

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA UNIDAD IZTAPALAPA

DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA Y DETERMINACIÓN DE

IDENTIDADES GENÉTICAS DE PULPOS DE LAS COSTAS

MEXICANAS

TESIS

Que para obtener el grado de Maestro en Biología

PRESENTA:

ALEJANDRO FLORES VALLE

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. IRENE DE LOS ÁNGELES BARRIGA SOSA

ASESORES:

DR. JOSÉ LUÍS ARREDONDO FIGUEROA

DRA. MARÍA DE LOURDES JIMÉNEZ BADILLO

México, D. F.

Diciembre, 2010

La Maestría en Biología de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón de Postgrados de Calidad del CONACyT.

El alumno recibió beca CONACYT registro: 224687

durante el periodo 2008-2010

El Jurado designado por la

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis que presentó

ALEJANDRO FLORES VALLE

El día 10 de diciembre del año de 2010.

Comité Tutoral y Jurado:

Directora: Dra. Irene de los Angeles Barriga Sosa

Asesor: Dr. José Luis Arredondo Figueroa (Presidente)

Asesor: Dra. María de Lourdes Jiménez Badillo (Vocal)

Sinodal: Dra. Alejandra Serrato Díaz (Secretaria)

Sinodal: Dra. Jhoana Díaz Larrea (Vocal)

La presente investigación se realizó en:

El Laboratorio de Genética y Biología Molecular de la Planta Experimental de Producción Acuícola de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa bajo la Dirección de la Dra. Irene D. L. A. Barriga Sosa. Quien se pierde en su pasión, pierde menos que el que pierde la pasión.

Soren Kierkegaard

DEDICATORIA

A DIOS Y A MIS PADRES

PERO EN ESPECIAL RAZÓN A MI MADRE "MA. DE LOS ANGELES VALLE" POR SU INCONDICIONAL APOYO, AMOR Y CONFIANZA.

A CLAUDIA CHAVEZ POR TODO EL CARIÑO, MOTIVACIÓN Y POR COMPARTIR SU VIDA CONMIGO.

A MIS HERMANOS ELI Y JOSÉ POR APOYARME Y SER SIEMPRE UNOS EJEMPLOS DE DEDICACIÓN AL TRABAJO.

A LA MEMORIA DE MI ABUELO "TELES" QUE TODA MI VIDA LO HE ADMIRADO POR SU TENACIDAD Y ATREVIMIENTO PARA VIVIR LA VIDA.

A MIS TIOS Y PRIMOS.

AGRADECIMIENTOS

Un gran agradecimiento a mi directora la Dra. Irene De los Ángeles Barriga Sosa por darme la oportunidad y confiar en mí para desarrollar este trabajo, por su paciencia y dedicación a mi formación profesional y personal.

Al Dr. José Luis Arredondo Figueroa por su valiosa asesoría, apoyo y brindarme su amistad.

A la Dra. María de Lourdes Jiménez Badillo por su asesoría e importantes observaciones al trabajo.

A los miembros del jurado la Dra. Jhoana Díaz Larrea y a la Dra. Alejandra Serrato Díaz por sus valiosas observaciones a la tesis.

Al Dr. José Alejandro Zavala Hurtado por su apoyo como coordinador de la Maestría.

Agradezco muy especialmente a todas aquellas personas que nos hicieron favor de donar material biológico (pulpos o tentáculos) para la realización del presente trabajo (por orden alfabético): Dra. Verónica Castañeda Férnandez de Lara del SFS Center for Wetland Studies de México A.C., por donar muestras de Bahía Magdalena en Baja California Sur; Dra. María de Lourdes Jiménez Badillo del Instituto de Ciencias Marinas y Pesquerías; Dr. Miguel Rodríguez Serna del SISAL-UNAM en Mérida, Yucatán, por muestras de Yucatán y Campeche y al Sr. Juventino Salazar, por las muestras de Anton Lizardo, Veracruz y por sus valiosos comentarios.

A la M. en B.R. Claudia Garnica Rivera por las enseñanzas y apoyo en mis inicios en el laboratorio de Genética y Biología Molecular de la Pexpa

A mis amigos, compañeros y profesores Dr. Luis Manuel Guevara, Dr. Gerardo Figueroa, Rosa María García, Laura Núñez, Said Serrano, Moisés Andrade, Omar Durán, Felipe Gómez, Jiro Matsumoto, Jesús Vergara, Carlos Cruz, Hugo Torres, Hugo Hans, Lewis y Chucho.

A todas las personas que en su momento me apoyaron y alentaron a seguir en este trabajo.

INDICE

	PÁG.
LISTA DE TABLAS	10
LISTA DE FIGURAS	12
RESUMEN	16
ABSTRACT	18
1. INTRODUCCIÓN	20
2. ANTECEDENTES	22
3. JUSTIFICACIÓN	24
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	25
5. HIPÓTESIS	25
6. OBJETIVOS	
6.1 OBJETIVO GENERAL	26
6.2 PARTICULARES 7. MATERIAL Y MÉTODO	26
7.1. Colecta de especímenes y conservación de tejido	27
7.2 Análisis morfológico	29
7.3 Análisis Genético	32
7.3.1. Extracción de ADN	32
7.3.2 Reacción de amplificación vía PCR y secuenciación	32
7.3.3 Análisis de secuencias	34
7.3.4 Análisis de diversidad	34
7.3.5 Análisis filogenéticos e identidad	38

8. RESULTADOS

8.1. Análisis Morfológico y Descripción Taxonómica	
8.1.1 Familia Octopodidae Orbigny, 1840	39
Subfamilia Octopodinae Orbigny, 1940	39
Género Octopus Cuvier, 1797	39
Octopus maya Voss & Solís, 1966	39
Octopus vulgaris Cuvier, 1797	42
Octopus mercatoris Adam, 1937	45
Octopus sp.	47
Octopus mimus (Gould, 1852)	49
<i>Octopus bimaculoides</i> (Pickford & McConnaughey, 1949)	54
Octopus sp.	56
8.1.2 Subfamilia Bathypolypodinae Robson, 1928	59
Género Benthoctopus Grimpe, 1921	59
Benthoctopus januarii (Hoyle, 1885)	59
8.2. Análisis genético	
8.2.1 ADNt y amplificación vía PCR de las regiones	63
mitocondriales r16s y COIII	
8.2.2. Análisis de secuencias y diversidad genética	66
8.2.3 Distancias genéticas	70
8.2.4 Análisis de filogenia 9. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	73
9.1 Morfología, distancias genéticas y filogenia 9.2 Análisis de diversidad genética	82 87

10. LITERATURA CITADA

ANEXOS

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Lista de especímenes y regiones con el número de acceso de las secuencias de ADN que se utilizaron para inferir relaciones filogenéticas, tomados de la Base de Datos NCBI y de los trabajos Söller *et al.* 2000; Warnke *et al.* (2000, 2003).

Tabla 2. Localidades de muestreo: región, localización geográfica y especies determinadas.

Tabla 3. Caracteres morfométricos registrados, medidas e índices y descripción de cálculos para la caracterización de los organismos.

Tabla 4. Caracteres y medidas (mm) para los organismos recolectados en Veracruz e identificados como *O. mercatoris* (VALR1-VALR2); *O. vulgaris* (VALV1-VALV3, V3-1, V3-2), *Benthoctopus januarii* (VALY1-VALV2). Ver Tabla 3 para la descripción de los caracteres.

Tabla 5. Caracteres y medidas (mm) para los organismos recolectados en Guerrero (Gro1, 2-10) y Oaxaca (HO = Huatulco, Oax; PA = Puerto Angel, Oax.) e identificados como *Octopus mimus*.

Tabla 6. Caracteres y medidas (mm) de los organismos recolectados en Bahía de Magdalena Baja California Sur.

Tabla 7. Total de secuencias obtenidas para las regiones mitocondriales r16s y Citocromo Oxidasa III en los organismos analizados del presente trabajo.

Tabla 8. Composición nucleotídica de la región r 16S para siete especies de *Octopus.*

Tabla 9. Composición nucleotídica de la secuencias del gen COIII para siete especies de *Octopus* y *Benthoctopus januarii.*

Tabla 10. Polimorfismo en secuencias de r16S: sitios segregados (S), número de haplotipos (H), diversidad haplotípica (*h*) y diversidad nucleotídica (π) en 410 pb.

Tabla 11. Polimorfismo en secuencias de COIII: sitios segregados (S), Número de haplotipos (H), diversidad haplotípica (*h*) y diversidad nucleotídica (π) en 507 pb.

Tabla 12. Valores de las medias (m) e intervalos (r) de las distancias genéticas obtenidas a partir de TN93 para las regiones mitocondriales analizadas.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localidades de muestreo para el estudio: Puerto Sisal, Yucatán; Isla Arenas y Ciudad del Carmen, Campeche; Anton Lizardo, Veracruz; Puerto Ángel y Santa Cruz Huatulco, Oaxaca; Barra de Potosí, Guerrero; Bahía Magdalena, Baja California Sur.

Figura 2. Octopus maya. Vista lateral de especímenes de Puerto Sisal, Yucatán.

Figura 3. *Octopus vulgaris.* A - vista general lateral; B - vista del manto; C - branquia; D - extremo del brazo hectocotilizado (lígula).

Figura 4. Apariencia del ejemplar de Antón Lizardo, Veracruz, identificado como *Octopus mercatoris.* A – vista general lateral; B – vista lateral con acercamiento al manto y porción anterior de los brazos.

Figura 5. Ejemplares de la Costa Grande de Guerrero, identificados como *Octopus mimus*. A - Apariencia general; B - extremo del brazo hectocotilizado; C - vista del manto.

Figura 6. Ejemplares de Bahía de Magdalena, Baja California Sur, identificados como *Octopus bimaculoides*. A – B vistas de la apariencia general y del manto; C - extremo del brazo hectocotilizado; D – se muestra el ocelo; E – huevos.

Figura 7. Organismos BCSLC3 y BCSLC4 de la localidad La Curva, Bahía Magdalena, Baja California Sur. A - vista frontal de un macho; B - vista frontal de una hembra; C - tercer brazo hectocotilizado del macho; D - vista posterior de la hembra con huevos dentro del manto; E - ventosas; F - huevo de la hembra.

Figura 8. Especímenes de Anton Lizardo, Veracruz, identificados como *Benthoctopus januarii*. A - apariencia general vista lateral; B - vista lateral del manto;
C - extremo del brazo hectocotilizado y lígula.

Figura 9. ADN_t extraídos con el estuche comercial Promega® y corridos por electroforesis en geles de agarosa al 1.5%. A) muestras de especímenes de Veracruz (muestras A-R); B) muestras de Yucatán. Ladder = genoma del fago lambda (λ) de 23 Kb en la banda superior.

Figura 10. Electroforesis de los productos purificados para A) COIII, organismos VerB, VerC y VN1 de Veracruz, así como los organismos YN1 y Y-2 de Yucatán y La Viga; B) organismos VB y VC de Veracruz; Yuc de Yucatán; PA1 de Puerto Ángel,

Oaxaca y La Viga (adquirido en la Cd. de México). Ladder = marcador de peso molecular, banda superior de 1500 pb, la banda más intensa intermedia de 500 pb y la banda que migra más es de 100 pb.

Figura 11. Variación detectada en las distancias genéticas TN93 para las secuencias de los genes r16S (arriba izquierda), COIII (arriba derecha) y r16S+COIII (abajo izquierda), entre los grupos comparados (ver reseña de grupos en texto). La línea horizontal indica la media, el rectángulo indica los cuartiles y los bigotes indican los valores máximo y mínimo del intervalo de valores.

Figura 12. Topología de árbol consenso Neighbor-Joining (Bootstrap 2000 réplicas) para r16S. La barra de escala indica la distancia según TN93, en cada rama se indica el valor de Boostrap. Las secuencias de otras localidades fueron tomadas de la Base de Datos NCBI.

Figura 13. Topología generada mediante inferencia Bayesiana para r16S. Los valores de soporte de cada rama son de probabilidad posterior Bayesiana. Las secuencias de otras localidades fueron tomadas de la Base de Datos NCBI.

Figura 14. Topología generada con NJ para las secuencias de COIII. La barra de escala indica una distancia según TN93, en cada rama se indica el valor de

Bootstrap. Las secuencias de otras localidades fueron tomadas de la Base de Datos NCBI.

Figura 15. Topología generada mediante inferencia Bayesiana con secuencias de COIII. Los valores de soporte de cada rama son de probabilidad posterior Bayesiana. Las secuencias con los números de acceso fueron tomadas de la base de datos NCBI.

Figura 16. Topología generada con NJ y las secuencias conjuntas de COIII y r16s. La barra de escala indica una distancia según TN93, en cada rama se indica el valor de Bootstrap. Las secuencias de otras localidades fueron tomadas de la Base de Datos NCBI.

Figura 17. Topología generada mediante inferencia Bayesiana con el alineamiento de las secuencias conjuntas de COIII y r16S. Las secuencias con los números de acceso fueron tomadas de la Base de Datos del NCBI.

RESUMEN

El conocimiento sobre el acervo genético de la biodiversidad permite el adecuado manejo y explotación de recursos naturales, por lo que la presencia de bases de datos genéticos ayuda a identificar y/o determinar el estado que guardan las poblaciones naturales. En el presente trabajo se analizaron a miembros del género Octopus regiones del Golfo de México y del Océano Pacífico a partir de 44 caracteres morfológicos, así como de las secuencias de las regiones del ADN mitocondrial, COIII y la subunidad r16S, con el objetivo de efectuar la descripción y determinación de identidades genéticas/especies por medio de análisis filogenéticos, así como determinar la diversidad genética de las especies identificadas para el Golfo de México, por representar estas la mayor pesquería de pulpos en el país. El material biológico analizado, permitió detectar morfotipos e identidades genéticas, correspondientes a cinco especies para la zona muestreada en el Golfo de México, e incluidas en dos géneros, Octopus y Benthoctopus. Para el género Octopus se encontraron cuatro entidades taxonómicas: O. maya, O. vulgaris, O. mercatoris y una Octopus sp. no identificada, pero que geneticamente se agrupa dentro del clado en donde se encontraron los O. maya (con COIII). La especie descrita para el género Benthoctopus es B. januarii. Por otro lado, para el Océano Pacífico, se reconocieron a tres entidades taxonómicas: O. bimaculoides, O. mimus y una tercera especie que no se pudo identificar morfológicamente, pero que genéticamente se ubica como el taxón más externo a los octópodos analizados (Octopus sp., de Bahía Magdalena, BCS), presentando los valores de distancias genéticas más altos (> 12), y los cuales son similares a los resueltos para el grupo externo, lo cual nos permite sugerir que estos ejemplares podrían pertenecer a otro género de la familia Octopodidae, diferente al género *Octopus*.

Adicionalmente, en el presente trabajo se propone una ampliación en la distribución *O. mimus* hasta las Costas de Guerrero en México y posiblemente un poco más hacia el norte.

ABSTRACT

Knowledge on the genetic reservoir of the biodiversity allows the adequate management and exploitation of the natural resources, thus the availability of genetic data base is an important aid for the identification and/or determination of the status of natural populations. The present study presents the analyses of members of the genus Octopus from several regions of the Gulf of Mexico and the eastern Pacific Ocean by means of 44 morphological characters and sequences of the mitochondrial regions, COIII and r16S, with the aim to describe their morphology and determine the genetic identity by means of a phylogenetic analysis and to determine the genetic diversity of the species identified for the Gulf of Mexico, since they represent the most important fishery in the region. The reviewed material allowed the determination of morphotypes and genetic identities that corresponded to five species for the sampled region in the Gulf of Mexico, included in two genera, Octopus and Benthoctopus. For Octopus, four taxonomic identities were found: O. maya, O. vulgaris, O. mercatoris and a non-identified Octopus sp., but that genetically was positioned within the O. maya clade (with COIII). For Benthoctopus, the species B. januarii was tentatively identified. For the Pacific Ocean, in the other hand, three taxonomic identities were determined: O. bimaculoides, O. mimus and a third species that was not morphologically determined, but that genetically was positioned as the most distant taxon from all the octopods analyzed (Octopus sp., de Bahía Magdalena, BCS), showing the highest genetic distance values (> 12), and similar to

those resolved for the external group, such results allows to suggest that those specimens might in fact belong to a different genus within the family Octopodidae.

Additionally, here we proposed to strength the actual distribution of *O. mimus* up to the coasts of Guerrero in México and most probably higher up to the north.

1. INTRODUCCIÓN

En los Cefalópodos, el género *Octopus* Cuvier 1797 comprende más 150 especies nombradas (Sweeney & Roper, 1998), las cuales están distribuidas globalmente excepto en el Ártico y Antártico (Nesis 1987). La taxonomía y sistemática del grupo es confusa (Nesis 1998; Norman & Sweeney, 1997). Se ha cuestionado si el género *Octopus* es monofilético (Carlini *et al.* 2001; Norman & Sweeney, 1997; Voight 1993) pero esta hipótesis no se ha comprobado directamente.

En México se han reportado varias especies de octópodos bentónicos de aguas someras, principalmente como recurso pesquero (Voss & Toll, 1998; Sanchez 2003). En el Golfo de México las especies más frecuentes son *Octopus maya* (Voss & Solís, 1966) y *Octopus vulgaris* Cuvier 1797 (Solís-Ramírez 1994).

Los pulpos *O. maya* y *O. vulgaris* constituyen el primer recurso pesquero en términos económicos y el segundo en volúmenes de captura del estado de Yucatán, México, situándose entre las pesquerías de octópodos con mayor potencial mundial (Solís-Ramírez 1994), Además, se ha reportado la presencia ocasional de otras especies como lo son: *O. hummelencki* Adam 1936, *O. joubini* Robson 1929, *O. macropus* Risso 1826, *O. burryi* Voss 1950 (Nesis, 1998; Roper *et al.* 1984) y *O. mercatoris* Adam 1937.

El pulpo rojo *O. maya* es una especie endémica que habita principalmente en la plataforma continental de la Península de Yucatán (Voss & Solís, 1966; Solís-Ramírez & Chávez, 1986; Solís-Ramírez 1998; Pérez-Lozada *et al.* 2002), constituyendo a una sola población; dicha afirmación se basa en la inexistencia de

barreras físicas y/o biológicas que puedan impedir el intercambio genético de individuos en la zona.

La descripción de *O. vulgaris*, es imprecisa y los detalles de su distribución no están completamente definidos en la actualidad (Roper *et al.* 1984). Por lo tanto se puede mencionar que el pulpo dominante de las costas del Golfo de México es *O. maya*.

En el Océano Pacífico la captura de pulpo es menor, aunque esta representa una actividad importante en la pesca regional. En estas regiones se han reportado con una amplia distribución sobre el litoral a *Octopus hubbsorum* Berry 1953 (López-Uriarte *et al.* 2005) y a *O. chierchiae* Jatta 1889, así mismo se ha reportado la presencia de *O. digueti* Rochebrune 1894, *O. penicillifer* Berry 1954 y *O. rubescens* Berry 1953 (Sánchez 2003).

En México se han realizado trabajos con cefalópodos octópodos sobre aspectos biológicos como taxonomía, biodiversidad, reproducción y genética (Voss & Solís, 1966; Jiménez-Badillo *et al.* 2008). Sin embargo solo se tiene referencias de un trabajo de relaciones filogenéticas utilizando aloenzimas (Pérez-Lozada *et al.* 2002). Mientras que con secuencias de ADN, no se tienen trabajos que ayuden a resolver con mayor claridad las relaciones filogenéticas entre las especies mexicanas y con otras especies para dar paso a discusiones ecológicas y evolutivas.

2. ANTECEDENTES

Con respecto a estudios filogenéticos de miembros del género Octopus debemos mencionar el de Barriga-Sosa et al. (1995), en donde los autores establecen las relaciones de cinco especies de pulpos del Pacífico Norte en las costas de Columbia Británica en Canadá y del Sur de California EUA (O. bimaculoides Pickford & McConnaughey, 1949; O. bimaculatus Pickford & McConnaughey, 1949; O. dofleini Verril, 1883; O. rubescens y O. californicus Berry 1911), utilizando secuencias de la subunidad III del gen mitocondrial citocromo oxidasa (COIII) (Tabla 1). Otros trabajos realizado son los de Söller et al. 2000, Warnke et al. 2002 y 2003 en donde realizan análisis filogenéticos con secuencias de ADN, para las especies O. vulgaris de las costas del Mediterráneo; en el sur del Océano Atlántico, en las costas de Sudáfrica, Senegal, Venezuela, Norte de Brasil, Costa Rica; en el Océano Pacífico en las costas de Taiwán y con O. mimus (Gould 1852), en el Norte de Chile y Costa Rica en el Océano Pacífico (Tabla 1). En estos trabajos se reporta que O. vulgaris, presenta una distribución panmíctica, principalmente en el Océano Atlántico y algunas regiones del Pacífico. Sin embargo, aún no son claras las relaciones filogenéticas y taxonómicas en este grupo y particularmente en México. Dentro de los trabajos de caracterización genética que se tienen registrados con pulpos, donde incluye una especie de México es el de Pérez-Lozada et al. (2002), en este trabajo se propone la separación taxonómica de Octopus mimus (Perú) y O. maya (México) de O. vulgaris (España) soportado en el estudio de divergencia de aloenzimas.

Tabla 1. Lista de especímenes y regiones con el número de acceso de las secuencias de ADN que se utilizaron para inferir relaciones filogenéticas, tomados de la Base de Datos NCBI y de los trabajos Söller *et al.* 2000; Warnke *et al.* (2000 y 2003).

			<u> </u>
		No. de	No. de
_ .		acceso	acceso
Especie	Region de muestreo	mt16S	mt COIII
Octopus rubescens	EUA, Océano Pacífico		X83101
Octopus bimaculoides	EUA, Océano Pacífico		X83104
Octopus bimaculatus	EUA, Océano Pacífico		X83100
Octopus bimaculoides	Santa Bárbara California EUA, Océano Pacífico	AJ390321	AJ250482
Octopus californicus	Ellwood, Costa de Santa Bárbara, California EUA Océano Pacífico	AJ390322	AJ250483
Octopus vulgaris	Banyuls, Francia, Mar Mediterráneo	AJ390310	AJ012121
Octopus vulgaris	Lazarote, Océano Atlántico	AJ390311	AJ250476
Octopus vulaaris	Petite Cote, Senegal. Océano Atlántico	AJ390311	AJ250476
Octopus vulgaris	False Bay, Sudáfrica, Océano Atlántico	AJ390312	AJ250487
Octopus vulgaris	Tristan da Cunha, Océano Atlántico	AJ390313	AJ250477
Octopus vulgaris	Sur de Brasil, Océano Atlántico	AJ390314	
Octopus vulgaris	Recife, Norte de Brasil, Océano Atlántico	AJ390315	AJ012123
Octopus vulgaris	Isla de Margarita, Venezuela, Mar Caribe	AJ390316	AJ250478
Octopus vulgaris	Noroeste de Taiwán, Océano Pacífico	AJ390317	AJ250479
Octopus mimus	Iquique, Norte de Chile, Océano Pacífico	AJ390318	AJ012128
Octopus mimus	Isla de Cocos, Costa Rica, Océano Atlántico	AJ390319	AJ250480
Octopus vulgaris	Isla Seto, Japón, Océano Pacífico	AJ616307	AJ616311
Octopus insularis	Rio Grande Norte de Brasil, Océano Atlántico	EF093793	
Octopus vulgaris	Costa Rica, Mar Caribe, haplotipo 1		AJ012126
Octopus vulgaris	Costa Rica, Mar Caribe, haplotipo 2		AJ012127
Octopus vulgaris	Norte de Brasil, Océano Atlántico		AJ012124
Octopus vulgaris	Rio de Janeiro, Brasil, Océano Atlántico		AJ616312
Octopus vulgaris	Sur de Brasil, Océano Atlántico		AJ012122
Octopus aculatus	Australia, Océano Pacífico		AJ628213
Octopus bunurong	Australia, Océano Pacífico		AJ638219
Opisthoteuthis sp.	Sudáfrica	AJ414702	
Scaergus unicirrhus	Banyuls, Francia, Mar Mediterráneo	AJ390324	AJ012129

3. JUSTIFICACIÓN

En el presente trabajo se realizó un análisis de miembros del género *Octopus* de varias regiones del Golfo de México y del Océano Pacífico a partir de caracteres morfométricos, así como de secuencias de los genes del ADN mitocondrial, COIII y la subunidad r16S, con el objetivo de definir la identidad de las especies mexicanas. Además se determinó la diversidad genética de las especies identificadas para el Golfo de México, por representar la mayor pesquería de pulpos en el país, contribuyendo así con el conocimiento del acervo genético de la biodiversidad de moluscos cefalópodos de México.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

Dado que es probado que estudios genéticos han permitido delimitar la identificación de unidades biológicas independientes a través de las herramientas de la genética de poblaciones y filogenia, en el presente trabajo se plantean las siguientes interrogantes ¿los organismos/pulpos recolectados a lo largo de las costas del Sur del Golfo de México, a partir de la pesca ribereña pertenecen a la misma unidad genética o existen diferentes entidades independientes? ¿A cuántas unidades genéticas pertenecen los pulpos de las costas ribereñas del Pacífico Mexicano?

5. HIPÓTESIS

Si los marcadores moleculares mitocondriales r16S y COIII han permitido elucidar las relaciones filogenéticas de cefalópodos de aguas ribereñas costeras y oceánicas, *entonces* se esperaría que dichos marcadores permitirán resolver la identidad genética de los pulpos del Golfo de México y de las costas del Pacífico Mexicano, así como sus relaciones.

Si los pulpos analizados en el presente estudio pertenecen a dos o más unidades genéticas independientes, *entonces* esto se reflejará en su diversidad.

6. OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO GENERAL

Inferir las relaciones filogenéticas y la diversidad genética de algunos moluscos cefalópodos en las costas mexicanas por medio de la utilización de marcadores mitocondriales y el análisis de sus caracteres morfológicos.

6.2 PARTICULARES

1) Describir morfológicamente a los organismos recolectados e identificar a las especies en base a catálogos, descripciones taxonómicas y colecciones existentes.

 2) Determinar la identidad genética de los pulpos recolectados a partir de secuencias de fragmentos del gen Citocromo oxidasa subunidad III y de la subunidad ribosomal del ADN mitocondrial r16S.

3) Determinar la diversidad y distancias genéticas intra-específicas de las especies a partir de secuencias de fragmentos del gen Citocromo oxidasa subunidad III y de la subunidad ribosomal del ADN mitocondrial r16S.

4) Inferir lar relaciones filogenéticas entre las especies determinadas.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1. Recolecta de especímenes y conservación de tejido. El tamaño de muestra por especie y localidad fue variable, dependiendo de la disposición de recursos en la zona de recolecta. Se definió un tamaño máximo de 10 individuos por localidad con la finalidad de: a) determinar la variabilidad de los caracteres morfológicos diagnósticos; y b) determinar la diversidad genética intra-específica. Las colectas ser realizaron mediante técnicas de buceo autónomo y/o con la colaboración de pescadores de la región en las cooperativas pesqueras regionales (Figura 1, Tabla 2).



Figura 1. Localidades de muestreo para el estudio: Puerto Sisal, Yucatán; Isla Arenas y Ciudad del Carmen, Campeche; Antón Lizardo, Veracruz; Puerto Ángel y Santa Cruz Huatulco, Oaxaca; Barra de Potosí, Guerrero; Bahía Magdalena, Baja California Sur.

Tabla 2. Localidades de muestreo: región, localización geográfica y especies determinadas.

Procedencia de la muestra	Coordenadas ge	eográficas	Especies
	Latitud L	ongitud	identificadas
Golfo de México			
Antón Lizardo, Veracruz	19º 01' 44" N	95° 58'23" O	Octopus vulgaris
(n = 17)			Octopus mercatoris
			Benthoctopus januarii
			Octopus sp.
Puerto Sisal, Yucatán (n = 5)	21° 04' 03" N	90° 20' 30" O	Octopus maya
Isla Arena, Campeche (n = 6)	20º 37' 16.12"I	N 90° 27' 10.59"O	O. maya
Ciudad. del Carmen, Campeche	18°41'52.01"N	91°49'55.29"O	O. maya
(n = 4)			
Océano Pacífico			
Barra de Potosí, Guerrero (n = 1)	17º 38' 54.66"I	N 101º 29' 10.2"O	Octopus mimus
Costa Grande, Guerrero (n = 6)			
Puerto Ángel, Oaxaca (n = 1)	15° 37.104′ N	96° 28.016"O	O. mimus
Bahías de Huatulco, Oaxaca	15º 43' 053"N	96° 42' 012"O	O. mimus
(n = 1)			
Bahía Magdalena, BCS. (n = 2)	24° 59' 52" N	112° 42' 010"O	Octopus bimaculoides
La Curva, Bahía Magdalena, BCS	24°48′29.61"N	l 112° 06′8.4"O	Octopus sp.
(n = 4)			

Se obtuvieron ejemplares completos y fragmentos de tejido de aproximadamente 2 cm ó 250 mg. Se fijaron y almacenaron de forma individual en etanol al 70%. Algunos organismos se congelaron a -20°C para ser trasladados en hieleras hasta el lugar de procesamiento. Se asignó un etiquetado y/o clave del ejemplar con el número del individuo y región de colecta.

El trabajo de laboratorio se realizó en el Laboratorio de Genética y Biología Molecular de la Planta Experimental de Producción Acuícola de la UAM Unidad Iztapalapa.

7.2 Análisis morfológico. Antes de fijar a los organismos en etanol (EtOH) al 70%, se tomaron fotografías de los especímenes para observar su coloración en fresco. Posteriormente, ya fijados, se registraron las medidas de los caracteres morfométricos para determinar los índices y fórmulas definidas por Roper y Voss (1983), Toll (1981) y Robson (1929) para la identificación de cefalópodos octópodos. Las medidas se registraron en los organismos fijados, debido a que se presentan algunas variaciones con respecto al animal fresco en relación a los fijados (Voight 1993 y 1997), así como para tener homología con los trabajos de los cuales se tiene referencia.

La lista completa de caracteres, mediciones e índices registrados así como su cálculo se muestran en la Tabla 3. La imagen donde se ilustran las mediciones en pulpos se encuentra en el Anexo 1.

Tabla 3. Caracteres morfométricos registrados, medidas e índices y descripción de

cálculos	para	la	caracterización	de	los	organismos.
						0

Abreviatura	Descripción
Loc	Localidad
Cve	Clave
S	Sexo
HL	Longitud de la cabeza
AFL	Fórmula de los brazos izquierdos
AFR	Fórmula de los brazos derechos
ASC 3er	Número de ventosas por brazo (designado/tercero)
ASCmin-max	Número de ventosas por brazo (Mínimo - Máximo)
AWI	Índice de ancho del brazo (Ancho de brazo parte oscura/ML x 100)
CaLl	Índice de la longitud del cálamo (Longitud del cálamo/LL x 100)
FLI	Índice de la longitud del sifón (Longitud del sifón/ML x 100)
Gilc	Número de láminas branquiales
HWI	Índice del ancho de la cabeza (Ancho de la cabeza/ ML x 100)
LL	Longitud de la lígula
PL	Proporción de la longitud de la lígula con respecto al brazo hectocotilizado
LLI	Índice de la longitud de la lígula (Longitud de la lígula /HL x 100)
ML	Longitud de manto en la parte del dorso
MWI	Índice del ancho del manto (Ancho del manto / ML x 100)
	Índice de la longitud de brazo opuesto (Longitud del brazo hectocotilizado/longitud del
OAI	tercer brazo normal x 100)
PAI	Índice de la apertura paleal (Apertura paleal/ML x 100)
ALI	Índice de la longitud del brazo (Longitud del brazo designado/TL x 100)
MAI	Índice de los brazos con respecto al manto (ML/longitud del brazo más largo x 100)
	Índice del diámetro de las ventosas agrandadas (Diámetro de la ventosa agrandada /
SDel	ML x 100)
	Índice del diámetro de las ventosas normales más grandes (Diámetro de la ventosa
SDnl	normal más grande/ML x 100)
TL	Longitud total
	Índice de la profundidad de la umbrela (Membrana más profunda/brazo más largo x
WDI	100)
WF	Fórmula de la umbrela
WT	Peso total del organismo fijado (gr)
Poc	Presencia de ocelos
lzq 1	Longitud brazo Izquierdo 1
Izq 2	Longitud brazo Izquierdo 2
Izq 3	Longitud brazo Izquierdo 3
Izq 4	Longitud brazo Izquierdo 4
Der 1	Longitud brazo derecho 1
Der 2	Longitud brazo derecho 2
Der 3	Longitud brazo derecho 3
Der 4	Longitud brazo derecho 4
A	Umbrela A
В	Umbrela B
C	
ט	
NV	Numero de ventosas brazo 1D

7.3 Análisis genético.

7.3.1. Extracción de ADN. Debido a la presencia de altas concentraciones de proteínas de alto peso molecular y a la rápida degradación de la proteína reportada en moluscos, en el presente trabajo se probaron diferentes métodos de extracción de ADN total (ADNt) a partir de estuches comerciales (QIAGEN® y Promega®) y el método de extracción con sales propuesto por Alijanabi y Martínez (1997).

7.3.2 Reacción de amplificación vía PCR y secuenciación. Las reacciones de amplificación se efectuaron utilizando los protocolos de los estuches comerciales de la Marca QIAGEN®, utilizando para el gen COIII los cebadores descritos por Barriga-Sosa *et al.* (1995), COIII₈₆₃ (5'-CAT TTA GTT GAT CCT AGG CCT TGA CC-3') y COIII₃₉₀ (5'-CAT ACT ACG TCT ACA AAA TGT CAG TAT C-3'). Para la subunidad r16S, se utilizaron los cebadores universales de Palumbi (1996) 16Sar (5'-CGT CTG TTT ATC AAA AAC AT-3') y 16Sbr 5'-CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T 3'). Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen final de 25 μL, consistiendo de 1.0 μL de MgCl₂, 0.5 μL de cada uno de los cebadores, 0.5 μL de dNTP's, 2.5 μL Buffer 2.5X, 0.125 μL de *Taq* polimerasa, 3 a 4 μL de ADN templado y se completaron los 25 μL con agua bidestilada (ddH₂O). Las reacciones térmicas se llevaron a cabo en un termociclador de la marca Mycycler (Bio-Rad®), con un programa de amplificación descrito para el COIII por un paso inicial para la desnaturalización de 94°C por 45", alineamiento a 37°C por 45" y finalmente una extensión a 72 °C por 1' por 30 ciclos o repeticiones. Mientras que para la región r16S el programa se constituyó de los siguientes pasos: desnaturalización a 94°C por 45", anillamiento a 50°C por 1' y extensión 72°C por 1'30" por 25 ciclos.

Los fragmentos amplificados y sus tamaños se confirmaron mediante electroforesis en geles de agarosa (al 1% según tamaño del gel), digitalizándose posteriormente con un foto-documentador marca SYNGENE® (Multi Genius) controlado por el software GeneSnap de SynGene® para la captura de imágenes.

Los fragmentos amplificados de cada región mitocondrial se purificaron mediante el juego de reactivos de Wizard® SV Genomic DNA, para continuar con las reacciones de secuenciación. Para realizar las reacciones de secuenciación se utilizó el estuche comercial BigDye Terminador v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems), y para el programa de secuenciación se emplearon las mismas temperaturas de anillamiento utilizadas para la amplificación pero con las siguientes modificaciones: temperatura inicial para desnaturalización de 96°C por 1', seguido de una segunda etapa de desnaturalización de 96°C por 10", seguida del anillamiento a la temperatura específica de amplificación por 5" y una extensión de 60°C por 4', esta segunda etapa constó de 25 ciclos.

Los productos secuenciados se purificaron utilizando columnas Centri-Sep Spin con poro de membrana >16 pares de bases y usando columnas de Sephadex® G-50 grado biología molecular (ADN). La secuenciación automática de los purificados se llevó a cabo en el Laboratorio Divisional de Biología Molecular (LDBM) de la UAM-

Iztapalapa donde fueron procesadas directamente por medio del secuenciador automático ABI PRISM ^{MR} Modelo 3100 Avant.

7.3.3 *Análisis de secuencias.* Las secuencias obtenidas se procesaron con las paqueterías Chromas Lite 2.0 (Technelysium 1998) y BioEdit Sequence Aligment Editor 7.0 (Hall 1999) para su lectura y edición. Una vez compiladas las secuencias en ambos sentidos (Forward y Reverse) y para cada uno de los organismos, se verificaron a partir de un análisis de BLASTN (Basic Local Alignment Search Tool, por sus siglas en inglés) (Altschul et al.,1990) en el banco de datos National Center for Biotechnology Information (NCBI GenBank). Las secuencias verificadas se alinearon a partir de un análisis de Clustal W implementado en el programa BioEdit Sequence Aligment Editor 7.0. (Thompson 1994).

Las secuencias del gen COIII fueron traducidas a aminoácidos utilizando el código genético mitocondrial de *Drosophila*. La neutralidad de las secuencias se analizaron a partir de la prueba de Tajima *D* (1989) y el método de Fu y Li (1993), en DnaSP ver 4.10 (Rozas y Rozas 1999).

7.3.4 Análisis de diversidad. Los parámetros de diversidad genética estimados en el presente trabajo fuero: el número de sitios segregativos (S); el índice de diversidad haplotípica de Nei (*h*) (Nei, 1972) y la diversidad nucleotídica, π de Nei (1978). Un sitio segregado es un sitio en donde las secuencias difieren, la
diversidad haplotípica o de Nei (*h*) es la probabilidad de que dos haplotipos tomados al azar sean diferentes y la diversidad nucleotídica (π) es la probabilidad de que dos nucleótidos con homología de posición tomados al azar sean diferentes. A continuación se presentan los índices de diversidad haplotípica y nucleotídica.

$$h = \left(\frac{n}{n-1}\right) \left(1 - \sum_{i=1}^{k} p_i^2\right) \qquad \pi = \left(\frac{n}{n-1}\right) \sum_{ij} p_i p_j D_{ij}$$

donde n es el tamaño de muestra, k es el número de haplotipos, pi y pj son las frecuencias de los haplotipos i, j y Dij es la diferencia entre éstos (Nei, 1973). Todos los estimadores fueron calculados en la paquetería DNASP ver 4.10 (Rozas y Rozas 1999).

Los niveles de heterogeneidad genética se determinaron para cada una de las regiones mitocondriales analizadas y se compararon entre especies y regiones de muestreo.

Las distancias genéticas inter a intra-específicas se calcularon utilizando el modelo de Tamura-Nei (1993, TN93), que considera las diferencias tanto en tasas de sustitución (transiciones y transversiones) como las diferentes frecuencias de las bases nucleotídicas. Las fórmulas para calcular estos índices son las siguientes:

$$d = -k_1 \log_e(w_1) - k_2 \log_e(w_2) - k_3 \log_e(w_3)$$

$$s = -k_1 \log_e(w_1) - k_2 \log_e(w_2) - (k_3 - 2g_R g_Y) \log_e(w_3)$$

$$v = -2g_R g_Y \log_e(w_3)$$

$$R = s/v$$

en donde:

d = Transiciones y transversiones (Número de sustitución de nucleótidos por sitios)s = Solo transiciones(Número de transiciones por sitio)v = Solo transversiones(Número de transversiones por sitio)R = s/v(Factor Transiciones / Transversiones)

L = No. de sitios comparados válidos

у

$$\begin{split} k_1 &= 2g_A g_G / g_R, \\ k_2 &= 2g_T g_C / g_Y, \\ k_3 &= 2(g_R g_Y - g_A g_G g_Y / g_R - g_T g_C g_R / g_Y), \\ k_4 &= 2(g_A g_G + g_T g_C + g_R g_Y), \\ w_1 &= 1 - P_1 / k_1 - Q / 2 g_R, \\ w_2 &= 1 - P_2 / k_2 - Q / 2 g_Y, \\ w_3 &= 1 - Q / 2 g_R g_Y, \end{split}$$

en donde Q = es la proporción de diferencias tipo transversiones;

 g_A , g_C , g_G , g_T son las respectivas frecuencias de A, C, G y T, $g_R = g_A + g_G$, $g_Y = g_T + g_C$

Varianzas

$$\begin{aligned} \operatorname{Var}(d) &= \left[c_1^2 P_1 + c_2^2 P_2 + c_4^2 Q - \left(c_1 P_1 + c_2 P_2 + c_4 Q \right)^2 \right] / L \\ \operatorname{Var}(s) &= \left[c_1^2 P_1 + c_2^2 P_2 + c_5^2 Q - \left(c_1 P_1 + c_2 P_2 + c_5 Q \right)^2 \right] / L \\ \operatorname{Var}(v) &= \left[c_3^2 Q (1 - Q) \right] / L \\ \operatorname{Var}(R) &= \left[c_6^2 P_1 + c_7^2 P_2 + c_8^2 Q - \left(c_6 P_1 + c_7 P_2 + c_8 Q \right)^2 \right] / L \end{aligned}$$

donde

$$\begin{split} c_1 &= 1/w_1, \\ c_2 &= 1/w_2, \\ c_3 &= 1/w_3, \\ c_4 &= k_1c_1/2g_R + k_2c_2/2g_Y + k_3c_3/(2g_Rg_Y), \\ c_5 &= k_1c_1/2g_R + k_2c_2/2g_Y + k_3c_3/2g_Rg_Y - c_3, \\ c_6 &= c_1/v, \\ c_7 &= c_2/v, \\ c_8 &= (c_5 - c_3R)/v. \end{split}$$

Las distancias genéticas han servido para clarificar la taxonomía a nivel interespecifico y medir su divergencia específica. Ejemplo de esto, lo vemos reflejado en varios trabajos de cefalópodos (Barriga Sosa *et al.* 1995; Warnke 2000; Soller *et al.* 2000). Para determinar diferencias significativas en los rangos de distancias genéticas a nivel inter e intra-específico se realizó un Análisis de varianza de entrada simple (ANOVA) de Kruskal-Wallis, utilizando el programa estadístico NCSS versión 07.1.20 (Hintze, 2009).

7.3.5 Análisis filogenéticos e identidad. Los análisis filogenéticos de los datos se analizaron a partir de dos estrategias: 1) el análisis de una sola matriz de datos que incluye las secuencias de ambos genes, el cual se rige bajo el principio de neutralidad; 2) el análisis de las secuencias para cada uno de los genes estudiados, partiendo del principio de que éstos no se encuentran bajo la neutralidad. Para ambos tipos de estrategias las secuencias se analizaron a partir del método del vecino más cercano (Neighbor-Joining) en el programa Mega 4.1. Se generaron además topologías bayesianas, utilizando el programa Mr. Bayes versión 3.1 (Huelsenbeck *et al.* 2001). Los modelos de distancia genéticas fueron seleccionados con el programa Modeltest versión 3.06 (Posada y Crandall 1998). El soporte las ramas internas de los arboles se determinó por un análisis de Bootstrap (Felsenstein 1985) como está implementado en el programa PAUP 4.0b 10 (Swofford 2001).

8. RESULTADOS

A continuación se realiza la descripción taxonómica de cada una de las especies resueltas en el presente estudio.

8.1. Análisis morfológico y descripción taxonómica.

FAMILIA OCTOPODIDAE ORBIGNY, 1840

SUBFAMILIA OCTOPODINAE ORBIGNY, 1940

GÉNERO Octopus Cuvier, 1797

Octopus maya Voss & Solís, 1966.

Referencia de identificación: Voss & Solís (1966)

Descripción de la especie: Los ejemplares recolectados en las costas de los estados de Yucatán y Campeche fueron identificados morfológicamente como *Octopus maya* (Figura 2) de acuerdo a los siguientes criterios: a) presencia de un ocelo entre el ojo y la base del segundo y tercer tentáculo (de cada lado); b) en el caso de los machos, el tercer tentáculo derecho se encuentra hectocotilizado; c) brazos largos en proporción al manto con un pliegue pequeño en el brazo hectocotilizado; d) la lígula es pequeña e insertada y con una longitud en proporción

de la longitud del brazo hectocotilizado de 1.4 a 1.9%; 5) nueve o diez filamentos en la parte externa de la branquia.

Localidad tipo: Océano Atlántico Subtropical Noroeste, Golfo de México, Este de la Bahía de Campeche.



Figura 2. Octopus maya. Vista lateral de especímenes de Puerto Sisal, Yucatán.

Octopus vulgaris Cuvier, 1797.

Referencia de identificación: Nesis 1987; Roper *et al.*, 1984; Pickford & McConnaughey, 1949; Voss & Toll, 1998.

Los especímenes de Antón Lizardo, Veracruz con claves (VALV1, VALV2, VALV3, VN1-6, V3-1 y V3-2) se consideraron dentro del complejo taxonómico *O. vulgaris* (Figura 3).

Descripción de la especie: *Octopus vulgaris* es un organismo de talla mediana a grande considerado como un ejemplar robusto. Los brazos oscuros, largos y gruesos; el par de brazos dorsales ligeramente más cortos; tercer brazo derecho hectocotilizado; lígula pequeña y en forma de cuchara; índice de la lígula expresada en porcentaje menor a 2.5%; láminas branquiales de 7 a 11 tanto externas como internas incluyendo la lámina terminal.

Localidad tipo: Mar Mediterráneo

Análisis morfológico de los ejemplares analizados. La descripción morfológica de los organismos analizados se presenta en la Tabla 4. Los especímenes variaron en estadios de desarrollo, el más pequeño con un longitud total (LT) 273 y el mayor 740 mm; una de las características más uniforme fue la fórmula de los brazos izquierdos

III>II>IV>I tanto en hembras como machos; mientras que para los derechos en machos, cambia la formula a II>IV>III>I. El tercer brazo derecho en machos tienen un número de ventosas de ASC 122 - 126, AWI 24.36 - 26.07; el número de láminas branquiales varió solamente en uno (Gilc 8-9), el índice del ancho de la cabeza fue de HWI 37- 45.80, el índice de la longitud de la lígula LLI 7.05 – 8.49; y es evidente la ausencia de ocelos.



Figura 3. Octopus vulgaris. A – vista general lateral; B - vista del manto; C - branquia; D - extremo del brazo hectocotilizado (lígula).

Octopus mercatoris Adam, 1937.

Referencia de identificación: Voss & Toll, 1998.

Etiquetados con las claves (VALR1 - VALR2) (Figura 4). Localmente se le conoce como Pulpo Mariposa. Ejemplares de Anton Lizardo, Veracruz

Descripción de la especie: El diagnóstico describe a *O. mercatoris* como un ejemplar pequeño (20 mm ML). El ancho del manto moderado (MDI 64-73); ancho de la cabeza diferente al del manto (HWI 71-76); y ojos relativamente grandes. Órgano del sifón en forma de W. Brazos moderados en longitud (ALI 78), fórmula del tamaño de los brazos III>II>IV>I pero relativamente iguales. Ventosas elevadas, moderadas en tamaño, más largas en las hembras (SIn 12) que en machos (SIn 9.5); número de ventosas en tentáculo designado en macho (ASC 143) 1 ó 2 ventosas de las hileras 3 a 4 en los brazos del I al III y especialmente agrandadas (SIe 13.5). Tercer brazo derecho en machos, hectocotilizado (HALI 175), notablemente más corto que el opuesto (FAI 71); lígula pequeña (LLI 71); cálamo pequeño (CLI 20); profundidad de la umbrela (WDI 16); sectores de la umbrela casi iguales en profundidad. Saco de tinta presente, láminas branquiales de 6 a 7. Rádula con seriación de raquídea B4. Piel del manto, cabeza, umbrela y brazos lisa. Color en preservación, pardusco o rojizo pálido.

Localidad tipo: Subtropical Noroeste de Océano Atlántico, Golfo de México, Estados Unidos, Florida.

Análisis morfológico de los ejemplares analizados: En la descripción morfológica (Tabla 4) de los organismos con las claves VALR1 y VALR2 se presentan varias coincidencias con la descripción de *Octopus mercatoris*. Las características descritas anteriormente con respecto a los ejemplares analizados presentan similitud en el índice del ancho de manto (MWI 62.61 y 69.17); la fórmula de los brazos concuerda con VALR1 III>IV>II>I tanto en los derechos como izquierdos teniendo los brazos terceros como los más grandes y los primeros como los más cortos; la proporción de los brazos concuerdan (ALI 81.32 y 77.54); así como el número de ventosas en el tercer brazo de VALR1 (ASC 155); el índice SDel es similar (SDel 11.34 y 12.91); así como el índice de la proporción de la profundidad de la umbrela (WDI 18.91 y 20.51). Adicionalmente el número de láminas branquiales es igual al descrito para la especie VALR1 (6) y VALR2 (7).



Figura 4. Apariencia del ejemplar de Antón Lizardo, Veracruz, identificado como *Octopus mercatoris.* A – vista lateral general; B – vista lateral con acercamiento al manto y porción anterior de los brazos.

Octopus sp.

Las muestras etiquetadas con las claves VN1 y VN6 fueron recolectadas en Antón Lizardo Veracruz, de estas muestras solo se pudo obtener tentáculo del ejemplar y debido a esto no fue posible realiza una descripción morfológica y obtener registro fotográfico de los organismos.

Tabla 4. Caracteres y medidas (mm) para los organismos recolectados en Veracruz e identificados como *O. mercatoris* (VALR1-VALR2); *O. vulgaris* (VALV1-VALV3, V3-1, V3-2), *Benthoctopus januarii* (VALY1-VALV2). Ver Tabla 3 para la descripción de los caracteres.

Clave	VALR1	VALR2	VALV1	VALV2	VALV3	V3-1	V3-2	VALY1	VALY2
Sexo	Hembra	Hembra	Hembra	Macho	Macho	Macho	Hembra	Macho	Macho
HL	21.59	23.41	19.75	24.53	25.21	33.75	46.13	27.98	20.88
AFL	3421	2341	3241	3241	3241	3241	234	1234	1234
AFR	3421	-	3241	2431	2431	2134	312	1243	2143
ASC 3er	156	-	-	126	122	126	212	130	150
								130-	150-
ASCmin-max	138-168	108-132	132-176	126-163	128-168	-	-	312	294
AWI	24.50	30.33	24.36	24.85	26.07	-	-	14.34	13.09
CaLl	-	-	-	19.08	16.36	-	-	8.21	4.55
FLI	29.35	38.74	30.51	49.57	32.10	33.44	40.28	34.73	34.91
Gilc	6	7	8	9	9	9	9	10	10
HWI	34.34	40.58	38.01	45.80	37.00	39.51	43.29	29.22	27.30
LL	-	-	-	1.73	2.14	-	-	13.40	4.40
PL	-	-	-	0.81	0.84	-	-	4.05	1.48
LLI	-	-	-	7.05	8.49	-	-	47.89	21.07
ML	66.11	48.79	59.33	63.14	68.90	129.83	109.75	109.49	84.79
MWI	62.61	69.17	66.27	68.51	60.01	80.84	86.29	56.99	54.61
OAI	-	-		90.64	87.63	77.65		49.77	58.89
PAI	45.08	45.91	41.22	39.87	45.24	-	-	30.70	33.75
ALI	81.32	77.54	78.02	77.56	68.73	81.62	76.28	30.88	40.22
MAI	22.33	20.41	27.85	26.87	23.68	21.50	24.07	11.33	12.93
SDel	11.34	12.91	8.76	11.21	11.18	-	-	10.59	6.98
SDnl	7.70	11.27	6.81	9.66	8.69	-	-	7.53	6.13
TL	364	276	273	303	371	740	607	1072	741
WDI	18.98	20.51	19.46	24.98	19.76	-	-	8.77	
WF	ECDBA	CBDAE	EDCAB	DBEAC	CEBDA	-	-	BCADE	ABCDE
WT	230	115	115	165	200	-	-	630	200
Poc	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Izq 1	232	179	149	208	232	51.30	28.5M	874	656
Izq 2	246	214	184	234	266	57.70	46.30	842	555
Izq 3	286	209	206	235	291	60.40	45.60	665	506
Izq 4	249	189	179	221	262	56.90	45.40	623	448
Der 1	Mutilado	16.99	154	212	243	48.00	40.20	966	594
Der 2	293	Mutilado	186	234	284	57.10	37.20	803	620
Der 3	296	Mutilado	213	213	255	46.00	43.70	331	298
Der 4	291	239	182	229	267	43.60	Mutilado	611	494
A	29.6	25.8	24.64	34.16	24.5	-	-	72.6	52.34
В	38.7	37.5	22.1	53.61	39.7	-	-	84.7	42.63
С	44.89	43.9	32.75	33.95	57.51	-	-	72.9	38.5

D	39.1	30.4	34.16	58.71	39.12	-	-	61.5	34.71
E	56.19	25.6	41.46	44.54	41.61	-	-	31.1	20.07
NV 1D	138	112	-	-	-	-	-	312	248
NV 2D	168	132	-	-	-	-	-	286	284
NV 3D	156	108	-	-	-	-	-	130	150
NV 4D	152	120	-	-	-	-	-	222	298

Octopus mimus Gould, 1852.

Las referencias de caracteres descriptivos para los ejemplares de Guerrero y Oaxaca (Figura 5) no concuerdan con los reportados para especies que habitan en esta región, para la cual se registra a *Octopus hubbsorum* Berry (1953) como la especie que predomina en el sur del Océano Pacífico Mexicano, y se menciona como la especie que soporta la pesquería en esta región (Lopez-Uriarte *et al.* 2005). Por otro lado, para el norte del Océano Pacífico Mexicano se reportan a *O. bimaculatus* y *O. macropus* (SEPESCA, 1999). Debido a lo anterior se consultaron referencias de especies que habitan más al sur del Océano Pacífico, encontrándose semejanzas morfológicas con el llamado pulpo de los Changos, *O. mimus,* el cual fue re-descrito por Guerra *et al.* (1999) en el litoral Chileno-Peruano. Adicionalmente, otros trabajos han demostrado la presencia de *O. mimus* en Costa Rica (Warnke *et al.* 2002).

Referencia de identificación: Guerra et al. (1999) y Warnke et al. (2000)

51

Descripción de la especie: Longitud máxima del manto 230 mm, longitud total 1200 mm, peso máximo 4,104 g, manto grueso-ovalado, cabeza pequeña, papilas 2 a 3 supra oculares, ocelos tenues en la base del 2 y 3er brazo de cada lado, membranas de la umbrela profundas con sectores desiguales, brazos moderadamente largos, ventosas en el brazo hectocotilizado de 129 a 149, láminas branquiales de 7 a 9.

Localidad tipo: Océano Pacífico Este, Sudamérica, Callao Perú. Localidad neotipo: Costa de Iquique en Chile

Análisis morfológicos de los ejemplares analizados: Los organismos de Guerrero y Oaxaca están etiquetados en el presente trabajo con las claves Gro-1, Gro2-2, Gro2-3, Gro2-4, Gro2-5, Gro2-10 (corresponden a la Costa Grande de Guerrero); HO1 (Huatulco, Oaxaca) y PA1 (Puerto Ángel, Oaxaca). La descripción morfológica de estos ejemplares se resume en la Tabla 5. Se analizaron organismos con diferentes tamaños o estadios de maduración. La longitud total de estos (TL) varió de 392 a 635 mm; el índice ancho del brazo (AWI) desde 15.70 hasta 28.70, el número de ventosas en el brazo hectocotilizado (ASC) en los machos es de 122 y 132, correspondiendo aproximadamente al número que se describe para la especie *Octopus hubbsorum*; el índice de la longitud de la lígula (LLI) es 14.26 y 11.22; el índice de la longitud del sifón (FLI) varía de 30.17 a 40.04; mientras que el índice de ancho del manto (MWI) de 52.73 a 70.30; la fórmula de los brazos izquierdos fue III>II>VI>I o III>IV>II>I, mostrando al III como el más largo y al I como el más corto;

52

el índice de la proporción con respecto al manto (MAI) varió de 18.37 a 23.33, el número de láminas branquiales fue muy constante con 9 y la fórmula de la umbrela (WF) tiene concordancia en CDBEA con algunas variaciones en las medidas intermedias.



Figura 5. Ejemplares de la Costa Grande de Guerrero, identificados como *Octopus mimus*. A - Apariencia general; B - extremo del brazo hectocotilizado; C - vista del manto.

Tabla 5. Caracteres y medidas (mm) para los organismos recolectados en Guerrero (Gro1, 2-10) y Oaxaca (HO = Huatulco, Oax; PA = Puerto Angel, Oaxaca) e

Clave	Gro-1	Gro2-2	Gro2-3	Gro2-4	Gro2-5	Gro2-10	HO1	PA1
Sexo	Hembra	Hembra	Hembra	Macho	Hembra	Macho	Hembra	Hembra
HL	19.80	24.50	23.90	20.40	22.50	30.40	27.61	19.46
AFL	1324	3142	3412	321	4213	3241	243	3421
AFR	21	2341	321	2134	321	43	324	341
ASC	218		186	122	-	132	146	198
ASC	178-226	194-244	90-186	108-228	132-220	132	-	-
AWI	20.58	16.73	15.70	17.18	22.19	28.70	25.57	37.10
CaLI				18.96		383.15		
FLI	34.44	40.04	30.72	34.48	34.86	36.66	30.17	34.27
Gilc	9	9	9	9	9	9	09 o 10	9
HWI	33.04	24.94	24.07	30.92	29.07	34.64	31.00	59.66
LL	-	-	-	2.91	-	3.41	-	-
PL	-	-	-	0.75	-	0.75	-	-
LLI	-	-	-	14.26	-	11.22	-	-
ML	67.80	89.40	115.90	84.40	91.50	89.20	97.65	41.99
MWI	54.20	57.16	59.62	52.73	63.61	67.40	61.62	70.30
OAI				79.95		74.17		
PAI	38.64	42.28	37.70	28.32	38.03	32.62	34.27	49.77
ALI	82.40	78.96	75.75	81.21	68.88	61.88	78.65	75.00
MAI	18.78	21.65	21.42	20.84	18.37	19.69	22.76	23.33
SDel	11.50	11.63	9.06	11.97	13.33	13.45	14.43	18.50
SDnl	9.88	9.40	7.81	9.83	12.13	10.09	11.19	16.72
TL	392	499	635	479	572	543	534	240.27
WDI	16.09	16.32	15.23	17.28	17.49	17.40	12.97	13.41
WF	CDBEA	CBDAE	DBCEA	ABEDC	DAEBC	CDBEA		
WT	135	245	530	195	345	365	475	80
Poc	No claro	No claro	No claro	No	No	NO	SI	No
lzq 1	361	366	403	214	409	304	282	116
lzq 2	314	341	388	317	422	401	397	154
Izq 3	323	394	481	389	394	453	Mutilado	174
lzq 4	292	352	407	174 M	461	391	391	161
Der 1	264	361	431	349	414	Mutilado	361	162
Der 2	267	413	475	405	493	Mutilado	Mutilado	Mutilado
Der 3	Mutilado	369	541	311	498	336	428	172
Der 4	Mutilado	366	Mutilado	284	376M	382	456	167
А	23.5	32.8	52.1	70.1	64.9	-	56.35	217
В	44.6	56.3	79.7	62.4	84.3	-	76.3	278
С	58.1	67.4	78.8	39.4	87.1	-	114.3	291
D	45.1	54.6	82.4	52.9	58.4	-	102.2	304
E	28.6	29.4	52.8	60.6	70.7	-	58.5	301
NV1	-	-	-	-	-	-	152	142

identificados como Octopus mimus.

NV2	-	-	-	-	-	-	Mutilado	Mutilado
NV3	-	-	-	-	-	-	164	168
NV4	-	-	-	-	-	-	168	178

Octopus bimaculoides Pickford & McConnaughey, 1949.

Descripción de la especie: Cuerpo de talla mediana, adultos con una longitud del manto de 200 mm; presencia de ocelos en cada lado del cuello o en la base del segundo y tercer brazos, éste ocelo es un anillo iridiscente de color azul; ventosas agrandadas en los tentáculos en el estado maduro; lígula muy corta de 2% a 4% con respecto a la longitud del manto; los huevos son grandes (10mm – 17 mm).

Análisis morfológicos de los ejemplares: Los caracteres más representativos de los organismos de Baja California Sur (Bahía Magdalena) etiquetados en este trabajo con las claves LC1, LC2, BCS1 son la presencia de ocelos en la base de segundo y tercer brazos en cada lado de la cabeza; huevos aproximadamente de 12 a 15 mm, tamaño relativamente mediano (Figura 6), lo cual se ve reflejado en sus mediciones, la longitud del manto (ML) fue entre los 44 y 59.94 mm, la longitud de la cabeza (HL) 15.84 a 23.76, longitud total (TL) fue de 173.70 a 232.98, la fórmula de los brazos izquierdos II>III>IV>I y I>III>II>IV y derechos II>IV>I>III y I>III>IV. El resumen de los registros morfométricos de estos especímenes se muestra en la Tabla 6.



Figura 6. Ejemplares de Bahía de Magdalena, Baja California Sur, identificados como *Octopus bimaculoides*. A – B vistas de la apariencia general y del manto; C - extremo del brazo hectocotilizado; D – se muestra el ocelo; E – huevos.

Octopus sp.

Los ejemplares recolectados en Baja California Sur en Bahía Magdalena etiquetados como BCSLC3 y BCSLC4 (Figura 7) no se pudieron identificar a nivel de especie, ya que no se encontraron homologías con las claves taxonómicas disponibles en la literatura. Sin embargo, los registros de sus caracteres morfométricos se registraron en la Tabla 6.

Análisis morfológicos de los ejemplares: Son organismos muy pequeños, la longitud total (LT) fue 41 y 58.20 mm (Figura 7A), la longitud del manto (ML) fue de 10.90 y de 16.90 en estado de madurez, esto se puede observar en la figura 7D, ya que el ejemplar LC3 (hembra) se capturó en estado de ovado; las ventosas son biseriales y agrandadas en la quinta o cuarta hilera, los huevos de aproximadamente 4.5 mm (Figura 7F), la fórmula de los brazos VI>III>II>I y VI>II>III>I; el número de laminillas branquiales 5; sin presencia de ocelos.



Figura 7. Organismos BCSLC3 y BCSLC4 de la localidad - La Curva, Bahía Magdalena, Baja California Sur. A - vista frontal de un macho; B - vista frontal de una hembra; C - tercer brazo hectocotilizado del macho; D - vista posterior de una hembra con huevos dentro del manto; E - ventosas; F - huevo de la hembra.

Tabla 6. Caracteres y medidas (mm) para los organismos recolectados en Bahía de Magdalena Baja California Sur.

Clave	LC1	LC2	BCS1	LC3	LC4
S	Macho	Hembra	Macho	Hembra	Macho
HL	17	23.76	15.84	4.9	4.5
AFL	2341	314	1324	4321	-
AFR	2413	23	1234	-	4231
ASC	90	90	102		68
ASC				76	
AWI	27.00	23.28	20.27	20.71	23.85
CaLl	6.69	-	10.71	_	-
FLI	18.43	25.67	23.54	39.05	20.18
Gilc	8	8	9	5	5
HWI	83	53.01	47.66	94.08	83.49
LL	2.39		5.60	-	-
PL	-	-	4	-	-
LLI	14		35.35	-	-
ML	40	44.80	59.94	16.90	10.90
MWI	65.25	58.24	70.10	98.22	86.24
OAI	88.10	-	98.45	-	-
PAI	49.95	43.17	40.21	55.62	60.55
ALI	68.51	69.87	67.47	71.19	55.12
MAI	33.56	33.17	38.13	40.82	41.29
SDel	18.93	14.31	18.94	13.02	19.27
SDnl	17.75	12.61	18.00	12.13	17.43
TL	173.70	200.98	232.98	58.20	41.00
WDI	32.55	24.12	34.00	31.64	31.44
WF	EDCBA	CBADE	DBACE	ABCDE	DCABE
WT	50.5	49.9	86.1	4.02	1.22
Poc	SI	SI	SI	NO	NO
lzg 1	-	-	-	37.80	-
lzq 2	-	-	-	39.50	-
lzq 3	-	-	-	41.30	-
Izq 4	-	-	-	41.40	-
Der 1	-	-	159.79	-	21.00
Der 2	-	-	154.7	-	23.40
Der 3	-	-	145.88	-	22.60
Der 4	-	-	126.13	-	26.40
А	23.96	29.23	39.30	13.10	7.90
В	27.16	29.5	46.10	12.20	7.40
С	34.25	36.01	38.10	11.50	8.20
D	38.15	27.95	49.60	10.50	8.30
E	38.8	21.25	19.20	7.90	5.20

SUBFAMILIA BATHYPOLYPODINAE ROBSON, 1928

GÉNERO Benthoctopus Grimpe, 1921.

Benthoctopus januarii Hoyle, 1885.

Los organismos etiquetados con las claves VALY1 y VALY2 (Figura 8) recolectados en Antón Lizardo, Veracruz, son ejemplares localmente denominados como Pulpo Malario, sus caracteres morfométricos se resumen en la Tabla 4 y presentan homología con los de miembros del género *Benthoctopus* y específicamente con la especie *B. januarii* (Hoyle, 1885). Sin embargo, la ausencia de hembras en la muestra, deja abierta la posibilidad de la confirmación de la especie.

Referencias de identificación: Roper et al. (1984); Toll (1981).

Descripción de la especie: Organismo de tamaño mediano con tentáculos largos, delgados y atenuados. Manto sacular, elongado, en forma de burbuja, liso, desprovisto de ornamentación. Cabeza estrecha, separada tanto del manto como de la corona branquial por una constricción profunda y angosta. Corona branquial angosta. Ojos moderadamente grandes y ligeramente proyectados. El sifón es robusto cilíndrico. Abertura del manto amplia, extendiéndose desde el margen posterior de los ojos. Ventosas biseriales pequeñas y erectas, aproximadamente de 80 a 100 pares en cada brazo. Membrana superficial, con un máximo del 15% de la

longitud del brazo. Tercer brazo derecho hectocotilizado, con cerca de la mitad de la longitud del tercer brazo izquierdo, presenta una hendidura espermatoforal conspicua a través de la longitud de brazo. Lígula moderadamente grande (6 – 9% de la longitud del brazo). Cálamo pequeño bien formado y agudo. Branquias pequeñas con siete u ocho filamentos externas. Saco de tinta ausente formula de los brazos I>II>III>IV. Color rosado

Análisis morfológico de los ejemplares: Se analizaron dos especímenes machos (Tabla 4), notando como particularidad que éstos pulpos poseen tentáculos muy largos, el ejemplar VALY1 es de un mayor tamaño que el espécimen VALY2, se puede observar en el primero, que es un organismo en un estadio mayor de maduración por el brazo hectocotilizado. La longitud total (TL) de estos ejemplares es 1072 mm y 741 mm respectivamente; presenta un manto relativamente chico (ML 109 y 89.79 mm) en relación a la longitud total; el índice del ancho del manto (MWI) fue 56.99 y 54.61, respectivamente; el índice de la longitud del manto con respecto a la longitud total (ALI) fue de 30.88 y 40.22; la fórmula de los brazos concuerda en los izquierdos en los dos especímenes (AFL) I>II>II>IV; mientras que en los derechos cambian a I>II>IV>III y II>I>IV>III; el número de ventosas en el brazo hectocotilizado (ASC) fue de 130 y 150; la longitud de la lígula (LL) de 13.40 y 4.40 mm; la proporción de la lígula con respecto a la longitud del brazo (PL) representa el 4.05 y 1.48%; el índice de la longitud del cálamo (CaLI) el 8.21 y 4.55; el número de láminas (Gilc) fue de 10, en ambos especímenes y el color de los ejemplares ya fijados es de color rosado con puntos rojizos (Figura 8).

62

Todos los especímenes descritos en el presente trabajo fueron depositados en la Colección de Moluscos (Cefalópodos) de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional.



Figura 8. Especímenes de Anton Lizardo, Veracruz, identificados como *Benthoctopus januarii*. A – apariencia general vista lateral; B - vista lateral del manto; C - extremo del brazo hectocotilizado y lígula.

8.2. Análisis genético.

8.2.1 ADNt y amplificación vía PCR de las regiones mitocondriales r16s y COIII

Extracción

La calidad del ADN_t extraído fue determinada vía electroforesis de geles de agarosa (Figura 9), observándose desde el inicio del trabajo que dicha calidad se perdía rápidamente y de manera considerable.





Figura 9. ADNt extraídos con el estuche comercial Promega® y corridos por electroforesis en geles de agarosa al 1.5%. A) muestras de especímenes de

Veracruz (muestras A-R); B) muestras de Yucatán. Ladder= Marcador de peso molecular con el genoma del fago lambda (λ) de 23 Kb en la banda superior.

Debido a lo anteriormente mencionado, se procedió a realizar las extracciones en procesos de dos a cuatro organismos a la vez, y de esta manera procesar inmediatamente el material genético y evitar repetir el congelamiento y descongelamiento del mismo.

Amplificación de regiones mitocondriales

Los productos amplificados obtenidos para el gen COIII fueron de aproximadamente de 700 pb, mientras que para la subunidad r16S se obtuvieron productos de aproximadamente 550 pb. Los productos purificados de dichas amplificaciones fueron confirmados por electroforesis en geles de agarosa y se muestran en la Figura 10.



Figura 10. Electroforesis de los productos purificados para A) COIII, organismos VerB, VerC y VN1 de Veracruz, así como los organismos YN1 y Y-2 de Yucatán y La Viga; B) organismos VB y VC de Veracruz; Yuc de Yucatán; PA1 de Puerto Ángel, Oaxaca y La Viga (adquirido en la Cd. de México). Ladder = marcador de peso molecular, banda superior de 1500 pb, la banda más intensa intermedia de 500 pb y la banda que migra más es de 100 pb.

8.2.2. Análisis de secuencias y diversidad genética. De 73 secuencias resueltas para ambas regiones mitocondriales, 36 corresponden al gen r16S y 37 al gen COIII, correspondieron a 6 especies nominales y 2 especies no identificadas, de éstas últimas, una proviene de Antón Lizardo, Veracruz y la otra de Bahía Magdalena, B.C.S., como se resumen en la Tabla 7.

De los 48 organismos analizados, para 25 de ellos se obtuvieron las secuencias para ambas regiones mitocondriales, mientras que para el resto se pudo obtener secuencias de uno u otro gen, permitiendo con esto determinar la variabilidad intraespecífica. Las secuencias de ADN analizadas fueron recortadas a 410 pb para r16s y de 507 pb para COIII debido a que en el inicio y al final mostraban falta de resolución para alinearse (Anexos 2 y 3). Dentro de los fragmentos de secuencias mencionados las posiciones de los nucleótidos se resolvieron claramente en su alineamiento. No se detectó saturación en el patrón de sustitución nucleotídica en ninguna de las dos regiones analizadas de las secuencias combinadas.

La composición nucleotídica para cada una de las regiones mitocondriales y especies analizadas se resume en las Tablas 8 y 9. Se detectó una desviación hacia la composición C+G *versus* T+A (38.2+35.2 *vs.* 8.6+18; 39.3+31.3 *vs.* 17.7+11.7, para r16S y COIII, respectivamente).

68

Localidades	Fsnecie	Clave	Secuencia		
	Loheole				
VICATÁN			1103	COIII	
	Octopus maya	V\/1	v	v	
La viga, D.F. Puorto Sicol Vuo	Octopus maya		^	Ŷ	
Puerto Sisal, Tuc.	Octopus maya			× v	
Puerto Sisal Vuc	Octopus maya		Y	× ×	
Puerto Sisal, Tuc.	Octopus maya		Ŷ	× v	
Puerto Sisal Vuc	Octopus maya	VN6	~	× ×	
	Octopus maya	TINO		Λ	
Isla Arenas, Camp	Octopus mava	VUC6	X		
Isla Arenas, Camp.	Octopus maya	YUC7	X		
Isla Arenas, Camp	Octopus maya	YUC8	X	х	
Isla Arenas, Camp	Octopus maya	YUC11	X	X	
Isla Arenas, Camp	Octopus maya	YUC12	X	X	
Isla Arenas, Camp	Octopus maya	YUC13	X	~	
Cd Del Carmen Camp	Octopus maya	C2-1	X	Х	
Cd Del Carmen, Camp	Octopus maya	C2-2	X	X	
Cd Del Carmen, Camp	Octopus maya	C2-3	X	~	
Cd. Del Carmen, Camp.	Octopus maya	C2-4	X		
VERACRUZ					
Antón Lizardo.Ver.	Octopus vulgaris	Ver-B	Х	Х	
Antón Lizardo, Ver.	Octopus vulgaris	Ver-C	X	Х	
Antón Lizardo, Ver.	Octopus vulgaris	Ver-E	X		
Antón Lizardo.Ver.	Octopus vulgaris	Ver-F	X		
Antón Lizardo.Ver.	Octopus vulgaris	Ver-H	Х		
Antón Lizardo, Ver.	Octopus vulgaris	Ver-R	Х		
Antón Lizardo, Ver.	Octopus sp.	VN-1		Х	
Antón Lizardo, Ver.	Octopus vulgaris	VN-3	Х		
Antón Lizardo, Ver.	Octopus sp.	VN-6		Х	
Antón Lizardo, Ver.	Octopus vulgaris	V3-1	Х	Х	
Antón Lizardo, Ver.	Octopus vulgaris	V3-2	Х		
Antón Lizardo, Ver.	Octopus vulgaris	VALV-1	Х	Х	
Antón Lizardo, Ver.	Octopus vulgaris	VALV-2	Х	Х	
Antón Lizardo, Ver.	Octopus mercatoris	VALM-1	Х	Х	
Antón Lizardo, Ver.	Octopus mercatoris	VALM-2	Х	Х	
Antón Lizardo, Ver.	Benthoctopus januarii	VALY-1		Х	
Antón Lizardo,Ver.	Benthoctopus januarii	VALY-2		Х	
OAXACA					
Huatulco, Oax.	Octopus mimus	OH-1		Х	
Puerto Angel, Oax.	Octopus mimus	PA-1	Х	Х	
GUERRERO					
Barra de Potosí, Gro.	Octopus mimus	GRO1-1	Х	Х	
Costa Grande, Gro.	Octopus mimus	GCG2-1	Х	Х	
Costa Grande, Gro.	Octopus mimus	GCG2-2	Х	Х	
Costa Grande, Gro.	Octopus mimus	GCG2-3	Х	Х	
Costa Grande, Gro.	Octopus mimus	GCG2-4	Х	Х	
Costa Grande, Gro.	Octopus mimus	GCG2-5	Х	Х	
Costa Grande, Gro.	Octopus mimus	GCG2-6		Х	
BAJA CALIFORNIA SUR	_				
Bahía Magdalena-1	Octopus bimaculoides	BCS-1		Х	
Bahía Magdalena-2	Octopus bimaculoides	BCS-2		Х	
La Curva, Bahía Magdalena 1	Octopus bimaculoides	BCSLC-1	Х	Х	
La Curva, Bahía Magdalena 2	Octopus bimaculoides	BCSLC-2	X	Х	
La Curva, Bahia Magdalena 3	Octopus sp.	BCSLC-3	Х	Х	
La Curva. Bahía Magdalena 4	Octopus sp.	BCSLC-4		Х	

Tabla 7. Total de secuencias obtenidas para las regiones mitocondriales r16s y Citocromo Oxidasa III en los organismos analizados en el presente trabajo.

Especie (clave)	T(U)	С	А	G	Total
Octopus maya (YV1)	38.0	8.8	35.1	18.0	410.0
O. maya (YN4)	38.0	8.8	35.1	18.0	410.0
O. maya (C2-1)	38.0	8.8	35.1	18.0	410.0
<i>O. vulgari</i> s (Ver-B)	38.0	8.5	34.6	18.8	410.0
<i>O. vulgaris</i> (VALV-2)	38.3	8.5	34.6	18.5	410.0
O. mercatoris (VALM-1)	38.0	8.8	34.1	19.0	410.0
O. mimus (PA-1)	37.6	9.0	34.6	18.8	410.0
O. mimus (GRO1-1)	37.8	9.0	34.4	18.8	410.0
O. mimus (GCG2-5)	37.8	9.0	34.6	18.5	410.0
O. bimaculoides (BCSLC-1)	38.5	8.5	35.9	17.1	410.0
O. bimaculoides (BCSLC-2)	38.8	8.5	35.9	16.8	410.0
Octopus sp. (BCSLC-3)	38.8	8.5	35.6	17.1	410.0
Promedio	38.2	8.6	35.2	18.0	409.8

Tabla 8. Composición nucleotídica de la región r16S para siete especies de Octopus.

Tabla 9. Composición nucleotídica de la secuencias del gen COIII para siete especies de *Octopus* y *Benthoctopus januarii.*

Especie (clave	T(U)	С	А	G	Total	
Octopus maya	(YN1)	40.0	16.8	31.8	11.4	507.0
O. maya	(YN4)	40.0	16.8	31.8	11.4	507.0
O. maya	(C2-1)	40.0	16.8	32.0	11.2	507.0
O. vulgaris	(Ver-B)	39.6	17.4	31.0	12.0	507.0
O. vulgaris	(VALV-2)	39.6	17.4	31.2	11.8	507.0
Octopus sp.	(VN-1)	40.2	16.8	31.6	11.4	507.0
O. mercatoris	(VALM-1)	39.1	17.2	32.1	11.6	507.0
Benthoctopus ja	nuarii (VALY-1)	37.9	18.5	32.5	11.0	507.0
O. mimus	(GRO1-1)	39.8	17.2	31.2	11.8	507.0
O. mimus	(GCG2-6)	39.8	17.2	31.2	11.8	507.0
O. mimus	(PA-1)	39.6	17.2	31.2	12.0	507.0
O. mimus	(HO-1)	39.8	17.4	31.2	11.6	507.0
O. bimaculoides	(BCLC-1)	39.1	17.6	32.0	11.4	507.0
O. bimaculoides	(BCLC-3)	36.1	19.1	33.1	11.6	507.0
Promedio		39.2	18.0	31.1	11.7	507.0

Con relación a la diversidad genética determinada, el número de sitios segregados (S), número de haplotipos (H), diversidad nucleótidica (π) y diversidad nucleótidica (h) para ambos genes se resumen en las Tablas 10 y 11. En general, los niveles de diversidad nucleotídica para ambos genes en las dos especies fueron bajos, estuvieron 0 y 0.00197±0.00099, para r16S y COIII, respectivamente. La especie que mostró los niveles más altos para r16S fue *O. mimus*, seguida de *O. vulgaris*; observándose el mismo patrón para COIII, pero siendo la especie *Benthoctopus januarii* la que presenta los valores más altos. Cabe destacar que para esta especie no se pudo amplificar el gen r16S.

Tabla 10. Polimorfismo en secuencias de r16S: sitios segregados (S), número de haplotipos (H), diversidad haplotípica (*h*) y diversidad nucleotídica (π) en 410 pb.

Indice/Localidad (n)	S	Н	π	h
Octopus maya, Yucatán y Campeche (n = 14)	0	1	0	0
<i>O. maya</i> , Puerto Sisal, Yucatán (n = 4)	0	1	0	0
O. vulgaris, Antón Lizardo, Veracruz (n = 11)	1	2	0.00044 ± 0.00035	0.182±0.144
O. mercatoris, Antón Lizardo, Veracruz	0	1	0	0
(n = 2)				
<i>O. mimu</i> s, Guerrero y Oaxaca (n = 6)	2	3	0.00163±0.00067	0.600±0.215
O. bimaculoides, Bahía Magdalena, BCS	0	1	0	0
(n = 2)				

 \pm DS = desviación estándar; n = tamaño de muestra.

Indice/Localidad (n)	S	Н	π	h
Octopus maya, Isla Arenas y Cd. del Carmen, Campeche (n = 5)	1	2	0.0011±0.00118	0.600±0.175
<i>O. maya</i> , Puerto Sisal, Yucatán (n = 6)	0	1	0	0
<i>O. vulgaris</i> , Antón Lizardo, Veracruz (n = 5)	1	2	0.00070±0.00047	0.400±0.237
<i>Octopus sp.</i> , Antón Lizardo, Veracruz (n = 2)	0	1	0	0
O. mercatoris, Antón Lizardo, Veracruz (n = 2)	0	1	0	0
Benthoctopus januarii, Antón Lizardo, Ver (n = 2)	1	2	0.00197±0.00099	1.000±0.500
<i>O. mimus</i> , Guerrero y Oaxaca (n = 9)	4	4	0.00175±0.00072	0.583±0.183
O. bimaculoides, Bahía Magdalena, BCS (n = 5)	0	1	0	0
<i>Octopus sp</i> ., Bahía Magdalena, BCS (n = 2)	0	1	0	0

Tabla 11. Polimorfismo en secuencias de COIII: sitios segregados (S), Número de haplotipos (H), diversidad haplotípica (h) y diversidad nucleotídica (π) en 507 pb.

8.2.3 *Distancias genéticas.* Para poder delimitar las diferencias intra e interespecíficas así como inter-genéricas, se obtuvieron las distancias genéticas a partir del modelo de Tamura-Nei (TN93), incluyendo secuencias de otras especies depositadas en Genbank (Tabla 1). Los valores obtenidos para cada uno de las regiones mitocondriales y especímenes analizados se muestran en los Anexos 4 y 5, así como de la obtenida a partir de la base de datos conjunta (Anexo 6).

Sin embargo, para poder determinar los niveles de diferenciación genética, los datos fueron agrupados en las siguientes categorías: a) a nivel inter-específico, entre todas las especies (ETE); b) a nivel regional, entre las especies del Golfo de México (EGM) y entre las especies del Océano Pacífico de México (EPM); c) a nivel intra-
específico, dentro de *O. vulgaris* (DOV) y dentro de *O. mimus* (DOM) para detectar diferencias significativas entre las muestras y especies analizadas. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 12.

<u> </u>	<u></u>	r160				*168+000	
G	en	1105		COIII	[]	03+0011	
Nivel de	(m)	(r)	(m)	(r)	(m)	(r)	
organización							
Inter-específi	со						
E	TE 8.53	0-15.68	12.86	0–24.51	10.13	0–19.20	
Regional							
EC	GM 4.19	0-4.49	15.75	0.60–18.83	4.83	0–5.1	
EF	PM 7.45	0-7.81	8.66	0.20–19.99	8.00	0.11-16.3	
Intra-específi	со						
D	OV 2.07	0-9.69	9.99	0–18.84	2.99	0.11–11.95	
DC	OM 1.16	0-1.46	1.2	0.20–1.40	0.34	0.11–0.57	

Tabla 12. Valores de las medias (m) e intervalos (r) de las distancias genéticas obtenidas a partir de TN93 para las regiones mitocondriales analizadas.

La distribución de las distancias genéticas en los diferentes grupos no presentó una distribución normal, los datos fueron analizados con un ANOVA de entrada simple de Kruskal-Wallis para un análisis de medias e intervalos de muestras independientes, para poder determinar la significancia de las mismas. La variación de las distancias entre grupos mostró diferencias significativas, para r16S (H = 44.34, g = 4, n = 197, P < 0.0000); para COIII (H = 50.0941, g = 5, n = 249, P < 0.0000); y para las secuencias combinadas (H = 46.82, g = 4, n = 162, P < 0.0000) (Fig. 11).



Figura 11. Variación detectada en las distancias genéticas TN93 para las secuencias de los genes r16S (arriba izquierda), COIII (arriba derecha) y r16S+COIII (abajo izquierda), entre los grupos comparados. La línea horizontal indica la media, el rectángulo indica los cuartiles y los bigotes indican valores máximo y mínimo del intervalo de valores.

Cabe mencionar que la especie *O. maya* no fue incluida en los gráficos del gen r16S debido a que las distancias intra-específicas resultantes fueron de cero, mientras que para COIII si se incluyeron debido a que se resolvieron dos haplotipos y se compararon con el haplotipo resuelto para los especímenes no identificados de Antón Lizardo, encontrándose una distancia genética estrecha entre estos (0.80).

8.2.4 Análisis de filogenia. Los análisis filogenéticos se obtuvieron a partir de matrices de alineamiento que incluyeron las secuencias obtenidas en el presente estudio para ambos genes y secuencias de octópodos de diferentes regiones geográficas tomadas de Genbank (Tabla 1). Se designó como grupo externo el octópodo incirrado, *Scaeurgus unicirrhus* de la localidad de Banyuls, Francia y también se incluyo a *Opisthoteuthis sp* para los análisis del gen de r16s (Söller *et al.* 2000). En el proceso del alineamiento se trabajó con secuencias parciales, (410 pb para r16S) y (507 pb para COIII), debido a la disponibilidad de secuencias homólogas de pulpos de regiones geográficas cercanas. Los modelos en los tres análisis bayesianos fueron: para la región r16S (Modelo: TrN+I+G), para la región

COIII (Modelo: GTR+I+G) y para la combinación de r16S + COIII (Modelo: GTR+I+G).

La topología generada con la región mitocondrial r16S con el análisis de Neighbor-Joining se muestra en la Figura 12. La muestra denominada como Octopus sp. de Bahía Magdalena, Baja California Sur, se úbico en el clado más basal de la topología, seguido del clado que incluyó al cirrado Scaeurgus unicirrhus denominado como grupo externo. Estos resultados sugirieren que el espécimen de Baja California puede pertenecer a un género diferente Octopus. El resto de los especímenes analizados en el presente trabajo se ubicaron en un clado monofilético "A" con un valor de soporte en la rama de (91), que a su vez incluyó dos subclados "B" (88) y "C" (100). El clado "B" lo conforman los Octopus vulgaris de Veracruz (del presente trabajo) y los del Norte de Brasil "H" (61), los cuales se encuentran estrechamente relacionados con O. mercatoris y O. maya "F" (73) descritos para el Golfo de México. En un clado hermano "G" (100), se encuentra el clado que agrupa a O. mimus del Océano Pacífico. Y como clado basal "E" (100) de este clado se encuentra el conformado por los especímenes O. bimaculoides. El segundo gran clado "C" lo forman todos los O. vulgaris del Este del Océano Atlántico y del Oeste del Pacífico.

El análisis bayesiano para la misma región r16S muestra una topología (Figura 13) similar al análisis de NJ, en el clado "D" con una valor de soporte en la rama (1.00) donde se encuentran las especies del Golfo de México, *O. vulgais* del Norte de Brasil y a *Octopus mimus*, la topología no se encuentra completamente resuelta.



Figura 12. Topología de árbol consenso Neighbor-Joining (Bootstrap 2000 réplicas) para r16S. La barra de escala indica la distancia según TN93, en cada rama se indica el valor de Bootstrap. Las secuencias de otras localidades fueron tomadas de la Base de Datos NCBI.



Figura 13. Topología generada mediante inferencia Bayesiana para r16S. Las secuencias de otras localidades fueron tomadas de la Base de Datos NCBI. Los valores de cada rama son de probabilidad posterior Bayesiana. Las secuencias de otras localidades fueron tomadas de la Base de Datos NCBI.

Aunque las topologías resueltas por el gen COIII fueron similares a las anteriores, para la mayoría de las especies incluidas para r16S, la disponibilidad de secuencias de COIII de otros octópodos permite sugerir una parafilia para el género Octopus (Figuras 14, 15). En el análisis Bayesisano con COIII, la conformación de la topología se baso en la construcción de dos clados principales "A" (0.92) y "B" (0.84), el mayor "E" (0.99), conformado por las especies O. vulgaris, O. maya y O. mercatoris del Oeste del Océano Atlántico, así como a O. mimus y O. bimaculoides del Océano Pacífico, y el clado "D" (1.00) de O. vulgaris del Este del O. Atlántico; y resolviendo pegado a este clado "C" (0.96) a O. aculatus del Pacífico Oriental como el más externo de este clado. Por otro lado, se observó un clado más basal integrado el clado "B" (0.84) y uno con los pulpos del Pacífico Oriental O. rubescens, otro con clado más basal "II" (1.00) con la única especie del género Benthoctopus, resuelta en éste estudio, *B. januarii* y *O. bunurong* de Australia, los cuales muestran a Scaeurgus unicirrhus como cercana. Mientras que nuevamente la especie Octopus sp. de Bahía Magdalena, BCS, se resuelve como el clado "B" (0.84).

Las topologías generadas con las secuencias de ambos genes COIII + r16S, mantienen una topología similar a los arboles generados a partir de las secuencias de cada gen por separado (Figuras 16, 17).



Figura 14. Topología generada con NJ para las secuencias de COIII. La barra de escala indica una distancia según TN93, en cada rama se indica el valor de Bootstrap. Las secuencias de otras localidades fueron tomadas de la Base de Datos NCBI.



Figura 15. Topología generada mediante inferencia Bayesiana con secuencias de COIII. Los valores de soporte de cada rama son de probabilidad posterior Bayesiana. Las secuencias con los números de acceso fueron tomadas de la Base de Datos NCBI.



Figura 16. Topología generada con NJ y las secuencias conjuntas de COIII y r16s. La barra de escala indica una distancia según TN93, en cada rama se indica el valor de Bootstrap. Las secuencias de otras localidades fueron tomadas de la Base de Datos NCBI.



Figura 17. Topología generada mediante inferencia Bayesiana con el alineamiento de las secuencias conjuntas de COIII y r16S. Los valores de soporte de cada rama son de probabilidad posterior Bayesiana. Las secuencias con números de acceso fueron tomadas de la Base de Datos NCBI.

9. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

9.1 Morfología, distancias genéticas y filogenia. El material biológico revisado, caracterizado y analizado, permitió detectar morfotipos e identidades genéticas, correspondientes a cinco especies para la zona muestreada en el Golfo de México, e incluidas en dos géneros, *Octopus y Benthoctopus*. Para el género Octopus se encontraron cuatro entidades taxonómicas: *O. maya, O. vulgaris. O. mercatoris* y una *Octopus sp.* no identificada, pero que se agrupa dentro del clado donde se encontraron los *O. maya* con COIII. La especie descrita para el género *Benthoctopus* es *B. januarii.* Por otro lado, para el Océano Pacífico, se reconocieron a tres entidades taxonómicas: *O. mimus* y una tercera especie que no se pudo identificar morfológicamente, pero que genéticamente se ubica como el taxón más externo a los octópodos analizados (*Octopus sp.*, de Bahía Magdalena, BCS).

Cabe recalcar que la especie *O. mimus* no había sido reportada para las costas de México, sin embargo, los diferentes análisis realizados a los organismos descritos como dicha especie, permiten definir su identidad sin ambigüedad. Por ejemplo, los valores de distancias genética tan cercanos entre estos especímenes y los de *O. mimus* de Costa Rica y de Chile; la homología entre la re-descripción de *O. mimus* realizada por Guerra *et al.* (1999) y los caracteres de los especímenes colectados en este trabajo, por ejemplo, el número de ventosas en el brazo hectocotilizado, número de laminillas branquiales y dimensiones en la morfología, adicionalmente, otra característica importante, es la que refiere Warnke *et al.* (2002), quien describe a *O. mimus* en Costa Rica en el Pacífico sin los ocelos característicos para la especie, lo

cual concuerda con las muestras analizadas en este estudio, ya que éste carácter está casi ausente, solo se detectó en un organismo colectado en las costas de Huatulco, Oaxaca. Así mismo, fue importante revisar la filogenia con las secuencias homólogas de este estudio y las que existen para esta especie, observando que los ejemplares de Guerrero, Oaxaca y los de Costa Rica han presentado casi los mismos cambios en las secuencias de ADN y con una distancias genética muy corta también con *O. mimus* de Chile. Como lo menciona Perez-Lozada et al (2002) los límites de distribución de *O. mimus* no se conocen, ya que solo se tenían reportes desde el Norte de Perú hasta San Vicente en Chile, sin embargo se ha reportado como ya lo mencionamos en Costa Rica y ahora con este trabajo se propone una ampliación en su distribución, la cual va desde el Norte de Chile hasta las Costas de Guerrero en México y posiblemente un poco más hacia el norte.

Siguiendo con las costas del Pacífico Mexicano, específicamente en Baja California Sur se encontraron dos morfotipos bien diferenciados, primeramente a *O. bimaculoides,* con el cual no se presentó problema para su identificación morfológica, de acuerdo con las claves propuestas de Pickford y McConnaughey (1949), principalmente porque se contó con una hembra y sus huevos, y éste carácter es uno de los principales para diferenciar entre *O. bimaculoides* y *O. bimaculatus*, ya que *O. bimaculatus* desarrolla huevos de un tamaño significativamente menor a los descritos para *O. bimaculoides*. La otra prueba confirmatoria fue con las secuencias de ADN y sus distancias genéticas, las cuales

mostraron valores < 2 y solo uno o dos cambios en las secuencias con respecto a las que ya existían para los *O. bimaculoides* de las costas de EUA en el Genbank.

Los ejemplares de Bahía Magdalena etiquetados como BCSLC-3 y BCSLC-4 no se pudieron identificar morfológicamente a nivel de especie con las claves disponibles, sin embargo, las distancias genéticas entre estos especímenes y congéneres fueron entre las mayores encontradas (> 12). Estas distancias son similares a las resueltas para el grupo externo, con lo cual podría sugerirse que estos ejemplares podrían pertenecer a otro género de la familia Octopodidae, diferente al género *Octopus*.

Para los especímenes recolectados en el Golfo de México se pudieron resolver tres especies del género *Octopus*, una especie no identificada morfológicamente, pero que genéticamente se ubicó dentro del género y que cercanamente relacionado con *O. maya*; y una especie del género *Benthoctopus, B. januari*, para cuya confirmación taxonómica se sugiere la revisión de ejemplares hembras.

Por otra parte las especies resueltas sin ambigüedad con los análisis genéticos y su morfología fueron los de *O. vulgaris* y *O. mercatoris* en Antón Lizardo, Veracruz y *O. maya* en Campeche y Yucatán.

Algunos ejemplares del Golfo de México tuvieron como principal carácter para diferenciar entre especies, la presencia de ocelos, como en casos de los ejemplares de *O. maya* de Campeche y Yucatán y *O. mercatoris* de Antón Lizardo, Veracruz; aunque es importante mencionar que la especie *O. mercatoris* no ha sido validada y ha sido confundida con *Octopus joubini* Ronson, 1929, Voss & Toll (1998). Por lo que su posicionamiento taxonómico es ambigüo.

Para los ejemplares de Veracruz que han sido denominados pertenecientes O. vulgaris, en estos se encontró una congruencia evidente en caracteres, como es la fórmula de los brazos (III> II> IV> I) y el número de ventosas en el brazo hectocotilizado (122-126), la descripción de O. vulgaris que se utilizó para el Golfo de México fue la de Voss y Toll (1998). Aunque queda la incertidumbre ya que O. *vulgaris* tiene una gran variedad de descripciones taxonómicas, debido a su amplio intervalo de distribución geográfica. En cuanto al análisis genético de O. vulgaris, la especie presenta el intervalo más amplio en cuanto a distancias genéticas (2 a 7.5) con un máximo de hasta de 12, este amplio intervalo ha dado pauta para plantear en varios trabajos la interrogante de sí O. vulgaris realmente tiene una distribución cosmopolita o simplemente es el taxón en la literatura a donde todo lo que no cabe dentro del género, es referido (Mangold, 1998). Sin embargo, los resultados genéticos de los ejemplares de O. vulgaris de Veracruz en este estudio presentaron una gran similitud con O. vulgaris del Norte de Brasil e incluso con O. insularis Leite et al. (2008) de esta misma región, particularmente con el análisis del gen r16S. Las distancias genéticas entre estos ejemplares tanto de Anton Lizardo Veracruz y el Norte de Brasil fueron de \leq 2.9, similares a los obtenidos en la comparación intraespecífica de una misma región o de una región geográfica cercana. Esto da pauta para generar hipótesis sobre qué procesos evolutivos pudieron haber convergido para que ocurriera este paralelismo y comparar si molecularmente existe una afinidad evolutiva en otras especies de hábitats similares en estas regiones. Mientras que por otro lado el clado donde se encuentran los O. vulgaris de Veracruz y del Norte de Brasil tiene un origen parafilético con respecto a el clado donde están lo O.

vulgaris del Este del Océano Atlántico y Océano Pacífico, esto puede dar propuestas para seguir estudiado la taxonomía de los *O. vulgaris* de Veracruz y probablemente hacer un renombramiento de la especie, ya que ya se ha hecho con *O. insularis* del Norte de Brasil del complejo taxonómico de *O. vulgaris* por este mismo grado de separación filogenética (Leite et al. 2008).

Con respecto a los árboles filogenéticos que se generaron, los ejemplares del Golfo de México *O. maya*, *O. mercatoris* y *O vulgaris* se resolvieron bien separados de los *Octopus mimus* del Sur del Pacífico Mexicano teniendo como ancestros a los pulpos ocelados del Noreste del Pacífico, es decir que probablemente se derivaron cambios genéticos a partir de *O. bimaculoides* y *O. bimaculatus*, los cuales se expresaron como apomorfías tanto en los pulpos del Golfo de México como del Sur del Pacífico, esta vicarianza putativa se ha reportado como la hipótesis del cierre del continente y de la separación de los Océano Pacífico y Atlántico y en la demostración de afinidades de fauna entre estas dos cuencas, consistiendo principalmente en la germinación de especies (ej. especies con similitud en morfología se han encontrado con distribución en cada lado del istmo) estrechas relaciones filogenéticas entre especies de estas regiones se han dado debido a que comparten la historia geológica del área, la cual indica que ambos océanos se terminaron de aislar hace aproximadamente 3.0 a 3.5 millones de años (Jones & Hasson, 1985).

9.2 Análisis de diversidad genética. Los marcadores moleculares utilizados no presentaron diversidad intra-específica significativa; aunque se puede observar que en COIII existieron más cambios (principalmente por transiciones) en relación al gen r16S. En éste último gen se detectaron de 1 a 2 cambios de nucleótidos o sitios segregados en dos localidades, mientras que en COIII se detectaron en cuatro localidades, esto reafirma que la tasa de mutación de estos genes es relativamente baja y por lo tanto se confirma su resolución para inferir relaciones filogenéticas inter-específicas y supra-genéricas, mientras que se demuestra su poca resolución para inferir análisis y/o relaciones poblacionales.

Las distancias genéticas obtenidas con cada uno de los marcadores y en el análisis conjunto de secuencias, permitió detectar que las medias y los intervalos que se presentaron en el llamado complejo taxonómico *O. vulgaris* son amplios y en base a esto se puede proponer que se tiene que seguir trabajando en la taxonomía de este grupo.

10. LITERATURA CITADA.

- Adam, W., 1937. Résultats scientifiques des croisiéres du Naviere-Ecole Belge "Mercator". IV. CEPHALOPODA. *Mémories Museum Royal History Natural Belguique* 1 Ser. 2º facc. 9: 45-82.
- Alijanabi, S.M. & I. Martinez, 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acid Research*, 25: 4692-4693.
- Altschul, S.F., W. Gish, W. Miller, E.W. Myers & D.J. Lipman, 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215: 403-410.
- Barriga Sosa, I., K. Beckenback, B. Hartwick & M.J. Smith, 1995. The molecular phylogeny of five eastern North Pacific octopus species. *Molecular Phylogenetic Evolution,* 4: 163-174.
- Berry, S.S., 1953. Preliminary diagnosis of six West American species of Octopus. *Leaflets Malacology* 1: 51-58.
- Carlini, D.B., R.E. Young & M. Vecchione, 2001. A molecular phylogeny of the octopoda (Mollusca: Cephalopoda) evaluated in light of morphological evidence. *Molecular Phylogenetic. Evolution.* 21 (3): 388–397.
- Cuvier, G., 1797. Tableau élémentaire de l'histoire naturelle des Animaux. Paris: Impression Anastaltique, Culture et Civilisation, 14 Tafeln, 710 p.
- Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.

- Fu, Y.X. & W.H. Li, 1993. Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics*, 133: 693-709.
- Guerra, A., T. Cortez & F. Rocha, 1999. Redescripción del pulpo de los Changos, Octopus mimus GOULD, 1852, del litoral chileno-peruano (Mollusca, Cephalopoda). Iberus, 17 (2): 37-57.
- Huelsenbeck, J.P. & F. Ronquist, 2001. MRBAYES: Bayesian Inference of Phylogenetic Trees. *Bioinformatics*, 17 (8): 754-755.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98.
- Hintze, J. 2009. NCSS. NCSS, LLC. Kaysville, Utah. <u>www.ncss.com</u>
- Jones, D.S. & P.F. Hasson, 1985. History and development of the marine invertebrate fauna separated by the Central American isthmus. In F. G. Stehli and S. D. Webbs, eds. The great American biotic interchange. Plenum Press, New York.
- Jiménez-Badillo, M.L., R.E. del Río-Rodríguez, M.I. Gómez-Solano, A. Cu-Escamilla & D. Méndez-Aguilar, 2008. Madurez gonádica del pulpo *Octopus vulgaris* en el Golfo de México: análisis macroscópico y microscópico. Universidad Autónoma de Campeche. 48 p.
- Leite, T. S., Haimovici, M., Molina, W., and Warnke, K. 2008. Morphological and genetic description of *Octopus insularis*, a new cryptic species in the *Octopus*

vulgaris complex (Cephalopoda: Octopodidae) from the tropical southwestern Atlantic. Journal of Molluscan Studies, 74: 63–74.

- López-Uriarte, E., E. Ríos-Jara & M. Pérez-Peña, 2005. Range extension for Octopus hubbsorum Berry 1953 (Cephalopoda: Octopodidae) in the Mexican Pacific. Bulletin of Marine Sciences, 77 (2): 171-179.
- Mangold, K.M. 1998. The Octopodinae from the Eastern Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea. In: N. A. Voss, M. Vecchione, R. B. Toll & M. J. Sweeney, eds. Systematics and biogeography of cephalopods, Vol. II. Smithsonian Contribution to Zoology, 586: 521–528.
- NCBI Genbank. <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov</u> (23 November 2008).
- Nei, M. 1972. Genetic distance within populations. *American Naturalist*, 106: 243-292.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70: 3321-3323.
- Nei, M. 1978 Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583-590.
- Nesis, K.N., 1987. Cephalopods of the World. T.F.H. Publications, 351 p.
- Nesis, K.N., 1998. Biodiversity and systematics in cephalopods: unresolved problems require an integrated approach. South Africa Journal Marine Sciences-Suid-Afr. Tydsk. Seewetens. 20, 165–173.

- Norman, M.D., Sweeney, M.J., 1997. The shallow-water octopuses (Cephalopoda: Octopodidae) of the Philippines. Invertebr. Taxon. 11 (1), 89–140.
- Palumbi, S.R., A. Martin, S. Romano, W.O. McMillan, L. Stice & G. Grabowski, 1996. *The Simple Fool's Guide to PCR*. Kewalo Marine Laboratory and Univ. of Hawaii.
- Pérez-Lozada, M., A. Guerra & A. Sanjuán, 2002. Allozyme divergence supporting the taxonomic separation of *Octopus mimus* and *Octopus maya* from *Octopus vulgaris* (Cephalopoda: Octopus). *Bulletin Marine Sciences*, 71 (2): 653-664.
- Pickford, G.E. & B.H., McConnaughey, 1949. The Octopus bimaculatus problem: a study in sibling species. Bulletin of the Bingham Oceanographic Collection, 12: 1-66.
- Posada D., & K.A., Crandall, 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14 (9): 817-818.
- Robson, G.C. 1929. A Monograph of the Recent Cephalopoda. Part I.
 Octopodinae. British Museum, London.
- Roper, C.F.E. & G.L., Voss, 1983. Guidelines for taxonomy descriptions of cephalopod species. *Memoirs of the National Museum of Victoria*, 44: 49-63.
- Roper, C.F.E., M.J. Sweeney & C.E. Nauen, 1984. FAO species catalogue. Vol.3.
 Cephalopods of the World. An annotated and illustrated catalogue of species of interest to fisheries. *FAO Fish Synopsis,* (125) 277 p.

- Rozas, J. & R. Rozas, 1999. DNA Sequence Polymorphism ver 5.10.00.
 Bioinformatics, 15: 174-175.
- Sanchez, P., 2003. Cephalopods from off the Pacific coast of Mexico: biological aspects of the most abundant species. *Scientia Marina*, 67 (1): 81-96.
- SEPESCA, 1999. Estadísticas pesqueras básicas, Dirección General de Informática y Registro Pesquero. Secretaría de Pesca, México, 125 p.
- Solís-Ramírez, M.J. & E.A. Chávez, 1986. Evaluación y régimen óptimo de pesca de pulpo de la Península de Yucatán, México. Anales del Instituto de Ciencias Del Mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México, 13 (3): 1-18.
- Solís-Ramírez, M.J. 1994. Mollusca de la Península de Yucatán, México, p. 13-32. In: A. Yañez-Arancibia (ed.). Recursos faunísticos del litoral de la Península de Yucatán. Universidad Autónoma de Campeche. EPOMEX Serie Científica 2, Campeche, México.
- Solís-Ramírez, M.J., 1998. Octopus maya: Biology and Fishery México. P. 105-113. In: M. Lang, F.G. Hochberg, R.A. Ambrose & J.M. Ingle (eds.). Proceedings of the fishery and market potencial of Octopus in California. Smithsonian Institution. University of Southern California. Aug.- Sep., 192p.
- Söller, R., K. Warnke, U. Saint-Paul & D. Blohm, 2000. Sequence divergence of mitochondrial DNA indicates cryptic biodiversity in *Octopus vulgaris* and supports the taxonomic distinctiveness of *Octopus mimus* (Cephalopoda: Octopodidae). *Marine Biology*, 136: 29-35.

- Sweeney, M.J., & C.F.E. Roper, 1998. Classification, type localities, and type repositories of recent Cephalopoda. Smithson. *Contribution Zoology* 586 (2): 561–595.
- Swofford, D.L., 2001: PAUP. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and others Methods), Version 4.0: Sinauer Associates.
- Tajima, F. 1989. Statistical Method for Testing the Neutral Mutation Hypothesis by DNA Polymorphism. *Genetics*, 123: 585-295.
- Tamura, K., & M., Nei, 1993. Estimation of number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology Evolution*, 10: 512-526.
- Technelysium Ptl Ltd, 1998. Chromas Lite vers 2.0.
- Thompson, J.D., D.G. Higgins & T.J. Gibson, 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22 (22): 4673-4680.
- Toll, R.B. 1981. Benthoctopus oregonae, a new species of octopod (Mollusca; Cephalopoda) from the southern Caribbean with redescription of Benthoctopus januarii (Hoyle, 1885). Bulletin Marine Science, 31 (1): 83-95.
- Voight, J.R., 1993. A cladistic reassessment of Octopodidae classification.
 Malacologia, 35: 343–349.

- Voight, J.R., 1997. Cladistic analysis of the Octopods based on anatomical characters. *Journal Molluscan Studies*, 63: 311–325.
- Voss, G. & M. Solis, 1966. Octopus maya, a new species from the Bay of Campeche, México. Bulletin Marine Science, 16 (3): 615-625.
- Voss, G.L. & R.B., Toll, 1998. The systematic and nomenclatural status of the Octopodinae described from the Western Atlantic Ocean. In: *Systematics and biogeography of cephalopods, II* (N.A. Voss, M. Vecchione y R.B. Toll, eds), 455 561. Smithsonian Contributions to Zoology, Washington, D.C.
- Warnke, K. Söller, R., Blohm, D. & Saint Paul, U. 2000. Rapid differentiation between Octopus vulgaris Cuvier (1797) and Octopus mimus Gould (1952), using randomly amplified polymorphic DNA. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 38: 119-122.
- Warnke, K., R. Söller, D. Blohm & U. Saint-Paul, 2002. Assessment of the phylogenetic relationship between *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 and *O. mimus* Gould 1852, using mitochondrial 16S rRNA. *In*: Summesberger, H.; Histon, K.; Daurer, A. (eds), *International Symposium "Cephalopods present and past"*. Abh. Geol. B.-A. 57, 401-405.
- Warnke, K., R. Söller, D. Blohm & U. Saint-Paul, 2003. Genetic divergence and geographic diversification in *Octopus* cf. *vulgaris* based on mitochondrial DNA sequences. *In*: Chotiyaputta, C., (ed.), Internacional Symposium of CIAC 03

(Cephalopod International Advisory Council): "Cephalopod biology, recruitment and culture". Phuket, 123p.



lR

ΊL

2L

Anexo 2

Alineamiento de secuencias homólogas (430 pb) de la región de r16S de los pulpos del presente estudio con otros cefalópodos.

	5	15	25	35	45	55
AJ390310	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	CCTATAAATT	GGGGCTAGAA
AJ390311	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	CCTATAAATT	GGGGCTAGAA
AJ390312	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	CCTATAAATT	GGGGCTAGAA
AJ616306	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	CCTATAAATT	GGGGCTAGAA
AJ390313	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	CCTATAAATT	GGGGCTAGAA
AJ390314	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	CCTATAAATT	GGGGCTAGAA
AJ390315	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
AJ390316	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	CCTATAAATT	GGGGCTAGAA
AJ616307	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
AJ390317	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
AJ390318	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
AJ390319	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
AJ390321	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AGTAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
AJ390322	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	CTTATAAATT	AAGGCTAGAA
AJ390323	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	CTTATAAATT	GGGGCTAGAA
AJ390324	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	CTTATAAATT	AGGGCTAGAA
Ver-B	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
Ver-C	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
Ver-E	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
Ver-F	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
Ver-H	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
Ver-R	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
OmayY6	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
OmayY7	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
OmayY8	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
OmayY11	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
OmayY12	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
OmayY13	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
OmayaVi	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
GR01	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA

PA1	TGCGGTATTA	TAACTGTACT	AAGGTAGCAT	AATAATTTGC	TCTATAAATT	GGGGCTAGAA
AJ390310	TGAATGGTTT	GACGAGAATT	TAACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTTATA
AJ390311	TGAATGGTTT	GACGAGAATT	TAACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTATA
AJ390312	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TAACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTATA
AJ616306	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TAACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTATA
AJ390313	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TAACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTATA
AJ390314	TGAATGGTTT	GACGAGAATT	TGACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTATA
AJ390315	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTGTA
AJ390316	TGAATGGTTT	GACGAGAATT	TGACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTATA
AJ616307	TGAATGGTTT	GACGAGAATT	TAACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTATA
AJ390317	TGAATGGTTT	GACGAGAATT	TAACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTATA
AJ390318	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATCTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTGTA
AJ390319	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATCTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTGTA
AJ390321	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TAACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTATA
AJ390322	TGAATGGTTT	AACGAAAATT	ATACTGTCTC	TATTTTAATT	AATAGAAATT	AATTTTTATA
AJ390323	TGAATGGTTT	GACGAGAATT	AAGCTGTCTC	TATTTCATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTATA
AJ390324	TGAATGGTTT	GACGAGAATT	TAACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAGTT	AATTTTTATA
Ver-B	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTGTA
Ver-C	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTGTA
Ver-E	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTGTA
Ver-F	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTGTA
Ver-H	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTGTA
Ver-R	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATTTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTGTA
OmayY6	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATCTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTATA
OmayY7	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATCTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTATA
OmayY8	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATCTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTATA
OmayY11	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATCTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTATA
OmayY12	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATCTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTATA
OmayY13	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATCTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTATA
OmayaVi	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATCTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTATA
GR01	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATCTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTGTA
PA1	TGAATGGTTT	GACGAAAATT	TGACTGTCTC	TATCTTATTT	ATTAGAAATT	AATTTTTGTA
AJ390310	GTGAAAAAGC	TTTAATTATT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	TTGTTATTAT
AJ390311	GTGAAAAAGC	TTTAATTGTT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	TTGTTATTAT
AJ390312	GTGAAAAAGC	TTTAATTGTT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	TTGTTATTAT
AJ616306	GTGAAAAAGC	TTTAATTGTT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	TTGTTATTAT
AJ390313	GTGAAAAAGC	TTTAATTGTT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	TTGTTATTAT
AJ390314	GTGAAAAAGC	TTTGATTATT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	TTGTTGTTAT

AJ390315	GTGAGAAAGC	TTAAATTCTT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	ATATTATTT
AJ390316	GTGAAAAAGC	TTTGATTATT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	TTGTTGTTAT
AJ616307	GTGAAAAAGC	TTTAATTATT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	TTGTTATTAT
AJ390317	GTGAAAAAGC	TTTAATTATT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	TTGTTATTAT
AJ390318	GTGAGAAAGC	TTAAATTATT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	ATATTATTTA
AJ390319	GTGAGAAAGC	TTAAATTATT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	GTATTATTTA
AJ390321	GTGAAAAAGC	TTAAATTATT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	ATATTATTTA
AJ390322	GTGAAAAAGC	TTAAATAATT	TAAAGGGACG	AGAAGACCCT	ATTGAGCTTT	ATATTAGTTA
AJ390323	GTGAGAAAGC	TTAAATGGTT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTTA	ATGTTATTAT
AJ390324	GTGAAAAAGC	TTGGATGATT	TAAAGGGACG	AGAAGACCCT	ATTGAGCTTG	ATATTAATAT
Ver-B	GTGAGAAAGC	TTAAATTGTT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	ATATTATTTT
Ver-C	GTGAGAAAGC	TTAAATTGTT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	ATATTATTTT
Ver-E	GTGAGAAAGC	TTAAATTGTT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	ATATTATTTT
Ver-F	GTGAGAAAGC	TTAAATTGTT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	ATATTATTTT
Ver-H	GTGAGAAAGC	TTAAATTGTT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	ATATTATTTT
Ver-R	GTGAGAAAGC	TTAAATTGTT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	ATATTATTTT
OmayY6	GTGAGAAAGC	TTAAATTATT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	ATATTATTTT
OmayY7	GTGAGAAAGC	TTAAATTATT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	ATATTATTTT
OmayY8	GTGAGAAAGC	TTAAATTATT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	ATATTATTTT
OmayY11	GTGAGAAAGC	TTAAATTATT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	ATATTATTTT
OmayY12	GTGAGAAAGC	TTAAATTATT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	ATATTATTTT
OmayY13	GTGAGAAAGC	TTAAATTATT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	ATATTATTTT
OmayaVi	GTGAGAAAGC	TTAAATTATT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	ATATTATTTT
GR01	GTGAGAAAGC	TTAAATTATT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	GTATTATTTA
PA1	GTGAGAAAGC	TTAAATTATT	TAAAGGGACG	AAAAGACCCT	ATTGAGCTT-	GTATTATTTA
AJ390310	ATAGATAT	ATA	TGT	A	TATATATAAT	TTA
AJ390311	ATAGATAT	ATATATATA-	TAT	A	TATATATAAT	TTA
AJ390312	ATAGATAT	ATATA	TAT	A	TATATATAAT	TTA
AJ616306	ATAGATAT	ATATATATAT	ATATATAT	A	TATATATAAT	TTA
AJ390313	ATAGATAT	ATATA	TAT	A	TATATATAAT	TTA
AJ390314	ATAGATAT	A	TAT	A	AATATATAAT	TTA
AJ390315	A-AAAT		TAT	A	TGATTGTTGT	TTA
AJ390316	ATAGATAT	ATATATATA-	TAT	A	AATATATAAT	TTA
AJ616307	ATAGATAT	ATATATATA-	TAT	A	TATATATGAT	TTA
AJ390317	ATAGATAT	ATATATG	TAT	A	TATATATGAT	TTA
AJ390318	ATAAAT		TAT	A	TGATTGTTGT	TTG
AJ390319	ACAAAT		TAT	A	TGATTGTTAT	TTG
AJ390321	TTAAAT		TAT	A	TAGTTATAGT	TTA

AJ390322	TAATAAATAT	TATTTATTTG	GTTAA	A	TTAATATTGT	ATTTA
AJ390323	ATAAATTT	ATTTTGTTAG	TT-TATATTT	AAATTGATGA	TAATTTTTAT	TGTAGGTTTG
AJ390324	TTAAATAT	AGGGTTTTAT	GTTTATAA	TTAAT	TATTTATTAT	ATAAATGTTT
Ver-B	ATAAAT		TAT	A	TGATTGTTGT	TTA
Ver-C	ATAAAT		TAT	A	TGATTGTTGT	TTA
Ver-E	ATAAAT		TAT	A	TGATTGTTGT	TTA
Ver-F	ATAAAT		TAT	A	TGATTGTTGT	TTA
Ver-H	ATAAAT		TAT	A	TGATTGTTGT	TTA
Ver-R	ATAAAT		TAT	A	TGATTGTTGT	TTA
OmayY6	GTAAAT		TAT	A	TGATTGTTGT	TTA
OmayY7	GTAAAT		TAT	A	TGATTGTTGT	TTA
OmayY8	GTAAAT		TAT	A	TGATTGTTGT	TTA
OmayY11	GTAAAT		TAT	A	TGATTGTTGT	TTA
OmayY12	GTAAAT		TAT	A	TGATTGTTGT	TTA
OmayY13	GTAAAT		TAT	A	TGATTGTTGT	TTA
OmayaVi	GTAAAT		TAT	A	TGATTGTTGT	TTA
GR01	ACAAAT		TAT	A	TGATTGTTAT	TTG
PA1	ACAAAT		TAT	A	TGATTGTTAT	TTG
AJ390310	TTTGTAA-AT	AACTTTGGTT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAA	τ-τααττταα	AGTATTGTAT
AJ390311	TTTGTAA-AT	AACTTTGGTT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAA	τ-τααττταα	AGTATTGTAT
AJ390312	TTTGTAA-AT	AACTTTGGTT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAA	τ-τααττταα	AGTATTGTAT
AJ616306	TTTGTAA-AT	AACTTTGGTT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAA	τ-τααττταα	AGTATTGTAT
AJ390313	TTTGTAA-AT	AACTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAA	τ-τααττταα	AGTATTGTAT
AJ390314	TTTGTAA-AT	AACTTTGGTT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAA	τ-τααττταα	AGTGTTATAT
AJ390315	TT-TAGA-AT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAGA	T-T-GTTTAA	АТ
AJ390316	TTTGTAA-AT	AACTTTGGTT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAA	τ-τααττταα	AGTGTTATAT
AJ616307	TTTGTAA-AT	AACTTTGGTT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAA	ΑΤΤΑΑΤΤΤΑΑ	AGTGTTTTAT
AJ390317	TTTGTAA-AT	AACTTTGGTT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAA	ΑΤΤΑΑΤΤΤΑΑ	AGTGTTTTAT
AJ390318	TT-TGAA-TT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAT	T-TTATTTAA	тт
AJ390319	TT-TGAA-TT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAT	T-TTATTTAG	тт
AJ390321	TTATAAA-TT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAT	TTTATTATTA	тА
AJ390322	TT-GTGT-TT	AATTTTGGTT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAT	GGGTAGA	ATT
AJ390323	TTATTAACTT	AACTTTGGTT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAA	TTATTTAA	ТТТ
AJ390324	ATTGGAGTGT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAA	ATTTAATTTT	G
Ver-B	TT-TAGA-AT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAGA	T-T-GTTTAA	АТ
Ver-C	TT-TAGA-AT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAGA	Τ-Τ-ΤΤΤΤΑΑ	АТ
Ver-E	TT-TAGA-AT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAGA	T-T-GTTTAA	АТ
Ver-F	TT-TAGA-AT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAGA	T-T-GTTTAA	АТ

Ver-H	TT-TAGA-AT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAGA	T-T-GTTTAA	АТ
Ver-R	TT-TAGA-AT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAGA	T-T-GTTTAA	АТ
OmayY6	TT-GGAA-TT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAT	TATTATTAAA	АТ
OmayY7	TT-GGAA-TT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAT	TATTATTAAA	АТ
OmayY8	TT-GGAA-TT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAT	TATTATTAAA	АТ
OmayY11	TT-GGAA-TT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAT	TATTATTAAA	АТ
OmayY12	TT-GGAA-TT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAT	TATTATTAAA	АТ
OmayY13	TT-GGAA-TT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAT	TATTATTAAA	АТ
OmayaVi	TT-GGAA-TT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAT	TATTATTAAA	АТ
GR01	TT-TGAA-TT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAT	T-TTATTTAG	ТТ
PA1	TT-TGAA-AT	AATTTTGATT	GGGGTGATCA	AGGAATAAAT	T-TTATTTAG	ТТ
AJ390310	TAACTTCCTT	AATTT-TG	AGTTTAGTTG	AAGAATAAAC	CAAG-TTTTT	TGCTTAGAAG
AJ390311	TAACTTCCTT	AATTT-TG	AGTTTAGTTG	AAGAATAAAC	CAAG-TTTTT	TGCTTAGAAG
AJ390312	TAACTTCCTT	AATTT-TG	AGTTTAGTTG	AAGAATAAAC	CAAG-TTTTT	TGCTTAGAAG
AJ616306	TAACTTCCTT	AATTT-TG	AGTTTAGTTG	AAGAATAAAC	CAAG-TTTTT	TGCTTAGAAG
AJ390313	TAACTTCCTT	AATTT-TG	AGTTTAGTTG	AAGAATAAAC	CAAG-TTTTT	TGCTTAGAAG
AJ390314	TAACTTCCTT	AATTT-TG	AATTTAGTTG	AAGAATAAAC	CAAG-TTTTT	TGCTTAGAAG
AJ390315	TAACTTCCTT	AATTAATT	TGTTTTGTGG	АААААТАААС	CAAA-TTTTT	TGCTTAGAAG
AJ390316	TAACTTCCTT	AATTT-TG	AATTTAGTTG	AAGAATAAAC	CAAG-TTTTT	TGCTTAGAAG
AJ616307	TAACTTCCTT	AATTT-TA	AATTTAGTTG	AAGAATAAAC	CAAG-TTTTT	TGCTTAGAAG
AJ390317	TAACTTCCTT	AATTT-TA	AATTTAGTTG	AAGAATAAAC	CAAG-TTTTT	TGCTTAGAAG
AJ390318	TAACTTCCTT	AGTTAATT	-GTTCTATGG	AAGAATAAAC	CAAA-GTTTT	TGCTTAGAAG
AJ390319	TAACTTCCTT	AGTTAATT	-GTTTTATAG	AAGAATAAAC	CAAA-GTTTT	TGCTTAGAAG
AJ390321	TAACTTCCTT	AGTTAAAA	TAGTTTTTGG	АААААТАААС	CAAG-TTTTT	TGCTTAGAAG
AJ390322	TAACTTCCTT	AAAGAAAA	CTGTTTTTAG	AATAATTAAC	CGAT-AATAT	CGCTTATATG
AJ390323	TAACTTCCTT	AAATGTCA	ATTTTTATAG	AGTAATAAAC	CAAA-TTTTT	TGCTTAGAAG
AJ390324	TAACTTCCTT	AAAGTAGATT	TATTTTATTG	AATAATAAAC	CAAAATTTTT	TGCTTATATG
Ver-B	TAACTTCCTT	AATTAATT	TGTTTTGTGG	АААААТАААС	CAAA-TTTTT	TGCTTAGAAG
Ver-C	TAACTTCCTT	AATTAATT	TGTTTTGTGG	АААААТАААС	CAAA-TTTTT	TGCTTAGAAG
Ver-E	TAACTTCCTT	AATTAATT	TGTTTTGTGG	АААААТАААС	CAAA-TTTTT	TGCTTAGAAG
Ver-F	TAACTTCCTT	AATTAATT	TGTTTTGTGG	АААААТАААС	CAAA-TTTTT	TGCTTAGAAG
Ver-H	TAACTTCCTT	AATTAATT	TGTTTTGTGG	АААААТАААС	CAAA-TTTTT	TGCTTAGAAG
Ver-R	TAACTTCCTT	AATTAATT	TGTTTTGTGG	АААААТАААС	CAAA-TTTTT	TGCTTAGAAG
OmayY6	TAACTTCCTT	AATTAATT	-ATTTTATGG	AGAAATAAAC	CAAA-TTTTT	TGCTTAGATG
OmayY7	TAACTTCCTT	AATTAATT	-ATTTTATGG	AGAAATAAAC	CAAA-TTTTT	TGCTTAGATG
OmayY8	TAACTTCCTT	AATTAATT	-ATTTTATGG	AGAAATAAAC	CAAA-TTTTT	TGCTTAGATG
OmayY11	TAACTTCCTT	AATTAATT	-ATTTTATGG	AGAAATAAAC	CAAA-TTTTT	TGCTTAGATG
OmayY12	TAACTTCCTT	AATTAATT	-ATTTTATGG	AGAAATAAAC	CAAA-TTTTT	TGCTTAGATG

OmayY13	TAACTTCCTT	AATTAATT	-ATTTTATGG	AGAAATAAAC	CAAA-TTTTT	TGCTTAGATG
OmayaVi	TAACTTCCTT	AATTAATT	-ATTTTATGG	AGAAATAAAC	CAAA-TTTTT	TGCTTAGATG
GR01	TAACTTCCTT	AGTTAATT	-GTTTTATAG	AAGAATAAAC	CAAA-GTTTT	TGCTTAGAAG
PA1	TAACTTCCTT	AGTTAATT	-GTTTTATAG	AAGAATAAAC	CAAA-GTTTT	TGCTTAGAAG
AJ390310	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
AJ390311	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
AJ390312	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
AJ616306	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
AJ390313	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
AJ390314	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
AJ390315	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
AJ390316	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
AJ616307	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
AJ390317	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
AJ390318	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
AJ390319	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
AJ390321	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAGGAGA
AJ390322	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTGGAGA	GTTCATATTA	AAAAAAGAGA
AJ390323	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
AJ390324	ATAAGTTACC	ATAGGGGTAA	CAGCGTAATT	TTTTTTAAGA	GTTCATATTG	AAAAAAAAGA
Ver-B	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
Ver-C	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
Ver-E	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
Ver-F	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
Ver-H	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
Ver-R	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
OmayY6	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
OmayY7	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
OmayY8	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
OmayY11	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
OmayY12	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
OmayY13	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
OmayaVi	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
GR01	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
PA1	ATAAGTTACC	ATAGGGATAA	CAGCGTAATT	TTTTTTGAGA	GTTCATATTG	AAAAAAGAGA
	425	435	445	455		
AJ390310	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	TAAAATTGA-			

AJ390311	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	ТАА		
AJ390312	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	TAAAATT		
AJ616306	TTGCGACCTC	GATGTTG			
AJ390313	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	TAAAATT		
AJ390314	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	TAAAATTGAC	C	
AJ390315	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	TAAAATTAAC	CTTAAGGTGA	AGAG
AJ390316	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	ТАА		
AJ616307	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	ТА		
AJ390317	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	ТААА		
AJ390318	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	TAAAATTAAC	CTTAAGGTGA	AGA-
AJ390319	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	TAAAATTAAC	CTTAAGGTGA	AGA-
AJ390321	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	ТААААТТААС	CTTAAGGTGT	
AJ390322	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	ТААА		
AJ390323	TTGCG				
AJ390324	TTGCGACC				
Ver-B	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	TAAAATTAAC	CTTAAGGTGA	AGA-
Ver-C	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	TAAAATTAAC	CTTAAGGTGA	AGA-
Ver-E	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	TAAAATTAAC	CTTAAGGTGA	AGA-
Ver-F	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	ТААААТТААС	CTTAAGGTGA	AGA-
Ver-H	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	TAAAATTAAC	CTTAAGGTGA	AGA-
Ver-R	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	TAAAATTAAC	CTTAAGGTGA	AGA-
OmayY6	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	ТААААТТААС	CTTAAGGTGA	AG
OmayY7	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	ТААААТТААС	CTTAAGGTGA	AG
OmayY8	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	ТААААТТААС	CTTAAGGTGA	AG
OmayY11	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	ТААААТТААС	CTTAAGGTGA	AG
OmayY12	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	ТААААТТААС	CTTAAGGTGA	AG
OmayY13	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	TAAAATTAAC	CTTAAGGTGA	AG
OmayaVi	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	ТААААТТААС	CTTAAGGTGA	AG
GR01	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	TAAAATTAAC	CTTAAGGTGA	AGA-
PA1	TTGCGACCTC	GATGTTGGAT	TAAAATTAAC	CTTAAGGTGA	AGA-

Anexo 3.

Alineamiento de secuencias homólogas del gen COIII (509 pb) de los pulpos del presente estudio con otros cefalópodos.

	••••					
	5	15	25	35	45	55
Opisthoteu	TAATAACCTT	AACTATATTT	CAGTGATGAC	GTGATATTAT	TCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
AJ012121 O	TTATAATTTT	AACCATAATT	CAATGATGAC	GTGACATTAT	TCGAGAAAGT	ACATTTCAAG
AJ250476 O	TTATAATTTT	AACCATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	TCGAGAAAGT	ACATTTCAAG
OvSAfrFB A	TTATAATTTT	AACCATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	TCGAGAAAGT	ACATTTCAAG
AJ250477 O	TTATAATTTT	AACCATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	TCGAGAAAGT	ACATTTCAAG
OvSBra Atl	TTATAATTTT	AACCATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGT	ACATTTCAAG
OvNoBra At	TTATAATTTT	AACAATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OvNoBra At	TTATAATTTT	AACAATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OvVenCa AJ	TTATAATTTT	AACCATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGT	ACATTTCAAG
OvCRCar AJ	TTATAATTTT	AACAATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OvCRCar AJ	TTATAATTTT	AACAATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OvJap Inla	TTATAATTTT	AACCATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	TCGAGAAAGT	ACATTTCAAG
OvBRio Jan	TTATAATTTT	AACCATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGT	ACATTTCAAG
AJ250479 O	TTATAATTTT	AACCATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	TCGAGAAAGT	ACATTTCAAG
OmiNCh Pac	TTATAATTTT	AACAATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
AJ250480 O	TTATAATTTT	AACAATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
Obima culo	TTATAATTTT	AACAATAATT	CAATGATGAC	GAGATATTAT	TCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
AJ250483 O	TAATAATTAT	AACAATAATT	CAATGATGAC	GAGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OacuAust A	TTATAATTTT	AACTATAATC	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OvverB	TTATAATTTT	AACAATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OvverC	TTATGATTTT	AACAATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OspVN1	TTATAATTTT	AACAATAATC	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OspVN6	TTATAATTTT	AACAATAATC	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
Omay8Y	TTATAATTTT	AACAATAATC	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
Omay11Y	TTATAATTTT	AACAATAATC	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
Omay24Y	TTATAATTTT	AACAATAATC	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OmayVIG	TTATAATTTT	AACAATAATC	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OmayYN1	TTATAATTTT	AACAATAATC	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OmayYN2	TTATAATTTT	AACAATAATC	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OmayYN4	TTATAATTTT	AACAATAATC	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OmayYN5	TTATAATTTT	ААСААТААТС	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG

OmayYN6	TTATAATTTT	AACAATAATC	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OspGro1BP	TTATAATTTT	AACAATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OspG1CG	TTATAATTTT	AACAATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OspGr2	TTATAATTTT	AACAATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OspGr3CG	TTATAATTTT	AACAATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OspPA01	TTATAATTTT	AACAATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
OspH01	TTATAATTTT	AACAATAATT	CAATGATGAC	GTGATATTAT	CCGAGAAAGA	ACATTTCAAG
Opisthoteu	GTCTTCACAC	TTTAAAAGTT	TCGATAGGAT	TACGATGAGG	AATAATTTTA	TTTATTGTAT
AJ012121 O	GTTTCCACAC	ATCCAAAGTA	TATAATGGCC	TTCGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATTT
AJ250476 O	GTTTCCACAC	ATCCAAAGTA	TATAATGGCC	TTCGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATTT
OvSAfrFB A	GTTTCCACAC	ATCCAAAGTA	TATAATGGCC	TTCGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATCT
AJ250477 O	GTTTCCACAC	ATCCAAAGTA	TATAATGGCC	TTCGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATCT
OvSBra Atl	GTTTTCATAC	ATCCAAAGTA	TATAATGGTC	TTCGATGAGG	TATAATACTC	TTTATTATTT
OvNoBra At	GTTTTCATAC	ATCTAAAGTC	TATAACGGAT	TACGATGAGG	TATAATACTC	TTTATTATTT
OvNoBra At	GTTTTCATAC	ATCTAAAGTC	TATAACGGAT	TACGATGAGG	TATAATACTC	TTTATTATTT
OvVenCa AJ	GTTTTCATAC	ATCCAAAGTA	TATAATGGTC	TTCGATGAGG	TATAATACTC	TTTATTATTT
OvCRCar AJ	GTTTTCATAC	ATCTAAGGTT	TATAATGGGT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATTT
OvCRCar AJ	GTTTTCATAC	ATCTAAGGTT	TATAATGGGT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATTT
OvJap Inla	GCTTCCACAC	ATCTAAAGTA	TATAATGGCC	TTCGATGAGG	TATAATACTC	TTTATTATTT
OvBRio Jan	GTTTTCATAC	ATCCAAAGTA	TATAATGGTC	TTCGATGAGG	TATAATACTC	TTTATTATTT
AJ250479 O	GCTTCCACAC	ATCTAAAGTA	TATAATGGCC	TTCGATGAGG	TATAATACTC	TTTATTATTT
OmiNCh Pac	GTTTTCATAC	ATCTAAGGTT	TATAATGGGT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATTT
AJ250480 O	GTTTTCACAC	ATCTAAGGTT	TATAATGGGT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATTT
Obima culo	GTTTTCATAC	ATCTAAAGTA	TATAATGGAT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTCATTATTT
AJ250483 O	GATTTCATAC	CACTAAAGTT	TATAATGGTT	TACGATGAGG	CATAATATTA	TTTATTACAT
OacuAust A	GATATCATAC	CTCTAAAGTA	TATAACGGTC	TACGATGAGG	ΑΑΤΑΑΤΑΤΤΑ	TTTATTATCT
OvverB	GTTTTCATAC	ATCTAAAGTC	TATAACGGAT	TACGATGAGG	TATAATACTC	TTTATTATTT
OvverC	GTTTTCATAC	ATCTAAAGTC	TATAACGGAT	TACGATGAGG	TATAATACTC	TTTATTATTT
OspVN1	GTTTTCACAC	ATCTAAAGTC	TATAATGGAT	TACGATGAGG	TATAATACTC	TTTATTATCT
OspVN6	GTTTTCACAC	ATCTAAAGTC	TATAATGGAT	TACGATGAGG	TATAATACTC	TTTATTATCT
Omay8Y	GTTTCCACAC	ATCTAAAGTC	TATAATGGAT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATCT
Omay11Y	GTTTCCACAC	ATCTAAAGTC	TATAATGGAT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATCT
Omay24Y	GTTTCCACAC	ATCTAAAGTC	TATAATGGAT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATCT
OmayVIG	GTTTCCACAC	ATCTAAAGTC	TATAATGGAT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATCT
OmayYN1	GTTTCCACAC	ATCTAAAGTC	TATAATGGAT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATCT
OmayYN2	GTTTCCACAC	ATCTAAAGTC	TATAATGGAT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATCT
OmayYN4	GTTTCCACAC	ATCTAAAGTC	TATAATGGAT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATCT
OmayYN5	GTTTCCACAC	ATCTAAAGTC	TATAATGGAT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATCT

OmayYN6	GTTTCCACAC	ATCTAAAGTC	TATAATGGAT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATCT
OspGro1BP	GTTTTCATAC	ATCTAAGGTT	TATAATGGGT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATTT
OspG1CG	GTTTTCATAC	ATCTAAGGTT	TATAATGGGT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATTT
OspGr2	GTTTTCATAC	ATCTAAGGTT	TATAATGGGT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATTT
OspGr3CG	GTTTTCATAC	ATCTAAGGTT	TATAATGGGT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATTT
OspPA01	GTTTTCATAC	ATCTAAGGTT	TATAATGGGT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATTT
OspH01	GTTTTCATAC	ATCTAAGGTT	TATAATGGGT	TACGATGAGG	TATAATACTT	TTTATTATTT
Opisthoteu	CAGAGATTTG	TTTTTTTCTTC	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	TCATAGAAGT	TTAGCCCCTA
AJ012121 O	CAGAAGTATG	TTTCTTTTTT	GCTTTCTTTT	GAGCCTATTT	CCATAGTAGT	TTAGCTCCTA
AJ250476 O	CAGAAGTATG	TTTCTTTTTT	GCTTTCTTTT	GAGCTTATTT	TCATAGTAGT	TTAGCTCCTA
OvSAfrFB A	CAGAAGTATG	TTTCTTTTTT	GCTTTCTTT	GAGCTTATTT	TCACAGTAGT	TTAGCTCCTA
AJ250477 O	CAGAAGTATG	TTTCTTTTTT	GCTTTCTTTT	GAGCTTATTT	TCACAGTAGT	TTAGCTCCTA
OvSBra Atl	CAGAAGTATG	TTTCTTTTTT	GCTTTCTTTT	GAGCCTATTT	CCATAGTAGT	TTAGCTCCTA
OvNoBra At	CAGAAGTTTG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	TCATAGAAGT	TTAGCTCCAA
OvNoBra At	CAGAAGTTTG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	TCATAGAAGT	TTAGCTCCAA
OvVenCa AJ	CAGAAGTATG	TTTCTTTTTT	GCTTTCTTT	GAGCCTATTT	CCATAGTAGT	TTAGCTCCTA
OvCRCar AJ	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTT	GCTTTCTTTT	GAGCTTATTT	TCATAGAAGT	TTAGCCCCAA
OvCRCar AJ	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTT	GCTTTCTTT	GAGCTTATTT	TCATAGAAGT	TTAGCTCCAA
OvJap Inla	CAGAAGTATG	TTTCTTTTTT	GCTTTCTTTT	GAGCCTATTT	CCATAGTAGT	TTAGCTCCTA
OvBRio Jan	CAGAAGTATG	TTTCTTTTTT	GCTTTCTTT	GAGCCTATTT	TCATAGTAGT	TTAGCTCCTA
AJ250479 O	CAGAAGTATG	TTTCTTTTTT	GCTTTCTTT	GAGCCTATTT	CCATAGTAGT	TTAGCTCCTA
OmiNCh Pac	CAGAAGTATG	TTTTTTTTG	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	TCATAGAAGT	TTAGCCCCAA
AJ250480 O	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	TCACAGAAGT	TTAGCCCCAA
Obima culo	CAGAAGTATG	TTTTTTTCTTT	GCTTTTTTTT	GAGCATATTT	TCATAGAAGT	TTAGCTCCAA
AJ250483 O	CAGAAATTTG	TTTCTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCCTACTT	TCATAGAAGA	TTAGCTCCAA
OacuAust A	CTGAAGTATG	TTTTTTCTTC	GCATTCTTCT	GAGCCTATTT	CCACAGAAGG	TTAGCCCCCA
OvverB	CAGAAGTTTG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	TCATAGAAGT	TTAGCTCCAA
OvverC	CAGAAGTTTG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	TCATAGAAGT	TTAGCTCCAA
OspVN1	CAGAAGTTTG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	CCATAGAAGT	TTAGCCCCAA
OspVN6	CAGAAGTTTG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	CCATAGAAGT	TTAGCCCCAA
Omay8Y	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	CCATAGAAGT	TTAGCCCCAA
Omay11Y	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	CCATAGAAGT	TTAGCCCCAA
Omay24Y	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	CCATAGAAGT	TTAGCCCCAA
OmayVIG	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	CCATAGAAGT	TTAGCCCCAA
OmayYN1	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	CCATAGAAGT	TTAGCCCCAA
OmayYN2	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	CCATAGAAGT	TTAGCCCCAA
OmayYN4	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	CCATAGAAGT	TTAGCCCCAA
OmayYN5	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	CCATAGAAGT	TTAGCCCCAA
OmayYN6	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	CCATAGAAGT	TTAGCCCCAA
------------	------------	-------------	------------	------------	------------	------------
OspGro1BP	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	TCACAGAAGT	TTAGCCCCAA
OspG1CG	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	TCACAGAAGT	TTAGCCCCAA
OspGr2	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	TCACAGAAGT	TTAGCCCCAA
OspGr3CG	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	TCACAGAAGT	TTAGCCCCAA
OspPA01	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	TCACAGAAGT	TTAGCCCCAA
OspH01	CAGAAGTATG	TTTTTTTTTTT	GCTTTTTTTT	GAGCTTATTT	TCACAGAAGT	TTACCCCCAA
Opisthoteu	CGATAGAAAT	TGGAGCTTGC	TGACCCCCAA	TATATATTTC	ACCATTAAAT	CCATTTCAAA
AJ012121 O	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCTCCCA	TTTACATTTT	TCCCCTTAAT	CCTTTCCAAA
AJ250476 O	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCTCCCA	TTTACATTTT	TCCCCTTAAT	CCTTTCCAAA
OvSAfrFB A	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCTCCCA	TTTACATTTT	TCCCCTTAAT	CCTTTCCAAA
AJ250477 O	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCTCCCA	TTTACATTTT	TCCCCTTAAT	CCTTTCCAAA
OvSBra Atl	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCTCCCA	TTTACATTTT	CCCCCTAAAT	CCTTTCCAAA
OvNoBra At	ATATAGATAT	TGGCTCATGC	TGACCACCCA	TTTACATTTT	CCCACTAAAT	CCATTCCAAA
OvNoBra At	ATATAGATAT	TGGCTCATGC	TGACCACCCA	TTTACATTTT	CCCACTAAAT	CCATTCCAAA
OvVenCa AJ	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCTCCCA	TTTACATTTT	CCCCCTAAAT	CCTTTTCAAA
OvCRCar AJ	ATGTAGATAT	TGGTTCATGT	TGACCTCCTA	TTAATATTTT	CCCACTAAAC	CCATTCCAAA
OvCRCar AJ	ATATAGATAT	TGGTTCATGT	TGACCTCCCA	TTAATATTTT	CCCACTAAAC	CCATTCCAAA
OvJap Inla	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCTCCTA	TTTATATTTT	TCCCCTTAAT	CCTTTCCAAA
OvBRio Jan	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCTCCCA	TTTACATTTT	CCCCCTAAAT	CCTTTCCAAA
AJ250479 O	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCTCCTA	TTTATATTTT	TCCCCTTAAT	CCTTTCCAAA
OmiNCh Pac	ATATAGATAT	TGGTTCATGT	TGACCTCCTA	TTAATATTTT	CCCACTAAAC	CCATTCCAAA
AJ250480 O	ATATAGATAT	TGGTTCATGT	TGACCTCCTA	TTAATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTCCAAA
Obima culo	ATATAGATAT	TGGATCTTGT	TGACCACCTA	TTTATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTCCAAA
AJ250483 O	GTACAGATAT	TGGAGCTTGT	TGACCTCCAA	TTAATATTTA	TCCATTAAAT	CCATTTCAAA
OacuAust A	ATATAGACAT	TGGCTCCTGT	TGACCTCCTA	TTTACATTTT	CCCTCTAAAT	CCTTTCCAAA
OvverB	ATATAGATAT	TGGCTCATGC	TGACCACCCA	TTTACATTTT	CCCACTAAAT	CCATTCCAAA
OvverC	ATATAGATAT	TGGCTCATGC	TGACCACCCA	TTTACATTTT	CCCACTAAAT	CCATTCCAAA
OspVN1	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCACCCA	TTTATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTTCAAA
OspVN6	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCACCCA	TTTATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTTCAAA
Omay8Y	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCACCCA	TTTATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTTCAAA
Omay11Y	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCACCCA	TTTATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTTCAAA
Omay24Y	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCACCCA	TTTATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTTCAAA
OmayVIG	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCACCCA	TTTATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTTCAAA
OmayYN1	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCACCCA	TTTATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTTCAAA
OmayYN2	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCACCCA	TTTATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTTCAAA
OmayYN4	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCACCCA	TTTATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTTCAAA
OmayYN5	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCACCCA	TTTATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTTCAAA

OmayYN6	ATATAGATAT	TGGATCATGT	TGACCACCCA	TTTATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTTCAAA
OspGro1BP	ATATAGATAT	TGGTTCATGT	TGACCTCCTA	TTAATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTCCAAA
OspG1CG	ATATAGATAT	TGGTTCATGT	TGACCTCCTA	TTAATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTCCAAA
OspGr2	ATATAGATAT	TGGTTCATGT	TGACCTCCTA	TTAATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTCCAAA
OspGr3CG	ATATAGATAT	TGGTTCATGT	TGACCTCCTA	TTAATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTCCAAA
OspPA01	ATATAGATAT	TGGTTCATGT	TGACCTCCTA	TTAATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTCCAAA
OspH01	ATATAGATAT	TGGTTCATGT	TGACCTCCTA	TTAATATTTT	CCCATTAAAT	CCATTCCAAA
Opisthoteu	TTCCTCTACT	TAACACAGCC	ATTCTCTTAT	CCTCAGGAAT	TACAGTAACA	TGAGCCCATC
AJ012121 O	TTCCCTTACT	TAATACAGCA	ATCTTATTAG	CCTCTGGTGT	ATCCGTCACC	TGAGCACACC
AJ250476 O	TTCCCTTACT	TAATACAGCA	ATCTTATTAG	CCTCTGGTGT	ATCCGTCACC	TGAGCACACC
OvSAfrFB A	TTCCCTTACT	TAATACAGCA	ATCTTATTAG	CCTCTGGTGT	ATCCGTCACC	TGAGCACACC
AJ250477 O	TTCCCTTACT	TAATACAGCA	ATCTTATTAG	CCTCTGGTGT	ATCCGTCACC	TGAGCACACC
OvSBra Atl	TTCCCTTACT	AAATACAGCA	ATCTTATTAG	CCTCTGGTGT	ATCTGTCACC	TGAGCACATC
OvNoBra At	TTCCTCTTCT	TAATACAGCA	ATTTTATTAG	CTTCAGGTGT	ATCTGTTACC	TGAGCACATC
OvNoBra At	TTCCTCTTCT	TAATACAGCA	ATTTTATTAG	CTTCAGGTGT	ATCTGTTACC	TGAGCACATC
OvVenCa AJ	TTCCCTTACT	AAATACAGCA	ATCTTATTAG	CCTCTGGTGT	ATCTGTCACC	TGAGCACATC
OvCRCar AJ	TTCCTCTCCT	CAATACAGCA	ATCTTACTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTCACA	TGAGCACATC
OvCRCar AJ	TTCCTCTCCT	CAATACAGCA	ATCTTACTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTCACA	TGAGCACATC
OvJap Inla	TTCCCTTATT	AAATACAGCA	ATCTTGTTAG	CCTCCGGTGT	ATCCGTCACC	TGAGCACACC
OvBRio Jan	TTCCCTTACT	AAATACAGCA	ATCTTATTAG	CCTCTGGTGT	ATCTGTCACC	TGAGCACATC
AJ250479 O	TTCCCTTATT	AAATACAGCA	ATCTTGTTAG	CCTCCGGTGT	ATCCGTCACC	TGAGCACACC
OmiNCh Pac	TTCCTCTCCT	CAATACAGCA	ATTTTACTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACA	TGAGCACATC
AJ250480 O	TTCCTCTCCT	CAATACAGCA	ATTTTACTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACA	TGAGCACATC
Obima culo	TCCCTCTACT	CAATACAGCA	ATTCTATTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACC	TGAGCTCATC
AJ250483 O	TTCCTCTCTT	AAATACTGCC	ATTCTTCTAT	CGTCTGGTGT	ATCTGTAACT	TGAGCTCATC
OacuAust A	TTCCCCTTCT	TAACACAGCA	ATTTTACTTG	CTTCAGGTGT	TTCAGTAACA	TGAGCTCATC
OvverB	TTCCTCTTCT	TAATACAGCA	ATTTTATTAG	CTTCAGGTGT	ATCTGTTACC	TGAGCACATC
OvverC	TTCCTCTTCT	TAATACAGCA	ATTTTATTAG	CTTCAGGTGT	ATCTGTTACC	TGAGCACATC
OspVN1	TTCCTCTCCT	TAATACAGCA	ATTTTATTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACT	TGAGCACATC
OspVN6	TTCCTCTCCT	TAATACAGCA	ATTTTATTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACT	TGAGCACATC
Omay8Y	TTCCTCTCCT	TAATACAGCA	ATTTTATTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACT	TGAGCACATC
Omay11Y	TTCCTCTCCT	TAATACAGCA	ATTTTATTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACT	TGAGCACATC
Omay24Y	TTCCTCTCCT	TAATACAGCA	ATTTTATTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACT	TGAGCACATC
OmayVIG	TTCCTCTCCT	TAATACAGCA	ATTTTATTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACT	TGAGCACATC
OmayYN1	TTCCTCTCCT	TAATACAGCA	ATTTTATTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACT	TGAGCACATC
OmayYN2	TTCCTCTCCT	TAATACAGCA	ATTTTATTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACT	TGAGCACATC
OmayYN4	TTCCTCTCCT	TAATACAGCA	ATTTTATTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACT	TGAGCACATC
OmayYN5	TTCCTCTCCT	TAATACAGCA	ATTTTATTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACT	TGAGCACATC

OmayYN6	TTCCTCTCCT	TAATACAGCA	ATTTTATTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACT	TGAGCACATC
OspGro1BP	TTCCTCTCCT	CAATACAGCA	ATTTTACTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACA	TGAGCACATC
OspG1CG	TTCCTCTCCT	CAATACAGCA	ATTTTACTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACA	TGAGCACATC
OspGr2	TTCCTCTCCT	CAATACAGCA	ATTTTACTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACA	TGAGCACATC
OspGr3CG	TTCCTCTCCT	CAATACAGCA	ATTTTACTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACA	TGAGCACATC
OspPA01	TTCCTCTCCT	CAATACAGCA	ATTTTACTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACA	TGAGCACATC
OspH01	TTCCTCTCCT	CAATACAGCA	ATTTTACTAG	CTTCAGGTGT	ATCCGTTACA	TGAGCACATC
Opisthoteu	ACTCATTAAT	AAACAGAAAT	TTAAATCAAG	TTATCCAAGC	TATAATTGCA	ACTATTATTT
AJ012121 O	ATTCACTAAT	AAATAATGAT	TTAAAATCCG	CAACTCACTC	TATAATTATT	ACTATTTCCT
AJ250476 O	ATTCACTAAT	AAATAATGAT	TTAAAATCCG	CAACTCACTC	TATAATTATT	ACTATTTCCT
OvSAfrFB A	ATTCACTAAT	AAATAATGAT	TTAAAATCCG	CAACTCACTC	TATAATTATT	ACTATTTCCT
AJ250477 O	ATTCACTAAT	AAATAATGAT	TTAAAATCCG	CAACTCACTC	TATAATTATT	ACTATTTCCT
OvSBra Atl	ATTCACTAAT	AAATAATGAT	TTAAAATCCG	CAACTCACTC	CATAATTATT	ACTATTTCCT
OvNoBra At	ACTCATTAAT	АААТААТААС	CTAAAATCCG	CAACTCATTC	TATAATTATT	ACTATTTCTT
OvNoBra At	ACTCATTAAT	АААТААТААС	CTAAAATCCG	CAACTCATTC	TATAATTATT	ACTATTTCTT
OvVenCa AJ	ATTCACTAAT	AAATAATGAT	TTAAAATCCG	CAACTCACTC	CATAATTATT	ACTATTTCCT
OvCRCar AJ	ATTCACTAAT	AAATAATGAC	CTAAAATCCG	CAACTCATTC	TATAATTGTT	ACTATCTCCT
OvCRCar AJ	ATTCACTAAT	AAATAATGAC	CTAAAATCCG	CAACTCATTC	TATAATTGTA	ACTATCTCCT
OvJap Inla	ATTCACTAAT	AAATAATGAT	TTAAAATCCG	CAACTCACTC	TATAATTATT	ACTATTTCCT
OvBRio Jan	ATTCACTAAT	AAATAATGAT	TTAAAATCCG	CAACTCACTC	CATAATTATT	ACTATTTCCT
AJ250479 O	ATTCACTAAT	AAATAATGAT	TTAAAATCCG	CAACTCACTC	TATAATTATT	ACTATTTCCT
OmiNCh Pac	ATTCATTAAT	АААТААТААС	CTAAAATCCG	CAACTCATTC	TATAATTGTA	ACTATCTCTT
AJ250480 O	ATTCATTAAT	АААТААТААС	CTAAAATCCG	CAACTCATTC	TATAATTATC	ACTATCTCTT
Obima culo	ATTCACTAAT	АААТААТААТ	CTAAAATCCG	CAACTCACTC	CATAATCATT	ACCATCTCCT
AJ250483 O	ACTCACTAAT	AAGAAATAAA	TTAAATCCAG	CCATTCACTC	TATAATTATT	ACCATTATAC
OacuAust A	ACTCCCTTAT	AAATAATGAA	TTAAAACCCG	CCACTCATTC	AATAATTATC	ACCATCTCTT
OvverB	ACTCATTAAT	АААТААТААС	CTAAAATCCG	CAACTCATTC	TATAATTATT	ACTATTTCTT
OvverC	ACTCATTAAT	АААТААТААС	CTAAAATCCG	CAACTCATTC	TATAATTATT	ACTATTTCTT
OspVN1	ATTCATTAAT	АААТААТААС	TTAAAATCCG	CAATCCATTC	TATAATTATT	ACTATTTCTT
OspVN6	ATTCATTAAT	АААТААТААС	TTAAAATCCG	CAATCCATTC	TATAATTATT	ACTATTTCTT
Omay8Y	ATTCATTAAT	АААТААТААС	TTAAAATCCG	CAATCCATTC	TATAATTATT	ACTATTTCTT
Omay11Y	ATTCATTAAT	АААТААТААС	TTAAAATCCG	CAATCCATTC	TATAATTATT	ACTATTTCTT
Omay24Y	ATTCATTAAT	АААТААТААС	TTAAAATCCG	CAATCCATTC	TATAATTATT	ACTATTTCTT
OmayVIG	ATTCATTAAT	АААТААТААС	TTAAAATCCG	CAATCCATTC	TATAATTATT	ACTATTTCTT
OmayYN1	ATTCATTAAT	АААТААТААС	TTAAAATCCG	CAATCCATTC	TATAATTATT	ACTATTTCTT
OmayYN2	ATTCATTAAT	АААТААТААС	TTAAAATCCG	CAATCCATTC	TATAATTATT	ACTATTTCTT
OmayYN4	ATTCATTAAT	АААТААТААС	TTAAAATCCG	CAATCCATTC	TATAATTATT	ACTATTTCTT
OmayYN5	ATTCATTAAT	АААТААТААС	TTAAAATCCG	CAATCCATTC	TATAATTATT	ACTATTTCTT

OmayYN6ATTCATTAATAAATAATAACTTAAAATCCGCAATCCATTCTATAATTATTACTATTTCTTOspGro1BPATTCATTAATAAATAATAACCTAAAAATCCGCAACTCATTCTATAATTATCACTATCTCTTOspG1CGATTCATTAATAAATAATAACCTAAAAATCCGCAACTCATTCTATAATTATCACTATCTCTTOspGr2ATTCATTAATAAATAATAACCTAAAATCCGCAACTCATTCTATAATTATCACTATCTCTTOspGr3CGATTCATTAATAAATAATAACCTAAAATCCGCAACTCATTCTATAATTATCACTATCTCTTOspPA01ATTCATTAATAAATAATAACCTAAAATCCGCAACTCATTCTATAATTATCACTATCTCTTOspH01ATTCATTAATAAATAATAACCTAAAATCCGCAACTCATTCTATAATTATCACTATCTCTT

Opisthoteu TAGGAACTTA TTTTACTATT CTCCAAGCAA TGGAATATAA TGAAACATCG TTTTCTATTT TAGGATTTTA TTTTACAATC CTTCAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATTT AJ012121 0 AJ250476 O TAGGATTTTA TTTTACAATC CTTCAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATTT TAGGATTTTA TTTTACAATT CTTCAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATTT OvSAfrFB A AJ250477 O TAGGATTTTA TTTTACAATT CTTCAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATTT TAGGATTTTA TTTTACAATT CTCCAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATTT OvSBra Atl TAGGATTTTA CTTTACAATC CTTCAAGTGA TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATTT OvNoBra At OvNoBra At TAGGATTTTA CTTCACAATC CTTCAAGTGA TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATTT TAGGATTTTA TTTTACAATT CTCCAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATTT OvVenCa AJ TAGGATTTTA TTTCACAATC CTCCAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT OvCRCar AJ OvCRCar AJ TAGGATTTTA TTTCACAATC CTTCAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT TAGGGTTTTA TTTTACAATC CTCCAAATAT TAGAGTATAT AGAAGCATCA TTTTCTATTT OvJap Inla TAGGATTTTA TTTTACAATT CTCCAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATTT OvBRio Jan AJ250479 O TAGGGTTTTA TTTTACAATC CTCCAAATAT TAGAGTATAT AGAAGCATCA TTTTCTATTT OmiNCh Pac TAGGATTTTA TTTCACAATC CTTCAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT AJ250480 O TAGGATTTTA TTTCACAATC CTTCAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT TAGGATTTTA CTTTACAATT CTACAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATTT Obima culo AJ250483 O TAGGATTTTA TTTCACATTT TTACAAATAA TAGAATATAT TGAAGCATCA TTTTCTATCT TAGGATTCTA TTTTACTATT CTTCAAATAA TAGAATATAT AGAAGCATCT TTTTCCATCT OacuAust A TAGGATTTTA CTTTACAATC CTTCAAGTGA TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATTT OvverB OvverC TAGGATTTTA CTTTACAATC CTTCAAGTGA TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATTT OspVN1 TAGGATTTTA CTTTACAATC CTTCAAATAA TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT OspVN6 TAGGATTTTA CTTTACAATC CTTCAAATAA TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT Omay8Y TAGGATTTTA CTTTACAATC CTTCAAATAA TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT Omay11Y TAGGATTTTA CTTTACAATC CTTCAAATAA TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT TAGGATTTTA CTTTACAATC CTTCAAATAA TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT Omay24Y OmayVIG TAGGATTTTA CTTTACAATC CTTCAAATAA TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT TAGGATTTTA CTTTACAATC CTTCAAATAA TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT OmayYN1 TAGGATTTTA CTTTACAATC CTTCAAATAA TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT OmayYN2 OmayYN4 TAGGATTTTA CTTTACAATC CTTCAAATAA TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT OmavYN5 TAGGATTTTA CTTTACAATC CTTCAAATAA TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT TAGGATTTTA CTTTACAATC CTTCAAATAA TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT OmayYN6 OspGro1BP TAGGATTTTA TTTCACAATC CTTCAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT TAGGATTTTA TTTCACAATC CTTCAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT OspG1CG TAGGATTTTA TTTCACAATC CTTCAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT OspGr2 TAGGATTTTA TTTCACAATC CTTCAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT OspGr3CG OspPA01 TAGGATTTTA TTTCACAATC CTTCAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT OspH01 TAGGATTTTA TTTCACAATC CTTCAAATAT TAGAATATAT AGAAGCATCA TTTTCTATCT

Opisthoteu CTGATAGTGT ATATGGCTCA ACTTTTTTG TTTCTACAGG TTTTCATGGA TTGCATGTTA AJ012121 O CAGATAGAAT TTATGGTTCA ACTTTCTTTG TAGCAACAGG TTTTCACGGC TTACATGTAA CAGATAGAAT TTACGGTTCA ACCTTCTTTG TAGCAACAGG TTTTCACGGC TTACATGTAA AJ250476 O OvSAfrFB A CAGATAGAAT TTACGGTTCA ACCTTCTTTG TAGCAACAGG TTTTCACGGC TTACATGTAA AJ250477 O CAGATAGAAT TTACGGTTCA ACCTTCTTTG TAGCAACAGG TTTTCACGGC TTACATGTAA OvSBra Atl CAGATAGAAT TTATGGTTCA ACCTTTTTTG TAGCAACAGG TTTTCATGGC TTACATGTAA OvNoBra At CAGACAGAAT TTATGGATCA ACTTTTTTG TAGCAACAGG ATTCCATGGC CTTCATGTAA CAGACAGAAT TTATGGATCA ACTTTTTTG TAGCAACAGG ATTCCATGGC CTTCATGTAA OvNoBra At OvVenCa AJ CAGATAGAAT TTATGGTTCA ACCTTTTTTG TAGCAACAGG TTTTCATGGC TTACATGTAA CAGATAGAAT CTATGGATCA ACCTTTTTTG TAGCAACAGG ATTTCATGGT CTACATGTAA OvCRCar AJ CAGATAGAAT CTATGGTTCA ACCTTCTTTG TAGCAACAGG ATTTCATGGT CTACATGTAA OvCRCar AJ CAGATAGAAT TTATGGTTCA ACTTTCTTTG TAGCAACAGG TTTTCACGGC TTACATGTAA OvJap Inla CAGATAGAAT TTATGGTTCA ACCTTTTTTG TAGCAACAGG TTTTCATGGC TTACATGTAA OvBRio Jan AJ250479 O CAGATAGAAT TTATGGTTCA ACTTTCTTTG TAGCAACAGG TTTTCACGGC TTACATGTAA OmiNCh Pac CAGATAGAAT CTATGGATCA ACCTTTTTTG TAGCAACAGG ATTTCATGGT CTTCATGTAA AJ250480 O CAGATAGAAT CTATGGATCA ACCTTTTTTG TAGCAACAGG ATTTCATGGT CTTCATGTAA Obima culo CAGATAGAAT TTATGGTTCA ACCTTTTTTG TAGCAACTGG GTTTCATGGA CTTCATGTAA AJ250483 O CAGATAGAAT TTATGGCTCA ACTTTTTTG TAGCTACAGG ATTTCACGGA CTTCATGTAA CAGACAGTAT TTACGGCTCA ACTTTTTTG TCGCAACAGG ATTTCACGGC CTACATGTTA OacuAust A OvverB CAGACAGAAT TTATGGATCA ACTTTTTTG TAGCAACAGG ATTCCATGGC CTTCATGTAA CAGACAGAAT TTATGGATCA ACTTTTTTG TAGCAACAGG ATTCCATGGC CTTCATGTAA OvverC OspVN1 CAGATAGAAT TTATGGATCA ACTTTTTTTG TAGCTACAGG ATTTCATGGC CTTCATGTAA OspVN6 CAGATAGAAT TTATGGATCA ACTTTTTTG TAGCTACAGG ATTTCATGGC CTTCATGTAA CAGATAGAAT TTATGGATCA ACTTTTTTG TAGCTACAGG ATTTCATGGC CTTCATGTAA Omay8Y CAGATAGAAT TTATGGATCA ACTTTTTTG TAGCTACAGG ATTTCATGGC CTTCATGTAA Omay11Y Omay24Y CAGATAGAAT TTATGGATCA ACTTTTTTG TAGCTACAGG ATTTCATGGC CTTCATGTAA CAGATAGAAT TTATGGATCA ACTTTTTTG TAGCTACAGG ATTTCATGGC CTTCATGTAA OmayVIG OmayYN1 CAGATAGAAT TTATGGATCA ACTTTTTTG TAGCTACAGG ATTTCATGGC CTTCATGTAA OmayYN2 CAGATAGAAT TTATGGATCA ACTTTTTTG TAGCTACAGG ATTTCATGGC CTTCATGTAA

OmayYN4	CAGATAGAAT	TTATGGATCA	ACTTTTTTTG	TAGCTACAGG	ATTTCATGGC	CTTCATGTAA
OmayYN5	CAGATAGAAT	TTATGGATCA	ACTTTTTTTG	TAGCTACAGG	ATTTCATGGC	CTTCATGTAA
OmayYN6	CAGATAGAAT	TTATGGATCA	ACTTTTTTTG	TAGCTACAGG	ATTTCATGGC	CTTCATGTAA
OspGro1BP	CAGATAGAAT	CTATGGATCA	ACCTTTTTTG	TAGCAACAGG	ATTTCATGGT	CTTCATGTAA
OspG1CG	CAGATAGAAT	CTATGGATCA	ACCTTTTTTG	TAGCAACAGG	ATTTCATGGT	CTTCATGTAA
OspGr2	CAGATAGAAT	CTATGGATCA	ACCTTTTTTG	TAGCAACAGG	ATTTCATGGT	CTTCATGTAA
OspGr3CG	CAGATAGAAT	CTATGGATCA	ACCTTTTTTG	TAGCAACAGG	ATTTCATGGT	CTTCATGTAA
OspPA01	CAGATAGAAT	CTATGGATCA	ACCTTTTTTG	TAGCAACAGG	ATTTCATGGT	CTTCATGTAA
OspH01	CAGATAGAAT	CTATGGATCA	ACCTTTTTTG	TAGCAACAGG	ATTTCATGGT	CTTCATGTAA

.....

	485	495	505
Opisthoteu	TTATTGGGAC	TCTTTTTTTA	TTAACATCT
AJ012121 O	TTATTGGATC	AACTTTCCTT	CTAATATGT
AJ250476 O	TTATTGGATC	AACTTTCCTT	CTAATATGT
OvSAfrFB A	TTATTGGATC	AACTTTCCTT	CTAATATGT
AJ250477 O	TTATTGGATC	AACTTTCCTT	CTAATATGT
OvSBra Atl	TTATTGGATC	AACCTTCCTT	CTAATATGT
OvNoBra At	TTATTGGATC	AACTTTTCTT	CTAATATGT
OvNoBra At	TTATTGGATC	AACTTTTCTT	CTAATATGT
OvVenCa AJ	TTATTGGATC	AACCTTCCTT	CTAATATGT
OvCRCar AJ	TTATTGGATC	AACCTTCCTT	CTAATATGT
OvCRCar AJ	TTATTGGATC	AACCTTCCTT	CTAATATGT
OvJap Inla	TTATTGGATC	AACCTTCCTT	CTAATATGT
OvBRio Jan	TTATTGGATC	AACCTTCCTT	CTAATATGT
AJ250479 O	TTATTGGATC	AACCTTCCTT	CTAATATGT
OmiNCh Pac	TTATTGGATC	AACCTTTCTT	CTTATATGT
AJ250480 O	TTATTGGATC	AACCTTTCTT	CTTATATGT
Obima culo	TTATTGGATC	AACTTTCCTT	TTCATATGT
AJ250483 O	TCATTGGTTC	TACTTTTCTC	CTAATATGT
OacuAust A	TCATCGGATC	TACTTTTCTC	CTTATATGT
OvverB	TTATTGGATC	AACTTTTCTT	CTAATATGT
OvverC	TTATTGGATC	AACTTTTCTT	CTAATATGT
OspVN1	TTATTGGATC	AACTTTTCTT	CTAATATGT
OspVN6	TTATTGGATC	AACTTTTCTT	CTAATATGT
Omay8Y	TTATTGGATC	AACTTTTCTT	CTAATATGT
Omay11Y	TTATTGGATC	AACTTTTCTT	CTAATATGT
Omay24Y	TTATTGGATC	AACTTTTCTT	CTAATATGT

TTATTGGATC	AACTTTTCTT	CTAATATGT
TTATTGGATC	AACTTTTCTT	CTAATATGT
TTATTGGATC	AACCTTTCTT	CTTATATGT
TTATTGGATC	AACCTTTCTT	CTTATAGGT
TTATTGGATC	AACCTTTCTT	CTTATATGT
	TTATTGGATC TTATTGGATC TTATTGGATC TTATTGGATC TTATTGGATC TTATTGGATC TTATTGGATC TTATTGGATC TTATTGGATC TTATTGGATC	TTATTGGATCAACTTTCTTTTATTGGATCAACTTTCTTTTATTGGATCAACTTTCTTTTATTGGATCAACTTTCTTTTATTGGATCAACCTTTCTTTTATTGGATCAACCTTTCTTTTATTGGATCAACCTTTCTTTTATTGGATCAACCTTTCTTTTATTGGATCAACCTTTCTTTTATTGGATCAACCTTTCTTTTATTGGATCAACCTTTCTTTTATTGGATCAACCTTTCTTTTATTGGATCAACCTTTCTTTTATTGGATCAACCTTTCTTTTATTGGATCAACCTTTCTTTTATTGGATCAACCTTTCTT

			I	DISI	ancia	is ge	eneu	ICa I	1192	enu	ie pa	ares	ue s	ecu	enci	as c		SIL	apioi	ipos	rest	Jeilo	is pa	la l	105.					
	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	26	27	28	29	30
1																														
2	19.6																													
3	11.2	20.4																												
4	11.6	19.5	0.6																											
5	12.0	19.1	0.9	0.3																										
6	12.0	19.1	0.9	0.3	0.0																	_		_						
7	11.6	18.7	1.2	0.6	0.3	0.3																								
8	11.9	20.4	1.8	1.8	2.1	2.1	2.4															_		_						
9	11.8	19.4	9.0	8.6	8.3	8.3	7.9	9.6														_		_						
10	11.9	20.4	1.8	1.8	2.1	2.1	2.4	0.0	9.6													_		_						
11	11.9	19.9	1.5	1.5	1.8	1.8	2.1	2.0	8.7	2.0	_		_									_	_	_						
12	11.9	19.9	1.5	1.5	1.8	1.8	2.1	2.0	8.7	2.0	0.0											_		_						
13	13.5	20.6	10.6	10.6	10.2	10.2	9.9	11.3	4.5	11.3	10.2	10.2										_	_	_						
14	13.5	19.7	10.2	10.2	9.9	9.9	9.5	10.9	5.1	10.9	9.9	9.9	1.2									_		_						
15	12.3	21.3	8.5	8.5	8.2	8.2	7.9	9.9	7.0	9.9	8.2	8.2	6.7	7.4										_						
16	15.5	22.7	14.6	14.6	14.2	14.2	14.6	15.7	13.9	15.7	14.6	14.6	14.4	13.7	13.3							_		_						
17	11.3	21.1	8.8	8.2	8.5	8.5	8.9	9.5	10.2	9.5	8.8	8.8	11.2	10.9	11.6	14.1														
18	11.9	19.0	9.0	8.3	7.9	7.9	7.6	9.7	0.3	9.7	8.7	8.7	4.5	5.2	7.1	13.9	9.9					_		_						
19	12.0	19.2	9.6	9.6	9.3	9.3	8.9	9.6	4.2	9.6	8.6	8.6	3.3	3.9	6.7	14.4	9.2	4.2												
20	12.0	19.2	9.6	9.6	9.3	9.3	8.9	9.6	4.2	9.6	8.6	8.6	3.3	3.9	6.7	14.4	9.2	4.2	0.0			_		_						
21	12.0	19.2	9.6	9.6	9.3	9.3	8.9	9.6	4.2	9.6	8.6	8.6	3.3	3.9	6.7	14.4	9.2	4.2	0.0	0.0										
22	11.9	19.0	9.0	8.3	7.9	7.9	7.6	9.7	0.3	9.7	8.7	8.7	4.5	5.2	7.1	13.9	9.9	0.0	4.2	4.2	4.2									
23	11.8	18.9	8.7	8.0	7.6	7.6	7.3	9.4	0.6	9.4	8.4	8.4	4.5	5.1	6.8	14.3	9.9	0.3	4.2	4.2	4.2	0.3								
24	13.5	18.0	10.6	10.6	10.3	10.3	9.9	11.3	4.2	11.3	10.3	10.3	3.9	4.0	6.7	14.3	12.4	4.2	4.3	4.3	4.3	4.2	4.5	_						
25	13.6	19.3	9.9	9.9	9.6	9.6	9.2	10.6	4.8	10.6	9.6	9.6	1.4	0.3	7.8	14.0	11.2	4.9	4.2	4.2	4.2	4.9	4.8	4.2						
26	13.5	19.7	10.2	10.2	9.9	9.9	9.5	10.9	5.1	10.9	9.9	9.9	1.2	0.0	7.4	13.7	10.9	5.2	3.9	3.9	3.9	5.2	5.1	4.0	0.3					
27	13.1	19.3	9.9	9.9	9.5	9.5	9.2	10.6	4.8	10.6	9.6	9.6	1.5	0.3	7.8	13.3	10.6	4.8	3.6	3.6	3.6	4.8	4.8	3.6	0.6	0.3				
28	12.3	21.3	8.5	8.5	8.2	8.2	7.9	9.9	7.0	9.9	8.2	8.2	6.7	7.4	0.0	13.3	11.6	7.1	6.7	6.7	6.7	7.1	6.8	6.7	7.8	7.4	7.8			
29	12.3	21.3	8.5	8.5	8.2	8.2	7.9	9.9	7.0	9.9	8.2	8.2	6.7	7.4	0.0	13.3	11.6	7.1	6.7	6.7	6.7	7.1	6.8	6.7	7.8	7.4	7.8	0.0		
30	13.8	20.3	13.9	13.9	13.5	13.5	13.1	13.1	13.4	13.1	13.0	13.0	13.6	12.5	15.1	16.1	12.7	13.4	12.9	12.9	12.9	13.4	13.8	14.4	12.6	12.5	12.9	15.1	15.1	

ANEXO 4.

. 400 ----

1= Scaeurgus unicirrhus; 2= Opisthoteuthis sp. Sudáfrica; 3= O. vulgaris (Ov) Banyuls Francia; 4= Ov PC Senegal; 5= Ov FB Sudáfrica; 6= Ov Knysna, Sudáfrica; 7= Tristan da Cunha, Océano Atlántico; 8= Ov Sur de Brasil; 9= Ov Recife Norte de Brasil; 10= Ov Isla Margarita Venezuela; 11= Ov Isla Seto Japón; 12= Ov NE Taiwán; 13= O. mimus (Omi) Norte de Chile; 14= Omi Costa Rica Pacífico; 15= 0. bimaculoides (Obima) California EUA; 16= 0. californicus Sta Bárbara EUA; 17= 0. salutti Banyuls, Francia; 18= 0. insularis Norte de Brasil; 19= 0. maya (Oma) PS Yucatán; 20= Oma IA Campeche; 21= Cd men, Campeche; 22= Ov AL Veracruz1; 23= Ov AL Veracruz2; 24= O. mercatoris AL Veracruz; 25= Omi Guerrero; 26= Omi Guerrero 6; 27= Omi Pto. Ángel Oaxaca; 28= O bima BCS1; 29= O bima LC1 Baja California Sur; 30= Octopus sp. BCSLC-3, Baja California Sur.

ANEXO 5.

Distancias genética TN93 entre pares de secuencias con los haplotipos resueltos para COIII.

	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	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
1																																							
2	17.3																																						
3	17.6	1.0																																					
4	17.0	1.6	0.6																																				
5	17.0	1.6	0.6	0.0																																			
6	16.1	3.8	4.0	4.2	4.2																																		
7	18.6	12.6	12.3	13.2	13.2	11.3																																	
8	18.3	12.9	12.6	13.5	13.5	11.5	0.2																																
9	16.4	4.0	4.2	4.5	4.5	0.2	11.5	11.8																															
10	18.2	12.1	11.3	12.1	12.1	10.0	9.8	9.5	10.3																														
11	18.1	10.8	10.1	10.8	10.8	9.8	9.5	9.2	10.1	1.4																													
12	16.8	2.9	3.5	4.2	4.2	4.6	14.4	14.7	4.9	11.9	11.7																												
13	16.4	4.0	3.8	4.0	4.0	0.2	11.0	11.3	0.4	9.8	9.5	4.9																											
14	16.8	2.9	3.5	4.2	4.2	4.6	14.4	14.7	4.9	11.9	11.7	0.0	4.9																										
15	17.9	14.5	13.7	14.5	14.5	12.8	8.0	7.7	13.1	2.6	2.9	14.8	12.5	14.8																									
16	17.5	14.2	13.3	13.6	13.6	13.0	8.1	7.9	13.3	3.5	3.9	14.4	12.7	14.4	1.4																								
17	17.5	12.9	12.4	12.7	12.7	11.0	9.9	10.2	11.3	9.9	10.0	13.5	10.8	13.5	9.8	9.4																							
18	17.8	13.2	12.7	12.9	12.9	11.3	10.2	10.4	11.6	10.2	10.2	13.8	11.0	13.8	10.0	9.6	0.2																						
19	20.0	13.5	12.9	13.2	13.2	12.2	9.2	9.5	11.9	10.3	10.3	14.2	11.9	14.2	9.9	9.2	5.7	5.9																					
20	20.3	22.7	23.0	23.0	23.0	20.9	19.1	18.8	20.6	19.4	19.5	22.2	20.6	22.2	18.9	18.4	18.5	18.8	19.8																				
21	21.8	20.2	20.5	19.5	19.5	18.6	17.1	17.4	18.9	18.7	19.1	21.5	18.9	21.5	18.0	17.6	20.5	20.2	20.7	22.0																			
22	17.1	15.5	15.2	14.9	14.9	13.6	18.5	18.8	13.4	19.4	19.6	16.0	13.4	16.0	19.0	18.0	17.1	17.4	17.9	16.5	21.7																		
23	21.9	22.9	22.5	22.5	22.5	21.7	18.7	19.0	21.4	19.3	19.0	22.1	21.4	22.1	18.5	17.2	16.5	16.8	17.7	9.5	23.7	18.7																	
24	18.7	24.5	23.4	23.4	23.4	24.4	20.9	20.6	24.0	21.7	22.4	23.9	24.0	23.9	20.5	19.7	18.9	19.2	19.6	18.9	22.6	16.7	20.1																
25	18.8	12.8	12.6	13.4	13.4	11.5	0.2	0.4	11.7	10.0	9.7	14.6	11.2	14.6	8.2	8.3	10.1	10.4	9.4	19.3	17.3	18.8	18.9	21.1															
26	18.6	12.6	12.3	13.2	13.2	11.3	0.0	0.2	11.5	9.8	9.5	14.4	11.0	14.4	8.0	8.1	9.9	10.2	9.2	19.1	17.1	18.5	18.7	20.9	0.2														
27	17.0	12.5	12.8	13.1	13.1	12.2	5.1	5.4	11.9	9.3	9.5	13.7	12.5	13.7	7.5	6.6	10.3	10.6	10.2	16.6	17.8	17.4	17.3	19.1	5.3	5.1													
28	14.9	21.6	23.0	23.0	23.0	20.0	18.4	18.0	19.7	18.0	17.7	21.5	20.3	21.5	17.2	17.6	17.3	17.6	18.0	18.3	22.0	19.8	20.1	12.5	18.6	18.4	16.7												
29	15.1	21.9	23.3	23.2	23.2	20.3	18.6	18.3	20.0	18.3	17.9	21.7	20.6	21.7	17.4	17.9	17.6	17.9	18.2	18.1	22.0	19.6	19.8	12.3	18.8	18.6	17.0	0.2											
30	18.2	10.8	10.6	11.4	11.4	10.6	5.3	5.5	10.3	7.5	7.5	12.5	10.8	12.5	7.0	7.1	8.7	9.0	8.8	18.3	18.2	17.2	16.2	19.4	5.5	5.3	5.3	15.8	16.0										
31	16.4	11.9	12.2	12.5	12.5	12.8	6.0	6.3	12.5	9.3	9.5	13.6	13.1	13.6	7.5	6.6	10.3	10.6	10.2	17.4	18.0	17.7	18.1	20.0	6.2	6.0	0.8	17.2	17.4	5.3									
32	16.2	11.7	12.0	12.3	12.3	12.6	5.8	6.1	12.3	9.0	9.3	13.4	12.9	13.4	7.3	6.4	10.1	10.4	10.0	17.2	17.8	17.5	17.9	19.7	6.0	5.8	0.6	17.0	17.2	5.1	0.2								
33	16.2	11.7	12.0	12.3	12.3	12.6	5.8	6.1	12.3	9.0	9.3	13.4	12.9	13.4	7.3	6.4	10.1	10.4	10.0	17.2	17.8	17.5	17.9	19.7	6.0	5.8	0.6	17.0	17.2	5.1	0.2	0.0							
34	17.2	14.5	13.6	13.9	13.9	12.7	7.9	7.6	13.0	3.3	3.7	14.7	12.4	14.7	1.2	0.2	9.1	9.4	9.0	18.1	17.3	17.7	17.5	20.1	8.1	7.9	6.9	17.3	17.6	7.3	6.9	6.7	6.7						
35	17.8	14.5	13.6	13.9	13.9	13.3	8.4	8.1	13.6	3.3	3.7	14.7	13.0	14.7	1.2	0.6	9.1	9.4	9.0	18.7	17.9	18.3	17.5	20.1	8.6	8.4	7.4	17.3	17.6	6.8	7.4	7.2	7.2	0.4					
36	17.5	14.7	13.8	14.1	14.1	12.9	8.1	7.8	13.2	3.5	3.9	15.0	12.7	15.0	1.4	0.4	9.3	9.6	9.2	18.4	17.5	17.9	17.8	20.3	8.3	8.1	7.1	17.6	17.8	7.5	7.1	6.9	6.9	0.2	0.6				
37	17.5	14.7	13.8	14.1	14.1	12.9	8.1	7.8	13.2	3.5	3.9	15.0	12.7	15.0	1.4	0.4	9.3	9.6	9.2	18.4	17.5	17.9	17.8	20.3	8.3	8.1	7.1	17.6	17.8	7.5	7.1	6.9	6.9	0.2	0.6	0.4			
38	17.2	13.2	12.7	12.9	12.9	11.3	10.0	9.7	11.6	9.5	9.5	13.8	11.0	13.8	9.3	8.9	0.4	0.6	5.7	18.0	20.6	17.4	16.5	18.3	10.2	10.0	10.4	16.8	17.0	8.8	10.4	10.2	10.2	8.7	8.7	8.9	8.9		
39	22.5	23.6	22.9	23.6	23.6	22.4	20.1	20.5	22.8	20.8	21.4	22.8	22.1	22.8	19.4	19.1	19.9	20.2	21.4	21.9	23.3	22.0	20.8	19.9	20.4	20.1	19.2	21.7	21.4	19.1	20.0	19.8	19.8	19.4	19.4	19.7	19.6	20.0	
		_														_																							

1= Scaeurgus unicirrhus; 2= O. vulgaris (Ov) Banyuls Francia; 3= Ov PC Senegal; 4= Ov FB Sudáfrica; 5= Ov Tristan da Cunha; 6= Ov Sur de Brasil; 7= Ov Norte de Brasil H1; 8= Ov Norte de Brasil H2; 9= Ov IM Venezuela; 10= Ov Costa Rica Car1; 11= Ov Costa Rica Car2; 12= Ov Japón; 13= Ov RJ Brasil; 14= Ov Taiwan; 15= O. mimus (Omi), Norte de Chile; 16= Omi Costa Rica; 17= O. bimaculoides (Obima), California EUA; 18= Obima, EUA Pacífico; 19= O. bimaculatus, NE Pacífico; 20= O. californicus, EUA; 21= O. aculatus, Australia; 22= O. rubescens, NE Pacífico; 23= O. dofleini, NE Pacifico; 24= O. bunurong, Australia; 25= Ov VerB, Veracruz; 26= Ov VALV-2, Veracruz2; 27= Octopus sp. VN-1, Veracruz; 28= Benthoctopus januarii VALY-1, Veracruz; 29= B. januarii VALY-2, Veracruz; 30= O. mercatoris (Omer) VALM-1, Veracruz; 31= Oma YUC8, Cd. Carmen, Campeche; 32= Oma YV1 Campeche; 33= Oma YN4, Yucatán; 34= Omi GRO1-1, Guerrero; 35= Omi GCG2-5, Guerrero; 36= Omi PA-1, Oaxaca; 38= O. bima BCSLC-1, Baja California Sur; 39= Octopus sp. BCSLC-3, Baja California Sur.

ANEXO 6.

	1	2	3	<u>4</u>	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	•		<u> </u>		<u> </u>	0	-	0	5	10		12	10	14	10	10	17	10	15	20	21	LL	25	
1	45.0																							
2	15.0	0.0																						
3	15.1	0.8																						
4	14.9	1.3	0.5																					
5	14.8	1.4	0.6	0.1																				
6	15.8	10.8	10.8	11.1	11.0																			
7	14.5	2.9	3.0	3.2	3.4	10.7																		
8	14.9	2.1	2.5	3.0	3.1	12.0	3.4																	
9	14.9	2.2	2.6	3.1	3.2	12.0	3.5	0.1																
10	16.0	12.5	12.3	12.6	12.5	6.4	12.1	12.8	12.8															
11	15.6	11.9	11.7	11.7	11.6	6.6	11.9	12.3	12.3	1.3														
12	15.1	11 1	10.8	10.8	10.7	87	10.4	11.0	11.0	84	84													
13	15.8	10.8	10.7	11.0	10.7	0.1	10.7	12.0	12.0	64	6.6	87												
14	15.8	11.0	10.7	11.0	11.0	0.1	10.7	12.0	12.0	6.5	6.8	8.8	02											
14	15.8	10.5	10.0	10.7	10.6	47	10.0	11 /	12.1	5.8	5.8	8.0	17	10										
10	10.0	10.5	10.4	10.7	10.0	4 .7	10.4	11.4	11.4	5.0	5.0	0.0	4 .7	4.3	4.0									
10	14.6	10.7	11.1	11.2	10.0	5.0	11.2	11.0	11.0	5.7	5.4	0.0	5.0	5.1	4.8	0.1								
1/	14.4	10.6	11.0	11.0	10.9	4.9	11.0	11.4	11.4	5.6	5.3	8.3	4.9	5.0	4.7	0.1								
18	14.4	10.6	11.0	11.0	10.9	4.9	11.0	11.4	11.4	5.6	5.3	8.3	4.9	5.0	4.7	0.1	0.0							
19	15.4	12.1	11.9	11.9	11.8	6.5	11.7	12.4	12.4	1.2	0.1	8.3	6.5	6.6	6.0	5.6	5.5	5.5						
20	15.6	12.0	11.7	11.8	11.6	6.7	11.9	12.3	12.3	1.3	0.5	8.4	6.7	6.8	5.6	5.7	5.6	5.6	0.3					
21	15.6	12.1	11.9	11.9	11.8	6.5	11.7	12.4	12.4	1.4	0.3	8.5	6.5	6.6	6.2	5.8	5.7	5.7	0.2	0.6				
22	14.9	11.3	11.0	11.0	10.9	8.7	10.5	11.1	11.1	8.0	8.0	0.5	8.7	8.8	8.0	8.5	8.4	8.4	7.9	8.0	8.1			
23	14.8	11.2	10.8	10.9	10.7	8.5	10.4	11.0	11.0	8.0	8.0	0.3	8.5	8.7	7.9	8.4	8.2	8.2	7.9	8.0	8.1	0.1		
24	17.7	19.2	18.9	19.1	18.9	17.0	18.6	18.7	18.7	16.2	15.8	16.4	17.0	17.1	16.4	16.3	16.2	16.2	15.9	16.1	16.1	16.2	16.3	

Distancias genética TN93 entre pares de secuencias con los haplotipos resueltos para los dos genes, r16+COIII.

1= Scaeurgus unicirrhus; 2= O. vulgaris (Ov) Banyuls Francia; 3= Ov PC Senegal; 4= Ov FB Sudáfrica; 5= Ov Tristan da Cunha, 6= Ov Norte de Brasil; 7= Ov Isla Margarita Venezuela; 8= Ov Isla Seto Japón; 9= Ov NE Taiwán; 10= O. mimus (Omi) Norte de Chile; 11= Omi Costa Rica Pacífico; 12= O. bimaculoides (Obima) California EUA; 13= Ov AL Veracruz1; 14= Ov AL Veracruz2; 15= O mercatoris AL Veracruz; 16 O. maya (Oma) Cd Carmen Campeche; 17= Oma IA Campeche; 18= Oma PS Yucatán; 19 Omi Guerrero; 20 Omi Guerrero 6; 21= Omi Pto. Ángel Oaxaca; 22= O bima BCS1; 23= O bima LC1 Baja California Sur; 24= Octopus sp. BCSLC-3, Baja California Sur.

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

No. 00056 Matrícula: 208382759

DESCRIPCION MORFOLOGICA Y En México, D.F., se presentaron a las 15:00 horas del día 10 del mes de diciembre del año 2010 en la Unidad DETERMINACION DE IDENTIDADES GENETICAS DE PULPOS DE LAS COSTAS MEXICANAS Iztapalapa de . la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado: DR. JOSE LUIS ARREDONDO FIGUEROA UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPLITANA DRA MARIA DE LOURDES JIMENEZ BADILLO DRA. JHOANA DIAZ LARREA WEAD ANA IZTAPALAPA DRA. ALEJANDRA SERRATO DIAZ ablerta al tiemp 16 DIC CORDINACIÓN UL MARTE POLARES DE Presidencia del primero y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de: MAESTRO EN BIOLOGIA DE: ALEJANDRO FLORES VALLE y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron: ALEJANDRO FLORES VALLE ALUMNO Aprobar REVISÓ Acto continuo, el presidente del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta. LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS PRESIDENTE DR. RUBEN ROMAN RAMOS DR. JOSE LUIS ARREDONDO FIGUEROA VOCAL VOCAL SECRETARIA DRA MARIA DE LOURDES JIMENEZ BADILLO DRA. JHOANA DIAZ LARREA DRA. ALEJANDRA SERRATO DIAZ