

*Short Communication*

## Caracterización genética de híbridos entre las especies *Mytilus edulis platensis* y *Mytilus galloprovincialis* (Mytilidae: Bivalvia) en la costa chilena

Andrea Valenzuela<sup>1</sup>, Marcela P. Astorga<sup>2</sup>, Pablo A. Oyarzún<sup>3,4</sup> & Jorge E. Toro<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Doctorado en Ciencias de la Acuicultura, Universidad Austral de Chile  
P.O. Box 1327, Puerto Montt, Chile

<sup>2</sup>Instituto de Acuicultura, Universidad Austral de Chile, P.O. Box 1327, Puerto Montt, Chile

<sup>3</sup>Doctorado en Biología Marina, Universidad Austral de Chile, Independencia 641, Valdivia, Chile

<sup>4</sup>Instituto de Ciencias Marinas y Limnológicas, Universidad Austral de Chile  
Independencia 641, Valdivia, Chile

Correspondencia: Andrea Valenzuela (andreavalenz@gmail.com)

**RESUMEN.** Dada la capacidad de hibridación entre *Mytilus edulis platensis* y *M. galloprovincialis*, se planteó evaluar la variabilidad genética de la descendencia híbrida en relación a las especies puras a partir de 8 *loci* de microsatélites. Se observaron diferencias genéticas entre la descendencia híbrida en comparación a las especies puras, siendo la descendencia híbrida la que presenta los mayores valores de heterocigosidad observada promedio ( $H_o = 0,63 \pm 0,28$ ), con valores de endogamia que tienden mayoritariamente hacia valores de  $F_{is}$  negativos, evidenciando un exceso de heterocigotos en los híbridos en comparación a los individuos puros, quienes presentaron desvíos significativos hacia valores de  $F_{is}$  positivos. El análisis de componentes principales muestra tres grupos claramente diferenciados entre las muestras analizadas, identificando a la descendencia híbrida como un grupo intermedio entre las especies puras.

**Palabras clave:** *Mytilus edulis platensis*, *Mytilus galloprovincialis*, híbridos, caracterización genética, microsatélites.

## Genetic characterization of hybrids between species *Mytilus edulis platensis* and *Mytilus galloprovincialis* (Mytilidae: Bivalvia) in the Chilean coast

**ABSTRACT.** Given the hybridization ability between species *Mytilus edulis platensis* and *M. galloprovincialis*, this research proposed to assess the genetic variability of the hybrid offspring in relation to pure species, using 8 *loci* microsatellites. The study found differences between hybrid offspring comparing to pure species. The hybrid offspring had the highest observed mean heterozygosity values ( $H_o = 0,63 \pm 0,28$ ) and low values of inbreeding, which tend to significant deviations to negative values of ( $F_{is}$ ), demonstrating excess of heterozygote in hybrids comparing with pure species, which displayed significant deviations towards positive values of  $F_{is}$ . The principal component analysis shows three distinct groups among the samples analyzed, identifying the hybrid offspring as an intermediate group between pure species.

**Keywords:** *Mytilus edulis platensis*, *Mytilus galloprovincialis*, hybrids, genetic characterization, microsatellites.

El género *Mytilus* (Mytilidae, Bivalvia) se distribuye de forma antitropical en todos los océanos y principales mares del mundo (McDonald *et al.*, 1991; Hilbish *et al.*, 2000). Muchas de sus poblaciones han sido causa de procesos de colonización reciente hacia nuevas ubicaciones (McDonald *et al.*, 1991; Westfall & Gardner,

2013), permitiendo la posibilidad de hibridación, cuando éstas se encuentran en simpatria, debido a la estrecha relación evolutiva de este grupo de especies.

Se ha podido encontrar zonas naturales de hibridación en sectores donde co-habita más de una especie (Rawson *et al.*, 1999; Westfall & Gardner, 2010).

Estos ambientes proveen una excelente oportunidad para estudiar la interacción genómica natural, como la selección en zonas de hibridación (Wilhelm & Hilbish, 1998), procesos de introgresión genética (Brannock *et al.*, 2009), viabilidad reproductiva (Brannock & Hilbish, 2010) y diferencias fisiológicas (Hilbish *et al.*, 1994; Oyarzún *et al.*, 2012), entre otras.

En Chile, se encuentra *Mytilus edulis platensis* D'Orbigny, 1846 (Mollusca: Mytilidae), conocida históricamente como *Mytilus chilensis*, que ha estado sujeta a una continua revisión taxonómica por parte de varios autores (Koehn *et al.*, 1991; McDonald *et al.*, 1991; Gerard *et al.*, 2008; Borsa *et al.*, 2012; Astorga *et al.*, 2015), quienes encontraron que la mayoría de las poblaciones del Hemisferio Sur representan a un linaje diferente a las poblaciones del Hemisferio Norte. Esta especie es un recurso de importancia económica, debido a los altos valores de desembarques producto de la acuicultura, los que han aumentado en la últimas décadas, variando de 3.352 ton en 1992 a 258.188 ton en el 2013 (SERNAPESCA, 2014). Se distribuye desde la costa Pacífica chilena hasta la Patagonia Argentina, en las Islas Falkland e Islas Kerguelen (McDonald *et al.*, 1991). Algunos autores establecen la presencia de dos especies en la costa chilena. Daguin & Borsa (2000) demostraron la presencia de *M. galloprovincialis* en la zona de Chile central mediante marcadores de ADN nuclear; Toro *et al.* (2004) mencionan la presencia de esta especie en la región del Bio-Bío (36°S) mediante análisis de isoenzimas y Westfall *et al.* (2010) mencionan su presencia también en la región del Bio-Bío, mediante PCR-RFLP y gen Me15/16. Luego, Astorga (2012) mediante secuenciación de ADN logra diferenciar *M. galloprovincialis* de *M. edulis platensis* en la costa chilena, confirmando su presencia en dicha zona. Adicionalmente, los últimos reportes de Oyarzún *et al.* (2015) sugieren la presencia de *M. edulis* en la región de Magallanes (52°S) junto con *M. edulis platensis* y *M. galloprovincialis* por medio de PCR-RFLP y el gen Me15/16. Además, en su trabajo reportan por primera vez alelos de *M. trossulus* en el Hemisferio Sur y establecen el primer registro de una zona híbrida natural entre *M. edulis* y *M. edulis platensis*.

*Mytilus galloprovincialis*, originaria del Mediterráneo y con conexión hacia el Atlántico, además de encontrarse en algunas localidades de Australia y del Hemisferio Sur (McDonald *et al.*, 1991; Daguin & Borsa 2000; Hilbish *et al.*, 2000), se considera una especie altamente invasiva, siendo capaz de desplazar a otros mitflidos autóctonos donde ha sido introducida (Branch & Steffani, 2004). Tiene la capacidad de hibridar con especies congénéricas cuando se encuentran en

simpatria (Lowe *et al.*, 2000). Dicha especie, ha sido introducida por la acuicultura y el transporte marítimo, dentro del rango de distribución de *M. trossulus*, resultando en extensas zonas híbridas entre ambas especies en distintas localidades, como: California (Rawson *et al.*, 1999), Puget Sound en Estados Unidos (Anderson *et al.*, 2002), Rusia (Skurikhina *et al.*, 2001) y Japón (Inoue *et al.*, 1995; Brannock *et al.*, 2009), demostrando que los híbridos F1 entre *M. galloprovincialis* y *M. trossulus* se producen en alta cantidad y que la incompatibilidad de gametos entre ambas especies es prácticamente inexistente. Este hallazgo es consistente con estudios previos de laboratorio, que no reportan dificultades en la formación de los híbridos F1 de los cruces entre *M. galloprovincialis* y *M. trossulus* (Matson *et al.*, 2003). También se han reportado estudios en el Atlántico nororiental, donde se ha detectado que *M. edulis* y *M. galloprovincialis* pueden hibridar, provocando de esta forma un mosaico de poblaciones de *M. edulis*, *M. galloprovincialis* y sus híbridos (Skibinski *et al.*, 1983; Bierne *et al.*, 2003). También se ha demostrado el éxito de fecundación y desarrollo en laboratorio de la descendencia híbrida, en este caso, entre *M. edulis platensis* y *M. galloprovincialis* desde muestras obtenidas de la costa chilena (Toro *et al.*, 2012).

A partir del éxito de hibridación de manera experimental entre *M. edulis platensis* y *M. galloprovincialis* en Chile, se plantea como objetivo evaluar los niveles de variabilidad genética de la descendencia híbrida y de las especies puras a través de 8 *loci* de microsatélites, para caracterizar la descendencia híbrida y determinar a futuro su posible presencia en el medio natural.

Se compararon 20 individuos adultos de *M. edulis platensis* provenientes de bancos naturales de Yaldad (43°06'S, 73°43'W) y 20 ejemplares adultos de *M. galloprovincialis* procedentes de bancos naturales de Caleta Tumbes (36°43'S, 73°08'W, con 20 individuos híbridos correspondientes a la F1 de cruzamientos individuales entre un macho de una especie con una hembra de la otra especie y viceversa. Para esto los individuos fueron acondicionados en laboratorio, en contenedores separados para evitar fecundación no planificada, e inducidos al desove. Posterior al desove se diseñó el cruzamiento exclusivo entre machos y hembras de las diferentes especies, asegurando una descendencia 100% híbrida, de acuerdo a Toro *et al.* (2012).

La extracción de ADN de los adultos de las especies puras y de los juveniles de la F1 de la descendencia híbrida, se realizó siguiendo el método de extracción estándar fenol/cloroformo/alcohol isoamílico y precipitación con etanol (Doyle & Doyle, 1987). Para el aná-

**Tabla 1.** Descriptivos genéticos para *M. edulis platensis*, *M. galloprovincialis* y descendencia híbrida a partir de 8 *loci* de microsatélites.  $N_a$ : número de alelos,  $R_a$ : rango alélico,  $H_o$ : heterocigosidad observada y  $H_e$ : heterocigosidad esperada según EH-W. DE: desviación estándar, Valores significativos en negrita. \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ .

Locus	<i>M. edulis platensis</i>					<i>M. galloprovincialis</i>					Descendencia híbrida				
	$N_a$	$R_a$	$H_o$	$H_e$	$P$ -valor	$N_a$	$R_a$	$H_o$	$H_e$	$P$ -valor	$N_a$	$R_a$	$H_o$	$H_e$	$P$ -valor
MCH1	6	16	0,55	0,56	0,715	4	10	0,10	0,31	0,001**	3	8	0,40	0,5	0,128
MCH2	2	48	0,20	0,47	0,015*	2	2	0,25	0,45	0,115	2	48	0,20	0,33	0,129
MCH3	7	44	0,45	0,67	0,013*	7	38	0,60	0,78	0,224	8	48	0,85	0,83	0,787
MCH5	7	96	0,55	0,78	0,117	8	108	0,65	0,75	0,038*	5	52	0,80	0,62	0,045*
MCH6	2	8	0,10	0,26	0,031*	2	8	0,05	0,22	0,010*	3	58	0,75	0,55	0,090
MCH8	5	20	0,45	0,65	0,004**	7	32	0,30	0,78	0,000***	7	26	0,85	0,81	0,648
MCH9	4	68	0,70	0,68	0,001**	5	68	0,50	0,69	0,000***	3	52	0,30	0,27	1,000
MCH10	3	4	0,05	0,54	0,001**	2	18	0,35	0,41	0,591	4	52	0,90	0,75	0,055
Promedio	4,50	38,00	0,38	0,58		4,63	35,50	0,35	0,55		4,38	43,00	0,63	0,58	
DE	2,07	32,21	0,24	0,16		2,50	36,19	0,22	0,23		2,13	17,04	0,28	0,21	

lisis genético se utilizaron 8 *loci* de microsatélites diseñados específicamente para *M. edulis platensis* y se realizó siguiendo las condiciones mencionadas por Ouagajjou *et al.* (2011). El producto de amplificación fue leído en un secuenciador automático y se evaluó mediante el programa Peak Scanner v.1.0.

Para estimar la presencia de alelos nulos y eliminar errores de lectura, se utilizó el programa Microchecker v.2.2.3 (Van Oosterhout *et al.*, 2004). La comparación entre especies puras y descendencia híbrida se realizó mediante la comparación de los estadísticos genéticos: número de alelos por locus, frecuencias alélicas y heterocigosidad, que fueron calculados usando el programa Arlequin v.3.5.1.2 (Schneider *et al.*, 2000). Se realizó un análisis multivariado de componentes principales, mediante el programa Genetix 4.05 (Belkhir *et al.*, 2004).

Al evaluar la caracterización genética a partir de los 8 *loci* de microsatélites seleccionados se identificó un total de 59 alelos entre los individuos de *M. edulis platensis*, *M. galloprovincialis* y la descendencia híbrida. Se encontraron valores mayores de heterocigosidad observada promedio en la descendencia híbrida ( $0,63 \pm 0,28$ ), en relación a las especies puras *M. edulis platensis* ( $0,38 \pm 0,24$ ) y *M. galloprovincialis* ( $0,35 \pm 0,22$ ). No se observaron mayores fluctuaciones en los valores del número de alelos promedio por locus (MEP: 4,5; MGA: 4,6 y HB: 4,4) y rango alélico (MEP: 38,00; MGA: 35,50 y HB: 43,00) entre los tres grupos (Tabla 1).

Por su parte, el coeficiente de endogamia ( $F_{is}$ ) promedio total con una  $P < 0,05$  para los individuos de *M. edulis platensis*, *M. galloprovincialis* fue de 0,380 y 0,412, respectivamente, donde la descendencia híbrida

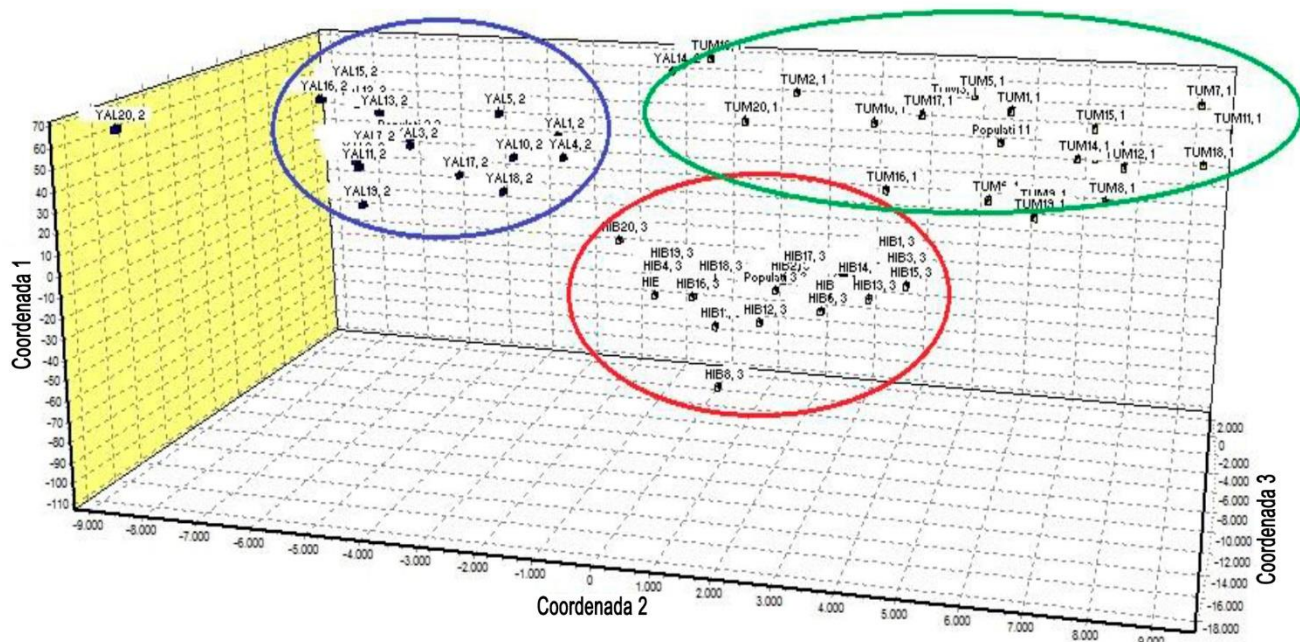
evidenció un  $F_{is}$  inferior a -0,058. En los individuos de *M. edulis platensis*, 5 *loci* presentaron desvíos significativos del equilibrio Hardy-Weinberg (H-W), hacia valores de  $F_{is}$  positivos, y un *loci* presentó desvío hacia valores negativos, sugiriendo que en la mayoría de los *loci* existiría una deficiencia de heterocigotos para los individuos de esta especie. En los individuos de *M. galloprovincialis*, 5 *loci* presentaron desvíos significativos del equilibrio H-W hacia valores de  $F_{is}$  positivos, sugiriendo igualmente una deficiencia de heterocigotos en este grupo. En cambio, en la descendencia híbrida, 2 *loci* presentaron desvíos significativos del equilibrio H-W con valores de  $F_{is}$  negativo, el resto de los valores no fueron significativos, pero tienden hacia valores de  $F_{is}$  negativos, evidenciando un exceso de heterocigotos en la descendencia híbrida en relación a las especies puras (Tabla 2).

El análisis multivariado de componentes principales mostró que en los tres grupos, tanto la descendencia híbrida, como las especies puras *M. edulis platensis* y *M. galloprovincialis*, tienden a segregarse en base al conjunto de *loci* analizados, logrando diferenciar la descendencia híbrida como un grupo genéticamente intermedio entre las especies puras (Fig. 1).

Diversos estudios sobre la producción de híbridos en laboratorio han sido reportados para diferentes especies de mitílidos en el mundo (Zouros *et al.*, 1992; Matson *et al.*, 2003; Beaumont *et al.* 2005). Recientemente, se comprobó el éxito de hibridación entre *M. edulis platensis* y *M. galloprovincialis*, donde se evaluó el desarrollo larval temprano y crecimiento entre las líneas puras e híbridadas, observando que tanto las larvas como los juveniles de los híbridos crecieron

**Tabla 2.** Coeficiente de endogamia ( $F_{is}$ ) para la hipótesis nula  $F_{is} = 0$  en los 8 loci polimórficos para *M. edulis platensis*, *M. galloprovincialis* y descendencia híbrida. Significancia para hipótesis nula  $F_{is} = 0$ : \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ .

Locus	<i>M. edulis platensis</i>		<i>M. galloprovincialis</i>		Descendencia híbrida	
	$F_{is}$	P-valor	$F_{is}$	P-valor	$F_{is}$	P-valor
MCH1	0,017	0,7013	0,687	0,0008***	0,200	0,1304
MCH2	0,578	0,0151*	0,451	0,1133	0,397	0,1285
MCH3	0,332	0,0059**	0,231	0,2149	-0,021	0,7805
MCH5	0,300	0,1171	0,136	0,0353*	-0,291	0,0409*
MCH6	0,624	0,0298*	0,782	0,0104**	-0,370	0,0956
MCH8	0,309	0,0044**	0,621	0,0001***	-0,057	0,6606
MCH9	-0,027	0,0012**	0,282	0,0007***	-0,123	1,0000
MCH10	0,910	0,0001***	0,147	0,5919	-0,202	0,0500*
Promedio	0,380		0,412		-0,058	



**Figura 1.** Análisis de componentes principales para individuos de *M. edulis platensis* (YAL), *M. galloprovincialis* (TUM) y descendencia híbrida (HIB).

significativamente más que las larvas de las especies puras (Toro *et al.*, 2012), lo cual se explicaría por la mayor variabilidad observada en dicho grupo.

El mayor número de loci heterocigotos en la descendencia híbrida se debería al cruzamiento entre individuos de especies puras que aportan alelos privados a la descendencia híbrida, similar a lo reportado por Hilbish *et al.* (2002) en zonas híbridas entre *M. edulis* y *M. galloprovincialis*, donde también se observó que las poblaciones de híbridos se caracterizan por presentar alta frecuencia de individuos con genotipos heterocigotos, con evidente aumento en la longitud de la concha en comparación a las especies

puras. A su vez, que los individuos puros de *M. edulis platensis* y *M. galloprovincialis* presenten valores de  $F_{is}$  positivos, indicaría un déficit de heterocigotos en estas especies, que resulta coincidente con la literatura, al reportar que muchas de las poblaciones de mejillones en ambientes naturales presentan un déficit de heterocigotos producto de la consanguinidad y mezcla de sus poblaciones (Raymond *et al.*, 1997).

El éxito de hibridación entre estas especies se estaría dando por el reconocimiento de gametos entre especies estrechamente relacionadas como *M. galloprovincialis* y *M. edulis platensis* (McDonald *et al.*, 1991). La separación genética observada en este trabajo entre

especies puras y éstas con los híbridos, confirma que a pesar de la baja separación entre especies, éstas sí presentan algún grado de diferenciación genética posible de medir con este tipo de marcadores de alta resolución, como los microsatélites.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento que hizo posible esta investigación, realizado por el proyecto FONDECYT 1120419 y el patrocinio de CONICYT por financiamiento de Tesis.

### REFERENCIAS

- Anderson, A., A. Bilodeau, M. Gilg & T. Hilbish. 2002. Routes of introduction of the Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*) to Puget Sound and Hood Canal. *J. Shellfish Res.*, 21: 75-79.
- Astorga, M. 2012. Estado actual de la genética de poblaciones del chorito *M. chilensis* en las costas chilenas. In: M. Astorga, J. Toro & V. Martínez (eds.). *Genética de mitílidos y su impacto en la mitilicultura*. Editorial Universidad Austral de Chile y Encubierta Editores, pp. 20-25.
- Astorga, M., L. Cardenas & J. Vargas. 2015. Phylogenetic approaches to delimit genetic lineages of the *Mytilus* complex of South America: how many species are there? *J. Shellfish Res.*, 34(3): 1-12.
- Beaumont, A., G. Turner, A. Wood & D. Skibinski. 2005. Laboratory hybridizations between *Mytilus* species and performance of pure species and hybrid veliger larvae at lowered salinity. *J. Moll. Stud.*, 71(3): 303-306.
- Belkhir, K., P. Borsa, L. Chikhi, N. Raufaste & F. Bonhomme. 2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Montpellier, France: Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II; 1996: 1996-2004.
- Bierne, N., P. Borsa, C. Daguin, D. Jollivet, F. Viard, F. Bonhomme & P. David. 2003. Introgression patterns in the mosaic hybrid zone between *Mytilus edulis* and *M. galloprovincialis*. *Mol. Ecol.*, 12: 447-461.
- Borsa, P., V. Rolland & C. Daguin. 2012. Genetics and taxonomy of Chilean smooth-shelled mussels, *Mytilus* spp. (Bivalvia: Mytilidae). *C. R. Biol.*, 335: 51-61.
- Branch, G. & C. Steffani. 2004. Can we predict the effects of alien species? A case-history of the invasion of South Africa by *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 300: 189-215.
- Brannock, P. & T. Hilbish. 2010. Hybridization results in high levels of sterility and restricted introgression between invasive and endemic marine blue mussels. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 406: 161-171.
- Brannock, P., D. Wetthey & T. Hilbish. 2009. Extensive hybridization with minimal introgression in *Mytilus galloprovincialis* and *M. trossulus* in Hokkaido, Japan. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 383: 161-171.
- Daguin, C. & P. Borsa. 2000. Genetic relationship of *Mytilus galloprovincialis* Lamarck population worldwide: evidences from nuclear-DNA markers. Geological Society, London, Spec. Publ., 177: 389-397.
- Doyle, J.J. & J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.*, 19: 11-15.
- Gérard, K., N. Bierne, P. Borsa, A. Chenuil & J.P. Feral. 2008. Pleistocene separation of mitochondrial lineages of *Mytilus* spp. mussels from Northern and Southern hemispheres and strong genetic differentiation among southern populations. *Mol. Phys. Evol.*, 49: 84-91.
- Hilbish, T., B. Bayne & A. Day. 1994. Genetics of physiological differentiation within the marine mussel genus *Mytilus*. *Evolution*, 48: 267-286.
- Hilbish, T., E. Carson, J. Plante, L. Weaver & M. Gilg. 2002. Distribution of *Mytilus edulis*, *M. galloprovincialis*, and their hybrids in open-coast populations of mussels in southwestern England. *Mar. Biol.*, 140: 137-142.
- Hilbish, T., A. Mullinax, S. Dolven, A. Meyer, R. Koehn & P. Rawson. 2000. Origin of the antitropical distribution pattern in marine mussels (*Mytilus* spp.): routes and timing of transequatorial migration. *Mar. Biol.*, 136: 69-77.
- Inoue, K., J. Waite, M. Matsuoka, S. Odo & S. Harayama. 1995. Interspecific variations in adhesive protein sequences of *Mytilus edulis*, *M. galloprovincialis* and *M. trossulus*. *Biol. Bull.*, 189: 370-375.
- Koehn, R. 1991. The genetics and taxonomy of species in the genus *Mytilus*. *Aquaculture*, 94: 125-145.
- Lowe, S., M. Browne, S. Boudjelas & M. de Poorter. 2000. 100 of the world's worst invasive alien species. A selection from the Global Invasive Species Database. IUCN, Hollands Printing, Auckland, 12 pp.
- Matson, S., J. Davis & K. Chew. 2003. Laboratory hybridization of the mussels, *M. trossulus* and *M. galloprovincialis*: larval growth, survival and early development. *J. Shellfish. Res.*, 22: 423-430.
- McDonald, J., R. Seed & R. Koehn. 1991. Allozymes and morphometric characters of three species of *Mytilus* in the Northern and Southern Hemispheres. *Mar. Biol.*, 111: 323-333.
- Ouagajjou, Y., P. Presa, M. Astorga & M. Pérez. 2011. Microsatellites of *Mytilus chilensis*: a genomic print of its taxonomic status within *Mytilus* sp. *J. Shellfish Res.*, 30: 325-330.

- Oyarzún, P.A., J.E. Toro & J.M. Navarro. 2012. Comparison of the physiological energetics between *Mytilus chilensis*, *Mytilus galloprovincialis* and their hybrids, under laboratory conditions. *Aquacult. Res.*, 44: 1805-1814.
- Oyarzún, P.A., J.E. Toro, J.I. Cañete & J.P.A. Gardner. 2015. Bioinvasion threatens the genetic integrity of native diversity and a natural hybrid zone: smooth-shelled blue mussels (*Mytilus* spp.) in the Strait of Magellan. *Biol. J. Linn. Soc.*, doi: 10.1111/bij.12687.
- Rawson, P., V. Agrawal & T. Hilbish. 1999. Hybridization between the blue mussels *Mytilus galloprovincialis* and *M. trossulus* along the Pacific coast of North America: evidence for limited introgression. *Mar. Biol.*, 134: 201-211.
- Raymond, M., R.L. Vaanto, F. Thomas, F. Rousset, T. de Meeus & F. Renaud. 1997. Heterozygote deficiency in the mussel *Mytilus edulis* species complex revisited. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 156: 225-237.
- Schneider, S., D. Roessli & L. Excoffier. 2000. ARLEQUIN: a software for population genetics data analysis, Version 2.000. Genetics and Biometry Laboratory, Department of Anthropology, University of Geneva, Switzerland.
- Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA). 2014. Anuario estadístico de pesca. [<http://www.sernapesca.cl>].
- Skibinski, D., J. Beardmore & T. Cross. 1983. Aspects of the population genetics of *Mytilus* (Mytilidae; Mollusca) in the British Isles. *Biol. J. Linn. Soc.*, 19: 137-183.
- Skurikhina, L., Y. Kartavtsev, A. Chichvarkhin & M. Pankova. 2001. Study of two species of mussels, *Mytilus trossulus* and *Mytilus galloprovincialis* (Bivalvia, Mytilidae), and their hybrids in Peter the Great Bay of the Sea of Japan with the use of PCR markers. *Russ. J. Genet.*, 37: 1448-1451.
- Toro, J., J. Ojeda, A. Vergara, G. Castro & A. Alcapán. 2004. Molecular characterization of the Chilean blue mussel (*Mytilus chilensis* Hupe, 1854) demonstrates evidence for the occurrence of *Mytilus galloprovincialis* in southern Chile. *J. Shellfish Res.*, 24: 1117-1121.
- Toro, J., P. Oyarzún, C. Peñaloza, A. Alcapán, V. Videla, J. Tilleria, M. Astorga & V. Martínez. 2012. Production and performance of larvae and spat of pure and hybrid species of *Mytilus chilensis* and *M. galloprovincialis* from laboratory crosses. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 40(1): 243-247.
- Van Oosterhout, C., W. Hutchinson, D. Wills & P. Shipley. 2004. Microchecker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. Notes*, 4: 535-538.
- Westfall, K. & J. Gardner. 2010. Genetic diversity of southern hemisphere blue mussels (Mytilidae; Bivalvia) and the identification of non-indigenous taxa. *Biol. J. Linn. Soc.*, 101: 898-909.
- Westfall, K. & J. Gardner. 2013. Interlineage *Mytilus galloprovincialis* Lmk. 1819 hybridization yields inconsistent genetic outcomes in the Southern Hemisphere. *Biol. Invas.*, 15(7): 1493-1506.
- Westfall, K., P. Wimberger & J. Gardner. 2010. An RFLP mtDNA assay to determine if *Mytilus galloprovincialis* (Mytilidae; Bivalvia) is of Northern or Southern hemisphere origin. *Mol. Ecol. Res.*, 10: 573-575.
- Wilhelm, R. & T. Hilbish. 1998. Assessment of natural selection in a hybrid population of mussels: evaluation of exogenous vs endogenous selection models. *Mar. Biol.*, 131: 505-514.
- Zouros, E., G. Pogson, D. Cook & M. Dadswell. 1992. Apparent selective neutrality of mitochondrial DNA size variation: a test in the deep-sea scallop *Placopecten magellanicus*. *Evolution*, 46: 1466-1476.

Received: 5 September 2014; Accepted: 10 November 2015