



INTEGRACIÓN DE ANÁLISIS MORFOLÓGICOS Y GENÉTICOS PARA IDENTIFICACIÓN DE INVERTEBRADOS BENTO-DEMERSALES EN EL MAR PERUANO

INTEGRATING MORPHOLOGICAL AND GENETIC ANALYSES FOR THE IDENTIFICATION OF BENTHIC-DEMERSAL INVERTEBRATES IN THE PERUVIAN SEA

Fabiola Zavalaga^{1,*}

José Santamaría¹

Raquel Siccha-Ramirez²

¹ Instituto del Mar del Perú, Dirección General de Investigaciones en Recursos Demersales y Litorales, Área Funcional de Investigaciones en Biodiversidad, Callao, Perú.

² Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

*Correspondencia. E-mail: fzavalaga@imarpe.gob.pe

Recibido: 13-10-2022, Aceptado: 21-08-2024, Publicado: 05-09-2024

RESUMEN

Se realizaron análisis morfológicos y genéticos para determinar la identidad taxonómica de 42 ejemplares de invertebrados, capturados durante el Crucero de evaluación poblacional de merluza y otros demersales (Cr. 1905-06) efectuado en otoño 2019. Se revisaron las características diagnósticas para la identificación taxonómica tradicional de las especies; mientras que, para el análisis genético, se obtuvieron secuencias de aproximadamente 648 pares de bases de longitud del gen mitocondrial COI, las que fueron registradas en la plataforma BOLD (Sistema de Datos del Código de Barras de la Vida), generando sus códigos de barras de ADN. Con base en la morfología, se determinaron 16 especies (9 crustáceos, 6 moluscos y 1 equinodermo). Los ejemplares identificados morfológicamente como *Moreiradromia sarraburei*, *Stenorhynchus debilis*, *Leiolambrus punctatissimus*, *Spinolambrus exilipemos*, *Achelous iridescens*, *Heterocarpus vicarius*, *Squilla panamensis*, *Distorsio decussata*, *Solenosteira gatesi* y *Hexaplex brassica* no pudieron ser corroborados genéticamente debido a la falta de registros en las bases de datos genéticas; estas diez secuencias de ADN obtenidas, constituyeron los primeros registros para las mencionadas especies en la plataforma BOLD. Solo seis especies (*Collodes tenuirostris*, *Stenocionops ovatus*, *Sinum cymba*, *Crossata ventricosa*, *Goniofusus spectrum* y *Arbacia spatuligera*) pudieron ser identificadas integralmente, siendo nuevos registros de secuencias genéticas para Perú. Se demuestra que los análisis genéticos son una importante herramienta que complementan a los análisis morfológicos tradicionales, contribuyendo con las investigaciones en biodiversidad, incrementando el conocimiento y validación de la identidad taxonómica y distribución de las especies.

PALABRAS CLAVE: biodiversidad marina, código de barras de ADN, taxonomía, ADN mitocondrial, Perú

ABSTRACT

In autumn 2019, IMARPE carried out the stock assessment cruise targeting *Merluccius gayi peruanus* and other demersal species (Cr. 1905-06). Morphological and genetic analyses were conducted to determine the taxonomic identity of 42 invertebrate specimens. Diagnostic characteristics for traditional taxonomic identification were thoroughly reviewed. For the genetic analysis, sequences of approximately 648 base pairs in length from the mitochondrial COI gene were obtained and registered in the BOLD platform (Barcode of Life Data System), generating DNA barcodes for the specimens. Based on morphological characteristics, 16 species were identified (9 crustaceans, 6 mollusks, and 1 echinoderm). Specimens identified morphologically as *Moreiradromia sarraburei*, *Stenorhynchus debilis*, *Leiolambrus punctatissimus*, *Spinolambrus exilipemos*, *Achelous iridescens*, *Heterocarpus vicarius*, *Squilla panamensis*, *Distorsio decussata*, *Solenosteira gatesi*, and *Hexaplex brassica* could not be genetically confirmed due to the absence of records in genetic databases; the ten DNA sequences obtained for these species represent their first entries on the BOLD platform. Only six species (*Collodes tenuirostris*, *Stenocionops ovatus*, *Sinum cymba*, *Crossata ventricosa*, *Goniofusus spectrum*, and *Arbacia spatuligera*) were fully identified, representing new genetic sequence records for Peru. This study demonstrates that genetic analyses are an essential tool that complements traditional morphological methods, significantly contributing to biodiversity research by enhancing the knowledge and validation of species' taxonomic identity and distribution.

KEYWORDS: marine biodiversity, DNA barcoding, taxonomy, mitochondrial DNA, Peru

COMO REFERENCIAR ESTE ARTÍCULO (APA 7ed): Zavalaga, F., Santamaría, J. & Siccha-Ramirez, R. (2024). Integración de análisis morfológicos y genéticos para identificación de invertebrados bento-demersales en el mar peruano. *Bol Inst Mar Perú*, 39(2), e404. <https://doi.org/10.53554/boletin.v39i2.404>

1. INTRODUCCIÓN

El ambiente marino es el ecosistema más grande del mundo, incluye gran variedad de hábitats (TEMPLADO *et al.*, 2010) y alberga un sin número de especies de diferentes taxa, conformando la diversidad biológica o biodiversidad. Esta provee múltiples servicios ecosistémicos a la humanidad, tales como: regulación de procesos ambientales, provisión de bienes, beneficios culturales y de soporte (MACE *et al.*, 2012). Si bien el número total de especies que habitan los mares y océanos es todavía incierto (~242 000 especies válidas conocidas a junio 2023), todavía existe gran número de especies (de uno a dos millones) por conocer (BOUCHET *et al.*, 2023). En ese sentido, los inventarios de biodiversidad resultan herramientas muy útiles y necesarias para la conservación y planes de manejo (IRIONDO, 2000; MORA *et al.*, 2008).

La biodiversidad bentónica en áreas marino-costeras ha sido la más estudiada, debido principalmente a su fácil acceso, constituyendo el 75% de las especies conocidas del mundo (BOUCHET, 2006; TEMPLADO *et al.*, 2010); de las cuales los crustáceos y moluscos son los grupos más representativos (COSTELLO *et al.*, 2010). Sin embargo, en nuestro país, aún existen ambientes marinos, entre los 0 y 200 metros de profundidad, que han sido poco explorados, en donde la biodiversidad es aún desconocida. En ese sentido, es necesario mayores recursos e implementar tecnologías que proporcionen acceso a estas zonas para incrementar el conocimiento disponible (BOUCHET *et al.*, 2023). Por otro lado, los ambientes del océano profundo, que se consideran a partir de 200 metros de profundidad (DANOVARO *et al.*, 2017), se encuentran poco explorados y su biodiversidad es poco conocida (DANOVARO *et al.*, 2010). Un estudio reciente en aguas profundas del Océano Pacífico señala que menos del 20% de las especies registradas utilizando vehículos operados remotamente (ROV) pudieron ser identificadas (KENNEDY *et al.*, 2019), demostrando que la diversidad biológica en estas zonas se encuentra subestimada.

En algunos de estos ambientes, como la plataforma y el talud continental, las especies bento-demersales (organismos que viven sobre el fondo

1. INTRODUCTION

The marine environment is the largest ecosystem on Earth, encompassing a diverse array of habitats (TEMPLADO *et al.*, 2010) and hosting a vast number of species from various taxa, contributing to global biological diversity. This diversity provides essential ecosystem services to humanity, including environmental regulation, goods provision, cultural benefits, and support functions (MACE *et al.*, 2012). While the total number of marine species is still uncertain (~242,000 valid species as of June 2023), estimates suggest that between one and two million species remain undiscovered (BOUCHET *et al.*, 2023). Therefore, biodiversity inventories are crucial tools for conservation and management planning (IRIONDO, 2000; MORA *et al.*, 2008).

Benthos in marine coastal areas has been the most extensively studied, primarily due to its accessibility, representing 75% of the world's known species (BOUCHET, 2006; TEMPLADO *et al.*, 2010). Crustaceans and mollusks are among the most well-represented groups (COSTELLO *et al.*, 2010). However, in Peru, marine environments from 0 to 200 meters in depth remain underexplored, with much of their biodiversity still unknown. To advance our understanding, additional resources and technologies are needed to access these regions and increase our knowledge (BOUCHET *et al.*, 2023). In contrast, deep-sea environments, defined as those below 200 meters (DANOVARO *et al.*, 2017), are even less explored, and their biodiversity is poorly understood (DANOVARO *et al.*, 2010). A recent study of the Pacific deep-sea found that less than 20% of species recorded using remotely operated vehicles (ROVs) could be identified (KENNEDY *et al.*, 2019), underscoring that the biological diversity in these areas is likely underestimated.

In some of these environments, such as the continental shelf and slope, benthic-demersal species (those living on the seafloor and in the deeper parts of the water column) play a key role and are adapted to extreme conditions like low oxygen (hypoxia), absence of light, high pressure, and cold temperatures (GRASSLE, 1989; DANOVARO *et al.*, 2017). The challenges of accessing these areas pose significant research obstacles.

y la parte profunda de la columna de agua) son protagonistas y se encuentran adaptadas a condiciones hostiles como el déficit de oxígeno (hipoxia), la ausencia de luz, las altas presiones y las bajas temperaturas (GRASSLE, 1989; DANOVARO *et al.*, 2017). En ese sentido, dada la complejidad de accesibilidad, representan un reto para la investigación.

Por otro lado, la identificación morfológica de los invertebrados marinos suele ser una tarea compleja en la región peruana, debido a la escasez de publicaciones y de especialistas enfocados al estudio taxonómico de estos grupos (MILOSLAVICH *et al.*, 2011). Además, las claves de identificación taxonómica en muchos casos presentan caracteres diagnósticos compartidos entre varias especies (HEBERT *et al.*, 2003; SUN *et al.*, 2016), ocasionando controversias en la identificación. Mismo así, ha habido un esfuerzo de algunos investigadores para el estudio de la biodiversidad bento-demersal, utilizando un enfoque morfológico, como ELLIOTT y SAMAMÉ (2001), ELLIOTT *et al.* (2011) y PASTOR *et al.* (2018 a, b) quienes caracterizaron la comunidad de peces e invertebrados bento-demersales del norte-centro del Perú con la finalidad de conocer su distribución espacial.

No obstante, actualmente sabemos que la identificación de organismos basada únicamente en datos morfológicos puede resultar, en algunos casos, insuficiente ya que las características diagnósticas pueden variar en función de la etapa de desarrollo del espécimen, de la presencia de especies crípticas (que son según BICKFORD *et al.* (2007) dos o más especies distintas que están clasificadas -y ocultas- erróneamente bajo el nombre de una especie), a la variación fenotípica, el dimorfismo sexual, los complejos de especies, entre otros (PANPROMMIN *et al.*, 2019). Es ahí en donde los estudios taxonómicos integrativos cobran importancia, ya que pretenden delimitar unidades de diversidad específica o taxa desde perspectivas múltiples y complementarias (e.g. filogeografía, morfología comparada, genética de poblaciones, ecología, desarrollo, comportamiento, entre otras) (DAYRAT, 2005).

Una de las herramientas que complementa a la taxonomía tradicional es el código de barras de ADN, el cual ha cobrado relevancia en las últi-

Morphological identification of marine invertebrates in the Peruvian region is often challenging due to a scarcity of publications and specialists dedicated to the taxonomic study of these groups (MILOSLAVICH *et al.*, 2011). Additionally, many taxonomic identification keys feature diagnostic traits that are common across multiple species (HEBERT *et al.*, 2003; SUN *et al.*, 2016), often resulting in identification disputes. Despite these challenges, some researchers have made significant efforts to study benthic-demersal biodiversity through morphological approaches, such as ELLIOTT and SAMAMÉ (2001), ELLIOTT *et al.* (2011), and PASTOR *et al.* (2018 a, b), who have characterized the benthic-demersal fish and invertebrate communities of northern-central Peru to understand their spatial distribution.

However, it is increasingly recognized that relying solely on morphological data can be insufficient for accurate species identification. Diagnostic features may vary depending on the developmental stage of the specimen, the presence of cryptic species (defined by BICKFORD *et al.* (2007) as two or more distinct species erroneously classified under one name), phenotypic variation, sexual dimorphism, and species complexes, among other factors (PANPROMMIN *et al.*, 2019). This underscores the importance of integrative taxonomic studies, which aim to delineate species diversity from multiple and complementary perspectives (e.g., phylogeography, comparative morphology, population genetics, ecology, development, and behavior) (DAYRAT, 2005).

DNA barcoding is a valuable tool complementing traditional taxonomy and has become increasingly significant as a global species identification system (HEBERT *et al.*, 2003). This technique involves sequencing the 5' end of the mitochondrial Cytochrome Oxidase I (COI) gene, which spans 650 base pairs (bp) (HEBERT *et al.*, 2003). DNA barcoding is recognized for its speed and accuracy in identifying various species (WARD *et al.*, 2005; IVANOVA *et al.*, 2007; PROSSER *et al.*, 2013), including marine species (BUCKLIN *et al.*, 2011).

Currently, thousands of marine organism sequences are available in global public repositories, including the Barcode of Life Data Sys-

mas décadas, siendo utilizada como un sistema de bioidentificación global de especies (HEBERT *et al.*, 2003). Esta técnica se basa en el secuenciamiento del extremo 5' del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad I (COI) de 650 pares de bases (pb) (HEBERT *et al.*, 2003). Esta metodología es descrita como una herramienta rápida y precisa para la identificación de diferentes especies (WARD *et al.*, 2005; IVANOVA *et al.*, 2007; PROSSER *et al.*, 2013), incluyendo las especies marinas (BUCKLIN *et al.*, 2011).

Hoy en día, existen miles de secuencias de organismos marinos disponibles en los repositorios públicos mundiales: el Sistema de Datos del Código de Barras de la Vida - BOLD SYSTEMS (www.boldsystems.org, RATNASINGHAM & HEBERT, 2007) y el Banco de Información Genética - GENBANK (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Las secuencias depositadas en ambos repositorios, facilitan la identificación genética de especies comparando a las previamente depositadas con las secuencias de consulta mediante el algoritmo BLAST, sin embargo, si las especies no cuentan con secuencias de referencias, se torna complicada la identificación basada en la comparación.

El presente estudio tiene como objetivo caracterizar la fauna de invertebrados bento-demersales que habitan en la plataforma y talud continental del mar frente a Perú, colectados durante el crucero de evaluación poblacional de merluza y otros demersales (Cr. 1905-06), efectuado en el otoño 2019, usando herramientas de morfología y genética, para poder ampliar el conocimiento disponible sobre la fauna marina del país.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDIO

Las muestras fueron colectadas durante el crucero de evaluación poblacional de merluza y otros recursos demersales (Cr. 1905-06) a bordo del BIC Olaya del IMARPE, sobre la plataforma y borde superior del talud continental, desde la frontera norte del dominio marítimo peruano (3°23'S) hasta Huarney (10°00'S), durante mayo y junio 2019 (Fig. 1). El rango de profundidad en el que se colectaron estas muestras fue de 68 a 470 metros (Tabla 1).

tem - BOLD SYSTEMS (www.boldsystems.org, RATNASINGHAM & HEBERT, 2007) and GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Sequences in these repositories facilitate genetic species identification by comparing them with reference sequences using the BLAST algorithm. Nonetheless, if reference sequences are lacking, genetic identification based on comparison becomes more challenging.

This study aims to characterize the benthic-demersal invertebrate fauna of the continental shelf and slope off the Peruvian, collected during the stock assessment cruise targeting *Merluccius gayi peruanus* and other demersal species (Cr. 1905-06) conducted in autumn 2019. By employing both morphological and genetic tools, the study seeks to expand our understanding of the marine fauna in Peru.

2. MATERIALS AND METHODS

STUDY AREA

The samples were collected during the IMARPE's stock assessment cruise targeting *M. gayi peruanus* and other demersal species (Cr. 1905-06) aboard the R/V Olaya. This survey covered the continental shelf and upper slope from the northern edge of the Peruvian maritime domain (3°23'S) to Huarney (10°00'S) during May and June 2019 (Fig. 1). The samples were gathered from depths ranging between 68 and 470 meters (Table 1).

SAMPLE COLLECTION

A total of 136 fishing hauls (Fig. 1) were carried out using the "sweep area" method, which involved an effective tow duration of 30 minutes at an average speed of 3 knots, conducted between 6:00 AM and 6:00 PM, following the procedures outlined by ESPINO & WOSNITZA-MENDO (1984) and GUEVARA-CARRASCO *et al.* (1996). The demersal scientific net employed was the OTB-2, code ISSCFG 03.1.2 (OKONSKI & MARTINI, 1987; PRADO & DREMIERE, 1988; NEDELÉC & PRADO, 1990), specifically a Granton model with two doors (upper and lower), featuring a wing-tip opening of 15.4 m with a 9° angle of attack and a vertical opening ranging from 3.5 to 4.5 m.

Tabla 1.- Ubicación, fecha de colecta y códigos de muestra de las especies de invertebrados obtenidos durante el Crucero de evaluación de la población de merluza y otros demersales (Cr. 1905-06), BIC Olaya, otoño 2019. En la columna Grupo: a. especies que se lograron identificar morfológica y genéticamente, b. taxones que no se lograron identificar morfológicamente pero sí se logró amplificar y secuenciar, c. taxones que no se lograron identificar ni amplificar y/o secuenciar

Table 1. Location, collection date, and sample codes for invertebrate species obtained during stock assessment cruise targeting *M. gayi peruanus* and other demersal species (Cr. 1905-06), R/V Olaya in autumn 2019. In the "Group" column: a. species identified morphologically and genetically; b. taxa that could not be identified morphologically but were successfully amplified and sequenced; c. taxa that could neither be identified nor amplified and/or sequenced

Grupo/ Group	Fecha de colecta/Date of collection	Lance/ Haul	Coordenadas/ Coordinates		Profundidad / Depth (m)	Nombre científico/ Scientific name	Código de muestra/ Sample code	
			Latitud S	Longitud O				
a.	15/05/2019	11	7°15'54"	80°21'51,6"	100	<i>Crossata ventricosa</i>	CV4	
	15/05/2019	11	7°15'54"	80°21'51,6"	100	<i>Crossata ventricosa</i>	CV3	
	15/05/2019	11	7°15'54"	80°21'51,6"	100	<i>Crossata ventricosa</i>	CV2	
	15/05/2019	11	7°15'54"	80°21'51,6"	100	<i>Crossata ventricosa</i>	CV1	
	15/05/2019	11	7°15'54"	80°21'51,6"	100	<i>Sinum cymba</i>	SCy	
	16/05/2019	12	6°20'48"	80°57'25,8"	96	<i>Squilla panamensis</i>	Sp1/Span1	
	21/05/2019	18	3°45'9,6"	81°13'35,4"	470	<i>Heterocarpus vicarius</i>	Hv1	
	21/05/2019	18	3°45'9,6"	81°13'35,4"	470	<i>Heterocarpus vicarius</i>	Hv2	
	26/05/2019	10	3°32,00'	80°55,60'	171	<i>Collodes tenuirostris</i>	C10a	
	26/05/2019	10	3°32,00'	80°55,60'	171	<i>Stenocionops ovatus</i>	St-1a	
	2/06/2019	57	5°35,69'	81°07,251'	73	<i>Distorsio decussata</i>	Dist1a	
	2/06/2019	57	5°35,69'	81°07,251'	73	<i>Spinolambrus exilipes</i>	Par1a	
	3/06/2019	58	5°28,95'	81°06,67'	68	<i>Hexaplex brassica</i>	Mol1a	
	3/06/2019	58	5°28,95'	81°06,67'	68	<i>Goniofusius spectrum</i>	Fus1a	
	3/06/2019	58	5°28,95'	81°06,67'	68	<i>Arbacia spatuligera</i>	Arb1a	
	3/06/2019	58	5°28,95'	81°06,67'	68	<i>Solenosteira gatesi</i>	Sol1a	
	3/06/2019	58	5°28,95'	81°06,67'	68	<i>Stenocionops ovatus</i>	Steno1a	
	3/06/2019	58	5°28,95'	81°06,67'	68	<i>Leiolambrus punctatissimus</i>	Leio1a	
	3/06/2019	58	5°28,95'	81°06,67'	68	<i>Stenorhynchus debilis</i>	Steno2a	
	3/06/2019	63	5°17,68'	81°15,35'	97	<i>Achelous iridescens</i>	Port1a	
9/06/2019	79	7°9,853'	80°32,546'	98	<i>Moreiradromia sarraburei</i>	More1a		
b.	9/06/2019	79	7°9,853'	80°32,546'	98	<i>Euxactopus c.f. panamensis</i>	C79-1a	
	26/05/2019	13	3°41,08'	80°51,41'	72	Polychaeta n.d.	Pol1a	
	26/05/2019	13	3°41,08'	80°51,41'	72	Polychaeta n.d.	Pol2a	
	26/05/2019	13	3°41,08'	80°51,41'	72	Inachoididae n.d.	In1a	
	14/06/2019	108	8°46,2'	79°27,529'	98	<i>Octopus</i> n.d.1	C108-1a	
	14/06/2019	108	8°46,2'	79°27,529'	98	<i>Octopus</i> n.d.1	C108-2a	
	3/06/2019	60	5°24,40'	81°13,4'	103	Pleurobranchaeidae n.d.	C60-1a	
	3/06/2019	58	5°28,95'	81°06,67'	68	<i>Octopus</i> n.d.1	Oct1a	
	3/06/2019	58	5°28,95'	81°06,67'	68	<i>Octopus</i> n.d.1	Oct2a	
	11/06/2019	90	7°54,62'	79°54,45'	148	<i>Squilla</i> sp.	Sq1a	
	26/05/2019	10	3°32,00'	80°55,60'	171	<i>Octopus</i> n.d.2	Pulpo1	
	16/05/2019	12	6°20',48"	80°57'25,8"	96	Anthozoa n.d.1	ANE	
	21/05/2019	18	3°45'9,6"	81°13'35,4"	470	Anthozoa n.d.2	CN1	
	c.	2/06/2019	56	5°35,84'	81°16,82'	196	<i>Plesionika trispinus</i> (ovas)	C56-1a
		2/06/2019	56	5°35,84'	81°16,82'	196	<i>Plesionika trispinus</i> (ovas)	C56-2a
26/05/2019		13	3°41,08'	80°51,41'	72	Ophiuroidea n.d.	Oph1a	
30/05/2019		36	6°03,09'	81°11,36'	123	Tellinidae n.d.	C36-1a	
9/06/2019		79	7°9,853'	80°32,546'	98	Ascidacea n.d.	Asc1a	
9/06/2019		77	7°24,17'	80°37,18'	169	Porifera n.d.	Spo1a	
14/06/2019		108	8°46,2'	79°27,529'	98	<i>Polinices uber</i>	Pol3a	
15/05/2019		11	7°15'54"	80°21'51,6"	100	Porifera n.d.	Esponja	

Colecta de muestras

Se realizaron 136 lances de pesca (Fig. 1) de acuerdo con el método de “área barrida”, el cual consta de un arrastre efectivo promedio de 30 minutos y a velocidad media de 3 nudos, realizados entre las 6:00 y 18:00 horas según lo descrito por ESPINO y WOSNITZA-MENDO (1984) y GUEVARA-CARRASCO *et al.* (1996). Se utilizó la red científica demersal, OTB-2 código ISSCFG 03.1.2 (OKONSKI & MARTINI, 1987; PRADO & DREMIERE, 1988; NEDELÉC & PRADO, 1990) modelo Granton de dos tapas (superior e inferior) la cual presenta una abertura de punta de alas por diseño (APA) de 15,4 m con ángulo de ataque de 9° y abertura vertical de 3,5 a 4,5 m.

De la captura de estos lances se realizó una selección de ejemplares de invertebrados bento-demersales, los cuales se fotografiaron y procesaron de dos formas a) a bordo (i.e., organismos en fresco) y b) en tierra, en el laboratorio (i.e., organismos congelados).

Los ejemplares (vouchers) que se procesaron de la manera a) se fotografiaron y procesaron a bordo, donde se les extrajo una muestra de tejido y luego se preservaron. Por otro lado, los ejemplares procesados de la manera b) se etiquetaron, congelaron y almacenaron en bolsas de polietileno y posteriormente fueron trasladados al área de trabajo de la Colección Científica del IMARPE, en donde se fotografiaron y se les extrajo la muestra de tejido. Se siguió el procedimiento b) en los casos en donde el tiempo para colecta, separación y almacenamiento de tejidos era escaso.

En ambos casos, se extrajo alrededor de 1 cm³ de tejido blando para análisis genéticos. Las muestras individualizadas, fueron colocadas en crioviales de 2 mL conteniendo 1,5 mL de etanol al 96%, almacenadas en frío y transportadas al Laboratorio de Sanidad Acuícola (LSA) del Laboratorio Costero de Tumbes (LCT), para su posterior análisis.

Con respecto a la preservación de los ejemplares, los del Phylum Arthropoda y Echinodermata fueron llevados directamente a alcohol de 70°, mientras que los ejemplares del Phylum Mollusca fueron fijados previamente en formaldehído al 10%. Todos los ejemplares (vouchers)

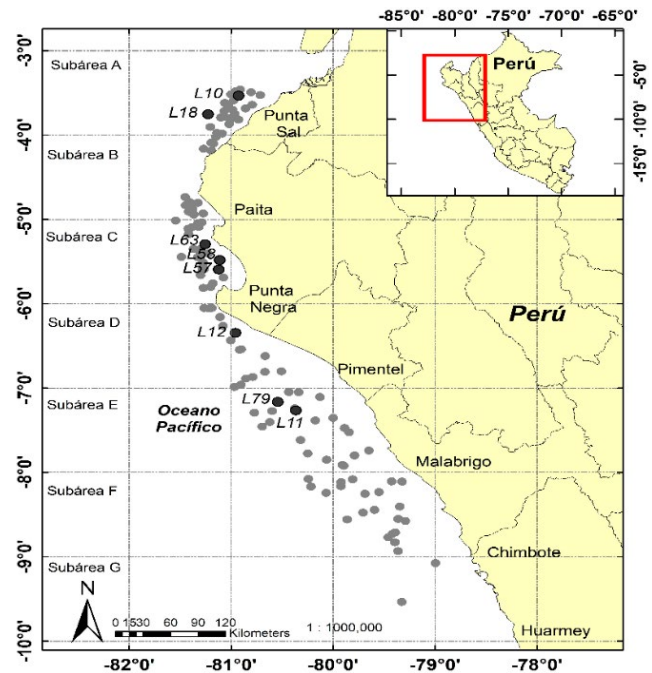


Figura 1.- Área de estudio del Crucero de evaluación poblacional de merluza y otros demersales (Cr. 1905-06), R/V Olaya, otoño 2019. Los lances de pesca, con círculos grises, indican obtención de muestras para estudios morfológicos tradicionales y con círculos negros para estudios con herramienta genética (código de barras de ADN) [taxonomía integrativa] incluidos en el presente estudio

Figure 1.- Study area of the stock assessment cruise targeting *M. gayi peruuanus* and other demersal species (Cr. 1905-06), R/V Olaya, autumn 2019. The fishing hauls are marked with gray circles indicating samples collected for traditional morphological studies and black circles for genetic studies (DNA barcoding) [integrative taxonomy] included in this study

From these hauls, benthic-demersal invertebrates were selected for processing. The specimens were handled in two ways: a) on board (i.e., fresh organisms) and b) onshore in the laboratory (i.e., frozen organisms). For specimens processed on board (method a), photographs were taken and tissue samples were collected before preservation. Specimens processed onshore (method b) were labeled, frozen, and stored in polyethylene bags, then transported to the IMARPE Scientific Collection area where they were photographed and tissue samples were collected. Method b was used in cases where there was limited time for collection, separation, and storage of tissues.

In both cases, approximately 1 cm³ of soft tissue was extracted for genetic analysis. The samples were placed in 2 mL cryovials containing 1.5 mL of 96% ethanol, stored in cold conditions, and transported to the Aquatic Health Laboratory at the Coastal Laboratory of Tumbes for further analysis.

incluidos en este trabajo, fueron depositados en la Colección Científica del IMARPE.

ANÁLISIS MORFOLÓGICO

Los análisis morfológicos, basados en diferentes características externas de los especímenes, fueron realizados por medio de la identificación visual de los caracteres diagnósticos, empleando microscopios estereoscópicos y diferentes claves de identificación taxonómicas (Phylum Arthropoda: GARTH y STEPHENSON (1966), RATHBUN (1925), MÉNDEZ (1981), HENDRICKX (1995a, b, c) y MOSCOSO (2013); Phylum Mollusca: KEEN (1971) y POUTIERS (1995a, b); Phylum Echinodermata: CLARK (1910)).

Fotografías referenciales

Se emplearon fotografías de referencia de las especies de invertebrados incluidos en este trabajo, tomadas a bordo durante el crucero de evaluación de la población de merluza y otros demersales (Cr. 1905-06), antes de ser preservados. Estas imágenes son útiles sobre todo en los casos del método de colecta de muestras b), en donde se procedió a congelar los ejemplares a bordo y se trasladaron a procesar y analizar en tierra. Cabe precisar que estas fotografías no corresponden necesariamente a los ejemplares analizados morfológica y genéticamente (taxonomía integrativa).

Análisis genéticos

Extracción y amplificación de ADN: la extracción de ADN fue realizada utilizando el kit comercial Wizard SV Genomic DNA Purification System (PROMEGA) siguiendo las indicaciones del fabricante. La concentración y calidad de extracción del ADN se analizaron mediante cuantificación por espectrofotometría usando un EPOCH del LSA y evidenciado con un gel de agarosa al 1%.

Un fragmento del gen COI fue amplificado mediante PCR utilizando los *primers* ZplankF1_t1/ ZplankR1_t1 (PROSSER *et al.*, 2013). La amplificación tuvo un volumen final de 25 μ L con: 2 μ L de ADN molde, 2,5 μ L PCR Buffer, 10 μ L dNTP mix, 2,5 μ L de cada uno de los primers, 0,1 μ L Taq polimerasa, en casos de muestras complejas se adicionó 1,25 μ L de DMSO 100% y finalmente se completó con agua. Los ciclos de PCR fueron los siguientes: pre-dena-

For specimen preservation, those from the Phylum Arthropoda and Echinodermata were directly immersed in 70% ethanol, while specimens from the Phylum Mollusca were initially fixed in 10% formaldehyde. All specimens (vouchers) included in this study have been deposited in the IMARPE Scientific Collection.

Morphological analysis

Morphological analyzes, based on various external features of the specimens, were carried out through visual examination of diagnostic traits using stereomicroscopes and established taxonomic identification keys. For Phylum Arthropoda, we referred to the keys by GARTH y STEPHENSON (1966), RATHBUN (1925), MÉNDEZ (1981), HENDRICKX (1995a, b, c), and MOSCOSO (2013). For Phylum Mollusca, we used KEEN (1971) and POUTIERS (1995a, b), while for Phylum Echinodermata, the key by CLARK (1910) was employed.

Reference photographs

Reference photographs of the invertebrate species included in this study were taken on board during the stock assessment cruise targeting *M. gayi peruanus* and other demersal species (Cr. 1905-06), prior to preservation. These images are especially valuable for specimens collected using method b), where samples were frozen on board and subsequently processed and analyzed onshore. It should be noted that these photographs may not correspond directly to the specimens analyzed morphologically and genetically (integrative taxonomy).

Genetic analyses

DNA extraction and amplification: DNA extraction was carried out using the Wizard SV Genomic DNA Purification System (PROMEGA) kit, adhering to the manufacturer's guidelines. The concentration and quality of the extracted DNA were assessed through spectrophotometry with an EPOCH reader at the Aquatic Health Laboratory and further verified using a 1% agarose gel.

A COI gene fragment was amplified via PCR with primers ZplankF1_t1/ ZplankR1_t1 (PROSSER *et al.*, 2013). The PCR reaction mixture consisted of

turación a 94 °C por 1 min. Seguido de 35 ciclos de la siguiente manera: denaturación a 95 °C por 30 s, hibridación a 50 °C por 30 s, una extensión a 72 °C por 54 s y una extensión final a 72 °C por 5 min (PROSSER *et al.*, 2013). Los amplicones fueron evaluados en un gel de agarosa al 1% usando el intercalante GelRed y visualizados en un transiluminador de UV. Se empleó un marcador de peso molecular de 1 kb plus para determinar el tamaño del amplicon y confirmar la correcta amplificación del gen COI el cual tiene aproximadamente 650 -654 pares de bases (ORDINOLA-ZAPATA *et al.*, 2019).

Purificación y secuenciación: la purificación fue realizada mediante una reacción enzimática empleando ExoSAP-IT siguiendo las recomendaciones del fabricante. Los productos amplificados exitosamente fueron enviados a Macrogen, Corea del Sur, para su secuenciación a través de capilaridad, usando un secuenciador tipo ABI, leyéndose en ambos sentidos de la cadena (forward y reverse) mediante la metodología de Sanger.

Análisis bioinformático: los electroferogramas fueron ensamblados usando el programa GENEIOUS v9.1 y luego la matriz de datos de 654 pb fue editada y alineada mediante el programa BIOEDIT v7.2, el cladograma fue elaborado usando las 34 secuencias a través del MEGA v.10.2 y aplicando el método de *Neighbor Joining* y el modelo de distancia de Kimura-2-parámetros como lo describen para los trabajos de códigos de barras de ADN.

Las secuencias obtenidas del gen COI fueron analizadas con el algoritmo BLAST, el cual se basa en la comparación por similitud con las bases de datos públicas GENBANK (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) y BOLD SYSTEM (<https://www.boldsystems.org/>) y se analizaron los valores de: E-value (= 0), porcentaje de identidad (>99%) y porcentaje de cobertura (la mayor posible) para confirmar que las secuencias depositadas sean lo más similares a las secuencias del presente estudio.

Los electroferogramas, las secuencias, así como las fotografías y los códigos de colección de los ejemplares vouchers fueron depositados dentro de la plataforma del BOLD SYSTEM (<https://www.boldsystems.org/>) con los códigos de acceso IVMAR001-21 a IVMAR021-21.

25 µL final volume, including 2 µL of template DNA, 2.5 µL PCR Buffer, 10 µL dNTP mix, 2.5 µL of each primer, 0.1 µL Taq polymerase, 1.25 µL of 100% DMSO for complex samples, and the remainder filled with water. The PCR protocol included: an initial denaturation at 94 °C for 1', followed by 35 cycles of denaturation at 95 °C for 30", annealing at 50 °C for 30", extension at 72 °C for 54", and a final extension at 72 °C for 5' (PROSSER *et al.*, 2013). The PCR products were analyzed on a 1% agarose gel with GelRed stain and visualized under UV light. A 1 kb plus molecular weight marker was used to estimate the amplicon size and verify the successful amplification of the COI gene, which ranges approximately from 650 to 654 base pairs (ORDINOLA-ZAPATA *et al.*, 2019).

Purification and sequencing: Purification was carried out through an enzymatic reaction using ExoSAP-IT, according to the manufacturer's guidelines. Successfully amplified products were then sent to Macrogen in South Korea for capillary sequencing with an ABI sequencer. Sequencing was performed in both forward and reverse directions using the Sanger method.

Bioinformatic analysis: Electropherograms were assembled using GENEIOUS v9.1, and the 654 bp data matrix was edited and aligned with BIOEDIT v7.2. A cladogram was created from the 34 sequences using MEGA v.10.2, applying the Neighbor Joining method and the Kimura-2-parameter distance model, as standard for DNA barcoding studies.

The COI gene sequences were analyzed with the BLAST algorithm, comparing them against public databases GENBANK (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) and BOLD SYSTEM (<https://www.boldsystems.org/>). Key metrics such as E-value (= 0), percentage identity (>99%), and coverage percentage (as high as possible) were assessed to confirm the similarity of the sequences.

Electropherograms, sequences, photographs, and voucher specimen collection codes were deposited in the BOLD SYSTEM database (<https://www.boldsystems.org/>) under access codes IVMAR001-21 to IVMAR021-21.

3. RESULTADOS

De los 42 ejemplares colectados, a los cuales se extrajo muestras de tejido, 39 pudieron ser amplificadas y 34 fueron secuenciadas exitosamente. Sin embargo, solo 21 ejemplares pertenecientes a 16 especies y 14 familias pudieron identificarse morfológicamente hasta el nivel de especie (Tabla 1 grupo a, Tabla 2). Estos ejemplares (grupo a.), tuvieron secuencias de correspondencia entre 82 y 100% de similaridad en las bases de datos consultadas (GENBANK y BOLD SYSTEM). Sin embargo, solo seis especies (*Collodes tenuirostris*, *Stenocionops ovatus*, *Sinum cymba*, *Crossata ventricosa*, *Goniofusus spectrum* y *Arbacia spatuligera*), representadas en 10 ejemplares, tuvieron una secuencia de correspondencia por encima del 99% de similaridad después de realizar el análisis de comparación por BLAST, por lo que, únicamente estas seis especies pudieron ser identificadas integrativamente, es decir, tanto a nivel morfológico como genético (Tabla 2, especies con asterisco (*)).

Los 11 ejemplares restantes, correspondientes a las 10 especies que fueron identificadas morfológicamente como *Moreiradromia sarraburei*, *Stenorhynchus debilis*, *Leiolambrus punctatissimus*, *Spinolambrus exilipemos*, *Achelous iridescens*, *Heterocarpus vicarius*, *Squilla panamensis*, *Distorsio decussata*, *Solenosteira gatesi* y *Hexaplex brassica* (Tabla 1, grupo a y Tabla 2) no pudieron ser corroborados genéticamente debido a la falta de registros en las bases de datos genéticas. Estas 11 secuencias de ADN obtenidas constituyeron los primeros registros para estas especies en la plataforma BOLD.

Por otro lado, trece ejemplares correspondientes a nueve taxa, no se lograron identificar morfológicamente (Tabla 1 grupo b) debido a que sus caracteres morfológicos externos fueron poco reconocibles por los autores, pero se lograron amplificar y secuenciar; sin embargo, al compararlos con las bases de referencias públicas, estuvieron por debajo del 97,73%, por lo cual no se pudo atribuir el nombre de la especie; no obstante, se colocó la resolución taxonómica más baja a la que se pudo llegar en base a la morfología y la aproximación genética. A estos taxa se los ha incluido en la Figura 2 señalándolos con un asterisco (*). Finalmente, se incluyen otros ocho taxones que no se lograron identificar, amplificar y/o secuenciar (Tabla 1, grupo c).

3. RESULTS

Of the 42 specimens collected and sampled for tissue, 39 were successfully amplified and 34 were successfully sequenced. However, only 21 specimens representing 16 species and 14 families could be identified morphologically to the species level (Table 1, group a; Table 2). These specimens (group a) had sequence similarities ranging from 82% to 100% in the consulted databases (GENBANK and BOLD SYSTEM). Among them, only six species (*Collodes tenuirostris*, *Stenocionops ovatus*, *Sinum cymba*, *Crossata ventricosa*, *Goniofusus spectrum*, and *Arbacia spatuligera*), represented by 10 specimens, had sequence similarities exceeding 99% after BLAST analysis. Therefore, only these six species were identified integratively, meaning both morphologically and genetically (Table 2, species marked with an asterisk (*)).

The remaining 11 specimens, identified morphologically as *Moreiradromia sarraburei*, *Stenorhynchus debilis*, *Leiolambrus punctatissimus*, *Spinolambrus exilipemos*, *Achelous iridescens*, *Heterocarpus vicarius*, *Squilla panamensis*, *Distorsio decussata*, *Solenosteira gatesi*, and *Hexaplex brassica* (Table 1, group a; Table 2), could not be confirmed genetically due to the lack of records in genetic databases. These 11 DNA sequences represent the first records of these species in the BOLD database.

Conversely, thirteen specimens representing nine taxa could not be identified morphologically (Table 1, group b) due to their external characteristics being poorly distinguishable. Despite successful amplification and sequencing, their similarity to reference databases was below 97.73%, making species-level identification impossible. As a result, the lowest feasible taxonomic resolution was assigned based on morphological and genetic data. These taxa are marked with an asterisk (*) in Figure 2. Additionally, eight other taxa could not be identified, amplified, or sequenced (Table 1, group c).

Tabla 2.- Listado sistemático de especies de invertebrados incluidos en este estudio y que pudieron ser identificados morfológica y genéticamente (grupo a.). Se indica con un asterisco (*) las especies que fueron identificadas integralmente (similaridad $\geq 99\%$). Código de Colección es el número de catálogo asignado a cada ejemplar en la Colección Científica del IMARPE. Código de Secuencia de los ejemplares incorporados en la base de datos iBOL (www.boldsystems.org). Las especies número 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 14 y 15 son nuevos registros de secuencias en BOLD; las especies número 3, 4, 10, 12, 13 y 16 son nuevos registros de secuencias para Perú. Se indican las fotografías referenciales de las especies (Lámina 1) y de los ejemplares analizados en este estudio (Lámina 2)

Table 2.- Systematic list of invertebrate species included in this study that were identified both morphologically and genetically (group a). Species marked with an asterisk (*) were fully identified (similarity $\geq 99\%$). Collection Code refers to the catalog number assigned to each specimen in the IMARPE Scientific Collection. Sequence Code refers to the number assigned to the specimens in the iBOL database (www.boldsystems.org). Species numbers 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 14, and 15 represent new sequence records in BOLD; species numbers 3, 4, 10, 12, 13, and 16 are new sequence records for Peru. Reference photographs of the species (Plate 1) and the specimens analyzed in this study (Plate 2) are provided

Phylum / Clase / Orden / Familia / Especie	Código de muestra	Código de Colección	Código de Secuencia	Porcentaje (%) de Similaridad GENBANK	Porcentaje (%) de Similaridad BOLD	Fotografía en Lámina 1 y 2
ARTHROPODA						
Malacostraca						
Decapoda						
Dromiidae (1)						
1. <i>Moreiradromia sarraburei</i>	More1a	02-001057	IVMAR003-21	88.89	-	a ; a
Inachoididae (2)						
2. <i>Stenorhynchus debilis</i>	Steno2a	02-001060	IVMAR010-21	82	-	f ; g
3. <i>Collodes tenuirostris</i> *	C10a	02-001055	IVMAR001-21	99.39	-	d ; d
Epialtidae (1)						
4. <i>Stenocionops ovatus</i> *	St-1a	02-001056	IVMAR002-21	98.78	99.23	e ; e
	Steno1a	02-001058	IVMAR008-21			e ; f
Parthenopidae (2)						
5. <i>Leiolambrus punctatissimus</i>	Leio1a	02-001059	IVMAR009-21	98	-	b ; b
6. <i>Spinolambrus exilipes</i>	Par1a	02-001061	IVMAR012-21	90	94.62	c ; c
Portunidae (1)						
7. <i>Achelous iridescens</i>	Port1a	02-001062	IVMAR013-21	-	88.23	g ; h
Pandalidae (1)						
8. <i>Heterocarpus vicarius</i>	Hv1	02-001036	IVMAR020-21	85.68	85.45	h ; i
	Hv2	02-001036	IVMAR021-21	85.68	85.45	
Stomatopoda						
Squillidae (1)						
9. <i>Squilla panamensis</i>	Sp1/Span1	02-001047	IVMAR019-21	91.81	91.67	i ; j
MOLLUSCA						
Gastropoda						
Littorinimorpha						
Naticidae (1)						
10. <i>Sinum cymba</i> *	SCy	04-001874	IVMAR018-21	88.65	100	j ; k
Personidae (1)						
11. <i>Distorsio decussata</i>	Dist1a	04-001899	IVMAR011-21	90	99.54	n ; o
Bursidae (1)						
12. <i>Crossata ventricosa</i> *	CV1	04-001873	IVMAR017-21	94.53	99.69	m ; q
	CV2	04-001873	IVMAR016-21	94.53	99.32	m ; r
	CV3	04-001873	IVMAR015-21	94.53	99.60	m ; s
	CV4	04-001873	IVMAR014-21	94.53	99.80	m ; t
Neogastropoda						
Fascioliariidae (1)						
13. <i>Goniofusus spectrum</i> *	Fus1a	04-001897	IVMAR005-21	93.57	99.00	k ; m
Pisaniidae (1)						
14. <i>Solenosteira gatesi</i>	Sol1a	04-001898	IVMAR007-21	93.27	-	o ; p
Muricidae (1)						
15. <i>Hexaplex brassica</i>	Mol1a	04-001896	IVMAR004-21	91.24	-	l ; n
ECHINODERMATA						
Echinoidea						
Arbacioida						
Arbaciidae (1)						
16. <i>Arbacia spatuligera</i> *	Arb1a	03-000500	IVMAR006-21	100	100	p ; l

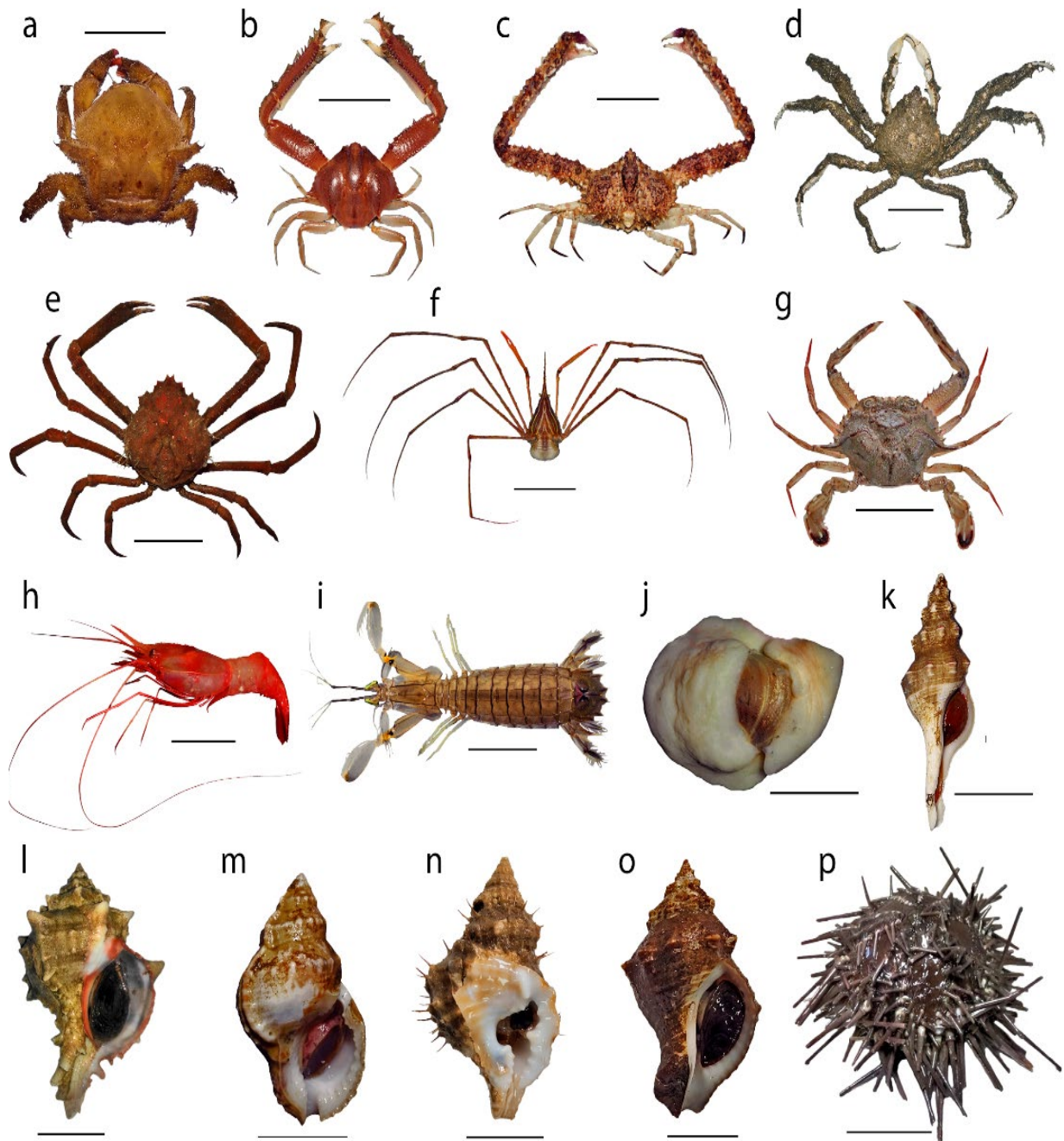


Lámina 1.- Fotografías referenciales de las especies incluidas en este estudio obtenidas en el Crucero de evaluación de la población de merluza y otros demersales (Cr. 1905-06) a bordo del BIC Olaya, otoño 2019. Especies a. *Moreiradromia sarraburei*, b. *Leiolambrus punctatissimus*, c. *Spinolambrus exilipes*, d. *Collodes tenuirostris*, e. *Stenocionops ovata*, f. *Stenorhynchus debilis*, g. *Achelous iridescens*, h. *Heterocarpus vicarius*, i. *Squilla panamensis*, j. *Sinum cymba**, k. *Goniofusus spectrum*, l. *Hexaplex brassica**, m. *Crossata ventricosa**, n. *Distorsio decussata**, o. *Solenosteira gatesi**, p. *Arbacia spatuligera*. Escalas a, b, g, n son de 2 cm; c, d, f, h, i, j, k, l, m, o, p son de 3 cm; e es de 9 cm. Las fotografías de las especies que se indican con (*) son ejemplares antes de ser preservados

Plate 1.- Reference photographs of the species included in this study, taken during the stock assessment cruise targeting *M. gayi peruanus* and other demersal species (Cr. 1905-06) aboard the R/V Olaya in autumn 2019. The species depicted are: a. *Moreiradromia sarraburei*, b. *Leiolambrus punctatissimus*, c. *Spinolambrus exilipes*, d. *Collodes tenuirostris*, e. *Stenocionops ovata*, f. *Stenorhynchus debilis*, g. *Achelous iridescens*, h. *Heterocarpus vicarius*, i. *Squilla panamensis*, j. *Sinum cymba**, k. *Goniofusus spectrum*, l. *Hexaplex brassica**, m. *Crossata ventricosa**, n. *Distorsio decussata**, o. *Solenosteira gatesi**, p. *Arbacia spatuligera*. Scales: a, b, g, n are 2 cm; c, d, f, h, i, j, k, l, m, o, p are 3 cm; e is 9 cm. The photographs marked with (*) show specimens before preservation

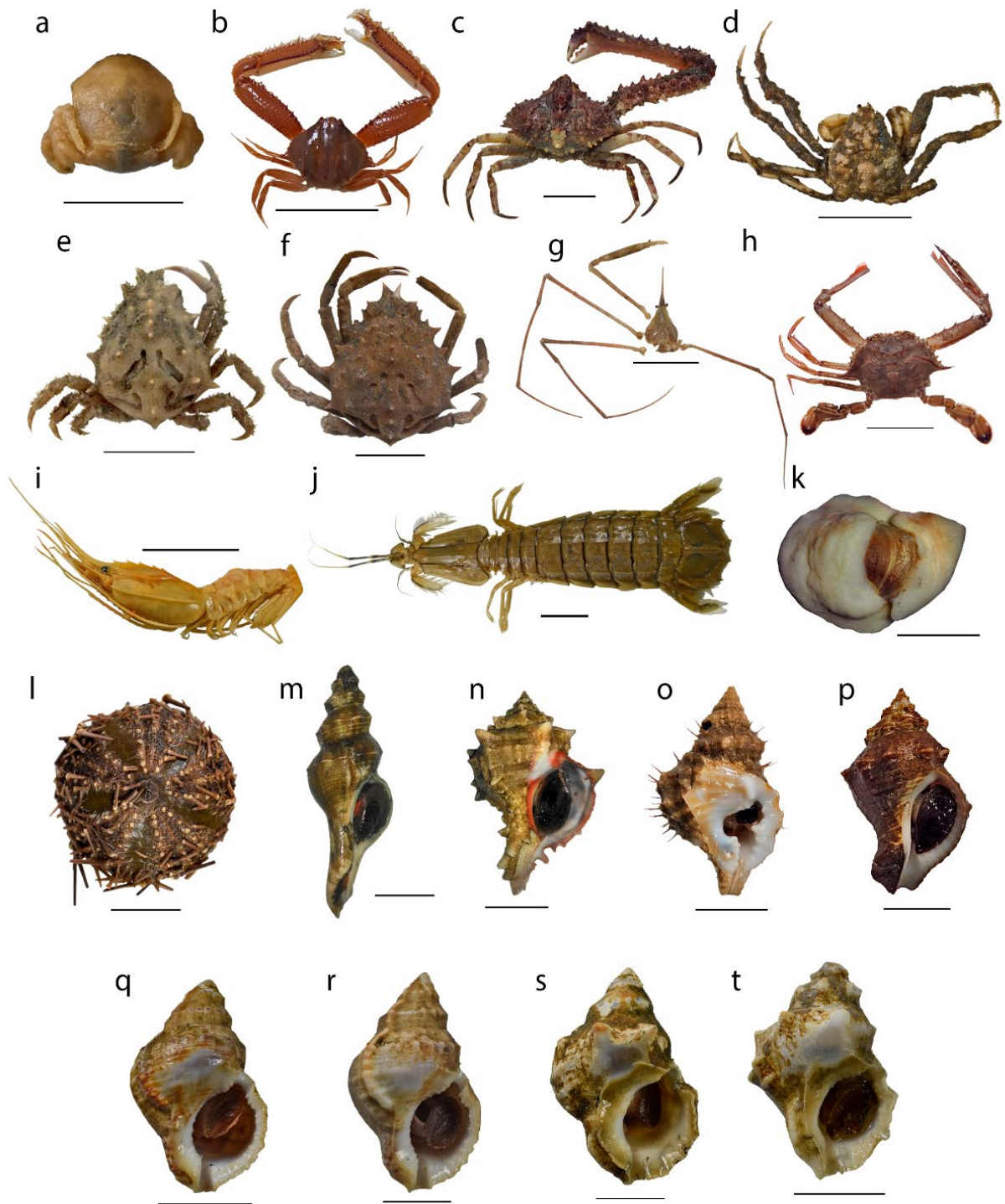


Lámina 2.- Fotografías de ejemplares analizados morfológica y genéticamente, obtenidos en el Crucero de evaluación de la población de merluza y otros demersales (Cr. 1905-06) a bordo del BIC Olaya, otoño 2019, los cuales han sido depositados en la Colección Científica del IMARPE y cuyas secuencias se han incluido en BOLD SYSTEM. Especie a. *Moreiradromia sarraburei*, b. *Leiolambrus punctatissimus*, c. *Spinolambrus exilipes*, d. *Collodes tenuirostris*, e y f. *Stenocionops ovata*, g. *Stenorhynchus debilis*, h. *Achelous iridescens*, i. *Heterocarpus vicarius*, j. *Squilla panamensis*, k. *Sinum cymba*, m. *Goniofusus spectrum*, n. *Hexaplex brassica*, q, r, s y t. *Crossata ventricosa*, o. *Distorsio decussata*, p. *Solenosteira gatesi*, l. *Arbacia spatuligera*.

Escalas a, b, c, e, j, o, r, s, t son de 2 cm; d, f, g, h, i, k, l, m, n, p, q son de 3 cm

Plate 2.- Photographs of specimens analyzed both morphologically and genetically, collected during the stock assessment cruise targeting *M. gayi* peruanus and other demersal species (Cr. 1905-06) aboard the R/V Olaya in autumn 2019. These specimens, which have been deposited in the IMARPE Scientific Collection and whose sequences are included in the BOLD SYSTEM, include the following species:

a. *Moreiradromia sarraburei*, b. *Leiolambrus punctatissimus*, c. *Spinolambrus exilipes*, d. *Collodes tenuirostris*, e and f. *Stenocionops ovata*, g. *Stenorhynchus debilis*, h. *Achelous iridescens*, i. *Heterocarpus vicarius*, j. *Squilla panamensis*, k. *Sinum cymba*, m. *Goniofusus spectrum*, n. *Hexaplex brassica*, q, r, s and t. *Crossata ventricosa*, o. *Distorsio decussata*, p. *Solenosteira gatesi*, l. *Arbacia spatuligera*. Scales: a, b, c, e, j, o, r, s, t are 2 cm; d, f, g, h, i, k, l, m, n, p, q are 3 cm

Adicionalmente, el cladograma elaborado con las 34 secuencias separó 25 diferentes MOTUs (unidades taxonómicas operacionales moleculares) (Fig. 2), las distancias genéticas entre MOTUs varió entre 8 y 44% y dentro del MOTUs entre 0 y 1% (Tabla 3).

Also, the cladogram based on the 34 sequences delineated 25 distinct MOTUs (Molecular Operational Taxonomic Units) (Fig. 2). Genetic distances between these MOTUs ranged from 8% to 44%, whereas distances within each MOTU were between 0% and 1% (Table 3).

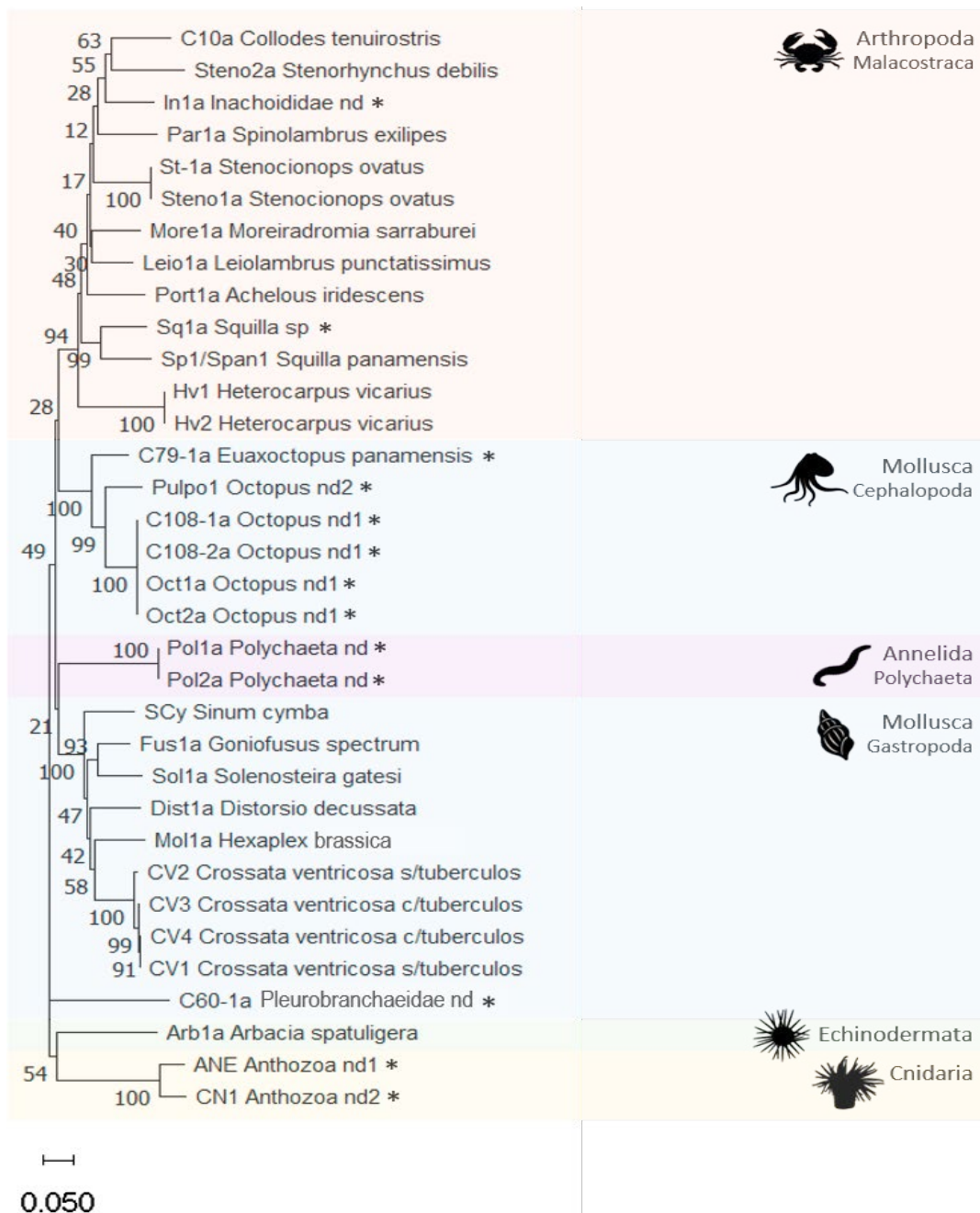


Figura 2.- Cladograma de las muestras de invertebrados colectados durante el crucero de evaluación poblacional de merluza y otros demersales (Cr. 1905-06), BIC Olaya, otoño 2019 (grupos a., b.). Se indica el phylum y la clase a la que pertenece cada muestra en el lado derecho. Los ejemplares del grupo b., que no pudieron ser identificados morfológicamente hasta el nivel de especie, se indican con un asterisco (*)

Figure 2.- Cladogram of the invertebrate samples collected during the stock assessment cruise targeting *M. gayi* peruanus and other demersal species (Cr. 1905-06) aboard the R/V Olaya in autumn 2019 (groups a and b). The phylum and class of each sample are indicated on the right. Specimens from group b, which could not be identified morphologically to the species level, are marked with an asterisk (*)

Tabla 3.- Matriz de distancias genéticas entre los 25 taxa de invertebrados bento-demersales incluidos en este estudio (grupo a. y b.). Crucero de evaluación de la población de merluza y otros demersales (Cr. 1905-06) a bordo del BIC Olaya, otoño 2019. Las distancias genéticas entre grupos se indican en negra, el error estándar de la distancia entre grupos se indica en gris y la distancia dentro del grupo se indica en azul

Table 3.-Genetic distance matrix among the 25 benthic-demersal invertebrate taxa included in this study (groups a and b) from the stock assessment cruise targeting *M. gayi peruanus* and other demersal species (Cr. 1905-06) aboard the R/V Olaya in autumn 2019. Distances between groups are indicated in bold, with the standard error of intergroup distances shown in gray, and intragroup distances presented in blue

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	
1 <i>Euxoactopus panamensis</i>	nc	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03
2 <i>Polychaeta</i> _nd	0,27	0	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
3 <i>Colletes</i> _femirostris	0,28	0,35	nc	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,03	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03
4 <i>Inachoididae</i> _nd	0,26	0,32	0,19	nc	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03
5 <i>Octopus</i> _nd1	0,13	0,30	0,28	0,28	0	0,01	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03
6 <i>Octopus</i> _nd2	0,15	0,30	0,30	0,28	0,11	nc	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03
7 <i>Pleurobranchaetidae</i> _nd	0,34	0,38	0,35	0,36	0,34	0,36	nc	0,03	0,03	0,03	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
8 <i>Stenocamptus</i> _onatus	0,28	0,29	0,22	0,20	0,29	0,29	0,36	0	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03
9 <i>Morenodromia</i> _sarruburei	0,27	0,31	0,24	0,20	0,28	0,27	0,37	0,18	nc	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03
10 <i>Hexaplex</i> _brassica	0,24	0,29	0,33	0,31	0,26	0,27	0,35	0,31	0,30	nc	0,02	0,03	0,02	0,02	0,03	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03
11 <i>Goniofusus</i> _spectrum	0,22	0,28	0,31	0,26	0,24	0,27	0,33	0,27	0,27	0,15	nc	0,03	0,01	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03
12 <i>Arbacia</i> _spatuligera	0,31	0,35	0,34	0,36	0,33	0,35	0,39	0,35	0,37	0,34	0,33	nc	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
13 <i>Solenostera</i> _gatesi	0,25	0,33	0,30	0,27	0,27	0,28	0,33	0,30	0,28	0,18	0,13	0,35	nc	0,02	0,03	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03
14 <i>Leiolambus</i> _punctatissimus	0,25	0,30	0,22	0,18	0,25	0,25	0,35	0,17	0,15	0,29	0,25	0,34	0,26	nc	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03
15 <i>Stenohynchus</i> _debilis	0,30	0,35	0,22	0,21	0,30	0,30	0,39	0,23	0,25	0,37	0,33	0,36	0,35	0,23	nc	0,03	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
16 <i>Distorsio</i> _decussata	0,24	0,31	0,28	0,30	0,25	0,26	0,36	0,30	0,30	0,18	0,16	0,33	0,19	0,27	0,31	nc	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03
17 <i>Spinolambus</i> _exilipes	0,28	0,33	0,20	0,20	0,27	0,26	0,36	0,21	0,18	0,32	0,28	0,37	0,29	0,18	0,26	0,29	nc	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03
18 <i>Acheilus</i> _iridescens	0,27	0,33	0,24	0,20	0,30	0,29	0,35	0,21	0,18	0,32	0,27	0,33	0,31	0,16	0,27	0,32	0,22	nc	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03
19 <i>Crossata</i> _ventricosa	0,24	0,29	0,31	0,28	0,25	0,27	0,34	0,29	0,29	0,16	0,16	0,32	0,18	0,26	0,36	0,16	0,30	0,30	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03
20 <i>Sinum</i> _cymba	0,25	0,28	0,32	0,30	0,26	0,28	0,33	0,27	0,26	0,17	0,15	0,32	0,18	0,24	0,33	0,19	0,29	0,27	0,17	nc	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03
21 <i>Squilla</i> _sp	0,25	0,34	0,28	0,22	0,28	0,29	0,37	0,21	0,21	0,27	0,24	0,33	0,27	0,19	0,27	0,25	0,23	0,20	0,25	0,25	nc	0,02	0,02	0,03	0,03	
22 <i>Squilla</i> _panamensis	0,27	0,32	0,26	0,22	0,28	0,29	0,39	0,23	0,22	0,27	0,29	0,32	0,30	0,19	0,29	0,28	0,25	0,23	0,27	0,27	0,16	nc	0,02	0,03	0,03	
23 <i>Heteroarcus</i> _vicarius	0,30	0,33	0,26	0,25	0,30	0,32	0,39	0,24	0,28	0,33	0,29	0,32	0,32	0,26	0,28	0,32	0,27	0,24	0,32	0,32	0,24	0,28	nc	0,03	0,03	
24 Anthozoa_nd1	0,36	0,42	0,39	0,38	0,36	0,38	0,40	0,41	0,38	0,34	0,35	0,39	0,34	0,38	0,44	0,34	0,35	0,39	0,33	0,35	0,39	0,37	0,40	nc	0,01	
25 Anthozoa_nd2	0,37	0,42	0,39	0,39	0,37	0,38	0,40	0,40	0,39	0,33	0,33	0,36	0,33	0,40	0,44	0,34	0,36	0,40	0,35	0,35	0,39	0,38	0,40	0,08	nc	

4. DISCUSIÓN

Actualmente, para el Perú, son mínimas las secuencias de invertebrados bento-demersales colectados en agua profundas que se encuentren disponibles en bases de datos públicas. Un grupo de investigación liderado por el IMARPE y la Universidad Nacional del Santa, recientemente ha realizado una investigación con enfoque integrador a muestras bento-demersales de aguas someras. A pesar que hay secuencias depositadas en el BOLD SYSTEM, no todas se encuentran con acceso disponible. Sin embargo, RODRÍGUEZ BERNALES (2021) estudiando invertebrados de aguas someras, reporta 54 especies nominales confirmadas a nivel morfológico y genético. Por la información disponible, esta investigación resulta ser el primer estudio utilizando un enfoque integrador de muestras colectadas en ambientes bento-demersales de profundidad, posiblemente por la dificultad en acceder a las muestras.

En esta investigación reportamos 25 diferentes taxa (incluyendo 16 especies) que corresponden a 34 secuencias, congregadas en diferentes grupos taxonómicos (11 artrópodos, 10 moluscos, 2 cnidarios, 1 equinodermo y 1 anélido) en donde el porcentaje de cada grupo taxonómico encontrado con respecto al total, se ajusta a lo mencionado por BOUCHET *et al.* (2023) quienes indican que los grupos conocidos más diversos del ambiente marino a nivel mundial, son los artrópodos (crustáceos) y moluscos, principales grupos biológicos incluidos en este artículo. Adicionalmente, 12 de los grupos taxonómicos aquí reportados coinciden con lo previamente encontrado por PASTOR *et al.* (2018b) en un levantamiento de información comunitaria de los invertebrados bento-demersales del norte-centro del Perú el 2015.

De la totalidad de secuencias, únicamente 10, que representaban a 6 especies, pudieron ser confirmadas utilizando un enfoque integrativo entre la morfología y la genética, para lo cual, las bases de referencias públicas fueron de gran utilidad. Por otro lado, 11 secuencias (10 especies) presentaron un porcentaje de similitud por debajo del 99% por lo que estas representan el primer registro del código de barras de ADN de la especie para la plataforma del BOLD SYSTEM. Finalmente, 13 especímenes, correspondientes a nueve grupos taxonómicos, no pudieron ser determinados a ni-

4. DISCUSSION

Very few sequences of deep-water benthic-demersal invertebrates from Peru are available in public databases. A research team led by IMARPE and the National University of Santa recently conducted an integrative study on benthic-demersal samples from shallow waters. Although some sequences are deposited in the BOLD SYSTEM, not all are publicly accessible. Nevertheless, RODRÍGUEZ BERNALES (2021) reported 54 nominal species confirmed morphologically and genetically from shallow-water invertebrates. Based on the available information, this study appears to be the first to apply an integrative approach to samples collected from deep benthic-demersal environments, likely due to the challenges in accessing such samples.

During our research, a total of 25 different taxa (including 16 species) were identified, represented by 34 sequences across various taxonomic groups: 11 arthropods, 10 mollusks, 2 cnidarians, 1 echinoderm, and 1 annelid. The proportions of each taxonomic group found align with the global diversity patterns described by BOUCHET *et al.* (2023), who highlighted arthropods (crustaceans) and mollusks as the most diverse marine groups worldwide. Additionally, 12 of the taxonomic groups reported here were consistent with those identified by PASTOR *et al.* (2018b) during a 2015 survey of benthic-demersal invertebrate communities in north-central Peru.

Of the total sequences analyzed, only 10, representing 6 species, could be confirmed using an integrative approach that combined morphological and genetic data, with public reference databases playing a crucial role in this process. On the other hand, 11 sequences, representing 10 species, showed similarity percentages below 99%, making them the first DNA barcode records for these species on the BOLD SYSTEM platform. Finally, 13 specimens from nine taxonomic groups could not be identified morphologically due to the complexity and overlap of their characteristics. Although DNA sequences were obtained, these did not match any homologous sequences with

vel morfológico, debido a la complejidad y sobreposición de los caracteres. Y a pesar que tenían una secuencia de ADN, estas no presentaban secuencias homólogas que tengan alto porcentaje de similitud (> 99%) en las bases de datos públicas que nos pudieran ayudar a determinar la especie genéticamente, por lo que estas 13 secuencias resultan ser nuevas secuencias depositadas en la plataforma del BOLD SYSTEM para estos taxa no identificados. Sin embargo, es necesario que estas muestras sean analizadas más exhaustivamente y por taxónomos especialistas en estos grupos para confirmar la especie a nivel morfológico y reportarlas como un primer registro en las plataformas.

Según RAMIREZ *et al.* (2020) el porcentaje de información genética disponible en bases de datos públicas (GENBANK y BOLD SYSTEM) de especímenes colectados en el Pacífico sur oriental es del 4,5% y dentro de este porcentaje el 1,8% representa a los invertebrados. Un valor bastante bajo si lo comparamos con otros países; asimismo, no existen secuencias de referencia de otros países que pudieran ayudarnos en la asignación taxonómica de nuestras muestras, por lo que aún hay una enorme brecha en el conocimiento de la biodiversidad de invertebrados marinos de la región.

Con respecto al análisis de distancia entre MOTUs, este varió entre 8 y 44%, valores que están en concordancia con diferentes investigadores tales como WARD *et al.* (2005) quienes al estudiar diferentes grupos taxonómicos y evaluar distancias genéticas a diferentes niveles taxonómicos como género, familias y orden, como los aquí estudiados, confirman que a mayor nivel taxonómico existe mayor distancia genética. Asimismo, la distancia dentro de los MOTUs varió entre 0 y 1,2%, valores similares a los reportados en otros estudios (WARD *et al.*, 2005; VALDEZ-MORENO *et al.*, 2019) lo que confirmaría que la agrupación taxonómica corresponde a la especie; sin embargo, en la mayoría de MOTUs no se pudo computar este valor (n/c) debido a que solo un individuo había sido colectado y para reportar un valor es necesario por lo menos dos individuos por MOTUs.

Dentro de la especie *Crossata ventricosa*, gasterópodo, se reporta dos morfotipos, uno sin tubérculos (CV1 y CV2) (Lámina 2.q, r) y otro, con tubérculos muy grandes (CV3 y CV4) (Lámina 2.s, t), ambos

high similarity (>99%) in public databases, leaving the species undetermined genetically. Consequently, these 13 sequences are new records in the BOLD SYSTEM platform for these unidentified taxa. However, additional analysis by taxonomic specialists is required to confirm their species identity morphologically and to formally document them as first records on the relevant platforms.

According to RAMIREZ *et al.* (2020), only 4.5% of genetic data available in public databases (GENBANK and BOLD SYSTEM) pertains to specimens from the southeastern Pacific, with a mere 1.8% representing invertebrates. This figure is significantly lower compared to other countries, and there are no reference sequences from other nations to aid in the taxonomic classification of our samples, underscoring a substantial knowledge gap in marine invertebrate biodiversity in the region.

In terms of the analysis of genetic distances between MOTUs, values ranged from 8% to 44%, which aligns with findings from other researchers like WARD *et al.* (2005). Their studies on various taxonomic groups and the evaluation of genetic distances at different taxonomic levels—such as genus, family, and order—corroborate that higher taxonomic levels correspond to greater genetic distances. Moreover, the genetic distance within MOTUs ranged from 0% to 1.2%, consistent with results reported in other studies (WARD *et al.*, 2005; VALDEZ-MORENO *et al.*, 2019), reinforcing that these taxonomic groupings correspond to species. However, for most MOTUs, this value could not be calculated (n/c) as only one individual was collected, and at least two individuals per MOTU are required to report a value.

In the case of the gastropod *Crossata ventricosa*, two morphotypes were identified: one without tubercles (CV1 and CV2) (Plate 2.q, r) and another with very large tubercles (CV3 and CV4) (Plate 2.s, t), both collected from the same haul at a depth of 100 m. Genetic analyses indicate that both morphotypes belong to the same MOTU (Fig. 2), with an intraspecific distance

obtenidos en el mismo lance o cala de pesca, a una profundidad de 100 m. Los análisis genéticos indican que ambos morfotipos pertenecen al mismo MOTU (Fig. 2), y que la distancia intraespecífica es de 1,2%, pero la distancia dentro de los grupos fue de 1,7% (c/tubérculos) y 0,7 (s/tubérculos) y entre grupos fue de 1,2%, indicando que hay mayor variabilidad genética dentro del grupo que presenta tubérculos. Es posible que estos grupos estén en proceso de especiación reciente como lo proponen POWELL y BERSCHAUER (2017) quienes plantearon que los especímenes con tubérculos muy grandes colectados a gran profundidad en el norte del Perú, representarían una especie no descrita, distinta a *C. ventricosa*, la cual estaría presente solo en fondos someros, por lo que un mayor número de ejemplares y más análisis necesitan ser realizados utilizando el enfoque integrativo para dilucidar esta problemática.

Por otro lado, los especímenes analizados de *Stenocionops ovatus*, crustáceo, corresponden a etapas juveniles, los cuales se ajustan a las características señaladas por GARTH (1958): tienen un caparazón más triangular, a diferencia del caparazón globoso de los adultos, además poseen menos espinas que los adultos. En el caso de nuestros ejemplares, el espécimen más pequeño (Lámina 1.e) presenta el caparazón más triangular y solo siete espinas medias, mientras que el espécimen más grande (Lámina 2.f) tiene el caparazón menos triangular y nueve espinas medias. También, es importante señalar la presencia de áreas deprimidas de forma simétrica a ambos lados de la parte posterior del dorso del caparazón, característica que el autor no registró.

Respecto de la distribución batimétrica de algunas de las especies analizadas, la máxima profundidad a la que había sido reportada el equinoideo *Arbacia spatuligera*, especie confirmada a nivel genético y morfológico (Tabla 1a), fue cercana a los 35 m en Chile (LARRAÍN PRAT, 1975), mientras que en Perú sólo había sido registrada hasta 20 m de profundidad (HOOKER *et al.*, 2005), por lo que en el presente trabajo se amplía el rango de profundidad hasta los 68 m (Tabla 2).

En el caso de *Sinum cymba*, gasterópodo confirmado a nivel morfológico y genético (Tabla 1, grupo a.) presenta registros fósiles de la era cenozoica (ca. 65 m.a.) cercanos al área de estudio, específicamente

of 1.2%. However, the genetic distance within the groups was 1.7% (with tubercles) and 0.7% (without tubercles), and the distance between the groups was 1.2%, suggesting greater genetic variability within the tuberculate group. These findings raise the possibility that these groups are undergoing recent speciation, as suggested by POWELL & BERSCHAUER (2017), who proposed that specimens with very large tubercles collected at greater depths in northern Peru might represent an undescribed species, distinct from *C. ventricosa*, which is typically found in shallow waters. Therefore, additional specimens and further analysis using an integrative approach are necessary to clarify this issue.

Regarding *Stenocionops ovatus*, a crustacean, the analyzed specimens correspond to juvenile stages, which match the characteristics described by GARTH (1958): they have a more triangular carapace, unlike the globular carapace of adults, and fewer spines. In our specimens, the smallest one (Plate 1.e) exhibits a more triangular carapace with only seven median spines, while the largest specimen (Plate 2.f) shows a less triangular carapace with nine median spines. Additionally, it is noteworthy that symmetrically depressed areas on both sides of the posterior part of the carapace were observed, a feature not previously recorded by the author.

As for the bathymetric distribution of some analyzed species, the maximum depth previously reported for the echinoid *Arbacia spatuligera*, a species confirmed both genetically and morphologically (Table 1a), was approximately 35 m in Chile (LARRAÍN PRAT, 1975), while in Peru, it had only been recorded at depths up to 20 m (HOOKER *et al.*, 2005). Our study extends the depth range to 68 m (Table 2).

In the case of *Sinum cymba*, a gastropod confirmed both morphologically and genetically (Table 1, group a.), fossil records from the Cenozoic era (ca. 65 million years ago) are found near the study area, specifically in the Galápagos Islands. In present-day Peru, this species is reported in the northern region at depths up to 100 m (MARINCOVICH, 1977), which aligns with

te en la isla Galápagos. En el Perú, en la actualidad, esta especie se reporta en el norte de nuestro país hasta 100 m de profundidad (MARINCOVICH, 1977) lo cual es concordante con la profundidad máxima registrada en este estudio (Tabla 1).

El enfoque genético aplicado en este estudio fue útil para detectar, en complemento con el enfoque morfológico, nuevos registros de secuencias depositadas en las plataformas de referencia, posibles nuevos registros de especies para nuestro país, y en algunos casos, darnos una aproximación para dilucidar la identidad taxonómica de muestras desconocidas o complejas de identificar. El principal problema que se enfrenta con el uso del código de barras en el área de estudio (Pacífico sur oriental), es que no se cuenta con suficientes secuencias de referencias en BOLD y en GENBANK para comparar (RAMIREZ *et al.*, 2020).

Como lo mencionamos al inicio de este trabajo, el estudio de especies bento-demersales de la plataforma, talud continental y de ambientes profundos, no es una tarea sencilla debido a las complicaciones de la colecta. En ese sentido, coincidimos con BOUCHET *et al.* (2023) en que es necesario superar la barrera tecnológica para poder acceder a estos espacios. Asimismo, al igual que RAMIREZ *et al.* (2020), consideramos necesario resaltar el gran contraste actual que existe entre la biodiversidad que alberga nuestro país con la escasez de taxónomos especialistas en determinados grupos taxonómicos y de personal capacitado para generar y utilizar códigos de barras moleculares; así como del poco interés de las instituciones en querer financiar trabajos taxonómicos. Como consecuencia a esta realidad, actualmente son escasos los inventarios de nuestras especies y su información en las bases de datos de ADN.

Finalmente, creemos necesario continuar con estos estudios integrativos para poder sentar las bases de la biodiversidad marina de invertebrados peruanos a nivel morfológico y genético, lo que contribuiría con la actualización de los inventarios de especies, dilucidar más su distribución espacial y de esta forma disminuir la brecha del conocimiento de la biodiversidad peruana y del Pacífico sur oriental.

the maximum depth recorded in this study (Table 1).

The genetic approach employed in this study effectively complemented morphological methods, facilitating the identification of new sequence records in reference databases, uncovering potential new species records for our country, and providing clues to the taxonomic identity of unknown or challenging samples. A significant obstacle in applying DNA barcoding in the southeastern Pacific is the insufficient number of reference sequences available in BOLD and GENBANK for comparison (RAMIREZ *et al.*, 2020).

As we noted at the outset of this work, studying benthic-demersal species from the continental shelf, slope, and deep-sea environments is a challenging endeavor due to the difficulties inherent in sample collection. In line with BOUCHET *et al.* (2023), we emphasize the importance of overcoming technological barriers to gain access to these regions. Likewise, RAMIREZ *et al.* (2020), highlight the stark contrast between Peru's rich biodiversity and the shortage of taxonomic specialists in certain groups, as well as the limited availability of trained personnel to generate and utilize molecular barcodes. Furthermore, the lack of institutional support for funding taxonomic research exacerbates this issue, leading to sparse species inventories and limited representation in DNA databases.

In summary, it is crucial to continue these integrative studies to lay the foundation for a thorough understanding of Peruvian marine invertebrate biodiversity at both the morphological and genetic levels. This effort would contribute to updating species inventories, clarifying their spatial distribution, and narrowing the knowledge gap regarding the biodiversity of Peru and the southeastern Pacific.

5. REFERENCIAS

- BICKFORD, D., LOHMAN, D. J., SODHI, N. S., NG, P. K., MEIER, R., WINKER, K., INGRAM, K. & DAS, I. (2007). Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in ecology & evolution*, 22(3), 148-155. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.11.004>
- BOUCHET, P. (2006). La magnitud de la biodiversidad marina. En C. M. Duarte (Ed.), *La exploración de la biodiversidad marina. Desafíos científicos y tecnológicos* (pp. 31-64). Fundación BBVA. https://www.fbbva.es/wp-content/uploads/2017/05/dat/DE_2006_Exploracion_biodiversidad.pdf
- BOUCHET, P., DECOCK, W., LONNEVILLE, B., VANHOORNE, B. & VANDEPITTE, L. (2023). Marine biodiversity discovery: the metrics of new species descriptions. *Frontiers in Marine Science*, 10, 929989. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.929989>
- BUCKLIN, A., STEINKE, D. & BLANCO-BERCIAL, L. (2011). DNA barcoding of marine metazoa. *Annu. Rev. Mar. Sci.*, 3, 471-508. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120308-080950>
- CLARK, H. L. (1910). The Echinoderms of Peru. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology at Harvard University*, 52(17), 321-358. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.24250>
- COSTELLO, M. J., COLL, M., DANOVARO, R., HALPIN, P., OJAVEER, H. & MILOSLAVICH, P. (2010). A Census of Marine Biodiversity Knowledge, Resources, and Future Challenges. *PLoS ONE*, 5(8), e12110. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012110>
- DANOVARO, R., CORINALDESI, C., DELL'ANNO, A. & SNELGROVE, P. V.R. (2017). The deep-sea under global change. *Current Biology*, 27(11), R461-R465. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.02.046>
- DANOVARO, R., BATISTA COMPANY, J., CORINALDESI, C., D'ONGHIA, G., GALIL, B., GAMBI, C., GOODAY, A. J., LAMPADARIOU, N., LUNA, G. M., MORIGI, C., OLU, K., POLYMENAKOU, P., RAMIREZ-LLODRA, E., SABBATINI, A., SARDÀ, F., SIBUET, M. & TSELEPIDES, A. (2010). Deep-Sea Biodiversity in the Mediterranean Sea: The Known, the Unknown, and the Unknowable. *PLoS ONE* 5(8), e11832. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011832>
- DAYRAT, B. (2005). Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85(3), 407-415. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2005.00503.x>
- ELLIOTT, W. & SAMAMÉ, M. (2001). Estructura del sistema demersal durante el crucero de otoño BIC José Olaya Balandra 0004-05. *Inf Inst Mar Perú*, (160), 79-97. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/2044>
- ELLIOTT, W., CACCHA, L. & BENITES, C. (2011). Estructura del subsistema demersal durante el verano 2004. Crucero BIC Olaya 0401-02. *Inf Inst Mar Perú*, 38(3), 321-334. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/2165>
- ESPINO, S. M. & WOSNITZA-MENDO, C. (1984). Manuales de evaluación de peces N° 1: Área Barrida. *Inf Inst Mar Perú*, (86), 1-31. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/306>
- GARTH, J. S. (1958). Brachyura of the Pacific coast of America. Oxyrhyncha. *Allan Hancock Pacific Expedition*, 21(1), 1-499. <https://digitallibrary.usc.edu/asset-management/2A3BF1O36PPGG?FR=#1&W=1366&H=651>
- GARTH, J. S. & STEPHENSON, W. (1966). Brachyura of the Pacific Coast of America Brachyrhyncha: Portunidae. *Allan Hancock Monographs in Marine Biology*, (1), 1-154. <https://decapoda.nhm.org/pdfs/27100/27100.pdf>
- GRASSLE, J. F. (1989). Species diversity in deep-sea communities. *Trends in Ecology & Evolution*, 4(1), 12-15. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(89\)90007-4](https://doi.org/10.1016/0169-5347(89)90007-4)
- GUEVARA-CARRASCO, R., CASTILLO, R. & GONZÁLES, A. (1996). Aspectos metodológicos de la evaluación directa de la merluza (*Merluccius gayi peruanus*) con el método del área barrida (Cr. BIC SNP-1, 9505-06). *Inf Inst Mar Perú*, (117), 8-15. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/464>
- HEBERT, P. D., CYWINSKA, A., BALL, S. L. & DEWAARD, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 270, 313-321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- HENDRICKX, M. E. (1995a). Camarones. En W. Fischer, F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K. E. Carpenter & V. H. Niem (Eds.), *Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-oriental. Plantas e Invertebrados* (Vol. 1, pp. 417-537). Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura.
- HENDRICKX, M. E. (1995b). Cangrejos. En W. Fischer, F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K. E. Carpenter & V. H. Niem (Eds.), *Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-oriental. Plantas e Invertebrados* (Vol. 1, pp. 565-636). Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura.
- HENDRICKX, M. E. (1995c). Estomatópodos. En W. Fischer, F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K. E. Carpenter & V. H. Niem (Eds.), *Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-oriental. Plantas e Invertebrados* (Vol. 1, pp. 355-382). Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura.
- HOOKE, Y., SOLÍS-MARÍN, F. A. & LLEELLISH, M. (2005). Equinodermos de las Islas Lobos de Afuera (Lambayeque, Perú). *Revista Peruana de Biología*, 12(1), 77-82. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v12n1/v12n1a05.pdf>
- IRIONDO, J. M. (2000). Taxonomía y conservación: dos aproximaciones a un mismo dilema. *Portugaliae Acta Biol.*, 19(1-4), 1-7. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2374362>
- IVANOVA, N. V., ZEMLAK, T. S., HANNER, R. H. & HEBERT, P. D. (2007). Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes*, 7(4), 544-548. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01748.x>
- KEEN, A. M. (1971). *Sea Shells of Tropical West America. marine mollusks from Baja California to Peru* (2° ed.). Stanford University Press.
- KENNEDY, B. R. C., CANTWELL, K., MALIK, M., KELLEY, C., POTTER, J., ELLIOTT, K., LOBECKERM E., GRAYM, L. M., SOWERS, D., WHITE, M. P., FRANCE, S. C., AUSCAVITCH, S., MAH, C., MORIWAKE, V., BINGO, S. R. D., PUTTS, M. & ROTJAN, R. D. (2019). The Unknown and the Unexplored: Insights in to the Pacific Deep-Sea Following NOAA CAPSTONE Expeditions. *Front. Mar. Sci.*, 6, 1-21. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00480>
- LARRAÍN PRAT, A. P. (1975). Los equinoideos regulares fósiles y recientes de Chile. *Gayana Zoología*, 35, 5-189. <https://biostor.org/reference/100805>

- MACE, G. M., NORRIS, K. & FITTER, A. H. (2012). Biodiversity and ecosystem services: a multilayered relationship. *Trends in ecology & evolution*, 27(1), 19-26. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.08.006>
- MARINCOVICH, L. JR. (1977). Cenozoic Naticidae (Mollusca: Gastropoda) of the northeastern Pacific. *Bulletins of American Paleontology*, 70(294), 169-494.
- MÉNDEZ, M. (1981). Clave de identificación y distribución de los langostinos y camarones (Crustacea Decapoda) del mar y ríos de la costa. *Bol Inst Mar Perú*, 5(1), 1-170. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/1028>
- MILOSLAVICH, P., KLEIN, E., DIAZ, J. M., HERNÁNDEZ, C. E., BIGATTI, G., CAMPOS, L., ARTIGAS, F., CASTILLO, J., PENCHASZADEH, P. E., NEILL, P. E., CARRANZA, A., RETANA, M. V., DIAZ DE ASTARLOA, J. M., LEWIS, M., YORIO, P., PIRIZ, M. L., RODRÍGUEZ, D., YONESHIGUE-VALENTIN, Y., GAMBOA, L. & MARTÍN, A. (2011). Marine Biodiversity in the Atlantic and Pacific Coasts of South America: Knowledge and Gaps. *PLoS ONE*, 6(1), e14631. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014631>
- MORA, C., TITTENSOR, D. P. & MYERS, R. A. (2008). The completeness of taxonomic inventories for describing the global diversity and distribution of marine fishes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1631), 149-155. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.1315>
- MOSCOLO, V. (2013). Clave para identificación de crustáceos decápodos y estomatópodos del Perú. *Bol Inst Mar Perú*, 28(1-2), 8-135. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/2194>
- NEDELÉC, C. & PRADO, J. (1990). *Definition and classification of fishing gear categories* (FAO Fisheries Technical Paper, N°. 222). FAO. <https://www.fao.org/3/t0367t/t0367t.pdf>
- OKONSKI, S. L. & MARTINI, L. W. (1987). *Artes y Métodos de pesca. Materiales didácticos para la capacitación técnica. Hemisferio Sur*.
- ORDINOLA-ZAPATA, A., SICCHA, Z., CASTILLO-CARRILLO, P. & LUQUE, C. (2019). Identificación mediante ADN barcode de peces invasores en el manglar de Tumbes (Perú). *Manglar*, 16(2), 91-97. <http://dx.doi.org/10.17268/manglar.2019.013>
- PANPROMMIN, D., SOONTORNPRASIT, K., TUNCHAROEN, S., PITHAKPOL, S. & KEEREELANG, J. (2019). DNA barcodes for the identification of species diversity in fish from Kwan Phayao, Thailand. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, 12(3), 382-389. <https://doi.org/10.1016/j.japb.2019.05.003>
- PASTOR, R., ZAVALAGA, F. & PALACIOS, J. (2018a). Caracterización de la comunidad bentodemersal que cohabita con merluza peruana (*Merluccius gayi peruanus* Ginsburg) desde la frontera norte del dominio marítimo peruano hasta Huarmey. 2014. *Inf Inst Mar Perú*, 45(1), 53-70. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/3277>
- PASTOR, R., ZAVALAGA, F. & PALACIOS, J. (2018b). Caracterización de la comunidad bentodemersal que cohabita con la merluza *Merluccius gayi peruanus* Ginsburg entre la frontera norte del dominio marítimo peruano y Huarmey. 2015. *Inf Inst Mar Perú*, 45(1), 104-121. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/3271>
- POUTIERS, J. M. (1995a). Bivalvos. En W. Fisher, F. Krupp, C. Sommer, K. E. Carpenter & V. H. Niem (Eds.), *Guía FAO para la identificación de especies para los fines de pesca Pacífico Centro-Oriental. Plantas e invertebrados*, (Vol. 1, pp. 99-222). Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura.
- POUTIERS, J. M. (1995b). Gasterópodos. En W. Fisher W., F. Krupp, C. Sommer, K. E. Carpenter & V. H. Niem (Eds.), *Guía FAO para la identificación de especies para los fines de pesca Pacífico Centro-Oriental. Vol. I. Plantas e invertebrados* (Vol. 1, pp. 223-297). Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura.
- POWELL, C. L. & BERSCHAUER, D. P. (2017). *Crossata* (Gastropoda: Bursidae) in the eastern Pacific: A morphologic and paleontologic perspective. *The Festivus*, 49(3), 179-198. https://www.thesandiegoshellclub.com/uploads/1/3/8/1/138179831/festivus_august_2017_-_pages_179_powell_and_berschauer.pdf
- PRADO, J. & DREMIERE, P. Y. (1988). *Guide pratique du marin pecheur* [Fisherman's workbook]. FAO. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00841/95320/103067.pdf>
- PROSSER, S., MARTÍNEZ-ARCE, A. & ELÍAS-GUTIÉRREZ, M. (2013). A new set of primers for COI amplification from freshwater microcrustaceans. *Molecular Ecology Resources*, 13(6), 1151-1155. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12132>
- RAMÍREZ, J. L., ROSAS-PUCHURI, U., CAÑEDO, R. M., ALFARO-SHIGUETO, J., AYON, P., ZELADA-MÁZMELA, E., SICCHA-RAMÍREZ, R. & VELEZ-SUAZO, X. (2020). DNA barcoding in the Southeast Pacific marine realm: Low coverage and geographic representation despite high diversity. *PLoS ONE*, 15(12), e0244323. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244323>
- RATHBUN, M. J. (1925). The spider crabs of America. *Bulletin of the United States National Museum*, (129), 1-613. <https://doi.org/10.5479/si.03629236.129.i>
- RATNASINGHAM, S. & HEBERT, P. D. N. (2007). BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes*, 7(3), 355-364. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x>
- RODRÍGUEZ BERNALES, K. (2021). *Identificación molecular de especies de bivalvos, cefalópodos y polioplacóforos mediante el código de barras de ADN, para la conservación de la biodiversidad del litoral peruano* [Tesis de Maestría, Universidad Nacional del Santa]. Repositorio Institucional Digital UNS. <https://hdl.handle.net/20.500.14278/3694>
- SUN, S., LI, Q., KONG, L., YU, H., ZHENG, X., YU, R., DAI, L., SUN, Y., CHEN, J., LIU, J., NI, L., FENG, Y., YU, Z., ZOU, S. & LIN, J. (2016). DNA barcoding reveal patterns of species diversity among northwestern Pacific molluscs. *Scientific Reports*, 6, 33367. <https://doi.org/10.1038/srep33367>
- TEMPLADO, J., PAULAY, G., GITTEBERGER, A. & MEYER, C. (2010). Chapter 11: Sampling the marine realm. In J. Eymann, J. Degreef, Ch. Hauser, J. C. Monje, Y. Samyan & D. VandenSpiegel (Eds.), *Manual On Field Recording Techniques and Protocols for All Taxa Biodiversity Inventories and Monitoring* (Vol. 8, pp. 273-307). ABC Taxa. https://issuu.com/ysamyn/docs/abctaxa_vol_8_part1_lr/1
- VALDEZ-MORENO, M., IVANOVA, N. V., ELÍAS-GUTIÉRREZ, M., PEDERSEN, S. L., BESSONOV, K. & HEBERT, P. D. (2019). Using eDNA to biomonitor the fish community in a tropical oligotrophic lake. *PLoS One*, 14(4), e0215505. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215505>
- WARD, R. D., ZEMLAK, T. S., INNES, B. H., LAST, P. R. & HEBERT, P. D. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society London B: Biological Sciences*, 360(1462), 1847-1857. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1716>