,6 por ciento de la variación observada. La dispersión de puntos correspondientes a cada especie en el análisis de variación canónica fue más discriminante en el caso de *Corbicula* sp. *C. fluminea*, *C. largillierti*, *C. fluminalis* y *Cyanocyclus paranensis* con el resto de las especies de *Cyanocyclus* agrupándose en un único conjunto (Figura 3.7). Dentro de este conjunto se puede observar la separación parcial de *C. simplex* del resto de las especies de *Cyanocyclus*.

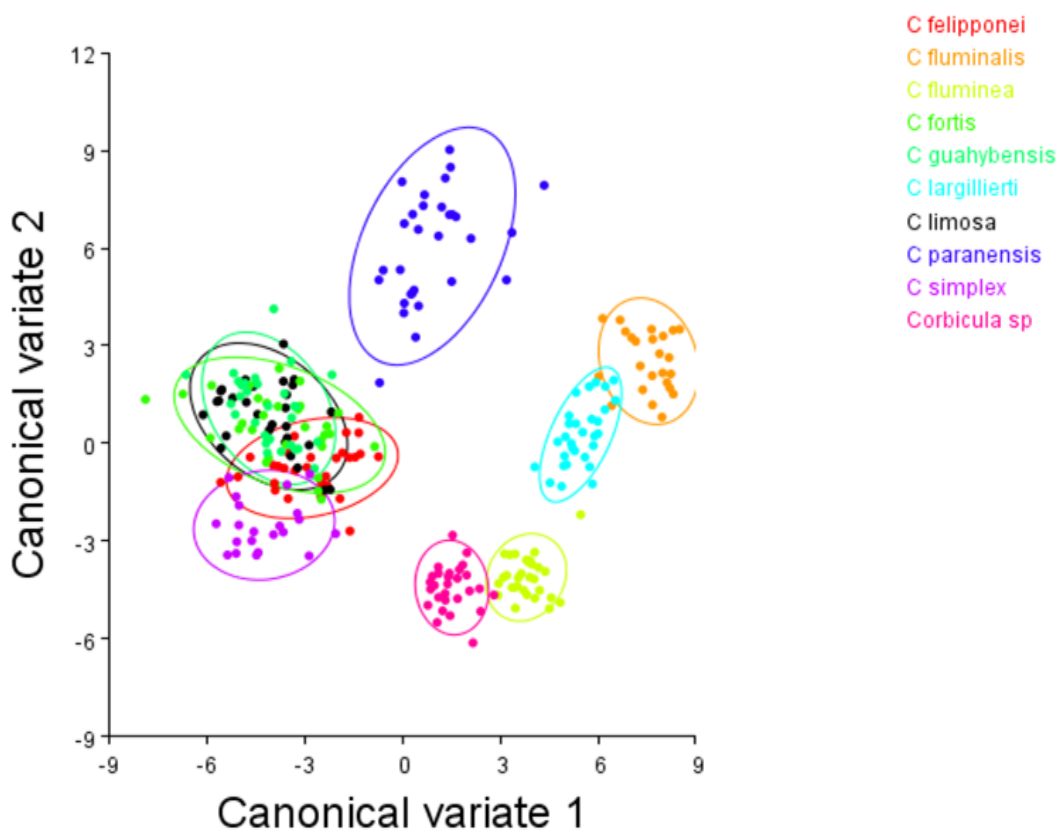


Figura 3.7. Análisis de variables canónicas. Las elipses de confianza para cada especie son del 90%.

Tanto el test de permutaciones múltiples basado en las distancias de Mahalanobis entre grupos como el basado en las distancias de Procrustes entre grupos, arrojaron diferencias significativas ($p < 0,001$) para todos los grupos definidos *a priori*. Las distancias de Mahalanobis se ubicaron entre 6,488 (*C. guahybensis* vs *C. fortis*) y 25,343 (*C. fluminea* vs *C. simplex*), mientras que las distancias de Procrustes lo hicieron entre 0,052 (*C. fortis* vs *C. limosa*) y 0,204 (*C. fluminalis* vs *C. simplex*) (Tabla 3.8).

Tabla 3.8. Distancia de Procustes (arriba) y de Mahalanobis (abajo) para cada combinación de morfotipos estudiados. Para todas las combinaciones corresponde un $p < 0,001$.

	<i>C. felipponei</i>	<i>C. fortis</i>	<i>C. guahybensis</i>	<i>C. limosa</i>	<i>C. paranensis</i>	<i>C. simplex</i>	<i>Corbicula</i> sp.	<i>C. fluminalis</i>	<i>C. fluminea</i>	<i>C. largillierti</i>
<i>C. felipponei</i>		0,100	0,071	0,092	0,124	0,082	0,100	0,163	0,103	0,123
<i>C. fortis</i>	11,830		0,068	0,052	0,130	0,105	0,060	0,170	0,094	0,118
<i>C. guahybensis</i>	9,406	6,488		0,064	0,131	0,077	0,076	0,169	0,097	0,124
<i>C. limosa</i>	10,137	6,882	7,285		0,125	0,108	0,071	0,166	0,095	0,104
<i>C. paranensis</i>	9,931	6,965	8,217	8,618		0,167	0,134	0,077	0,143	0,076
<i>C. simplex</i>	14,195	11,078	9,514	13,846	8,595		0,100	0,204	0,127	0,163
<i>Corbicula</i> sp.	19,042	11,814	16,956	13,785	12,129	12,917		0,154	0,066	0,102
<i>C. fluminalis</i>	20,242	15,600	21,465	20,794	12,585	20,254	20,949		0,151	0,076
<i>C. fluminea</i>	16,921	12,596	20,588	19,881	16,970	25,343	15,163	15,623		0,103
<i>C. largillierti</i>	14,638	12,653	16,997	18,005	12,395	17,666	12,661	8,511	13,616	

3.4 Discusión

Las relaciones Largo/Alto, Ancho/Alto y Ancho/Largo fueron relativamente efectivas para discriminar las especies de Corbiculidae, siendo la relación Ancho/Largo la que mostró mayor capacidad discriminante para separar especies. La tabla 3.9 muestra el resultado en conjunto del test de Kruskal-Wallis. Para *Corbicula fluminea* y *Cyanocyclus undulata* no se encontró ninguna relación capaz de discriminar estas especies. En los casos de *C. undulata* vs *C. simplex*, y *C. fortis* vs *C. exquisita* el test no fue capaz de diferenciar las relaciones Largo/Alto ni Ancho/Largo para estas especies. *C. largillierti* solo se pudo distinguir de *C. undulata* por su relación Largo/Alto, mientras que *C. exquisita* solo se pudo distinguir de *C. guahybensis* por su relación Ancho/Largo. El resto de las combinaciones de especies presentaron al menos dos relaciones discriminantes.

Los valores de la relación Ancho/Alto: Media 0,699 (0,590-0,840, rango) fue similar a la obtenida por Garces *et al.* (1989) para 100 ejemplares de *Cyanocyclus guahybensis* del río Guaíba (0,700 media, 0,610-0,830 rango).

El análisis de variables canónicas permitió separar todas las especies, sin embargo esta división se basa en la identificación *a priori* de las especies. Sólo las especies de *Corbicula* y *Cyanocyclus paranensis* se discriminaron con claridad en el análisis de variación canónica.

Debido al esfuerzo necesario para los estudios de morfometría geométrica y su éxito relativo en comparación con la morfometría lineal, se sugiere utilizar este último método como complementario en la identificación de especies cuando la observación morfológica no sea suficiente.

Tabla 3.9. Test de Kruskal-Wallis entre todas las especies y relaciones estudiadas. Se marcan las relaciones que no se discriminaron para cada par de especies Largo/Alto =1; Ancho/Alto=2; Ancho/Largo=3.

	<i>Csimplex</i>	<i>Climosa</i>	<i>Cfortis</i>	<i>Cundulata</i>	<i>Cfelipponei</i>	<i>Cexquisita</i>	<i>Cparanensis</i>	<i>Cguahybensis</i>	<i>Cfluminea</i>	<i>Corbicula sp</i>	<i>Cfluminalis</i>	<i>Clargillerti</i>
<i>Csimplex</i>			1, 3				3	3				2
<i>Climosa</i>												
<i>Cfortis</i>					1, 3		1					1
<i>Cundulata</i>					2		2	1, 2, 3	2			2, 3
<i>Cfelipponei</i>						1	1					
<i>Cexquisita</i>							1, 2	2				1
<i>Cparanensis</i>										2		
<i>Cguahybensis</i>												1
<i>Cfluminea</i>												
<i>Corbicula sp</i>												2
<i>Cfluminalis</i>												
<i>Clargillerti</i>												

Capítulo IV

Sistemática molecular y filogeografía de Corbiculidae de Uruguay

4.1 Introducción

4.1.1 Sistemática molecular de Corbiculidae

La familia Corbiculidae Gray, 1847 presenta una gran variación en sus modalidades reproductivas, lo que se refleja en la diversidad de genotipos y fenotipos (Parodiz & Hennings 1965). Las especies del género *Cyanocyclus* de Férussac, 1818 son hermafroditas simultáneos (posiblemente autofecundantes) e incuban embriones y larvas en ambas hemibranquias internas hasta ser liberados como individuos juveniles (Ituarte 1984). En base a estas características Parodiz (1963), Figueiras (1965) y Parodiz & Hennings (1965) proponen que las poblaciones de *Cyanocyclus* tienen una baja variabilidad intrapoblacional y una alta variabilidad entre poblaciones. En cambio las especies asiáticas del género *Corbicula* Megerle von Mühlfeld, 1811, si bien son igualmente hermafroditas simultáneos, poseen una larva con un estadio libre, aunque breve, que les permite dispersarse para formar conjuntos poblacionales más heterogéneos con formas intermedias, sujetas además a influencia ecológica. A esto se le suma que en algunos linajes falta la meiosis en las células germinales de la fracción masculina, lo que genera espermatozoides biflagelados y diploides (Park *et al.* 2000), triploides e incluso tetraploides (Qiu *et al.* 2001). Además, algunos de los linajes de *Corbicula* poseen androgénesis, un inusual proceso de fertilización en el cual el genoma nuclear materno es eyectado a través de los cuerpos polares con lo que todo el genoma nuclear del embrión es heredado por vía paterna (Lee *et al.* 2005). Algunos de estos linajes con disyunción entre el ADN nuclear y el mitocondrial ya fueron encontrados en la Cuenca del Plata (Lee *et al.* 2005).

4.1.2 El ADN mitocondrial como herramienta en los estudios filogenéticos y poblacionales

El ADN mitocondrial es una molécula de ADN única copia (haploide), no recombinante, localizada en las mitocondrias de los organismos eucariotas. En la mayoría de los animales la herencia mitocondrial es matrilineal ya que es el óvulo el único gameto que aporta mitocondrias al huevo, sin embargo en algunos animales, incluidos bivalvos, la herencia puede ser compartida tanto de la madre como del padre, en forma de heteroplasmia (Zouros *et al.* 1992, Alves *et al.* 2012). El ADN mitocondrial es elegido como marcador genético en la mayoría de los análisis filogeográficos (Farias *et al.* 2001) debido a su rápida evolución (entre 5 y 10 veces mayor que los genes nucleares). La rápida evolución del ADN mitocondrial se debe a los altos niveles de concentración de especies reactivas del oxígeno en la mitocondria que generan un ambiente inestable para la molécula de ADN combinado con un ineficaz sistema de reparación de errores en la replicación, lo que explica una alta tasa de mutación (Avice 2009). Este tipo de marcador de rápida evolución es indicado para determinar relaciones entre organismos estrechamente vinculados, es decir, entre especies hermanas o poblaciones (Brown *et al.* 1979, Hey & Machado 2003). El gen de la Citocromo oxidasa c subunidad I (COI) es el marcador mitocondrial más robusto discriminando no sólo entre especies muy relacionadas, sino también entre grupos pertenecientes a la misma especie; estas características han llevado a considerarlo un “código de barras” de la biodiversidad (Hebert *et al.* 2003).

Las complejidades anteriormente mencionadas hacen que un estudio de ADN mitocondrial en *Cyanocyclas* sea útil para contribuir a la definición de límites entre especies mientras que en *Corbicula* represente una interpretación conservadora sobre la diversidad genética de este género. Como antecedente inmediato Lee *et al.* (2005) identificaron en América tres formas de *Corbicula* las forma A, forma B, y forma C, esta última identificada en la región como *Corbicula largillierti* (Philippi, 1844). En cambio para *Cyanocyclas limosa* (Maton, 1809) sólo existe el antecedente de una secuencia usada por Siripattrawan *et al.* (2000) en el análisis de los linajes de *Corbicula* distribuidos en América del Norte.

El objetivo de este capítulo es determinar a través del análisis sistemático y genético-poblacional la existencia de monofilia recíproca y el posible aislamiento reproductivo entre los grupos en estudio.

Hipótesis

Los morfotipos de Corbiculidae en estudio son especies válidas constituyendo grupos de monofilia recíproca y aislados reproductivamente.

4.2 Metodología

4.2.1 Muestras y colectas

Se colectaron ejemplares de Corbiculidae en 21 localidades abarcando las principales cuencas fluviales de Uruguay (río Uruguay, Río de la Plata, laguna Merín y cuenca Atlántica), Argentina (La Falda, Córdoba) y Brasil (Sistema Patos Merín y Tramandaí, Rio Grande do Sul) (Figura 4.1, Anexo II), además se procesaron muestras del río San Francisco (Brasil).

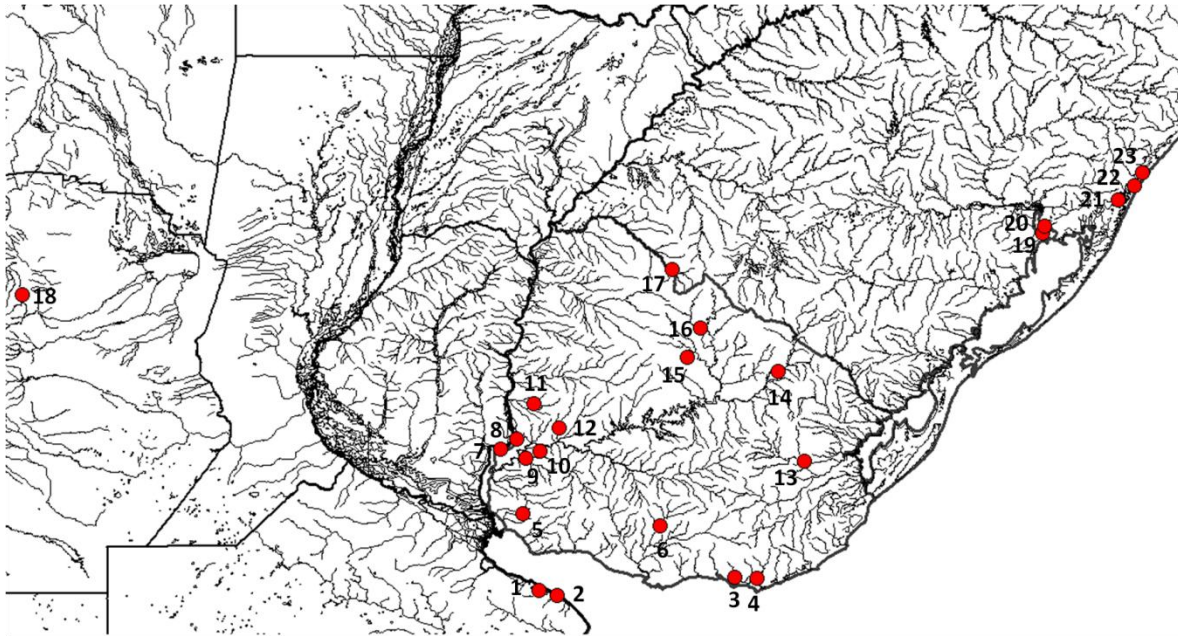


Figura 4.1. Localidades de colecta de ejemplares. Se incluyen las dos localidades de secuencias del GenBank provenientes de la Provincia de Buenos Aires (Argentina). 1) A° Miguelín, 2) La Plata, 3) A° Pan de Azúcar, 4) A° San Carlos, 5) A° de las Vacas, 6) Florida, 7) Yaguareté, 8) Nuevo Berlín, 9) Bequeló, 10) Cololó, 11) Paysandú, 12) Don Esteban, 13) Las Piedras, 14) Mazangano, 15) Batoví, 16) Tacuarembó, 17) Cuareim, 18) La Falda 19) Branca Arena, 20) Guaíba, 21) Peixoto, 22) Quadros, 23) Itapeva.

4.2.2 Extracción del ADN

El ADN se extrajo de muestras de musculatura del pie conservadas en etanol 95°, siguiendo un protocolo de precipitación de proteínas y de ADN con altas concentraciones de Cloruro de Sodio y etanol absoluto, modificado de Medrano *et al.* (1990). El proceso requiere de alrededor de una semana con tres días de trabajo. En el primer día se realizaron dos lavados del tejido con un mililitro de buffer STE 1X (50 mM Tris-Cl pH 8, 50 mM EDTA pH 8; 1 % SDS y 100 mM NaCl) pH 8 en frío (4 °C), luego se le agregó 550 µl de buffer de lisis pH 8 (50 mM Tris-Cl pH 8, 50 mM EDTA pH 8, 1 % SDS y 100 mM NaCl) y finalmente 11 µl de Proteínasa K (10 mg/ml). A continuación se homogenizó mecánicamente el tejido y se lo dejó incubando durante una noche en estufa a 55°C. En el segundo día, una hora antes de finalizar la incubación se le agregó 6 µl de ARNasa (10mg/ml). Finalizada la incubación, se centrifugó por 10 minutos a 12.000 rpm, a temperatura ambiente. El sobrenadante fue transferido a otro tubo y se le agregó 350µl de NaCl 5M para obtener una concentración final de NaCl 2M, esta mezcla fue centrifugada por 30 minutos a 12.000 rpm a temperatura ambiente. El sobrenadante resultante fue transferido a un nuevo tubo y se le agregó el doble de volumen de etanol absoluto en frío, estas dos mezclas no se homogenizan, formando dos fases. El tubo con la mezcla fue agitado lentamente, para mezclar las dos fases y fue dejado por 48 horas a 4°C a fin de que el ADN completara la precipitación. En el tercer día la muestra fue centrifugada durante 30 minutos a 12.000 rpm, a temperatura ambiente. A continuación, se eliminó el sobrenadante y se lavó dos veces el precipitado con etanol 70 %, luego de cada lavado se realizó una centrifugación de 5 minutos a 6.000 rpm, a temperatura ambiente y se eliminó el sobrenadante. El precipitado se dejó secando durante una hora en estufa a 55 °C, luego se resuspendió en 100 µl de buffer TE 1X (10 mM Tris-Cl pH 8, 1 mM EDTA) y finalmente, luego de un baño a 65°C durante 20 minutos, se conservó a -20°C. La calidad del ADN extraído se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa 1 %, teñido con Bromuro de Etidio.

4.2.3 Amplificación del ADN genómico

Las amplificaciones "*in vitro*" se realizaron mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) del gen citocromo oxidasa c subunidad I (mtCOI) utilizando oligonucleótidos (LCO1490 y HCO2198) creados por Folmer *et al.* (1994) y ya probados para Corbiculidae por Lee *et al.* (2005) y Sousa *et al.* (2007). Para realizar la reacción de amplificación se utilizó un termociclador automático (PTC-100, MJ Research, Inc.). Para un volumen de 20 µl se utilizó como molde 2 µl de ADN genómico extraído de las muestras analizadas y 18 µl de una mezcla de

reacción (13,6 µl H₂O, 2 µl de buffer 10X, 0,8 µl de MgCl₂, 0,4 de dNTPs 10 mM, 0,5 µl de cada oligonucleótido (LCO1490 y HCO2198), y 0,2 µl de polimerasa Taq (5U/µl). El programa de ciclos utilizado consiste en un paso inicial de desnaturalización a 95°C durante cinco minutos, y luego 35 ciclos de desnaturalización a 95°C durante un minuto, *Annealing* a 45°C durante un minuto, Extensión a 72°C por dos minutos. Por último el programa realizó una extensión final a 72°C por siete minutos.

Los productos de PCR se visualizaron mediante geles de agarosa 1 % teñidos con Bromuro de Etidio y fueron secuenciados en los servicios comerciales de Macrogen Inc., Seúl, Corea.

4.2.4 Alineamiento y edición de secuencias

Utilizando el software Mega 5.2.1 (Tamura *et al.* 2011) las secuencias obtenidas fueron editadas a mano, en base a los respectivos cromatogramas. A estas secuencias se le sumaron secuencias provenientes del GenBank (Tabla 4.1). Todas las secuencias fueron alineadas en el mismo programa con Clustal W (Thompson *et al.* 1994).

Tabla 4.1. Lista de taxa obtenidos del GenBank utilizados en este estudio, con sus respectivos códigos de acceso para el gen Citocromo oxidasa c mitocondrial.

Orden	Familia	Especie	Número de Acceso
Veneroidea	Corbiculidae	<i>Corbicula fluminea</i>	AF519495 y AF519507
Veneroidea	Corbiculidae	<i>Corbicula</i> forma B	AF519509 y AF519512
Veneroidea	Corbiculidae	<i>Corbicula</i> forma C	AF519508
Veneroidea	Corbiculidae	<i>Cyanocyclas limosa</i>	AF196277.1
Veneroidea	Corbiculidae	<i>Batissa violacea</i>	DQ837727.1
Veneroidea	Corbiculidae	<i>Gelonia expansa</i>	AB498812.1
Veneroidea	Corbiculidae	<i>Polymesoda caroliniana</i>	AF196276.1
Unionoidea	Mycetopodidae	<i>Anodontites elongata</i>	JN243888.1
Unionoidea	Hyriidae	<i>Diplodon deceptus</i>	AF231744.1

4.2.5 Análisis estadísticos de las secuencias

Se obtuvieron parámetros de diversidad genética existente en este marcador a nivel intra e interespecífico. Las secuencias obtenidas se analizaron mediante los programas de computación MEGA, Versión 5.2.1 (Tamura *et al.* 2011), DNASP (Librado & Rozas 2009). Usando el programa DNASP se estimó el polimorfismo del ADN mediante los indicadores de Diversidad Haplotípica (Nei 1987), Diversidad nucleotídica (Nei 1987). Para evaluar el apartamiento de la neutralidad se realizaron dos test; el de Neutralidad (D) de Tajima (Tajima 1989) y el de Fu (Fs) (Fu 1997).

4.2.6 Análisis filogenético

Antes de realizar los análisis filogenéticos, para cada uno de ellos e incluyendo las secuencias utilizadas fueron realizadas prueba de modelos con MEGA 5.2.1 (Tamura *et al.* 2011). Las distancias pareadas entre y dentro de grupos fueron calculadas con el mismo programa.

En base a las secuencias obtenidas se construyeron árboles filogenéticos por métodos basados en modelos de evolución molecular (máxima verosimilitud e inferencia Bayesiana), y no basados en modelos de evolución (máxima parsimonia). Para la construcción de árboles de cada género fueron usadas como grupo externo cuatro secuencias del género contrario. En el caso del árbol de la familia Corbiculidae se usó como grupo externo dos secuencia de especies de bivalvos dulceacuícolas del orden Unionoidea: *Anodontites elongata* y *Diplodon deceptus*.

La búsqueda del árbol más parsimonioso se realizó en dos etapas, en la primera se construyó un árbol en base al algoritmo de intercambio de vecinos más cercanos (Nei & Kumar 2000), y posteriormente se aplicó el algoritmo *Subtree-Pruning-Regrafting*. La estabilidad del árbol fue testada con un test *bootstrap* de 100 pseudoreplicas; estos análisis fueron implementados en el programa MEGA 5.2.1 (Tamura *et al.* 2011).

El análisis de máxima verosimilitud se realizó en el programa MEGA 5.2.1 (Tamura *et al.* 2011) en base al modelo de Tamura-Nei. El árbol inicial para la búsqueda heurística fue obtenido tras aplicar el algoritmo BioNJ (Gascuel 1997) a la matriz de distancias pareadas estimada usando *Maximum Composite Likelihood*. Posteriormente el árbol fue refinado usando el algoritmo de intercambio de vecinos cercanos.

En cuanto al modelo de inferencia Bayesiana, la probabilidad posterior fue calculada mediante cadenas de Markov de Monte Carlo. Este análisis fue implementado con el paquete informático BEAST 1.6.2 (Drummond & Rambaut 2007) asumiendo el modelo de árbol *a priori* “*Yule process*”, y con el modelo evolutivo GTR con distribución gamma y sitios invariables. La longitud de las cadenas fue de 10 millones de generaciones. La convergencia de las cadenas de Markov de Monte Carlo en una distribución estacionaria para todos los parámetros fue testada mediante el programa TRACER 1.5 (Rambaut & Drummond 2011). La búsqueda del árbol consenso se realizó con el programa TREEANNOTATOR 1.6.2 (Rambaut & Drummond 2011), 1000 árboles fueron utilizados como *burn-in*, mientras que el resto sirvieron para la búsqueda.

4.2.7 Análisis poblacionales

Los haplotipos dentro de cada género fueron determinados usando el programa DNASP (Librado & Rozas 2009). En base a esta definición de haplotipos se construyó una red de haplotipos para cada género usando el programa Network 4.6.1.2 (Bandelt 1999) para dicho análisis se utilizó el algoritmo *median-joining*. En base a los haplotipos definidos anteriormente se estimó el patrón de estructura poblacional para *Cyanocyclas limosa* mediante un análisis de varianza molecular (AMOVA) implementado en el programa Arlequin 3.0 (Excoffier *et al.* 2005); la significación de los componentes de la varianza se calculó mediante 1000 permutaciones no paramétricas. En el mismo programa se realizó un análisis de *Fst* pareados (Wright 1951); para la significancia de este estudio se utilizaron 100 permutaciones.

4.3 Resultados

4.3.1 Análisis de secuencias y polimorfismo de ADN

Se realizaron extracciones de ADN mitocondrial de 144 muestras de Corbiculidae, siendo efectiva en 83 casos, todos ellos amplificados con éxito. Incluyendo las secuencias de *Corbicula* y *Cyanocyclas* obtenidas del GenBank se analizaron 89 secuencias, 51 del género *Corbicula* y 38 del género *Cyanocyclas*. El fragmento de COI estudiado consistió en aproximadamente 626 pares de bases. Dentro del género *Cyanocyclas* se encontraron 92 sitios variables y 69 sitios informativos, mientras que para el género *Corbicula* estos valores fueron de 25 y 24 respectivamente (Tabla 4.2). Dentro de *Corbicula* la especie con mayor número de sitios variables fue *C. largillierti*, mientras que *Corbicula fluminea* y *C. fluminalis* no presentaron sitios variables. *Cyanocyclas limosa* fue la especie con más sitios variables (52), de los cuales 27 son parsimoniosamente informativos; en cambio *C. guahybensis* y *C. exquisita* no presentaron sitios variables. La diversidad haplotípica para el conjunto de las secuencias del género *Corbicula* fue de 0,731 (DS: 0,032), para *C. fluminalis* y *C. fluminea* este valor fue 0, para *Corbicula largillierti* 0,471 (DS: 0,130) y para *Corbicula* sp. 0,556 (DS: 0,165) (Tabla 4.2). En el género *Cyanocyclas* se registró una diversidad haplotípica de 0,882 (DS: 0,034) con valores de 0 para *C. guahybensis*, *C. exquisita* y *C. paranensis*; el resto de las especies presentaron valores cercanos 0,667, 0,700 y 0,793 *C. undulata*, *C. fortis* y *C. limosa* respectivamente. La diversidad nucleotídica alcanzó sus mayores valores para el conjunto de las secuencias de *Cyanocyclas* (0,03725), *C. limosa* (0,01989) y el conjunto de secuencias de *Corbicula* (0,01506); en varias ocasiones se registraron valores de 0 (Tabla 4.2).

Tabla 4.2. Parámetros estadísticos de Diversidad genética para los géneros y especies estudiadas. Diversidad Haplotídica (H) (adaptada de Nei 1987); Diversidad Nucleotídica (π) (Nei 1987); Distancias genéticas p sin corregir. Estadístico D del test de Neutralidad de Tajima (1989); Estadístico Fs del test de Neutralidad Fu (1997).

	n	Pares de Bases	Sitios Variables	Sitios parsimoniosamente informativos	H	π (Desvío estándar)	D (P) *=no significativo	Fs (P)
<i>Corbicula</i>	51	626	25	24	0,731(0,039)	0,01506(0,00070)	2,06621 significativo	9,011
<i>C. fluminea</i>	19	626	0	0	0	0	-	-
<i>C. fluminalis</i>	5	626	0	0	0	0	-	-
<i>C. largillierti</i>	18	626	8	7	0,471(0,130)	0,00333(0,00114)	-0,35999 *	1,737
<i>Corbicula</i> sp.	9	626	2	1	0,556(0,165)	0,00098(0,00034)	-0,58325 *	-0,532
<i>Cyanocyclas</i>	38	626	92	69	0,882 (0,034)	0,03725(0,00230)	-0,03818 *	5,113
<i>C. limosa</i>	15	626	52	27	0,733(0,124)	0,01989(0,00580)	-0,99123*	2,572
<i>C. guahybensis</i>	10	626	0	0	0	0	-	-
<i>C. fortis</i>	5	626	6	0	0,700(0,218)	0,00383(0,00186)	-1,14554*	0,952
<i>C. exquisita</i>	4	626	0	0	0	0	-	-
<i>C. undulata</i>	3	626	7	0	0,667(0,314)	0,00745(0,00351)	-	2,884
<i>C. paranensis</i>	1	626	-	-	0	0	-	-

4.3.2 Distancias genéticas

Las distancias genética pareadas entre especies de *Cyanocyclus* y *Corbicula* variaron entre 0,196 y 0,209, mientras que dentro de cada género fue menor a 0,067 (Tabla 4.3). Dentro del género *Cyanocyclus*, *C. guahybensis* fue la especie con mayor distancia a las otras especies (entre 0,066 y 0,047), mientras que la distancia entre *C. exquisita* y *C. undulata* fue la menor (0,013). En el género *Cyanocyclus* la especie con mayor distancia intraespecífica fue *C. limosa* (0,021) mientras que las demás especies del género no superaron el 1%, llegando a ser 0 en *C. guahybensis*. En el género *Corbicula*, *C. fluminea* fue la especie más apartada del resto (0,029 a 0,024) mientras que *C. fluminalis* y *C. largillierti* presentaron la distancia mínima (0,002) (Tabla 4.3). Las distancias intraspecíficas presentaron el mayor valor en *C. largillierti* (0,004) y *Corbicula* sp. (0,001), mientras que el mínimo valor correspondió a *C. fluminea* y *C. fluminalis* (0).

Tabla 4.3. Distancias pareadas entre taxones de Corbiculidae de Uruguay. El sombreado gris marca las distancias entre especies de diferente género.

	<i>C. exquisita</i> N=4	<i>C. fortis</i> N=5	<i>C. guahybensis</i> N=10	<i>C. limosa</i> N=15	<i>C. paranensis</i> N=1	<i>C. undulata</i> N=3	<i>C. fluminalis</i> N=7	<i>C. fluminea</i> N=19	<i>C. largillierti</i> N=15	<i>Corbicula</i> sp. N=10
<i>C. exquisita</i> N=4										
<i>C. fortis</i> N=5	0,045									
<i>C. guahybensis</i> N=10	0,066	0,066								
<i>C. limosa</i> N=15	0,035	0,037	0,058							
<i>C. paranensis</i> N=1	0,038	0,038	0,047	0,025						
<i>C. undulata</i> N=3	0,013	0,037	0,061	0,031	0,032					
<i>C. fluminalis</i> N=7	0,207	0,198	0,206	0,206	0,203	0,209				
<i>C. fluminea</i> N=19	0,206	0,196	0,203	0,206	0,202	0,208	0,024			
<i>C. largillierti</i> N=15	0,206	0,198	0,206	0,205	0,203	0,208	0,002	0,024		
<i>Corbicula</i> sp. N=10	0,202	0,199	0,209	0,205	0,201	0,204	0,020	0,029	0,020	

4.3.3 Test de neutralidad

El test de Tajima realizado para el conjunto de datos de *Cyanocyclus* ($D=-0,03818$) así como para todas sus especies consideradas individualmente resultó negativo (*C. limosa* $D=-0,99123$; *C. fortis* $D=-1,14554$) y no significativo con $p>0,10$ en todos los casos. Tampoco fue significativo en estos casos el test de Fu, por lo que no hay apartamiento de la neutralidad en este género. De igual manera el valor del test de Tajima para *Corbicula* $D=2,06621$ fue significativo ($p < 0,05$).

4.3.4 Análisis filogenéticos en Corbiculidae

Los análisis filogenéticos realizados permiten determinar que tanto *Cyanocyclus* como *Corbicula* son géneros monofiléticos con 100% de soporte tanto en los análisis de máxima parsimonia como en máxima verosimilitud e Inferencia Bayesiana asumiendo coalescente (Figura 4.2). En cuanto a las relaciones de los géneros dentro de la familia los resultados son incongruentes y de bajo soporte. En el árbol de máxima parsimonia el grupo hermano de *Cyanocyclus* es *Geloina*, y el de *Corbicula* es *Batissa*, mientras que en el árbol de máxima verosimilitud el grupo hermano de *Cyanocyclus* es *Polymesoda* y *Corbicula* se ubica como el clado ancestral.

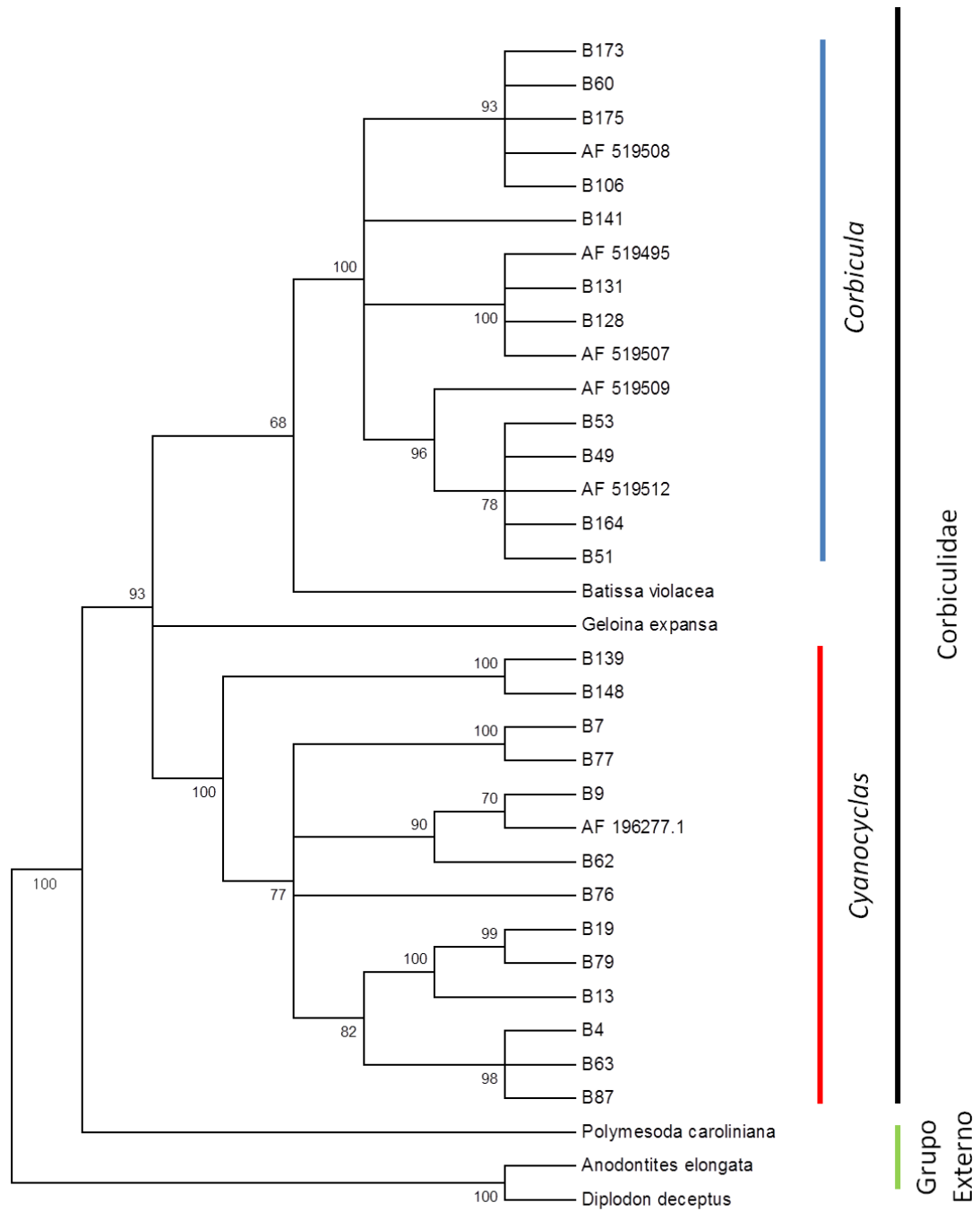


Figura 4.2. Árbol de máxima parsimonia de la familia Corbiculidae obtenido mediante el consenso estricto de los 42 árboles más parsimoniosos (235 pasos). Los números en las ramas representan los soportes de *bootstrap* mayores a 50 %.

Dentro del género *Cyanocyclus* se pueden observar en los árboles construidos con todos los métodos (Máxima parsimonia= MP, Máxima verosimilitud = MV e Inferencia Bayesiana = IB), cinco clados monofiléticos bien definidos (Figuras 4.3, 4.4 y 4.5). El primer grupo corresponde a *Cyanocyclus fortis* (MP=99, MV=99, IB=1) con tres secuencias de Yaguareté y una de Nuevo Berlín formando un clado monofilético con altos soportes (MP=95, MV=97) y una secuencia del Yaguareté por fuera. El segundo grupo esta conformado por todas las secuencias de *Cyanocyclus guahybensis* (MP=99, MV=99, IB=1) sin estructuración interna. Un tercer grupo (MP=96, MV=97, IB=1) integra las secuencias de *Cyanocyclus undulata* en parafilia con *Cyanocyclus exquisita* que forma un grupo monofilético (MP=98, MV=98, IB=0,9). En cambio *Cyanocyclus limosa* presenta dos grupos; uno con la mayoría de las secuencias (11) pertenecientes a esta especie (MP=87, MV=93, IB=1) y otro que nuclea el único individuo de La Plata un individuo de Yaguareté y otro de Batoví (MP=87, MV=78), en el árbol de este inferencia bayesiana este grupo incluye además una secuencia de Tacuarembó (IB= 0,83) que en los otros arboles colapsa a la politomia basal. Finalmente la única secuencia perteneciente a *Cyanocyclus paranensis* no se agrupa con ninguna otra secuencia correspondiente a *Cyanocyclus*. Todos estos clados bien soportados no presentan estructuración colapsando en una politomía basal.

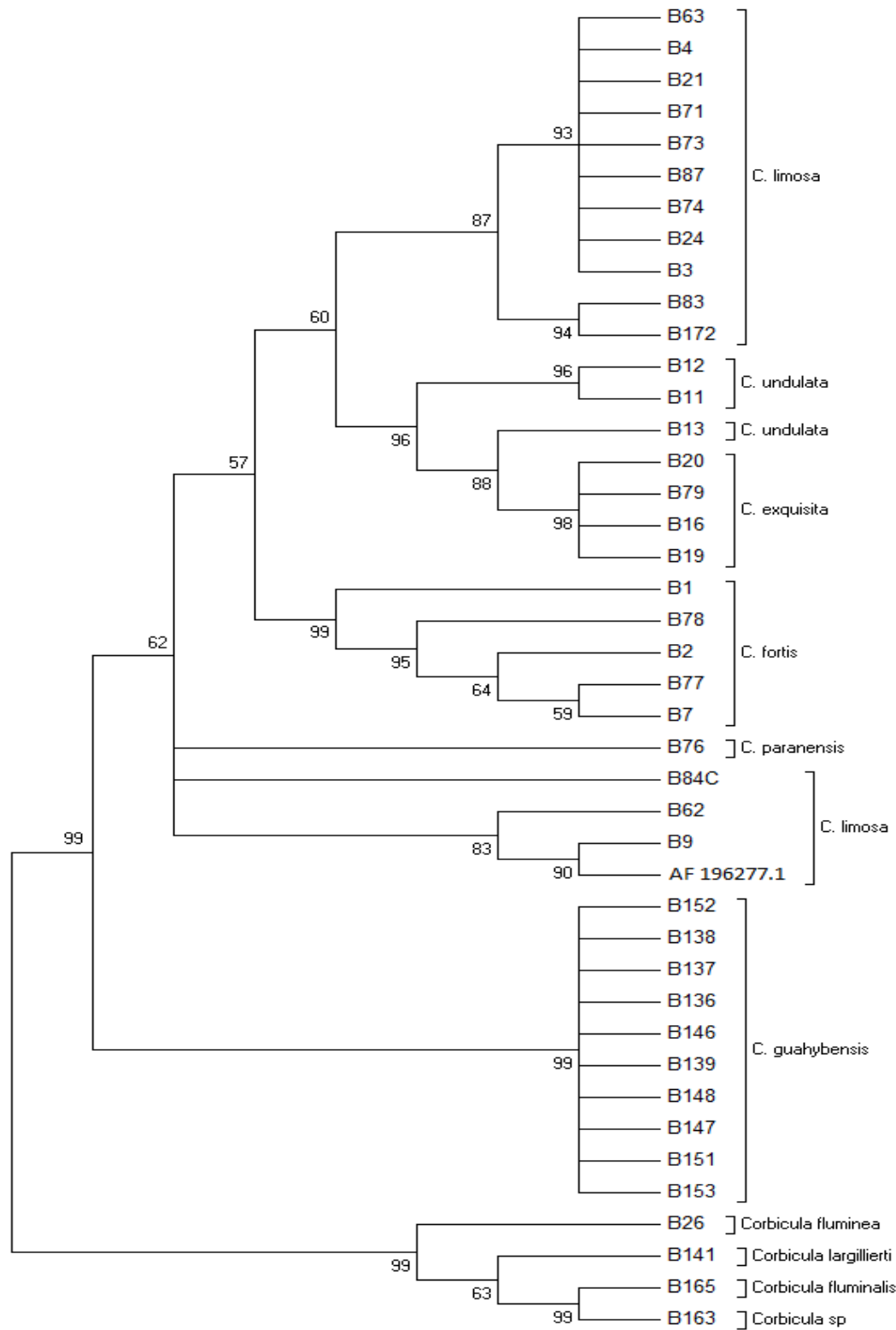


Figura 4.3. Árbol de máxima parsimonia para el género *Cyanocyclas* obtenido mediante el consenso estricto de los cuatro árboles más parsimoniosos (235 pasos). Los números en las ramas representan los soportes de *bootstrap* mayores a 50 %.

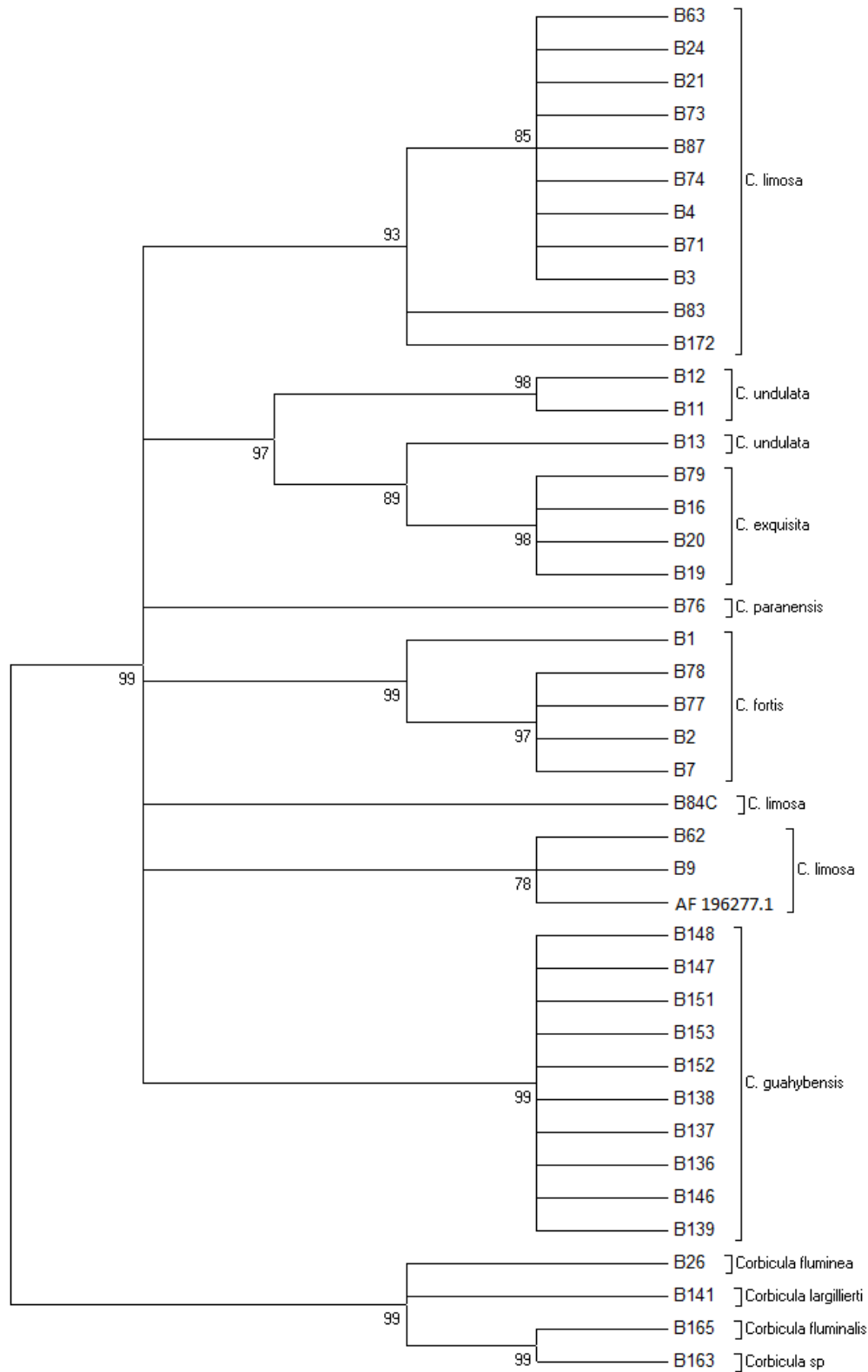


Figura 4.4. Árbol de máxima verosimilitud para el género *Cyanocyclas* los números en las ramas representan los soportes de *bootstrap* mayores a 75 %.

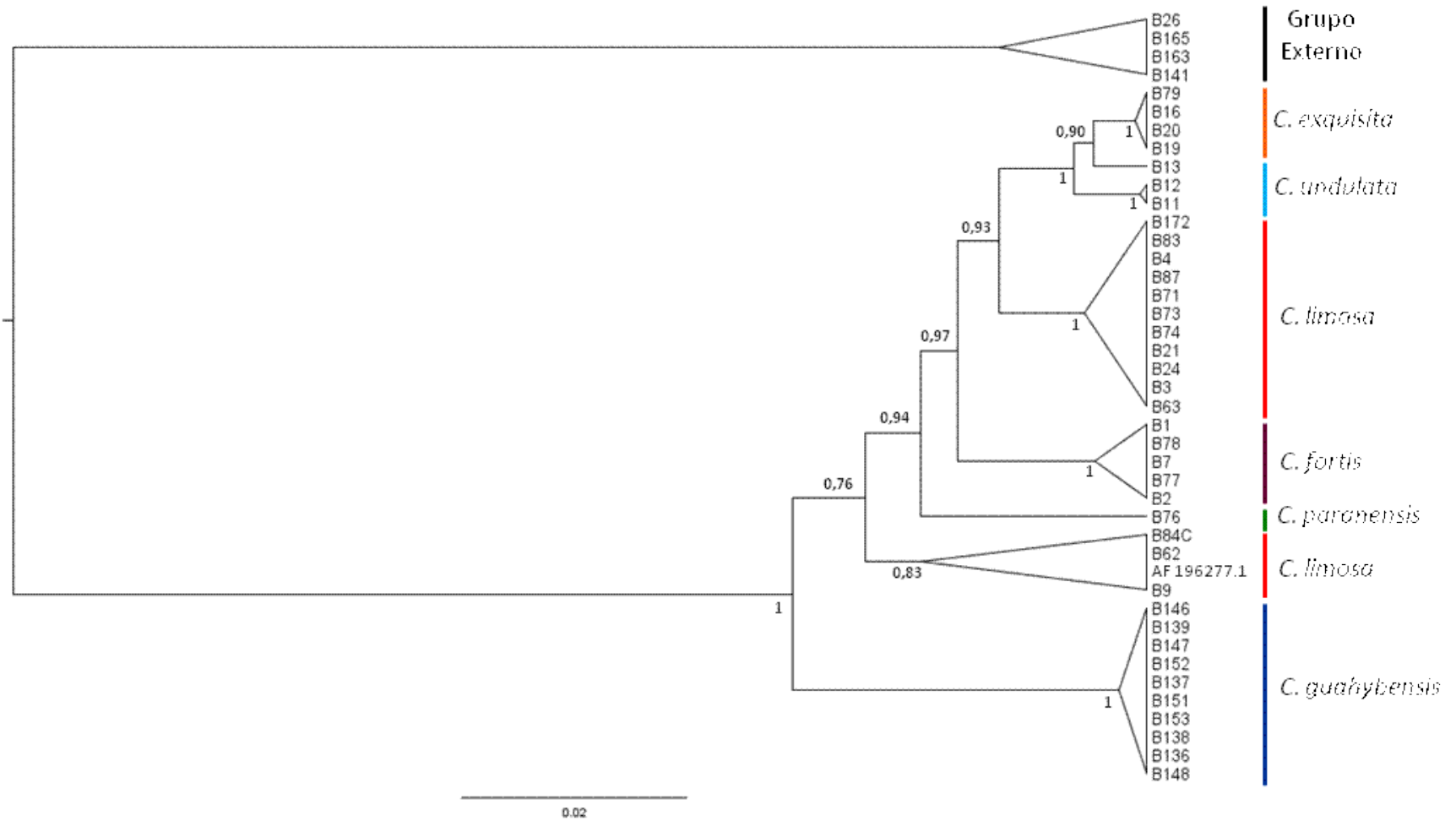


Figura 4.5. Árbol de de Inferencia Bayesiana basado en el coalescente en el género *Cyanocyclas*. Los números en las ramas representa el valor de probabilidad *a posteriori* para cada clado.

Dentro del género *Corbicula* se reconocen cuatro clados bien soportados (Figuras 4.6, 4.7 y 4.8) correspondientes a; *Corbicula fluminea* (MP=98, MV= 99, IB= 1), *Corbicula* sp. (MP= 98, MV= 92, IB= 1), tres secuencias de *Corbicula largillierti* pertenecientes a la laguna de Itapeva (Brasil) (MP= 96, MV= 96, IB= 1) y un cuarto clado uniendo el resto de las secuencias de *Corbicula largillierti* con las secuencias de *Corbicula fluminalis* (MP= 88, MV=96, IB= 1). La estructuración de estos grupos no es concluyente ya que para el análisis de máxima parsimonia e inferencia bayesiana se observó un clado con relativamente buen soporte (MP= 72, IB= 0,94) formado por las secuencias de *C. largillierti*, *Corbicula fluminalis* y *Corbicula* sp., el que en el análisis de máxima verosimilitud solo alcanzó el 61 % de soporte colapsando los cuatro clados en una politomia basal.

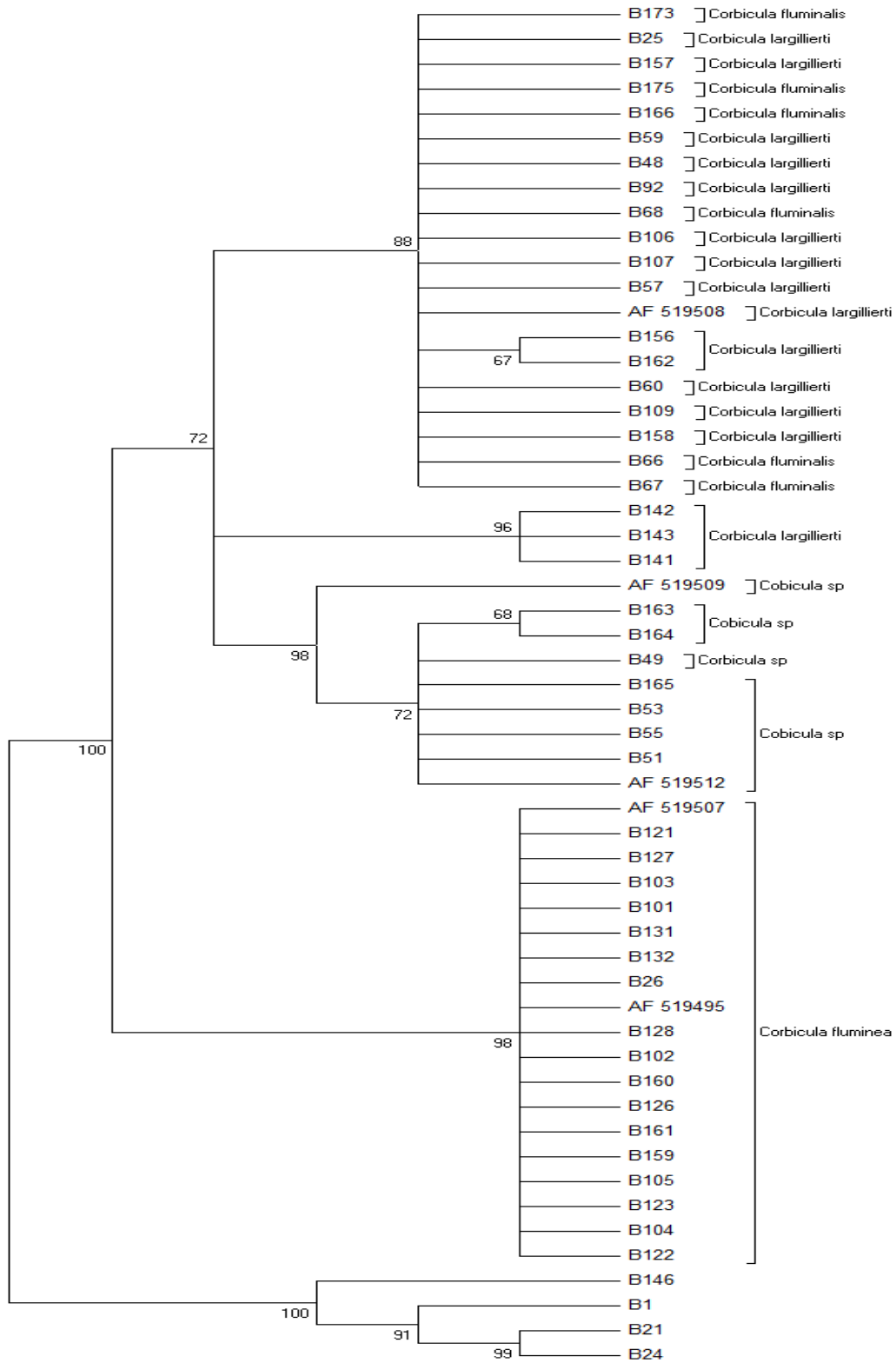


Figura 4.6. Árbol de máxima parsimonia para el género *Corbicula* obtenido mediante el consenso estricto de los 740 árboles más parsimoniosos (166 pasos). Los números en las ramas representan los soportes de *bootstrap* mayores a 50 %.

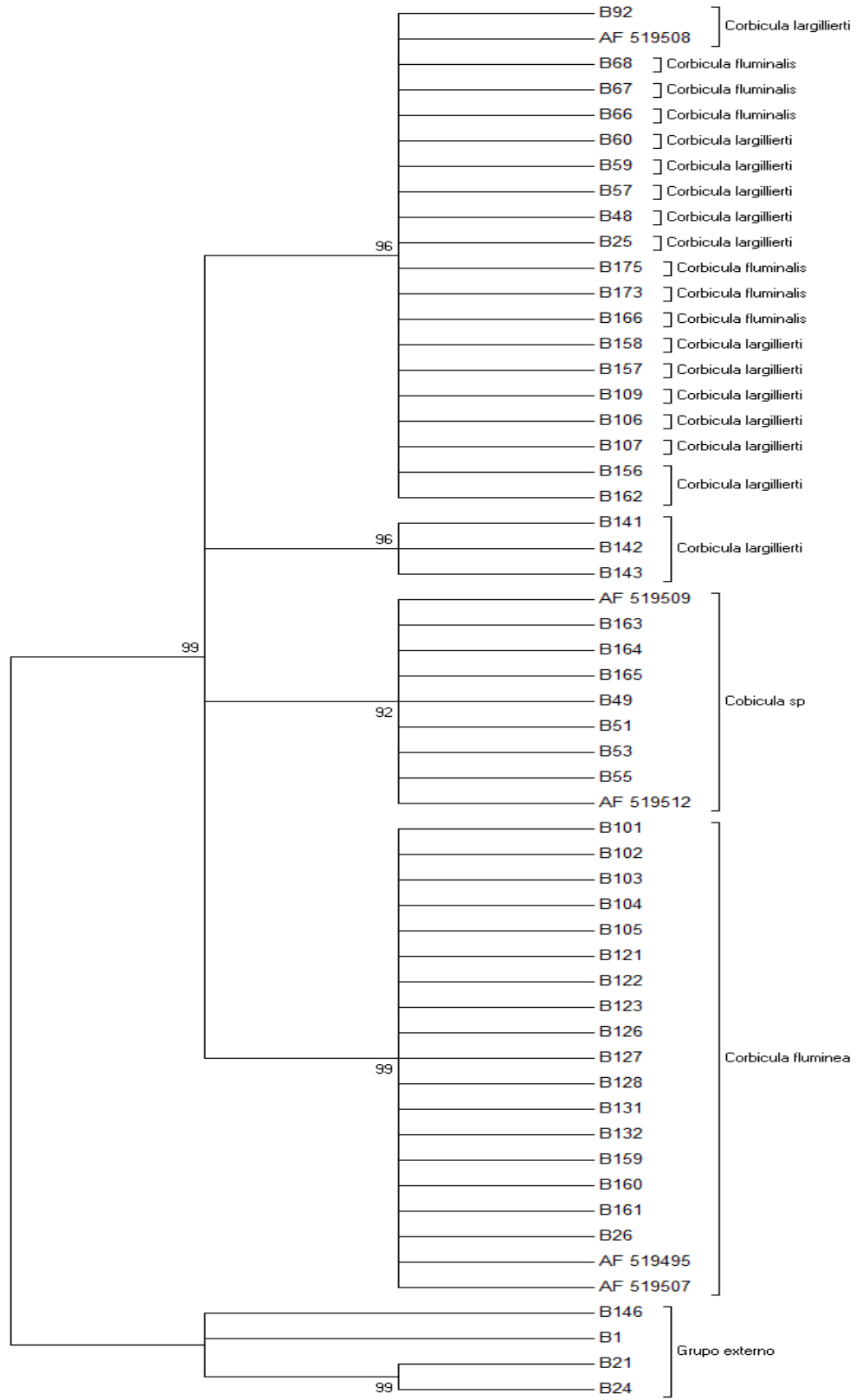


Figura 4.7. Árbol de máxima verosimilitud para el género *Corbicula* los números en las ramas representan los soportes de *bootstrap* mayores a 75 %.

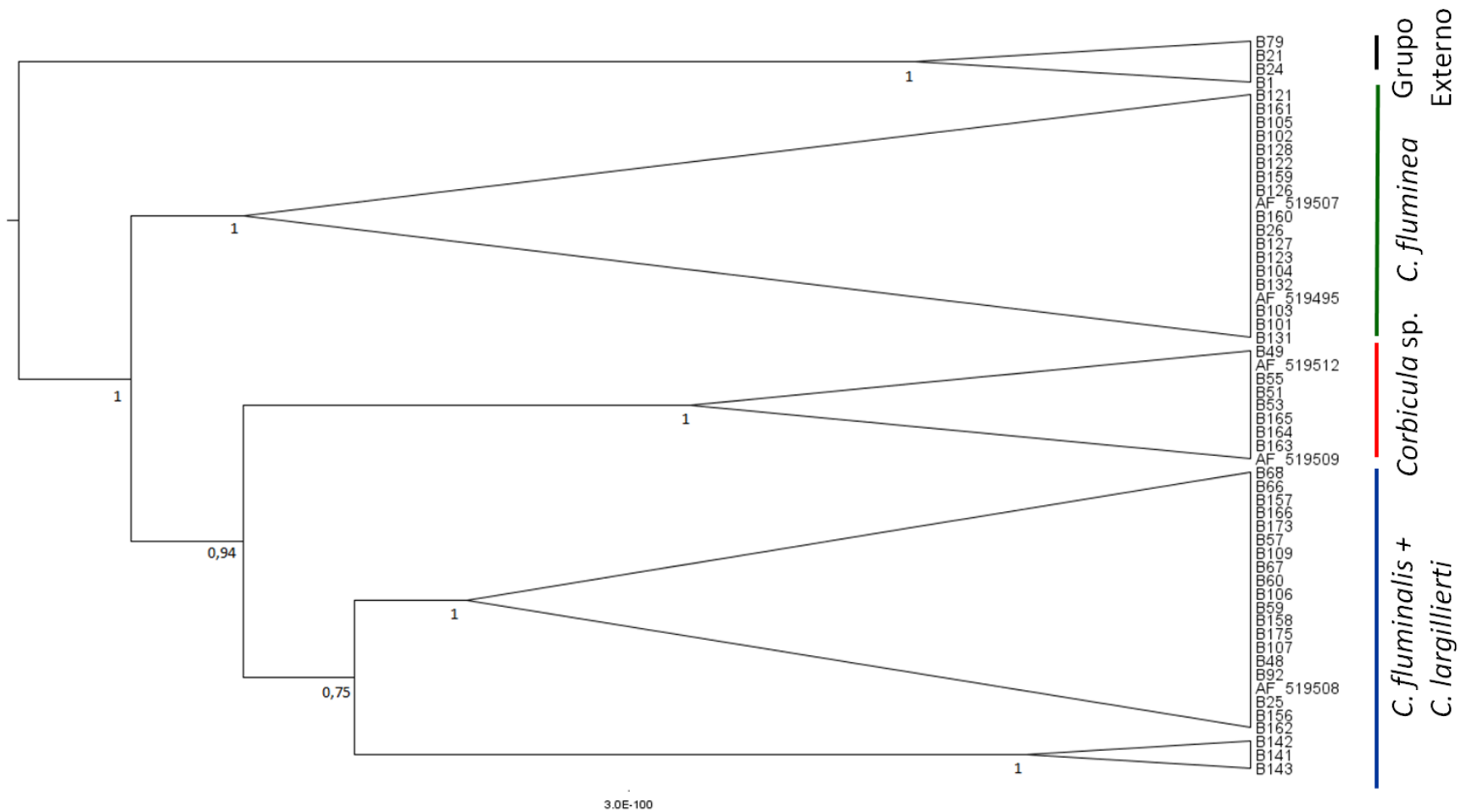


Figura 4.8. Árbol de Inferencia Bayesiana basado en el coalescente en el género *Corbicula*. Los números en las ramas representan el porcentaje de probabilidad *a posteriori* mayor a 0,75.

4.3.5 Análisis poblacional

Para el género *Corbicula* se registraron ocho haplotipos, uno para *Corbicula fluminea*, tres para *Corbicula* sp., uno para *Corbicula fluminalis* (compartido con *Corbicula largillierti*) y tres más para *C. largillierti*. Los haplotipos 1, 2 y 7 se encontraron en cuatro o más localidades, mientras que los haplotipos 4, 5 y 8 estuvieron representados por una única secuencia (Tabla 4.4).

Tabla 4.4. Haplotipos de *Corbicula* por especies y localidad.

Haplotipo	Secuencia	Especie	Localidad
1	B101 B102 B103 B104 B105 B121 B122 B123 B126 B127 B128 B131 B132 B159 B160 B161 B26 AF 519495 AF 519507	<i>C. fluminea</i>	Cololó, San Carlos, Pan de Azúcar, Veludo, Florida, Yaguareté, Michigan, La Plata
2	B106 B107 B109 B157 B158 B166 B173 B175 B25 B48 B57 B59 B60 B66 B67 B68 B92 AF 519508	<i>C. largillierti</i> y <i>C. fluminalis</i>	La Falda, Peixoto, Arena Branca, Bequeló, Januaria, Cuareim, Don Esteban, Yaguareté, Vacas, La Plata
3	B141 B142 B143	<i>C. largillierti</i>	Itapeva
4	B156	<i>C. largillierti</i>	Peixoto
5	B162	<i>C. largillierti</i>	Veludo
6	B163 B164	<i>Corbicula</i> sp.	Veludo
7	B165 B49 B51 B53 B55 AF 519512	<i>Corbicula</i> sp.	Arena Branca, Yaguareté, Piedras, Iguazú
8	AF 519509	<i>Corbicula</i> sp.	Utah

Para el género *Cyanocyclas* se identificaron 16 haplotipos, la especie con mayor número fue *Cyanocyclas limosa* (8), seguida por *Cyanocyclas fortis* (3) y *Cyanocyclas undulata* (2), el resto de las especies contó con un solo haplotipo (Tabla 4.5).

Tabla 4.5. Haplotipos de *Cyanocyclus* por especies y localidad.

Haplotipo	Secuencia	Especie	Localidad
1	B13	<i>C. undulata</i>	Yaguareté
2	B11, B12	<i>C. undulata</i>	Yaguareté
3	B1	<i>C. fortis</i>	Yaguareté
4	B2, B7, B77	<i>C. fortis</i>	Yaguareté
5	B78	<i>C. fortis</i>	Nuevo Berlin
6	B136 B137 B138 B139 B146 B147 B148 B151 B152 B153	<i>C. guahybensis</i>	Quadros, Peixoto, Veludo
7	B16 B19 B20 B79	<i>C. exquisita</i>	Yaguareté
8	B172	<i>C. limosa</i>	Cuareim
9	B21 B24 B3 B4 B71 B73 B74 B87	<i>C. limosa</i>	Don Esteban, Yaguareté, Mazangano, Paysandú
10	B62	<i>C. limosa</i>	Batoví
11	B63	<i>C. limosa</i>	Batoví
12	B76	<i>C. paranensis</i>	Yaguareté
13	B83	<i>C. limosa</i>	Tacuarembó
14	B84C	<i>C. limosa</i>	Tacuarembó
15	B9	<i>C. limosa</i>	Yaguareté
16	AF 196277.1	<i>C. limosa</i>	La Plata

Los individuos de *Cyanocyclus guahybensis* proveniente de tres localidades (Veludo, Peixoto y Quadros) presentaron un único haplotipo (Figura 4.9), esta fue la especie que más distante del resto, presentado la rama que lo conecta al resto de la red 22 pasos. Los haplotipos de *Cyanocyclus limosa* se congregaron en dos grupos separados por cuatro ancestros hipotéticos que a su vez conectan con las otras especies del género. Esta división no se expresó en la distribución geográfica, en tres casos (Batoví, Tacuarembó y Yaguareté) se registraron individuos de uno y otro grupo.

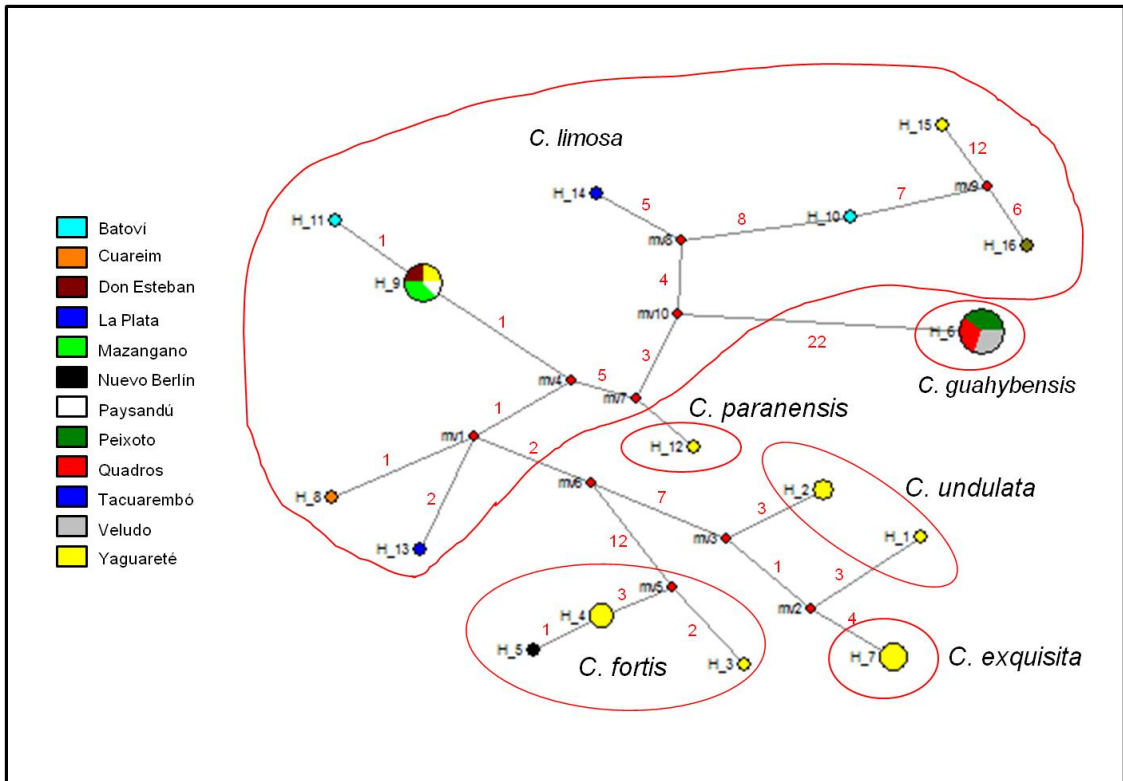


Figura 4.9. Rede de haplotipos de *Cyanocyclas*. Os pontos vermelhos representam ancestrais hipotéticos e os números vermelhos o número de passos mutacionais entre um haplotipo e outro ou um intermediário.

La rede de haplotipos de *Corbicula* presenta dos ancestros hipotéticos separados por un único paso mutacional (Figura 4.10). De uno de los ancestros se derivan por un lado todos los haplotipos de *Corbicula* sp. y por otro el haplotipo 3 que pertenece a *Corbicula largillierti*. Del otro ancestro hipotético se deriva el haplotipo 2 que incluye a todas las secuencias de *Corbicula fluminalis* y a la mayoría de las secuencias de *Corbicula largillierti*; de este haplotipo y en forma secuencial se derivan los haplotipos 5 y 4 también correspondientes a *C. largillierti*. Finalmente *Corbicula fluminea* presentó un único haplotipo, distanciado por 11 pasos mutacionales del ancestro hipotético 2.

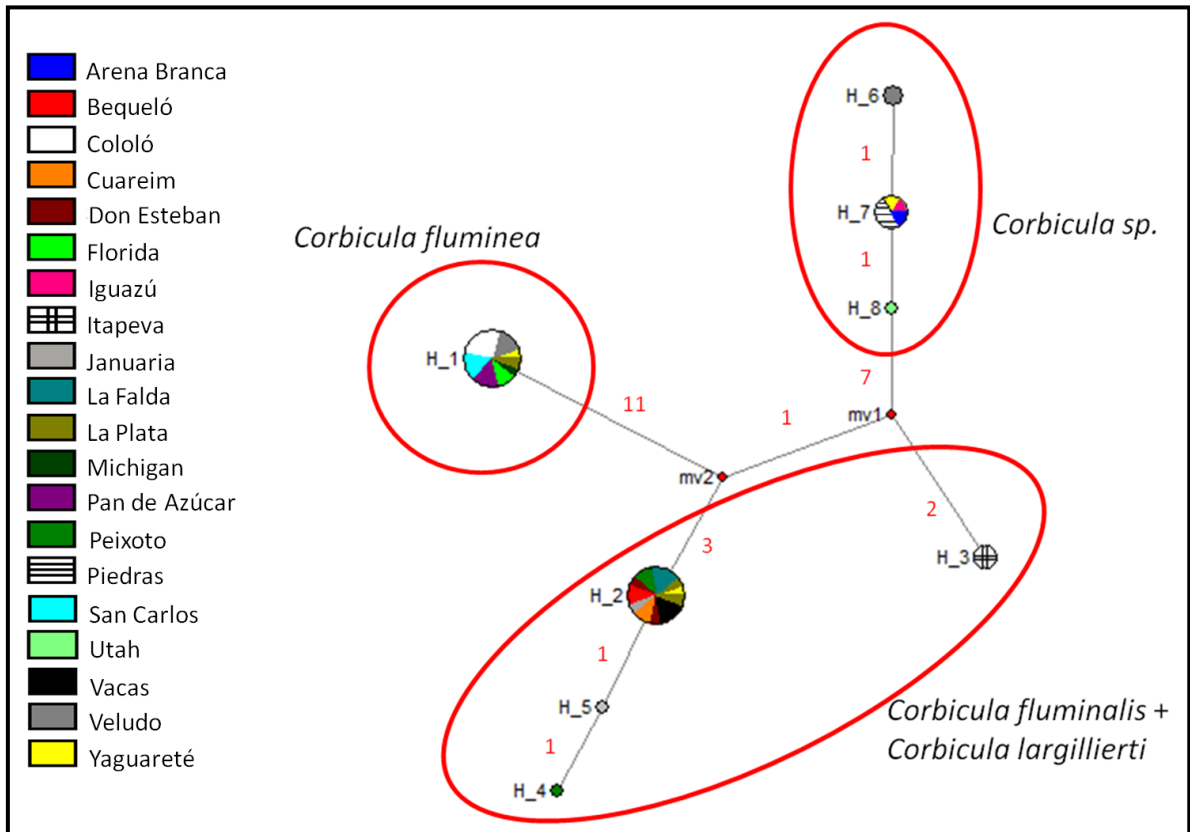


Figura 4.10. Rede de haplotipos de *Corbicula*. Os pontos vermelhos representam ancestrais hipotéticos e os números vermelhos o número de passos mutacionais entre um haplotipo e outro ou um intermediário.

La estructura de poblaciones que optimizó la prueba de hipótesis de agrupamiento mediante en AMOVA obteniendo el valor máximo de Fct (0,43210), máxima variación entre grupos (43,1 %) y mínima dentro de grupos (83,68 %) se conformó por tres grupos con las siguientes localidades: 1 La Plata; 2 Don Esteban, Mazangano, Paysandú, Cuareim y 3 Yaguareté, Batoví y Tacuarembó (Tabla 4.6).

Tabla 4.6. Análisis Molecular de Varianza genética a nivel macrogeográfico en las cuencas de Uruguay. Se presentan los valores basados en el gen mitocondrial del AMOVA de acuerdo a una de las hipótesis testeadas para evaluar la estructura genética de las poblaciones de *Cyanocyclas limosa* analizadas en este trabajo. La estructura está marcada por tres grupos conformados por las siguientes poblaciones: 1- La Plata; 2-Don Esteban, Mazangano, Paysandú, Cuareim; 3- Yaguareté, Batoví y Tacuarembó. Ningún valor de los componentes de la varianza fue estadísticamente significativos ($P < 0,05$).

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de la varianza
entre grupos	2	25,019	2,45887	43,21
entre poblaciones dentro de grupos	5	9,381	-1,5303	-26,89
dentro de poblaciones	7	33,333	4,7619	83,68

Las poblaciones de La Plata y Cuareim presentaron valor de $F_{st} = 1$ entre sí y con las poblaciones Don Esteban, Mazangano y Paysandú; a su vez estas tres poblaciones presentaron valor de $F_{st} = 0$. Lo mismo sucedió entre las poblaciones de Batoví y Don Esteban y Mazangano y Yaguareté. El resto de las relaciones fueron o bien negativas o positivas pero no superando el valor 0,348 (Mazangano vs Tacuarembó).

Tabla 4.7. Estadístico F_{ST} pareados en base al gen COI entre pares de poblaciones de *Cyanocyclas limosa*.

	Don Esteban	Mazangano	Paysandú	Cuareim	Yaguareté	Batoví	Tacuarembó	La Plata
Don Esteban								
Mazangano	0,000							
Paysandú	0,000	0,000						
Cuareim	1,000	1,000	1,000					
Yaguareté	-0,200	0,000	-1,000	-0,704				
Batoví	0,000	0,250	-1,000	-0,826	-0,358			
Tacuarembó	0,118	0,348	-0,765	-1,000	-0,155	-0,500		
La Plata	1,000	1,000	1,000	1,000	0,132	-0,355	0,268	

4.4 Discusión

Los 15 haplotipos del gen mitocondrial COI elevan sustancialmente el número de haplotipos conocidas del género *Cyanocyclus* para el que hasta el presente estudio solo se conocía uno (Lee *et al.* 2005).

Ambos géneros estudiados presentaron valores relativamente bajos de diversidad nucleotídica y altos de diversidad haplotípica. Este tipo de valores son propios de especies con rápidos crecimientos de la población a partir de una población ancestral pequeña (Avice 2000). Esto se puede deber tanto a la llegada de pocos linajes a un nuevo ambiente (caso de *Corbicula*), como a la disminución de diversidad nucleotídica por procesos de reducción poblacional (caso de *Cyanocyclus*).

Por primera vez se comprueba a partir de información molecular la monofilia del género *Cyanocyclus* la que es soportada por todos los análisis realizados. En cuanto a las relaciones de los géneros dentro de la familia los resultados son incongruentes y de bajo soporte. En el árbol de máxima parsimonia el grupo hermano de *Cyanocyclus* es *Geloina*, y el de *Corbicula* es *Batissa*, mientras que en el árbol de máxima verosimilitud el grupo hermano de *Cyanocyclus* es *Polymesoda* y *Corbicula* se ubica como el clado ancestral. En un estudio anterior Graf (2013) relaciona más estrechamente a *Cyanocyclus* con *Polymesoda*. Cabe recordar que existen registros fósiles para formaciones del Mioceno en Argentina de *Polymesoda*, e individuos atribuidos al género *Corbicula* (Parodiz 1969, Pérez *et al.* 2010).

Los datos filogenéticos soportan la existencia de al menos cinco clados de *Cyanocyclus*, asignados a *Cyanocyclus limosa*, *Cyanocyclus paranensis*, *Cyanocyclus fortis*, *Cyanocyclus guahybensis*, y *Cyanocyclus exquisita*. Esta última especie posee una estrecha afinidad con *C. undulata*, pero la baja distancia genética entre estas especies (0,013) y el hecho de que *C. undulata* aparezca en parafilia con *C. exquisita* no justifican la división de las mismas. La topología resultante de los árboles para *Cyanocyclus limosa* es sumamente interesante. Los ejemplares estudiados asignados a *C. limosa* se encuentran divididos en dos clados monofiléticos y distantemente relacionados, sin embargo estos clados presentan simpatria en al menos tres localidades. Esta topología puede explicarse por la presencia de entidades crípticas o por la existencia del fenómeno de heteroplasmia, proceso en el cual el ADN mitocondrial del padre también es heredado, generando dos linajes mitocondriales en la misma especie (Zouros *et al.* 1992, Alves *et al.* 2012). Según Hoeh *et al.* (1996) y Passanati &

Ghiselli (2009) la tasa evolutiva del ADN masculino es mayor por lo que en los casos de heteroplasmia una de los clados presenta ramas más “largas”. En nuestro árbol el clado formado por las secuencias 9, 62, 84C y la secuencia obtenida del gen bank representaría el linaje masculino.

La presencia de un haplotipo de *Cyanocyclas limosa* en cuatro localidades distantes (Don Esteban, Yaguareté, Mazangano y Paysandú), y de un haplotipo de *Cyanocyclas guahybensis* en tres localidades alejadas (Quadros, Peixoto y Veludo) son inusuales para una especie animal no vágil y de reducida capacidad de dispersión mediante formas larvales. La distribución de estos haplotipos sugiere o bien que son haplotipos ancestrales de reproducción clonal o que la dispersión de la especie está facilitada por algún vector. Peces o aves que se alimenten de *Cyanocyclas* pueden ser posibles vectores transportando en el sistema digestivo ya sea ejemplares adultos o las crías desarrolladas en su interior que puedan soportar el paso a través del tracto digestivo. Otra hipótesis a testear es la foresis de juveniles, por ejemplo por artrópodos acuáticos o ligados a ese medio, como ha sido referido para bivalvos Sphaeriidae (Zelaya & Marinone 2012).

Dentro del género *Corbicula* se pueden observar tres clados que se corresponden a las forma A (*Corbicula fluminea*), forma B (*Corbicula* sp.) y forma C (*Corbicula largillierti*) estudiadas por Lee *et al.* (2005) para América. Aparte de estos tres clados se registró un cuarto grupo monofilético de tres secuencias de la laguna de Itapeva pertenecientes morfológicamente a la forma C (*C. largillierti*).

Corbicula fluminalis estuvo representada por un único haplotipo que fue encontrado también en ejemplares asignados morfológicamente a *Corbicula largillierti*. Esto sugiere que los ejemplares determinados como *C. fluminalis* para Brasil y Uruguay corresponderían a una variación fenotípica de *C. largillierti*, aunque no se puede descartar que exista hibridización ya que este tipo de disyunción entre la morfología, el ADN mitocondrial y el ADN nuclear ha sido registrado previamente en el género *Corbicula* (Lee *et al.* 2005, Park *et al.* 2002, Pfenninger *et al.* 2002).

La presencia de un único haplotipo de *Corbicula fluminea* está en concordancia a lo hallado por Lee *et al.* (2005) quienes encontraron idéntico haplotipo en nueve localidades de las dos Américas incluyendo Cuba, las cabeceras del Amazonas (Ecuador/Perú), La Plata (Argentina) y Michigan (Estados Unidos). Esto reafirma la hipótesis de que el linaje de *C. fluminea* que invadió América tiene reproducción clonal y una gran adaptación a diferentes ambientes.

Capítulo V

Distribución histórica y actual de *Cyanocyclas* en Uruguay

5.1 Introducción

El conocimiento sobre la distribución geográfica de un taxón es uno de los *inputs* básicos necesarios para la evaluación del estado de conservación y la planificación de acciones de conservación (Mace & Lande 1991, The National Native Mussel Conservation Committee 1998). Si bien existen trabajos previos que aportan datos sobre la distribución de *Cyanocyclas* en Uruguay (Barattini 1951, Figueiras 1965a) estos datos son comúnmente de baja precisión, siendo escasos los registros geográficos exactos (*e.g.*: Arroyo de las Vacas, Paso de la Arena (Olazarri 1966)). Además estas distribuciones presentan vacíos de información, los que pueden ser explicados por el bajo esfuerzo de muestreo realizado en varias cuencas (ver Clavijo 2009). Nuevos esfuerzos son necesarios para llenar estos vacíos y conocer el estado de las poblaciones de *Cyanocyclas* spp. y sus posibilidades de conservación.

Los individuos de *Cyanocyclas* spp. son hermafroditas, mostrando incubación branquial de los embriones que son liberados como juveniles completamente desarrollados (Parodiz & Hennings 1965, Ituarte 1984, Ituarte 1994) además es posible que estas especies posean auto fertilización (Figueiras 1965a, Parodiz & Hennings 1965). Esto implica que tienen una baja tasa reproductiva y una baja diversidad génica, lo que incrementaría su vulnerabilidad a extinciones locales.

Recientes estudios reportan la drástica disminución en el rango de distribución de *Cyanocyclas* en Uruguay (Scarabino 2004, Clavijo *et al.* 2010) y en la planicie costera de Rio Grande do Sul (Lanzer com. pers.). Basados en los antecedentes de la literatura y en relevamientos de campo, Scarabino & Clavijo (2009) y Clavijo & Scarabino (2013) incluyeron todas las especies de *Cyanocyclas* de Uruguay en la lista nacional de especies prioritarias para la conservación.

El objetivo de este capítulo es determinar la distribución geográfica actual del género *Cyanocyclas* en Uruguay y efectuar un análisis comparativo con los registros históricos.

Hipótesis: Las poblaciones de *Cyanocyclus* han declinado sensiblemente o desaparecido en la mayoría de las localidades en las que históricamente han sido reportadas.

5.2 Metodología

La distribución histórica de *Cyanocyclus* en Uruguay fue determinada en base a la revisión de las siguientes colecciones: Museo Nacional de Historia Natural, Montevideo, Uruguay (MNHNM), Museo de La Plata, La Plata, Argentina (MLP) Museo Argentino de Ciencias Naturales, Buenos Aires, Argentina (MACN), Museo Provincial de Ciencias Naturales “Florentino Ameghino”, Santa Fe, Argentina (MSF), Fundação Zoobotânica, Porto Alegre, Brasil (FZB) y Museu Nacional de Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil (MNRJ) identificando el material de *Cyanocyclus* colectado en Uruguay. En cuanto a la calidad de los datos geográficos, siguiendo a Clavijo (2009), los lotes sin localidad o con localidad imprecisa no fueron considerados para este estudio. El mismo criterio fue usado para registros de la literatura, considerando únicamente localidades bien definidas. Todos estos registros fueron georeferenciados usando Google Earth e incluidos en un sistema de información geográfica (SIG) usando el software DivaGis, para generar el mapa de distribución del género en Uruguay.

Para corroborar la distribución presente de *Cyanocyclus* 75 % de las localidades históricas (al menos una en cada cuenca principal del país) fue revisada y muestreada recorriendo y recolectando a mano a lo largo de la costa y en fondos de arenas finas o lodosos durante una a dos horas. Los muestreos se restringieron a los periodos de aguas bajas entre 2009 y 2012. Ejemplares *voucher* fueron depositados en la colección malacológica del Museo Nacional de Historia Natural (MNHNM, Montevideo, Uruguay).

5.3 Resultados

Existen registros de *Cyanocyclus* (considerando el período 1898-1990) de 93 localidades en Uruguay, distribuidas en todas las principales cuencas del país (Figura 5.1). Solo en cinco (7,1 %) de las 70 localidades reestudiadas, fueron encontrados ejemplares vivos de *Cyanocyclus* (Figura 5.2, círculos negros). En cuatro localidades (5,7 %) fueron encontradas valvas de ejemplares que por conservar el periostraco, el ligamento o incluso estar conjugadas

se presume pertenecen a ejemplares recientemente muertos sugiriendo la posible supervivencia de poblaciones en el área (Figura 5.2, círculos grises).

En la cuenca Atlántica y de la laguna Merin no se encontraron ejemplares, restando dos localidades por visitar. En la cuenca del río Santa Lucía solo se encontraron valvas vacías de *Cyanocyclus limosa* en el paso de la ruta 64 sobre el arroyo Canelón Grande. En la cuenca del Río de la Plata solo se encontraron ejemplares de *Cyanocyclus limosa* en el arroyo de las Vacas, un único ejemplar vivo en el paso de la arena, y varias valvas vacías en el paso del cerro (más próximo a la desembocadura). La mayor riqueza de especies de *Cyanocyclus* fue encontrada en el río Uruguay, próximo a la desembocadura del arroyo Yaguareté, donde se encontraron ejemplares vivos de *Cyanocyclus limosa*, *Cyanocyclus fortis*, *Cyanocyclus undulata*, *Cyanocyclus exquisita* y *Cyanocyclus paranensis*. Dentro de la cuenca del río Negro se encontraron ejemplares vivos de *C. limosa* en el paso Mazangano, sobre el río Negro, en el arroyo Sauce de Batoví sobre la ruta 59 y en el arroyo Don Esteban sobre la ruta 3. En dos afluentes directos del río Uruguay en el norte de Uruguay (río Daymán y arroyo Guaviyú) fueron encontradas valvas de *C. limosa*.

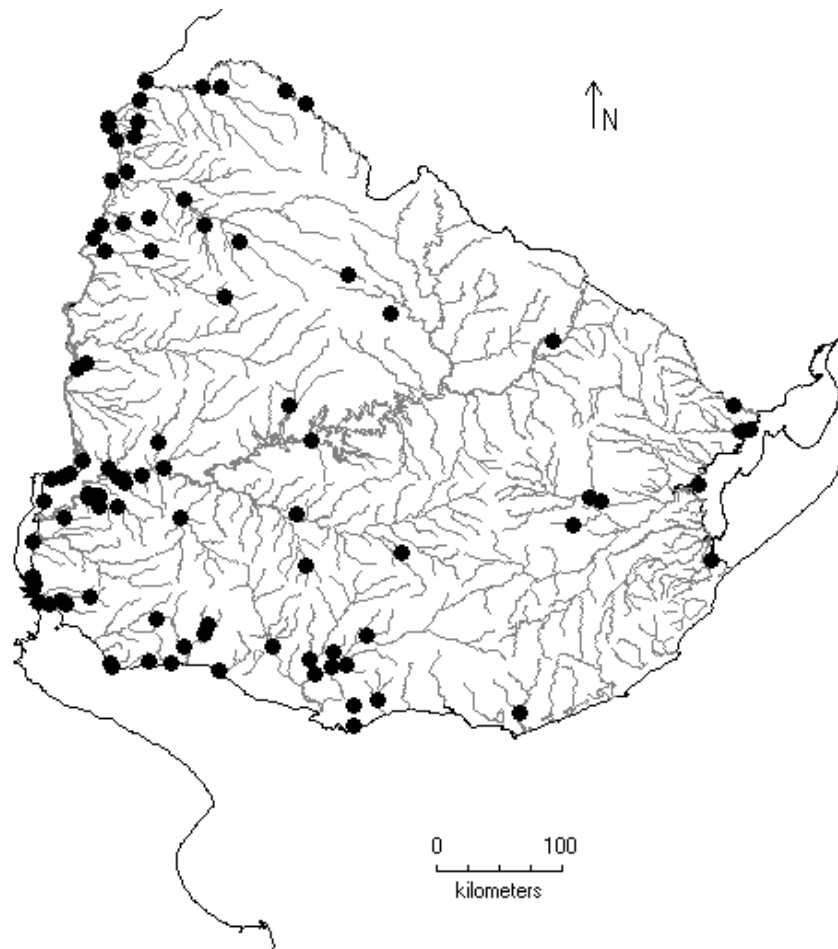


Figura 5.1. Distribución histórica del género *Cyanocyclus* en Uruguay.

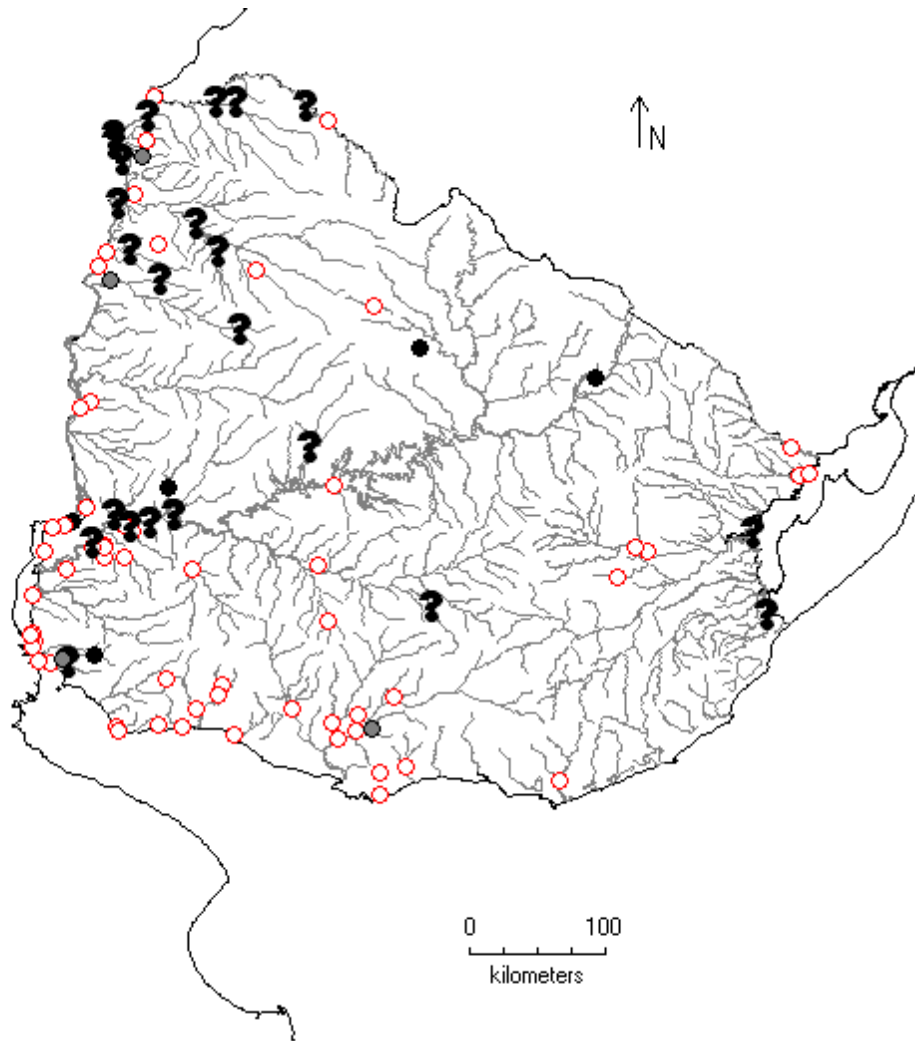


Figura 5.2. (A) Situación actual de las poblaciones de *Cyanocyclas* históricamente registradas en Uruguay. Circulo negro = ejemplares vivos, circulo gris = solo valvas, circulo vacío = no se encontraron ejemplares, signo de interrogación = localidad no revisitada.

5.4 Discusión

El presente estudio indica que la distribución geográfica actual de *Cyanocyclas* spp. en aguas uruguayas se ha reducido de forma drástica desde su distribución históricamente registrada. La suma de las localidades con registros (tanto de ejemplares vivos como de valvas) no supera el 13% de las localidades estudiadas.

Una de las posibles causas de la restricción en la distribución de *Cyanocyclas* es la colonización de sus ambientes por parte de especies exóticas invasoras del género *Corbicula* (Corbiculidae) las que actualmente se encuentran en todas las cuencas de Uruguay (Clavijo et

al. 2009). Desde el primer registro de *Corbicula fluminea* y *Corbicula largillierti* en Uruguay las poblaciones de *Cyanocyclus* comenzaron a declinar en áreas de la cuenca del Río de la Plata (Veitenheimer-Mendes & Olazarri, 1981). Lanzer & Schafer (1985) y Mansur & Garces (1988) reportaron consecuencias similares de la invasión de *Corbicula* en la planicie costera de Rio Grande do Sul (Brasil). La interacción con especies del género *Corbicula* ha sido registrada incluso a nivel intragenérico. Darrigran (1991) y Olazarri (1986) describen la competencia entre *C. largillierti* especie dominante al inicio de la invasión al Río de la Plata y *C. fluminea* quien tras colonizar el área desplazó a la especie cogenérica. Estos antecedentes indicarían que el potencial competitivo de *C. fluminea* es mayor que el de las otras especies del género lo que se ve reflejado en que de las cuatro localidades con registros de *Cyanocyclus* vivas solo en una se registró *C. fluminea* y en baja densidad (<1 individuo/m²) mientras que en otras tres se registró *Corbicula* sp. o *C. largillierti*. La literatura sobre competencia entre los bivalvos nativos (principalmente referida a Unionoidea) y *Corbicula* es extensa, pero sin embargo las conclusiones sobre los efectos de esta interacción son a menudo contrastantes (Miller & Payne 1994, Vaughn & Spooner 2006 y referencias allí). Las cuatro localidades revisitadas en las que se encontraron ejemplares vivos de *Cyanocyclus* junto con especies de *Corbicula* proveen una buena oportunidad para realizar estudios sobre competencia interespecífica.

En otras localidades, la polución urbana podría asociarse a la desaparición de *Cyanocyclus*. Como ejemplo el arroyo Malvín, localidad tipo de *Cyanocyclus oleana* (Marshall, 1924) (Montevideo) y el arroyo Dominicó, localidad del neotipo de *Cyanocyclus limosa* se encuentran actualmente fuertemente alterados por impactos antrópicos (Figura 5.3). Un caso particular es el del río Santa Lucía donde la extracción de arena afectó el depósito de sedimentos y causó pérdidas severas de sedimentos finos y el afloramiento de sustrato duro como resultado, volviendo inhabitable esta localidad para *Cyanocyclus*.



Figura 5.3. Localidad tipo de *Cyanocyclus oleana* arroyo Malvín, Montevideo, Uruguay (izquierda) y localidad del neotipo de *Cyanocyclus limosa* arroyo Dominico, Provincia de Buenos Aires, Argentina (derecha) alteradas por impactos antrópicos.

Las últimas poblaciones de *Cyanocyclus* se conservan próximo a las nacientes de los cursos de agua y/o fondos de arena fina, limo o arcilla, donde generalmente *Corbicula* spp. no está presente o es escasa debido a lo inadecuado de estos sustratos blandos para las especies exóticas. Un adecuado manejo de estos hábitats es la clave para asegurar la conservación de los corbicúlidos nativos de Uruguay, aunque la necesidad de implementar proyectos de conservación “*ex situ*” debe ser evaluada.

Capítulo VI

Conclusiones y perspectivas

6.1 Familia Corbiculidae

Los estudios de sistemática molecular indican que el género *Cyanocyclus* es monofilético, al igual que las especies del género *Corbicula*. En cuanto a las relaciones de los géneros de la familia los resultados no son concluyentes. En el árbol de máxima parsimonia el grupo hermano de *Cyanocyclus* es *Geloina*, y el de *Corbicula* es *Batissa*, mientras que en el árbol de máxima verosimilitud el grupo hermano de *Cyanocyclus* es *Polymesoda* y *Corbicula* se ubica como el clado ancestral. La escasez de secuencias de COI de los géneros *Gelonia*, *Polymesoda* y *Batissa* no permite tener claridad respecto de las relaciones filogenéticas dentro de la familia.

La característica diagnóstica de *Cyanocyclus*, poseer sifones largos y seno paleal bien desarrollado, no abarca el concepto de *Cyanocyclus simplex*. *Cyanocyclus* a diferencia de *Corbicula* posee tentáculos únicamente en el sifón inhalante lo que representa el principal carácter diagnóstico del género que la diferencia de *Corbicula*.

6.2 Género *Cyanocyclus*

La diversidad de *Cyanocyclus* presente en Uruguay en base a caracteres morfológicos es mayor a la descrita en la literatura. De los ocho morfotipos de *Cyanocyclus* presentes en Uruguay estudiados se consideran especies válidas *Cyanocyclus limosa*, *Cyanocyclus paranensis*, *Cyanocyclus fortis*, *Cyanocyclus exquisita* y *Cyanocyclus guahybensis* (registrada por primera vez para Uruguay en base a material proveniente del río Cebollatí, MNHN 4014).

Las diferencias morfológicas y morfométricas de *Cyanocyclus simplex* y *Cyanocyclus felipponei* con el resto de las especies hace suponer de que se trata de especies aisladas reproductivamente. El hallazgo y estudio de sistemática molecular y genética poblacional de ejemplares de *Cyanocyclus simplex* y *Cyanocyclus felipponei* permitirá confirmar si estas son monofiléticas y por lo tanto especies válidas.

Cyanocyclus exquisita forma un grupo monofilético bien soportado, que integra un clado mayor incluyendo secuencias de *C. undulata*. Por lo tanto *C. undulata* aparece como taxón parafilético. La distancia genéticas entre *C. exquisita* y *C. undulata* es baja 0,013. A pesar

de las diferencias morfológicas halladas la similitud en el gen COI no permite discriminar entre estos dos morfotipos, por lo que se considera a *C. undulata* y *C. exquisita* como una única especie biológica y dado que *C. exquisita* fue descrita con antelación *C. undulata* pasa a ser sinónimo junior de esta especie.

La presencia de individuos de *Cyanocyclus limosa* dentro de dos clados separados en el árbol de COI (pero en simpatría) puede deberse a la existencia de especies crípticas dentro de la variación morfológica considerada como *Cyanocyclus limosa* o a que esta especie presente heteroplasmia proceso en el cual el ADN mitocondrial del padre también es heredado generando dos linajes mitocondriales en la misma especie.

Aunque el análisis genético y morfológico de tres poblaciones de la cuenca del río Guaíba (sistema Patos-Merin) y río Tramandaí sólo detectó la presencia de *Cyanocyclus guahybensis* no se descarta la presencia de *Cyanocyclus limosa*, especie históricamente citada en la zona (Buckup & Buckup 1957). Para Uruguay existen registros de *C. limosa* para el río Cebollatí (sistema Patos-Merin).

El registro de un haplotipo de *Cyanocyclus limosa* en cuatro localidades distantes (Don Esteban, Yaguareté, Mazangano y Paysandú), y uno de *Cyanocyclus guahybensis* en tres localidades alejadas (Quadros, Peixoto y Veludo) sugiere o bien que son haplotipos ancestrales de reproducción clonal o que la dispersión de la especie está facilitada por algún vector.

6.3 Género *Corbicula*

Se registró por primera vez el morfotipo *Corbicula fluminalis* para Uruguay en base a material proveniente del arroyo de las Vacas, Paso Merino (MNHN 1925) y del Río de la Plata, Km 24 de la Ruta 1 (San José, MNHNM 19926) y el morfotipo *Corbicula* sp. en base a material proveniente de arroyo de las Piedras (Treinta y Tres, MNHNM 19942), río Negro, Paso Mazangano (Rivera, MNHNM 19943) y río Yaguarón, Estancia La Gloria (Cerro Largo, MNHNM 19944).

Los clados bien soportados de *Corbicula* se corresponden a las forma A (*Corbicula fluminea*), forma B (*Corbicula* sp.) y forma C (*Corbicula largillierti*) estudiadas por Lee *et al.* (2005) de América. Aparte de estos tres clados se registró un cuarto grupo monofilético de tres secuencias de la laguna de Itapeva pertenecientes morfológicamente a la forma C (*Corbiucla largillierti*).

La presencia de un único haplotipo de *Corbicula fluminea* esta en concordancia de lo hallado por Lee *et al.* (2005) quienes encontraron idéntico haplotipo en nueve localidades de las dos Américas incluyendo Cuba, las cabeceras del Amazonas (Ecuador/Perú), La Plata (Argentina) y Michigan (Estados Unidos). Esto reafirma la hipótesis de que el linaje de *C. fluminea* que invadió América tiene reproducción clonal y una gran adaptación a diferentes ambientes.

Corbicula fluminalis estuvo representada por un único haplotipo que fue encontrado también en ejemplares asignados morfológicamente a *Corbicula largillierti*. Esto sugiere que los ejemplares identificados en base a morfología como *C. fluminalis* para Brasil y Uruguay corresponderían a una variación fenotípica de *C. largillierti*, ya que desde el punto de vista de la sistemática molecular corresponderían a un único taxón; aunque no se puede descartar que exista hibridización entre *C. largillierti* y *C. fluminalis* como Lee *et al.* (2005) encontró para otras especies de *Corbicula*.

6.4 Estatus actual de conservación de *Cyanocyclus* de Uruguay

La distribución del género *Cyanocyclus* en Uruguay se ha reducido drásticamente ocupando actualmente menos del 13 % de las localidades registradas históricamente.

La bahía de Yaguareté es el único lugar donde se han vuelto a registrar *Cyanocyclus exquisita* y *Cyanocyclus paranensis*. Esta localidad junto con Nuevo Berlín son las únicas localidades donde se ha vuelto a registrar *Cyanocyclus fortis*. Se encontraron ejemplares vivos de *Cyanocyclus limosa* en 8 localidades de Uruguay: boca del arroyo Yaguareté en el río Uruguay; arroyo Sauce de Batoví, R. 59; río Negro Paso Mazangano; arroyo Don Esteban, R. 3; arroyo de las Vacas, Paso de la Arena; río Cuareim, laguna Salamanca, Paraje Sepulturas; arroyo Celestino, R.3 y Río Tacuarembó, Paso Manuel Díaz.

6.5 Perspectivas

- Presentar el caso del uso de los nombres genéricos *Cyanocyclus* y *Neocorbicula* ante la Comisión Internacional de Nomenclatura Zoológica.

- Estudiar el material tipo de las especies de *Cyanocyclus* presentes en Uruguay para confirmar las observaciones realizadas en base a las fotografías.
- Continuar con la búsqueda de poblaciones vivientes de *Cyanocyclus felipponei* y *C. simplex* con el fin de estudiarlos anatómicamente y molecularmente. Seguir protocolos de extracción diferentes para estudiar el material existente en colecciones.
- Buscar poblaciones de *Cyanocyclus guahybensis* en el territorio uruguayo de la cuenca de la laguna Merín.
- Realizar estudios de ADN nuclear para aclarar las relaciones filogenéticas entre los taxa estudiados y confirmar la presencia de heteroplasmia en *Cyanocyclus limosa*.
- Revisitar las localidades con registros históricos del género *Cyanocyclus* no incluidas en esta tesis, para evaluar la presencia actual del género.
- Explorar localidades similares a la bahía de Yaguareté en el bajo río Uruguay y río Negro con el fin de hallar poblaciones de *Cyanocyclus*.
- Evaluar el estado de conservación de las poblaciones de *Cyanocyclus* registradas.
- Testear la interacción entre especies de Corbiculidae nativos y exóticos.
- Investigar los posibles vectores de dispersión de *Cyanocyclus*.
- Evaluar con ADN nuclear la identidad de los ejemplares determinados como *C. fluminalis*.
- Dilucidar las relaciones de los géneros dentro de la familia Corbiculidae.
- Difundir los resultados obtenidos en especial la situación actual del género *Cyanocyclus* y estudiar y proponer estrategias para la conservación del mismo.

Bibliografía

- Alves FAS, CR Beasley, WR Hoeh, RM da Rocha, LRL de Simone & CH Tagliaro. 2012. Detection of mitochondrial DNA heteroplasmy suggests a doubly uniparental inheritance pattern in the mussel *Mytella charruana*. *Brazilian Journal of Biosciences* 10(2): 176-185.
- Avise JC. 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Avise JC. 2004. *Molecular markers, natural history and evolution*. 2nd edition. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA, USA.
- Baraibar BC. 1961 ("1960"). Estudio sobre *Corbicula limosa* (Maton). En: *Actas y trabajos del Primer congreso sudamericano de zoología* 2:2-13.
- Bandelt H-J, P Forster, A Röhl. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16:37-48.
- Britton JC & B Morton. 1986. Polymorphism in *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculoidea) from North America. *Malacological Review* 19: 1-43.
- Brown WM, M George, AC Wilson. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* 76: 1967-1971.
- Buckup L & EH Buckup. 1957. Catálogo dos Moluscos do Museu Rio-Grandense de Ciências Naturais. *Iheringia* (1): 1-40.
- Castellanos Z & Landoni. 1990. La familia Mycetopodidae Gray, 1840 en la República Argentina. *Fauna de agua dulce de la República Argentina* 16(1): 7-87.
- Clavijo C. 2009. Distribución del género *Anodontites* (Mollusca: Bivalvia: Mycetopodidae) en Uruguay. *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay* 9(92): 201-210.
- Clavijo C, F Scarabino, A Carranza & A Soutullo. 2009. Distribución de las especies del género *Corbicula* (Bivalvia: Corbiculidae) en Uruguay. Pp: 271. En: *Livro de resumos XX Encontro Brasileiro de Malacologia, Rio de Janeiro*.

- Clavijo C, A Carranza, F Scarabino & A Soutullo. 2010. Conservation priorities for uruguayan land and freshwater molluscs. *Tentacle* (18): 14-16.
- Comisión Internacional de Nomenclatura Zoológica. 1999. Código Internacional de Nomenclatura Zoológica. 4ta edición. Museo Nacional de Ciencias Naturales - CSIC - e International Trust for Zoological Nomenclature. Madrid. XIX + 156pp.
- Dall WH. 1902. Note on *Neocorbicula* Fischer. *Nautilus* 16:82-83.
- Dall WH. 1903. Review of the classification of the Cyrenacea. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 16: 5-8.
- Darrigran G. 1991. Competencia entre dos especies de Pelecípodos invasores: *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) y *C. largillierti* (Philippi, 1844) en el litoral argentino del estuario del Río de la Plata. *Biología Acuática* 15(2): 214-215.
- Drummond AJ & A Rambaut. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7: 214.
- Excoffier L, G Laval & S Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics* 1: 47-50.
- Farias IP, G Ortí, I Sampaio, H Schneider & A Meyer. 2001. The Cytochrome b gene as a phylogenetic marker: the limits of resolution for analyzing relationships among cichlid fishes. *Journal of Molecular Evolution* 53: 89-103.
- Figueiras A. 1965. La malacofauna dulceacuícola del Uruguay, ensayo de catálogo sistemático y sinonímico: Parte II (Pelecypoda). *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay* 1(8): 223-270.
- Figueiras A. 1965b. La malacofauna dulceacuícola del Uruguay. Correcciones y adiciones. *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay* 1(9): 289-299.
- Folmer O, M Black, R Lutz & R Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 294-299.
- Garces LMMP, MCD Mansur & JW Thomé. 1989. Contribuição à conchiliometria de *Neocorbicula limosa* (Maton, 1811) (Bivalvia, Corbiculidae). *Revista Brasileira de Zoologia* 6(3): 507-516.

- Gascuel O. 1997. BIONJ: an improved version of the NJ algorithm based on a simple model of sequence data. *Molecular Biology and Evolution* 14: 685-695.
- Graf D. 2013. Patterns of freshwater bivalve global diversity and the state of phylogenetic studies on the Unionoida, Sphaeriidae, and Cyrenidae. *American Malacological Bulletin* 31(1): 135-153.
- Graf DL & KS Cummings. 2013. The Freshwater Mussels (Unionoida) of the World (and other less consequential bivalves), actualizado el 8 de agosto de 2013. MUSSEL Project Web Site, <http://www.mussel-project.net/>
- Hammer Ø, DAT Harper & PD Ryan. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm
- Hebert PDN, A Cywinska, SL Ball & JR deWaard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society* 270: 313-321.
- Hey J & CA Machado. 2003. The study of structured populations-New hope for a difficult and divided science. *Nature* 4: 535-543.
- Ituarte CF. 1981. Primera noticia acerca de la introducción de pelecípodos asiáticos en el área rioplatense. *Neotropica* 27: 79-82.
- Ituarte CF. 1984. El fenómeno de incubación branquial en *Neocorbicula limosa* (Maton, 1809) (Mollusca Pelecypoda). *Neotropica* 30(83): 43-54.
- Ituarte CF. 1986. Contribución al conocimiento de la biología reproductiva de *Neocorbicula limosa* (Maton, 1809) (Mollusca Pelecypoda). *Anales de la Sociedad Científica Argentina* 214(47): 1-27.
- Ituarte CF. 1994. *Corbicula* and *Neocorbicula* (Bivalvia: Corbiculidae) in the Paraná, Uruguay and Río de la Plata basins. *Nautilus* 107: 129-135.
- Keen AM & R Casey. 1969. Family Corbiculidae Gray, 1847. In: Moore, R. C. (Ed.). *Treatise on Invertebrate Paleontology, Part N, Mollusca 6*, Geological Society of America (Boulder, Colorado). pp. 669-670.
- Klingenberg CP. 2011. MORPHOJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11(2): 353-357.

- Lanzer RM & A Schafer. 1985. Padroes de distribuição de moluscos dulceaquícolas nas lagoas costeiras do sul de Brasil. *Revista Brasileira de Biología* 45(4): 535-545.
- Larrañaga DA. 1923. Escritos de Don Dámaso Antonio Larrañaga. Tomo II. Imprenta Nacional, Montevideo. 511 pp.
- Lee T, S Siripattawan, CF Ituarte & D Ó Foighil. 2005. Invasion of the clonal clams: *Corbicula* lineages in the New World. *American Malacological Bulletin*, 20 (1/2): 113-122.
- Librado, P & J Rozas. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452.
- Mace GM & R Lande. 1991. Assessing extinction threats: toward a reevaluation of UICN threatened species categories. *Conservation Biology* 5: 148-157.
- Mansur MCD. 2012. Bivalves invasores límnicos: morfologia comparada de *Limnoperna fortunei* e espécies de *Corbicula* spp. En: Mansur MCD ET AL. (org.). *Moluscos límnicos invasores no Brasil: biologia, prevenção e controle*. Redes Editora, Porto Alegre. 412 pp.
- Mansur MCD, CT CALLIL, FF CARDOSO & JAA IBARRA. 2004. Uma retrospectiva e mapeamento da invasão de espécies de *Corbicula* (Mollusca, Bivalvia, Veneroidea, Corbiculidae) oriundas do sudeste asiático, na América do Sul. PP. 39-58. Em: Silva JSV & RCCL Souza. *Água de lastro e bioinvasão*. Interciência, Rio de Janeiro. 224 pp.
- Mansur MCD & LMMP Garces, 1988. Ocorrência e densidade de *Corbicula fluminea* (Muller, 1774) e *Neocorbicula limosa* (Maton, 1811) na Estação Ecológica do Taim e áreas adjacentes, Rio Grande do Sul, Brasil (Mollusca, Bivalvia, Corbiculidae). *Iheringia. Série Zoología*, Porto Alegre 10(68): 99-115.
- Mansur MCD & C Meier-Brook. 2000. Morphology of *Eupera* Bourguignat, 1854 and *Byssanodonta* Orbigny, 1846 with contributions to the phylogenetic systematics of Sphaeriidae and Corbiculidae (Bivalvia, Veneroidea). *Archiv für Molluskenkunde* 128:1-59.
- Mansur MCD & D Pereira. 2006. Bivalves límnicos da bacia do rio dos Sinos, Rio Grande do Sul, Brasil (Bivalvia, Unionoidea, Veneroidea e Mytiloidea). *Revista Brasileira de Zoología* 23(4): 1123-1147.
- Mansur MCD, CP Santos & MV Nehrke. 2011. Corbiculidae na América do Sul, espécies nativas e invasoras, dispersão e a situação das pesquisas no Brasil (Mollusca: Bivalvia) PP. 324-335. In: Fernandez MA, SB Santos, AD Pimenta & SC Thiengo (Eds.). *Tópicos em*

malacologia, ecos do XIX EBRAM. Sociedade Brasileira de Malacologia, Rio de Janeiro, 378 pp.

Mansur MCD, C. Schulz, MDG Oliveira da Silva, NM Rodrigues de Campos-Velho. 1991. Moluscos bivalves limnicos da estação ecológica do Taim e áreas adjacentes, Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia* 71: 43-58.

Marshall WB. 1924. New Uruguayan mollusks of the genus *Corbicula*. *Proceedings of the United States National Museum* 66(2552): 1-14.

Marshall WB. 1927. New species of mollusks of the genus *Corbicula* from Uruguay and Brazil. *Proceedings of the United States National Museum* 72(2699): 1-7.

Martins DS, IL Veitenheimer-Mendes & MC Faccioni-Heuser. 2006. Morphological aspects and incubation in three species of *Corbicula* Mühlfeld, in Guaíba Lake, Rio Grande do Sul, Brazil (Bivalvia, Corbiculidae). *Biota Neotropica* 6(2):1-11.

Maton WG. 1811 "1809". Description of seven new species of Testacea. *Transactions of the Linnean Society of London* 10: 325-332.

McMahon RF. 1982. The occurrence and spread of the introduced Asiatic freshwater clam, *Corbicula fluminea* (Müller), in North America: 1924-1982. *Nautilus* 96: 134-141.

Medrano JF, E Aasen, L Sharrow. 1990. DNA extraction from nucleated red blood cells. *Biotechniques* 8: 43.

Miller AC & BS Payne. 1994. Co-occurrence of native freshwater mussels (Unionidae) and the non-indigenous *Corbicula fluminea* at two stable shoals in the Ohio River, U.S.A. *Malacological Review* 27: 87-97.

Mouthon J. 1981. Sur la presence en France et au Portugal de *Corbicula* (Bivalvia, Corbiculidae) originaire d'Asie. *Basteria* 45: 109-116.

Nei M & S Kumar. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York. 333 pp.

Olazarri J. 1961. Sobre moluscos en el contenido estomacal de la anguila común *Symbranchus marmoratus* Bl. *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay* 1(1): 9-10.

Olazarri J. 1966. Los moluscos de agua dulce del depto. de Colonia, Uruguay. Parte I: Pelecypoda. *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay* 2(11): 15-37.

- Olazarri J. 1986. Las almejas del género *Corbicula* en el Río Uruguay. Resúmenes de Comunicaciones, Seminario "El Río Uruguay y sus recursos pesqueros". Comisión Administradora del Río Uruguay.
- Park JM, JS Lee & W Kim. 2002. A single mitochondrial lineage is shared by morphologically and allozymatically distinct freshwater *Corbicula* clones. *Molecules and Cells* 14: 318-322.
- Park GM, TS Yong, KI Im & EY Chung. 2000. Karyotypes of three species of *Corbicula* (Bivalvia: Veneroidea) in Korea. *Journal of Shellfish Research*, 19: 979-982.
- Parodiz JJ. 1963. La extraordinaria fauna del río Uruguay y sus relaciones. *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay* 1 (5): 103-110.
- Parodiz JJ. 1969. The tertiary non-marine Mollusca of South America. *Annals of the Carnegie Museum* 40: 1-242.
- Parodiz JJ & L Hennings. 1965. The *Neocorbicula* (Mollusca Pelecypoda) of the Paraná-Uruguay basin, South America. *Annals of the Carnegie Museum* 38(3): 69-96.
- Parodiz JJ. 1996. The taxa of fossil Mollusca introduced by Hermann von Ihering. *Annals of the Carnegie Museum* 65(3): 183-296.
- Pérez LM, SF Genta Iturrería & M Griffini. 2010. Paleocological and Paleobiogeographic Significance of Two New Species of Bivalves in the Paraná Formation (Late Miocene) of Entre Ríos Province, Argentina. *Malacologia* 53(1): 61-76.
- Pfenninger M, F Reinhardt & B Streit. 2002. Evidence for cryptic hybridization between different evolutionary lineages of the invasive clam genus *Corbicula* (Veneroidea, Bivalvia). *Journal of Evolutionary Biology* 15: 818-829.
- Pilsbry HA. 1907. On Japanese species of *Corbicula*. *Annotationes Zoologicae Japonenses* 6(3): 153-160.
- Pilsbry HA & WH Rush. 1896. List, with notes, of land and fresh water shells collected by Dr. Wm. H. Rush in Uruguay and Argentina. *Nautilus* 10(7): 76-81.
- Qiu A, A Shi & A Komaru. 2001. Yellow and Brown Shell color morphs of *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae) from Sichuan Province, China, are triploids and tetraploids. *Journal of shellfish research* 20: 323-328.

- Scarabino F. 2004. Conservación de la malacofauna uruguaya. *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay* 8(82-83): 267-273.
- Scarabino F & MC Mansur. 2008 ("2007"). Lista sistemática de los Bivalvia dulciacuícolas vivientes de Uruguay. *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay* 9(90): 89-99.
- Scarabino F & C Clavijo. 2009. Especies de moluscos prioritarias para la conservación. *In*: Soutullo, A., E. Alonso, D. Arrieta, R. Beyhaut, S. Carreira, C. Clavijo, J. Cravino, L. Delfino, G. Fabiano, C. Fagundez, F. Haretche, E. Marchesi, C. Passadore, M. Rivas, F. Scarabino, B. Sosa, N. Vidal. Especies Prioritarias para la conservación en Uruguay. Serie de informes (16), 93 pp. Available in: <http://www.snap.gub.uy/dmdocuments/spsweb.pdf>
- Schneider S, D Roessli & L Excoffier. 2000. A software for population genetics data analysis. University of Geneva, Switzerland.
- Simone LRL. 2006. Land and freshwater molluscs of Brazil. EGB, Fapesp, São Paulo, 390 pp.
- Siripattrawan S, JK Park & D Ó Foighil. 2000. Two lineages of the introduced Asian freshwater clam *Corbicula* occur in North America. *Journal of Molluscan Studies* 66: 423-429.
- Sousa R, R Freire, M Rufino, J Méndez, M Gaspar, C Altunes & L Guilhermino. 2007. Genetic and shell morphological variability of the invasive bivalve *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in two Portuguese estuaries. *Estuarine coastal and Shelf Science* 74 (2007): 166-174.
- Swofford DL. 2002. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, Mass.
- Tamura K, D Peterson, N Peterson, G Stecher, M Nei & S Kumar. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.
- The National Native Mussel Conservation Committee. 1998. National strategy for the conservation of native freshwater mussels. *Journal of Shellfish Research* 17(5): 1419-1428.

- Thompson JD, DG Higgins & TJ Gibson. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22(22): 4673-4680.
- Vaughn CC & DE Spooner. 2006. Scale-dependent associations between native freshwater mussels and invasive *Corbicula*. *Hydrobiologia* 568: 331-339.
- Veitenheimer-Mendes IL & J Olazarri. 1983. Primeros registros de *Corbicula* Megerle, 1811 (Bivalvia, Corbiculidae) para el Río Uruguay. *Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay* 1: 50-53.
- Wright S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15: 323–354.
- Zar JH. 1999. *Biostatistical analysis*. Fourth Edition. Prentice- Hall, Englewood Cliffs N Jersey: 620 pp.
- Zelaya D & C Marinone. 2012. A case of phoresis of sphaeriids by corixids: First report for the America. *Malacologia* 55(2): 363-367.
- Zelditch ML, DL Swiderski, HD Sheets & WL Fink. 2004. *Geometric morphometrics for biologist*. Elsevier, London 443 pp.
- Zouros E, KR Freeman, AO Ball & GH Pogson. 1992. Direct evidence for paternal mitochondrial DNA inheritance in the marine mussel *Mytilus*. *Nature* 359: 412-414.

Anexo I. Material utilizado, se incluye información sobre la identidad específica y la localidad. Aº= Arroyo, Pº= Paso. RGS= Rio Grande do Sul, MG= Minas Gerais.

	Lote	Especie	Localidad
FZB	24268	<i>Cyanocyclus paranensis</i>	Río Uruguay
FZB	24269	<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Laguna Merin
FZB	24994	<i>Cyanocyclus exquisita</i>	Uruguay
FZB	34449	<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Praia da pedraria, Itapoa, municipio de Viamao (RGS, Brasil)
FZB	34514	<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Lagoa Marcelino Ramos, Osorio (RGS, Brasil)
MACN	10367	<i>Cyanocyclus exquisita</i>	Río de la Plata, Anchorena (Buenos Aires, Argentina)
MACN	10590	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Colonia, Río de la Plata (Colonia)
MACN	10643	<i>Cyanocyclus felipponei</i>	Colonia, Río de la Plata (Colonia)
MACN	11328	<i>Cyanocyclus undulata</i>	Nueva Palmira (Colonia)
MACN	15100	<i>Cyanocyclus felipponei</i>	Colonia, Río de la Plata (Colonia)
MACN	15497	<i>Cyanocyclus felipponei</i>	Colonia, Río de la Plata (Colonia)
MACN	15499	<i>Cyanocyclus exquisita</i>	Colonia, Río de la Plata (Colonia)
MACN	15500	<i>Cyanocyclus exquisita</i>	Colonia, Río de la Plata (Colonia)
MACN	21497	<i>Cyanocyclus undulata</i>	Nueva Palmira (Colonia)
MACN	32103	<i>Cyanocyclus exquisita</i>	Entre Ríos (Argentina)
MACN	13004/1	<i>Cyanocyclus exquisita</i>	Río de la Plata, Conchillas (Colonia)
MACN	9378-19	<i>Cyanocyclus undulata</i>	Boca del Aº Vizcaino (Soriano)
MFA	99	<i>Cyanocyclus paranensis</i>	Sin localidad
MFA	1425	<i>Corbicula fluminea</i>	Punta Lara (Buenos Aires, Argentina)
MFA	1754	<i>Corbicula fluminea</i>	Cruz Alta (Cordoba, Argentina)
MFA	2825	<i>Cyanocyclus paranensis</i>	Laguna Setúbal (Santa Fe, Argentina)
MFA	3123	<i>Corbicula fluminea</i>	Lago Ypacarai, San Bernardo (Central, Paraguay)
MLP	5464	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Aº Miguelin, Punta Lara (Buenos Aires, Argentina)
MLP	5482	<i>Cyanocyclus simplex</i>	Aº Uruguai (Misiones, Argentina)
MLP	5795	<i>Cyanocyclus paranensis</i>	Laguna Setúbal (Santa Fe, Argentina)
MLP	6673	<i>Cyanocyclus paranensis</i>	Laguna Setúbal (Santa Fe, Argentina)

MLP	6674	<i>Cyanocyclus simplex</i>	Salto Mbiguá, Cataratas del Iguazú (Misiones, Argentina)
MLP	9567	<i>Cyanocyclus simplex</i>	Aº Urugua-i (Misiones, Argentina)
MLP	4428-2	<i>Cyanocyclus simplex</i>	Río Iguazú, Iguzú (Misiones, Argentina)
MNHNM	1161	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Yí (Florida)
MNHNM	2953	<i>Cyanocyclus undulata</i>	Aº de las Vacas (Colonia)
MNHNM	3720	<i>Cyanocyclus undulata</i>	Playa Seré, Carmelo (Colonia)
MNHNM	3733	<i>Cyanocyclus felipponei</i>	Río de la Plata, Bahía de Colonia (Colonia)
MNHNM	4014	<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Río Cebollatí
MNHNM	4860	<i>Cyanocyclus exquisita</i>	Nueva Palmira (Colonia)
MNHNM	5176	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Aº Colla (Colonia)
MNHNM	5177	<i>Cyanocyclus simplex</i>	Río Uruguay, Salto Chico (Salto)
MNHNM	5937	<i>Cyanocyclus undulata</i>	Nueva Palmira (Colonia)
MNHNM	6061	<i>Cyanocyclus exquisita</i>	Colonia
MNHNM	6147	<i>Cyanocyclus exquisita</i>	Río Uruguay, Puerto Aldao (Soriano)
MNHNM	6147	<i>Cyanocyclus undulata</i>	Río Uruguay, Puerto Aldao (Soriano)
MNHNM	6161	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Cebollatí
MNHNM	6169	<i>Cyanocyclus felipponei</i>	Río de la Plata, Colonia
MNHNM	19908	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Aº Sauce de Batoví, R.59 (Tacuarembó)
MNHNM	19909	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Aº Colla (Colonia)
MNHNM	19910	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Aº San Carlos, San Carlos (Maldonado)
MNHNM	19911	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Aº Sopas, Paso Muñoz (Salto)
MNHNM	19912	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Aº Timote (Florida,)
MNHNM	19913	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Canal en ingenio Espinillar (Salto)
MNHNM	19914	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Cebollatí (Lavalleja)
MNHNM	19915	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Cuareim, Quaraí (RGS, Brasil)
MNHNM	19916	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Negro, Pº Mazangano (Rivera)
MNHNM	19917	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Uruguay, desembocadura, Aº Yaguareté (Río Negro)
MNHNM	19918	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Yí (Florida)
MNHNM	19919	<i>Cyanocyclus</i>	Río Uruguay, boca del Yaguareté (Río Negro)

		<i>exquisita</i>	
MNHNM	19920	<i>Cyanocyclus fortis</i>	Río Uruguay, boca del Yaguareté (Río Negro)
MNHNM	19921	<i>Cyanocyclus fortis</i>	Río Uruguay, Nuevo Berlín (Río Negro)
MNHNM	19923	<i>Cyanocyclus paranensis</i>	Río Uruguay, boca del Yaguareté (Río Negro)
MNHNM	19924	<i>Cyanocyclus undulata</i>	Río Uruguay, boca del Yaguareté (Río Negro)
MNHNM	19925	<i>Corbicula fluminalis</i>	Aº de las Vacas, Pº del Merino (Colonia)
MNHNM	19926	<i>Corbicula fluminalis</i>	Río de la Plata, Km 24 de la Ruta 1
MNHNM	19927	<i>Corbicula fluminea</i>	Albufera de Azibo, Vale de Prado (Portugal)
MNHNM	19928	<i>Corbicula fluminea</i>	Aº Cololó, Pº del Varro (Soriano)
MNHNM	19929	<i>Corbicula fluminea</i>	Aº Pan de Azúcar, Pan de Azúcar (Maldonado)
MNHNM	19930	<i>Corbicula fluminea</i>	Aº Bequeló, Pº Tábarez (Soriano)
MNHNM	19931	<i>Corbicula fluminea</i>	Januaria (MG, Brasil)
MNHNM	19932	<i>Corbicula fluminea</i>	Río Santa Lucía chico, ciudad de Florida (Florida)
MNHNM	19933	<i>Corbicula fluminea</i>	Río Uruguay, desembocadura, Aº Yaguareté (Río Negro)
MNHNM	19934	<i>Corbicula fluminea</i>	Río Guaiba, Praia Veludo, Belem Novo (RGS, Brasil)
MNHNM	19936	<i>Corbicula largillierti</i>	Aº Bequeló, Pº Tábarez (Soriano)
MNHNM	19937	<i>Corbicula largillierti</i>	Río Uruguay, desembocadura, Aº Yaguareté (Río Negro)
MNHNM	19938	<i>Corbicula largillierti</i>	Río San Fransisco, Januaria (MG, Brasil)
MNHNM	19939	<i>Corbicula largillierti</i>	Laguna Peixoto (RGS, Brasil)
MNHNM	19940	<i>Corbicula largillierti</i>	Laguna Itapeva (RGS, Brasil)
MNHNM	19941	<i>Corbicula largillierti</i>	Río Grande de la Punilla (Córdoba, Argentina)
MNHNM	19942	<i>Corbicula sp.</i>	Aº de las Piedras (Treinta y Tres)
MNHNM	19943	<i>Corbicula sp.</i>	Río Negro, Pº Mazangano (Rivera)
MNHNM	19944	<i>Corbicula sp.</i>	Río Yaguarón, estancia La Gloria (Cerro Largo)
MNRJ	8584	<i>Corbicula fluminea</i>	Miquelandia (Goias, Brasil)
MNRJ	9830	<i>Corbicula fluminea</i>	Uberaba (Sao Pablo, Brasil)
MNRJ	16157	<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Praia Ipanema, Porto Alegre (RGS, Brasil)

Anexo II. Lista de secuencias utilizadas, se incluye información sobre la identidad específica, la localidad y la cuenca de la que provienen. LM= Laguna Merín, MC= Mar Chiquita, OA= Océano Atlántico, RG= Río Guaíba, RN= Río Negro, RPE= Río de la Plata exterior, RPI= Río de la Plata interior, RSF= Río San Francisco, RSL= Río Santa Lucía y RT= Río Tramandaí. Aº= Arroyo, Pº= Paso. RGS= Río Grande do Sul, MG= Minas Gerais.

Secuencia	Especie	Localidad	Cuenca
B1	<i>Cyanocyclus fortis</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B2	<i>Cyanocyclus fortis</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B3	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B4	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B7	<i>Cyanocyclus fortis</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B9	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B11	<i>Cyanocyclus undulata</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B12	<i>Cyanocyclus undulata</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B13	<i>Cyanocyclus undulata</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B16	<i>Cyanocyclus exquisita</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B19	<i>Cyanocyclus exquisita</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B20	<i>Cyanocyclus exquisita</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B21	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Aº Don Esteban (Río Negro)	RN
B24	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Aº Don Esteban (Río Negro)	RN
B25	<i>Corbicula largillierti</i>	Aº Don Esteban (Río Negro)	RN
B26	<i>Corbicula fluminea</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B48	<i>Corbicula largillierti</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B49	<i>Corbicula sp.</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B51	<i>Corbicula sp.</i>	Aº de las Piedras (Treinta y Tres)	LM
B53	<i>Corbicula sp.</i>	Aº de las Piedras (Treinta y Tres)	LM
B55	<i>Corbicula sp.</i>	Aº de las Piedras (Treinta y Tres)	LM
B57	<i>Corbicula largillierti</i>	Aº Bequeló, Pº Tábarez (Soriano)	RN
B59	<i>Corbicula largillierti</i>	Aº Bequeló, Pº Tábarez (Soriano)	RN
B60	<i>Corbicula largillierti</i>	Aº Bequeló, Pº Tábarez (Soriano)	RN
B62	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Aº Sauce de Batoví, R.59 (Tacuarembó)	RN
B63	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Aº Sauce de Batoví, R.59 (Tacuarembó)	RN
B66	<i>Corbicula fluminalis</i>	Aº de las Vacas, Pº del Merino (Colonia)	RPI
B67	<i>Corbicula fluminalis</i>	Aº de las Vacas, Pº del Merino (Colonia)	RPI
B68	<i>Corbicula fluminalis</i>	Aº de las Vacas, Pº del Merino (Colonia)	RPI
B71	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Negro, Pº Mazangano (Rivera)	RN
B73	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Negro, Pº Mazangano (Rivera)	RN
B74	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Negro, Pº Mazangano (Rivera)	RN
B76	<i>Cyanocyclus paranensis</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B77	<i>Cyanocyclus fortis</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B78	<i>Cyanocyclus fortis</i>	Río Uruguay, Nuevo Berlín (Río Negro)	RU
B79	<i>Cyanocyclus exquisita</i>	Río Uruguay, boca, Aº Yaguareté (Río Negro)	RU
B83	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Tacuarembó, Pº Manuel Diez (Tacuarembó)	RN
B87	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Aº Celestino, R. 3 (Paysandú)	RU
B92	<i>Corbicula largillierti</i>	Río San Francisco, Januaría (MG, Brasil)	RSF

B101	<i>Corbicula fluminea</i>	Aº Cololó, Pº del Varro (Soriano)	RN
B102	<i>Corbicula fluminea</i>	Aº Cololó, Pº del Varro (Soriano)	RN
B103	<i>Corbicula fluminea</i>	Aº Cololó, Pº del Varro (Soriano)	RN
B104	<i>Corbicula fluminea</i>	Aº Cololó, Pº del Varro (Soriano)	RN
B105	<i>Corbicula fluminea</i>	Aº Cololó, Pº del Varro (Soriano)	RN
B106	<i>Corbicula largillierti</i>	Rio Grande de la Punilla (Cordoba, Argentina)	MC
B107	<i>Corbicula largillierti</i>	Rio Grande de la Punilla (Cordoba, Argentina)	MC
B109	<i>Corbicula largillierti</i>	Rio Grande de la Punilla (Cordoba, Argentina)	MC
B121	<i>Corbicula fluminea</i>	Aº Pan de Azúcar, Pan de Azúcar (Maldonado)	RPE
B122	<i>Corbicula fluminea</i>	Aº Pan de Azúcar, Pan de Azúcar (Maldonado)	RPE
B123	<i>Corbicula fluminea</i>	Aº Pan de Azúcar, Pan de Azúcar (Maldonado)	RPE
B126	<i>Corbicula fluminea</i>	Aº Maldonado, San Carlos (Maldonado)	OA
B127	<i>Corbicula fluminea</i>	Aº Maldonado, San Carlos (Maldonado)	OA
B128	<i>Corbicula fluminea</i>	Aº Maldonado, San Carlos (Maldonado)	OA
B131	<i>Corbicula fluminea</i>	Río Santa Lucía chico, Florida (Florida)	RSL
B132	<i>Corbicula fluminea</i>	Río Santa Lucía chico, Florida (Florida)	RSL
B136	<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Laguna Peixoto (RGS, Brasil)	RT
B137	<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Laguna Peixoto (RGS, Brasil)	RT
B138	<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Laguna Peixoto (RGS, Brasil)	RT
B139	<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Laguna Peixoto (RGS, Brasil)	RT
B141	<i>Corbicula largillierti</i>	Laguna Itapeva (RGS, Brasil)	RT
B142	<i>Corbicula largillierti</i>	Laguna Itapeva (RGS, Brasil)	RT
B143	<i>Corbicula largillierti</i>	Laguna Itapeva (RGS, Brasil)	RT
B146	<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Río Guaiba, Praia Veludo, Belem Novo (RGS, Brasil)	RG
B147	<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Río Guaiba, Praia Veludo, Belem Novo (RGS, Brasil)	RG
B148	<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Río Guaiba, Praia Veludo, Belem Novo (RGS, Brasil)	RG
B151	<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Lagoa Dos Quadros (RGS, Brasil)	RT
B152	<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Lagoa Dos Quadros (RGS, Brasil)	RT
B153	<i>Cyanocyclus guahybensis</i>	Lagoa Dos Quadros (RGS, Brasil)	RT
B156	<i>Corbicula largillierti</i>	Laguna Peixoto (RGS, Brasil)	RT
B157	<i>Corbicula largillierti</i>	Laguna Peixoto (RGS, Brasil)	RT
B158	<i>Corbicula largillierti</i>	Laguna Peixoto (RGS, Brasil)	RT
B159	<i>Corbicula fluminea</i>	Río Guaiba, Praia Veludo, Belem Novo (RGS, Brasil)	RG
B160	<i>Corbicula fluminea</i>	Río Guaiba, Praia Veludo, Belem Novo (RGS, Brasil)	RG
B161	<i>Corbicula fluminea</i>	Río Guaiba, Praia Veludo, Belem Novo (RGS, Brasil)	RG
B162	<i>Corbicula largillierti</i>	Río Guaiba, Praia Veludo, Belem Novo (RGS, Brasil)	RG
B163	<i>Corbicula sp.</i>	Río Guaiba, Praia Veludo, Belem Novo (RGS, Brasil)	RG
B164	<i>Corbicula sp.</i>	Río Guaiba, Praia Veludo, Belem Novo (RGS, Brasil)	RG
B165	<i>Corbicula sp.</i>	Río Guaiba, Praia Arena Branca (RGS, Brasil)	RG
B166	<i>Corbicula fluminalis</i>	Río Guaiba, Praia Arena Branca (RGS, Brasil)	RG
B172	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Cuareim, Laguna Salamanca (Artigas)	RU
B173	<i>Corbicula fluminalis</i>	Río Cuareim, Laguna Salamanca (Artigas)	RU
B175	<i>Corbicula fluminalis</i>	Río Cuareim, Laguna Salamanca (Artigas)	RU
B84C	<i>Cyanocyclus limosa</i>	Río Tacuarembó, Pº Manuel Diez (Tacuarembó)	RN