



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
**UNIDAD IZTAPALAPA**

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Doctorado en Ciencias Biológicas

**CARACTERIZACIÓN GENÉTICA, MORFOLÓGICA Y RELACIONES**  
**FILOGENÉTICAS DE LA FAMILIA OCTOPODIDAE DEL PACÍFICO MEXICANO**

TESIS

Que para obtener el grado de  
Doctor en Ciencias Biológicas

PRESENTA

**Ricardo Pliego Cárdenas**

Comité tutorial

Tutor Dra. Irene de los Ángeles Barriga Sosa

Asesor Dr. Francisco J. García De León

Asesor Dr. Frederick G. Hochberg

FEBRERO 2015

“El Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACyT y además cuenta con apoyo del mismo Consejo, con el convenio PFP-20-93”

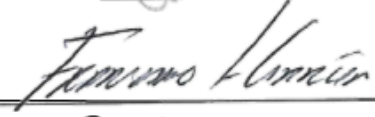
El jurado designado por las Divisiones de Ciencias Biológicas y de la Salud de las  
Unidades Cuajimalpa, Iztapalapa y Xochimilco aprobó la tesis que presentó

Ricardo Pliego Cárdenas

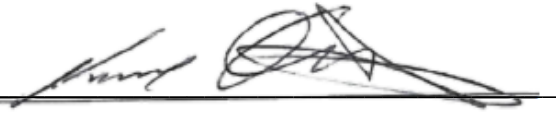
El día 25 de febrero del año 2015

Jurado

Tutor: Dra. Irene de los Ángeles Barriga Sosa \_\_\_\_\_ 

Asesor: Dr. Francisco J. García De León \_\_\_\_\_ 

Sinodal: Dr. Pablo Corcuera Martínez del Río \_\_\_\_\_ 

Sinodal: Dr. Héctor Omar Mejía Guerrero \_\_\_\_\_ 

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 unidad Iztapalapa, bajo

la dirección de la Dra. Irene D. L. A. Barriga Sosa.

El presente trabajo contó con el apoyo del proyecto: UAM-147-09-01. El sustentante fue becario Conacyt (CVU 218567), participó en las Convocatorias de Becas Mixtas 2011-2012 y en el Programa de Apoyo para Participación en Congresos.

Del presente trabajo se generaron las siguientes publicaciones:

1. Pliego-Cárdenas, R., F.G. Hochberg, F.J. García de León & I.D.L.A. Barriga-Sosa. 2014. Close genetic relationships between two American Octopuses: *Octopus hubbsorum* Berry, 1953 and *O. mimus* Gould, 1852. Journal of Shellfish Research. 33(1): 293-303. Print ISSN: 0730-8000, Online ISSN: 1943-6319. Impact Factor: 0.865. Anexo 1.
2. Pliego-Cárdenas, R., L. Flores, U. Markaida, I.D.L.A Barriga-Sosa, E. Mora & E. Arias. (*En preparación*) Genetic evidence of the presence of *Octopus mimus* in the artisanal fisheries of octopus in a marine protected area of Ecuador.
3. Pliego-Cárdenas, R., F.J. García de León, F.G. Hochberg & I.D.L.A. Barriga-Sosa. (*En preparación*). Molecular phylogeny of genus *Octopus* s. s. Cuvier, 1797: is it monophyletic?

*A mis dos grandes amores,  
Montserrat y Valentina*

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco enormemente a la Dra. Irene de los Ángeles Barriga Sosa por todo su apoyo otorgado y por confiar y darme la oportunidad de hacer este estudio que durante mucho tiempo lo había planeado.

Igualmente agradezco al Dr. Francisco García De León por su hospitalidad brindada durante mi estancia en La Paz, B. C. S. y por su apoyo y sugerencias hechas al estudio.

Al Dr. Frederick G. Hochberg por sus consejos y sugerencias durante todo el proyecto, por toda la información de pulpos otorgada y por el recibimiento y la hospitalidad manifestada en mi estancia en el SBMNH. Gracias amigo.

Al Dr. Omar Mejía y al Dr. Francisco Flores Pedroche por sus observaciones y correcciones hechas al escrito que sin duda alguna ayudaron a mejorarlo.

Agradezco también al Dr. Alejandro Salcedo porque este estudio no hubiera sido posible sin su asesoría. Gracias a él, ahora estoy inmerso, con mucho agrado, en la biología molecular.

Gracias al M. en C. Alejandro Flores Valle, Dra. Rosa María García y a la Dra. Alejandra Serrato por haberme enseñado todo lo referente a las técnicas moleculares y resolverme muchas dudas respecto a lo mismo.

A Verónica Castañeda, Rubén García, Miguel Ángel Regalado, Unai Markaida y Luis Flores por los ejemplares y muestras de tejido donadas al estudio. Igualmente a todos los pescadores que me ayudaron a capturar los pulpos.

Gracias a Hebe por su hospitalidad y por permitirme vivir en su casa en Santa Barbara.  
Gracias a Paul Valentich y Julian Finn por hacer que mi estancia en esa ciudad fuera más placentera.

Agradezco a CONACyT y al Instituto de Ciencia y Tecnología del D. F. por las becas y apoyo económico otorgados.

Finalmente pero no menos importante a toda mi familia. Papá, Mamá gracias por todo.

Gracias Montserrat y Valentina son mi mayor soporte y motivación. Las amo.



## CONTENIDO

Indice de figuras .....	VII
Indice de tablas .....	IX
Lista de abreviaturas y acrónimos más frecuentes.....	XI
1. Resumen .....	1
2. Abstract .....	3
3. Introducción .....	5
4. Marco teórico.....	6
4.1 Sistemática, taxonomía y filogenias.....	6
4.2 Inferencia Bayesiana.....	8
4.3 Marcadores moleculares.....	9
4.3.1 COI y COIII.....	10
4.3.2 16S.....	11
4.3.3 Rodopsina .....	11
4.4 Familia Octopodidae .....	11
5. Antecedentes.....	13
5.1 Estudios taxonómicos de la familia Octopodidae.....	13
5.2 Listados taxonómicos de cefalópodos en México .....	13
5.3 Filogenias de la familia Octopodidae .....	16
5.4 Estudios filogenéticos en México .....	18

6. Pregunta de investigación .....	19
7. Hipótesis.....	20
8. Objetivo general .....	21
8.1 Objetivos específicos .....	21
9. Material y métodos .....	22
9.1 Recolecta del material biológico .....	22
9.2 Marcadores moleculares.....	23
9.3 Extracción de ADN, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación .....	24
9.4 Prueba de homogeneidad y saturación.....	25
9.5 Estimación de distancias genéticas y determinación de identidades genéticas...	26
9.6 Análisis filogenético .....	27
9.7 Tiempos de divergencia .....	28
9.8 Identificación morfológica de los ejemplares.....	28
9.9 Re-descripción morfológica de las especies encontradas .....	29
9.10 Clave taxonómica de la familia Octopodidae del Pacífico mexicano.....	29
10. Resultados.....	31
10.1. Identidad genética de las especies de pulpo del Pacífico mexicano.....	31
10.2 Análisis filogenético y tiempos de divergencia .....	38
10.3. Descripciones de los pulpos del Pacífico mexicano.....	44

10.3.1 Octopodidae .....	45
10.3.2 <i>Octopus sensu stricto</i> .....	45
<i>Octopus bimaculatus</i> Verril, 1883.....	46
<i>Octopus mimus</i> Gould, 1852 .....	52
10.3.3 <i>Euaxocephalus</i> .....	58
<i>Euaxocephalus panamensis</i> Voss, 1971.....	58
10.3.4 <i>Paroctopus</i> .....	63
<i>Paroctopus digueti</i> (Perrier y Rochebrune, 1894) .....	63
10.3.5 Especies de género incierto .....	68
“ <i>Octopus</i> ” <i>fitchi</i> Berry, 1953 .....	68
“ <i>Octopus</i> ” <i>aff. chierchiai</i> .....	73
“ <i>Octopus</i> ” <i>aff. rubescens</i> .....	78
“ <i>Octopus</i> ” <i>alecto</i> Berry, 1953 .....	82
10.4 Clave para la identificación de especies de la familia Octopodidae del Pacífico mexicano.....	86
11. Discusión.....	88
11.1 Identidad genética de las especies de pulpo del Pacífico mexicano.....	88
11.2 Relaciones filogenéticas entre las especies de género <i>Octopus</i> .....	90
11.3 Tiempos de divergencia .....	94
11.4 Taxonomía de la familia Octopodidae del Pacífico mexicano .....	95
11.5 Implicaciones taxonómicas .....	99
12. Conclusiones .....	103

13. Referencias bibliográficas.....	105
14. Anexos.....	121

## Indice de figuras

Figura 1. Pulpos capturados en este estudio. A. <i>Octopus hubbsorum</i> , B. <i>Octopus bimaculatus</i> , C. <i>Paroctopus digueti</i> , D. “ <i>Octopus</i> ” <i>fitchi</i> . (Fotos A y B de Ricardo Díaz, C de Ricardo Pliego, D de Verónica Castañeda). .....	18
Figura 2. Localidades de recolecta de ejemplares de pulpo en el golfo de California y en el Pacífico mexicano.....	23
Figura 3. Mediciones y características diagnósticas utilizadas en octopodidos. A: ano, AN: aletas anales, LB: laminillas branquiales, LM: longitud del manto, LS: longitud del sifón, O: oviducto, PBD: puntos blancos dorsales, PBF: puntos blancos frontales, PU: profundidad de la umbrela, S: septo, 1-4D: numeración de los brazos derechos, 1-4I: numeración de los brazos izquierdos (Tomado de Norman y Sweeney, 1997).....	30
Figura 4. Variación inter e intraespecífica de las distancias genéticas de Tamura-Nei para secuencias nucleotídicas de citocromo oxidasa I y III, y 16S ARN ribosomal de diferentes especies de <i>Octopus</i> . .....	36
Figura 5. Filogenia bayesiana para los pulpos del Pacífico Mexicano basada en secuencias mitocondriales parciales concatenadas de citocromo oxidasa subunidad I y III (COI y COIII), y de 16S ARN ribosómico. El conjunto de datos fue particionado por posición de codón y gen. La 3ª posición de codón en COIII fue removida debido a que es significativamente heterogénea. Los valores arriba de los nodos indican la probabilidad bayesiana posterior.....	40
Figura 6. Filogenia bayesiana relajada con los tiempos de divergencia estimados con citocromo oxidasa subunidad I y III (COI y COII), 16S ARNr y el gen de la rodopsina. Las barras indican el intervalo de densidad posterior de 95%. Las flechas indican los dos puntos de calibración, clado de Octopodidae (79ma) y clado de <i>Hapalochlaena-Octopus</i> (65 ma) (Strugnell <i>et al.</i> , 2006). La divergencia estimada para el clado de <i>Octopus</i> s. s. fue hace 41 Ma (32- 52 Ma).....	41

Figura 7. Filogenia bayesiana para los pulpos del Pacífico Mexicano basada en secuencias parciales de COI y COIII. Los genes fueron particionados por posición de codón. Únicamente la 3ª posición de codón en COIII fue removida debido a que es significativamente heterogénea. Los valores junto a los nodos indican la probabilidad bayesiana posterior. Los valores menores a 8 no son mostrados..... 42

Figura 8. Filogenia bayesiana para los pulpos del Pacífico Mexicano basada en secuencias parciales de 16S ARNr y rodopsina. Únicamente rodopsina fue particionado por posición de codón. Los valores junto a los nodos indican la probabilidad bayesiana posterior. Los valores menores a 8 no son mostrados. .... 43

Figura 9. *Octopus bimaculatus*. La flecha indica el ocelo..... 50

Figura 10. *Octopus hubbsorum* ..... 56

Figura 11. *Euaxoctopus panamensis*. Las flechas muestran las manchas dorsales con forma de media luna..... 61

Figura 12. *Paroetopus digueti*..... 66

Figura 13. “*Octopus*” *fitchi* ..... 71

Figura 14. “*Octopus*” aff. *chierchiaae*. En el cuadro superior izquierdo se muestra la lígula..... 76

Figura 15. “*Octopus*” aff. *rubescens*. .... 80

## Indice de tablas

Tabla 1. Lista de pulpos registrados en el Pacifico mexicano y golfo de California y su estatus genérico actual de acuerdo a Norman y Hochberg (2005a).....	15
Tabla 2. Cebadores utilizados en este estudio con su respectiva temperatura de alineamiento y referencia. ....	25
Tabla 3. Lista de haplotipos para los genes, citocromo oxidasa subunidad I (COI) y III (COIII), 16Sr o ARN ribosomico y rodopsina (Rod), y número total de ejemplares de cada especie utilizados para el análisis molecular. Los números entre paréntesis indican el número de ejemplares utilizados para el gen respectivo. NTI: número total de individuos estudiados. ....	33
Tabla 4. Composición nucleotídica, sitios variables (SV), sitios parsimoniosamente informativos (SPI) y mutaciones por transición de los cuatros genes utilizados.....	34
Tabla 5. Valores de chi-cuadrada y probabilidad para las respectivas posiciones de codón de cada gen.....	34
Tabla 6. Distancias genéticas pareadas entre las especies de pulpo del Pacifico central americano. Los valores de 16S ARNr y rodopsina son mostrados en la primera y segunda fila, respectivamente, de la diagonal superior. Los valores de COI y COIII son mostrados en la primera y segunda fila, respectivamente, de la diagonal inferior. Oca = “ <i>Octopus californicus</i> ”, Oin = <i>O. insularis</i> , Oma = <i>O. maya</i> , Omi = <i>O. mimus</i> , Ovu = <i>O. vulgaris</i> . ....	37
Tabla 7. Medias e intervalos de los caracteres meristicos y morfométricos tomados a ejemplares de <i>Octopus bimaculatus</i> . Izq.= Izquierdo, Der. = Derecho.....	51
Tabla 8. Medias e intervalos de los caracteres meristicos y morfométricos tomados a ejemplares de <i>Octopus hubbsorum</i> . Izq.= Izquierdo, Der. = Derecho.....	57
Tabla 9. Caracteres merísticos y morfométricos de <i>Euaxoctopus panamensis</i> . Izq.= Izquierdo, Der.= Derecho .....	62

Tabla 10. Medias e intervalos de los caracteres merísticos y morfométricos tomados a ejemplares de *Paroctopus digueti*. Izq.= Izquierdo, Der. = Derecho..... 67

Tabla 11. Medias e intervalos de los caracteres merísticos y morfométricos tomados a ejemplares de “*Octopus*” *fitchi*. Izq.= Izquierdo, Der. = Derecho ..... 72

Tabla 12. Caracteres merísticos y morfométricos de “*Octopus*” aff. *chierchiae*. Izq. = Izquierdo, Der.= Derecho ..... 77

Tabla 13. Medias e intervalos de los caracteres merísticos y morfométricos tomados a ejemplares de “*Octopus*” aff.*rubescens*. Izq.= Izquierdo, Der. = Derecho ..... 81

Tabla 14. Caracteres merísticos y morfológicos de “*Octopus*” *alecto*. Izq.= Izquierdo, Der. = Derecho. .... 85



## **Lista de abreviaturas y acrónimos más frecuentes**

**16S.** Gen ribosomal 16S

**ADN.** Ácido desoxirribonucléico

**aff.** *affinis*

**AM.** Ancho del Manto

**ARNr.** Ácido ribonucléico ribosomal

**cf.** *confer*

**COI.** Citocromo oxidasa subunidad I

**COIII.** Citocromo oxidasa subunidad III

**COMA.** Colección Malacológica Dr. Antonio García Cubas

**CNMO.** Colección Nacional de Moluscos

**Der.** Derecho

**ENCB.** Escuela Nacional de Ciencias Biológicas

**g.** Gramos

**Izq.** Izquierdo

**LM.** Longitud del Manto

**LT.** Longitud Total

**Ma.** Millones de años

**mm.** Milímetros

**pbp.** Probabilidad Bayesiana Posterior

**Rod.** Rodopsina

**SBMNH.** Santa Barbara Museum of Natural History.

**s. l.** *sensu lato*

**s. s.** *sensu stricto*

## 1. Resumen

La familia Octopodidae es la más diversa pero también la más controversial dentro del orden Octopoda. Estudios moleculares han sugerido que la familia es parafilética y que deben de nombrarse nuevos géneros para varias especies existentes de pulpos. También, ha sido propuesto que las subfamilias deben de ser eliminadas y algunas de ellas ser elevadas a familia. Adicionalmente, la mayoría de las especies existentes carecen de una descripción detallada. La mayoría de los pulpos del Pacífico Central Americano tienen un estatus genérico incierto, de las 11 especies que se distribuyen en la región sólo cinco son genéricamente válidas, las restantes se desconoce el género al que pertenecen. El presente trabajo realiza una contribución a la sistemática de la familia Octopodidae con la filogenia molecular y con las descripciones morfológicas de las especies de pulpo del Pacífico mexicano. Los análisis moleculares mostraron un clado monofilético constituido por las especies de *Octopus sensu stricto* (s. s.) (*O. bimaculatus*, *O. bimaculoides*, *O. hubbsorum*, *O. insularis*, *O. maya*, *O. mimus*, *O. cf. oculifer*, *O. tetricus* y *O. vulgaris*). Una relación genética cercana entre *O. hubbsorum* y la especie sudamericana, *O. mimus*, sugiere que son sinónimos. Estos pulpos junto con *O. oculifer*, están más cercanamente relacionadas con las especies del Atlántico, *O. insularis* y *O. maya*, que con las especies oceladas del Pacífico, *O. bimaculatus* y *O. bimaculoides*. “*O. fitchi*”, “*O.*” cf. *chierchiae* y *Paroctopus digueti* forman un clado monofilético, junto con “*O.*” *tehuelchus*, separado del clado de *Octopus* s. s. lo que confirma que las dos primeras especies pertenecen a un género distinto. Adicionalmente fueron revisados 260 ejemplares de pulpos de colecciones

malacológicas. Las especies revisadas y re-descritas fueron *Octopus bimaculatus*, *O. mimus*, *Paroctopus digueti*, *Euaxoctopus panamensis*, “*O.*” *fitchi* y “*O.*” *alecto*. Fueron identificadas dos nuevas especies definidas, por el momento, como “*O.*” aff. *chierchiae* y “*O.*” aff. *rubescens*. Fue ampliado el ámbito de distribución de “*O.*” *fitchi* hasta Bahía Magdalena, Baja California Sur, México y de “*O.*” aff. *chierchiae* hasta Sinaloa, México.

## 2. Abstract

The family Octopodidae is not only the most speciose but also the most controversial within the order Octopoda. Molecular studies have suggested the paraphyly of the family and named new genera for several extant species. Also it has been proposed to eliminate the subfamilies and to raise some of them to family level. Moreover, most species of the family lack of detailed descriptions. Most of the America Central Pacific octopuses have an uncertain generic status, from 11 species that inhabit this region; only five are valid, while for the remaining it is unknown what genus they belong to. This work make a contribution to complement the systematics of the Octopodidae with the phylogeny and the re-descriptions of the American Pacific Octopuses. The resolved topologies show a well-supported monophyletic clade constituted by the species of *Octopus sensu stricto* (s. s.) (*O. bimaculatus*, *O. bimaculoides*, *O. hubbsorum*, *O. insularis*, *O. maya*, *O. mimus*, *O. cf. oculifer*, *O. tetricus*, and *O. vulgaris*). A close genetic relationship between *O. hubbsorum* and *O. mimus* suggest that these are synonyms. These octopuses along with *O. cf. oculifer* are more related to the Atlantic octopus species, *O. insularis* and *O. maya* than the ocellated Pacific octopuses, *O. bimaculatus* and *O. bimaculoides*. “*O.*” *fitchi*, “*O.*” *cf. chierchiae*, and *Paroctopus digueti*, along with “*O.*” *tehuelchus* cluster in a monophyletic clade, not related with *Octopus* s. s. clade, which confirms that the two former species are not *Octopus*. Furthermore 260 specimens from several malacological collections were checked. The species identified and re-described were *Octopus bimaculatus*, *O. mimus*, *Paroctopus digueti*, *Euaxoctopus panamensis*, “*O.*” *fitchi* and “*O.*” *alecto*. Two new species were identified

and were treated as “*O.*” aff. *chierchiae* and “*O.*” aff. *rubescens* until a formal description is made. Two geographic distribution ranges were expanded, “*O.*” *fitchi* distribution expands to Bahia Magdalena, Baja California Sur, México and *O.* aff. *chierchiae* distribution expands to Sinaloa, Mexico

### 3. Introducción

La sistemática y taxonomía de la familia Octopodidae, y probablemente de los cefalópodos en general, es controversial, compleja y, actualmente, muy dinámica. En los últimos años, especies de octopodidos han cambiado de nombre genérico. Algunos taxa incluso se desconoce a que género pertenecen. Los sistemáticos lo atribuyen a la morfología del grupo y a su plasticidad fenotípica, los pulpos son de cuerpo blando, carecen de estructuras duras; y cambian su patrón de coloración y de textura a voluntad propia, es conocido que un único individuo puede presentar diferentes patrones morfológicos y de coloración dependiendo de su comportamiento. Adicionalmente, la falta de descripciones completas y de ejemplares en colecciones no han permitido establecer los límites entre especies diferentes. Esto ha ocasionado que se recurra con mayor frecuencia a los caracteres moleculares para determinar la identidad de los taxa. Los análisis de secuencias nucleotídicas han evidenciado la presencia de varias especies crípticas y de nuevos géneros, así como la elevación de las subfamilias de Octopodidae a nivel de familia (Strugnell *et al.*, 2014).

El presente estudio, dividido en dos partes, pretende hacer una contribución a la sistemática de la familia con la filogenia molecular y las descripciones morfológicas de las especies de pulpo del Pacífico Mexicano. En la primera parte son establecidas las relaciones filogenéticas moleculares que comparten los pulpos del Pacífico Central Americano entre ellas y con especies de otras regiones del mundo. La segunda parte contiene las descripciones morfológicas de las especies basadas en ejemplares recolectados y alojados en tres colecciones malacológicas mexicanas y una

norteamericana. Todo esto con la finalidad de determinar la verdadera identidad de los taxa, de elucidar la historia evolutiva del linaje de octopodidos del Pacífico Central Americano y de actualizar el conocimiento de la diversidad de pulpos de México.

#### **4. Marco teórico**

##### *4.1 Sistemática, taxonomía y filogenias*

La sistemática y la taxonomía, aunque son complementarias y quizá la primera depende más de la segunda, no son términos sinónimos. Sistemática, conocida también como la ciencia de la biodiversidad, se refiere a la clasificación de los organismos en niveles jerárquicos con base a su parentesco o relaciones ancestro-descendiente (filogenias), mientras que la taxonomía se encarga de identificar, nombrar y describir a los organismos. La sistemática depende de datos filogenéticos y taxonómicos para analizar la diversidad del planeta y ordenarla.

Una filogenia es una representación gráfica, frecuentemente en forma de árbol, y de ahí que se le denomine árbol filogenético, de las relaciones evolutivas entre los organismos. En un inicio las filogenias se basaban en caracteres morfológicos pero la llegada de los métodos de análisis moleculares basados en proteínas y ADN, así como el desarrollo de las computadoras, fueron los que abrieron paso a las filogenias moleculares, las cuales son la determinación de las relaciones entre especies basadas en las diferencias de las estructuras moleculares (Beebee y Rowe, 2008). Estas diferencias son las mutaciones nucleotídicas (sustituciones, inserciones y deleciones) y es considerado que los organismos que tienen las mismas mutaciones están

relacionados porque heredaron ese carácter de un ancestro común. Entonces se dice que son homólogos. Sin embargo, esto no siempre es cierto, la similitud no implica que los caracteres provengan de un mismo ancestro sino que esta semejanza haya sido alcanzada por eventos evolutivos diferentes e independientes. Entonces se dice que los caracteres son homoplásicos.

El árbol filogenético permite distinguir varias clases de agrupamientos: a) grupos monofiléticos, aquellos grupos de dos o más especies que incluye la especie ancestral y todos sus descendientes, b) grupos parafiléticos, aquellos que no contienen todos los descendientes de un ancestro común y c) grupos polifiléticos, aquellos grupos con más de un ancestro.

Los métodos para la reconstrucción filogenética se pueden clasificar de acuerdo al tipo de datos que utilizan para hacer el análisis (caracteres discretos o matrices de distancia) y al tipo de método de reconstrucción de la topología (algoritmo de agrupamiento o criterio de optimización). Los métodos de distancias utilizan un algoritmo de agrupamiento mientras que los métodos de caracteres utilizan un criterio de optimización. Los métodos de distancia calculan las medidas de diferencia o disimilitud entre cada par de secuencias para derivar una matriz y a partir de ésta construir los árboles filogenéticos mientras que los métodos de caracteres analizan cada posición de la secuencia independientemente para encontrar el mejor árbol. Se ha propuesto que, debido a la forma en que las topologías son producidas, los métodos de distancia se llamen métodos de construcción de árboles y los basados en caracteres se llamen métodos de búsqueda de árboles (Martínez-Castilla, 2007).



## 4.2 Inferencia Bayesiana

Los métodos bayesianos utilizan caracteres discretos y criterios de optimización para buscar el árbol filogenético más apropiado y son relativamente nuevos en filogenia molecular. Lo que hacen es buscar el árbol más óptimo que maximice la probabilidad posterior, en otras palabras, escogen el árbol de acuerdo a la probabilidad de que las topologías obtenidas sean ciertas. Los análisis bayesianos tienen su base en la máxima verosimilitud porque las distribuciones posteriores bayesianas son directamente proporcionales al producto de la distribución anterior y de la verosimilitud. Debido a que los investigadores especifican la distribución de la probabilidad anterior para todos los parámetros, distintos investigadores pueden escoger una probabilidad diferente y obtener otros resultados (Goyenechea y Contreras-Ramos, 2007) pero estas distribuciones se consideran no informativas así que la mayoría de las diferencias en las probabilidades posteriores de los árboles son atribuidas a la verosimilitud.

Las inferencias bayesianas utilizan la Cadena de Markov (MCMC, por sus siglas en inglés) para encontrar las probabilidades bayesianas posteriores. Este algoritmo comienza con simular una serie de parámetros aleatorios y propone una nueva serie, la cual se acepta o se rechaza de acuerdo al valor de verosimilitud. En otras palabras, la cadena explora todos los árboles posibles y lo hace alternando uno o más parámetros del árbol actual para producir un árbol ligeramente diferente. La cadena se mueve al otro árbol generado dependiendo del valor de probabilidad posterior. Conforme la cadena continúe moviéndose lo hará hacia árboles mejores pero la probabilidad de que

un árbol nuevo generado tenga un mayor valor de verosimilitud disminuirá y eventualmente la cadena se estabilizará. De tal forma que el problema de este método es determinar si las cadenas en el análisis MCMC se han mezclado y convergido correctamente (Goyenechea y Contreras-Ramos, 2007).

A diferencia de la verosimilitud, los métodos bayesianos son más rápidos y pueden analizar una gran cantidad de datos e implementar modelos complejos de evolución pero producen valores altos irreales de probabilidad posterior ocasionando que sean fuertemente criticados (Simmons *et al.*, 2004). Sin embargo, se ha encontrado que los métodos bayesianos y la máxima verosimilitud producen topologías similares debido a que los dos están basados en el mismo modelo probabilístico de evolución (Strugnell y Nishiguchi, 2007).

#### *4.3 Marcadores moleculares*

El uso de marcadores moleculares, tales como secuencias nucleotídicas y de aminoácidos, microsatelites, etc., han permitido resolver varias cuestiones filogenéticas, filogeográficas, poblacionales y específicas en los cefalópodos. De acuerdo a Beebee y Rowe (2008), los marcadores moleculares son proteínas polimórficas o secuencias de ADN que pueden ser usadas como indicadores de variación genómica amplia. Son diferenciados dos tipos de marcadores moleculares: los nucleares y los mitocondriales. El ADN mitocondrial tiende a evolucionar de 5 a 10% más rápido que el ADN nuclear en una tasa de aproximadamente 2% por millones de años en los metazoarios (Brown *et al.*, 1979; Moritz *et al.*, 1987).

En los cefalópodos, los marcadores mitocondriales tienen una mayor tasa de sustitución, un mayor número de transiciones que transversiones y mayores niveles de saturación que los nucleares (Strugnell *et al.*, 2005). Igualmente, está bien establecido que los marcadores mitocondriales son más informativos para resolver relaciones filogenéticas intrafamiliares en octopodidos (Guzik *et al.*, 2005). Los genes mitocondriales más utilizados son el gen citocromo oxidasa subunidad I, II y III (COI, COII y COIII), las subunidades ribosomales 16S ARNr y 12S y citocromo b. Los marcadores nucleares generalmente tienen tasas de evolución menor que los mitocondriales de tal forma que se utilizan para resolver divergencias profundas entre los taxa. Pax-6, Rodopsina y Octopina Deshidrogenasa son genes nucleares frecuentemente utilizados en estudios filogenéticos.

#### 4.3.1 COI y COIII

COI y COIII son genes mitocondriales, con una longitud de 1532 y 780 pares de bases respectivamente, en octopodidos, y codificantes de subunidades proteicas del complejo citocromo oxidasa, importante en la cadena de transporte de electrones. Ambos han sido utilizados frecuentemente para determinar las relaciones filogenéticas en Octopodos (Barriga-Sosa *et al.*, 1995; Carlini *et al.*, 2001; Guzik *et al.*, 2005; Takumiya *et al.*, 2005; Acosta-Jofré *et al.*, 2012). Al igual que en otros metazoarios, COI ha sido propuesto como identificador genético de especies (código de barras) en cefalópodos (Strugnell y Lindgren, 2007) debido a sus propiedades evolutivas.

#### 4.3.2 16S

Es la subunidad ribosomal larga de la mitocondria, constituida por alrededor de 1300 pares de bases en octopodidos. Tiene una estructura secundaria conservada y tiende a evolucionar más lentamente que el promedio del genoma mitocondrial (Hillis *et al.*, 1996). Sin embargo, en cefalópodos, el gen 16S ARNr es más variable que COI (Nishiguchi *et al.*, 2004; Lindgren *et al.*, 2005) y ha sido ampliamente utilizado en la obtención de filogenias de octopodidos (Warnke *et al.*, 2002, 2004; Juarez *et al.*, 2012).

#### 4.3.3 Rodopsina

La Rodopsina es un gen nuclear de una sola copia que codifica una proteína transmembranal que se encuentra en los bastones de la retina. Tiene una tasa de sustitución baja y menores niveles de saturación en comparación con otros genes nucleares (Strugnell *et al.*, 2005). Rodopsina es utilizado frecuentemente para resolver divergencias profundas en cefalópodos (Strugnell *et al.*, 2005; Strugnell y Nishiguchi *et al.*, 2007; Strugnell *et al.*, 2014).

#### 4.4 Familia Octopodidae

La familia Octopodidae son moluscos de la clase Cephalopoda situados dentro del orden Octopoda y comprende a los comúnmente llamados pulpos, caracterizados por poseer ocho brazos alrededor de la boca, la cual alberga dos mandíbulas quitinosas (pico), tener una o dos series de ventosas en los brazos, presentar una concha reducida o vestigial llamada estilete y un saco de tinta. Son organismos exclusivamente marinos, bentónicos que habitan todos los mares del mundo desde zona someras hasta grandes profundidades y son un importante recurso pesquero.

La regionalización anatómica de un pulpo se basa en cuatro posiciones: dorsal (la zona en donde se encuentran los ojos), ventral (la región en donde se encuentra el sifón), posterior (la zona del manto más alejada de los ojos) y anterior (la región distal de los brazos). Los brazos se dividen en izquierdos y derechos, por lo tanto cada pulpo presenta cuatro brazos izquierdos y cuatro brazos derechos. El conteo de brazos inicia en la región media del organismo. Los machos poseen un brazo modificado que sirve para fertilizar a las hembras llamado hectocotilo y que generalmente es el tercer brazo derecho. A su vez, en la punta del hectocotilo se observa una pequeña estructura llamada lígula. El número de ventosas en el hectocotilo y la forma y tamaño de la lígula son caracteres específicos importantes para la identificación de las especies.

Con 186 especies válidas (Norman y Hochberg, 2005a), la familia es la más diversa dentro del orden y esta gran variedad continua incrementándose con el registro de nuevos géneros y especies (Allcock *et al.*, 2003, Norman *et al.*, 2004, 2009; Norman y Hochberg, 2005a; Norman y Hochberg, 2005b; Hochberg *et al.*, 2006; Kaneko y Kubodera, 2008; Leite *et al.*, 2008) pero cabe mencionar que la tasa a la cual las especies están siendo erigidas es mayor que la tasa a la cual las especies están siendo formalmente descritas (Norman y Hochberg, 2005a). La mayoría de los géneros tienen pocas especies o son monotípicos. El género más rico en especies es *Octopus* pero esta diversidad actualmente es cuestionada debido a que anteriormente todo pulpo que era capturado era colocado dentro de este género.

## 5. Antecedentes

### 5.1 Estudios taxonómicos de la familia Octopodidae

Los estudios taxonómicos de cefalópodos son frecuentes debido a su importancia pesquera, solamente basta revisar los dos tomos de “*Systematics and Biogeography of Cephalopods*” (Voss *et al.*, 1998), que incluyó listados con descripciones de pulpos de varias regiones del mundo (pero cabe mencionar que ninguno del Pacífico Central Americano), o los catálogos de cefalópodos de la FAO (Jereb y Roper, 2005-2013) para leer casi todas las descripciones de los cefalópodos existentes. Así como estos dos trabajos hay muchas revisiones taxonómicas para faunas regionales de pulpos. Sin embargo, la mayoría de las especies actuales carecen de descripciones detalladas lo que ha ocasionado muchos sinónimos, y a su vez un consenso sobre los caracteres morfológicos que son útiles para la descripción de especies (Hochberg *et al.*, 2005). La complejidad morfológica de los octopodidos ya había sido señalada con mucha anticipación pues a principios del siglo pasado, nueve grupos de especies de *Octopus* ya habían sido reconocidos (Robson, 1929). Si bien existen caracteres morfológicos que ayudan a la identificación de especies de octopodidos (Roper y Voss, 1983), se ha demostrado que estos sólo son útiles para la distinción entre géneros (Allcock *et al.*, 2008).

### 5.2 Listados taxonómicos de cefalópodos en México

Los estudios de la fauna de cefalópodos en México son escasos. Hasta la fecha no existe ningún listado completo de las especies que habitan costas mexicanas. Esta carencia se ve reflejada en la Carta Nacional Pesquera del 2004 en la cual es

registrado *Octopus vulgaris* y *O. macropus*, y otros pulpos cuya identidad no ha sido definida, como componentes de la pesquería de pulpo en el Pacífico mexicano pero la presencia de estas dos especies en la zona no ha sido comprobada hasta ahora. De los primeros estudios sobre la fauna mexicana de cefalópodos resaltan los trabajos de Voss (1954, 1956) para el golfo de México para el cual registró 42 especies. Más tarde Salcedo-Vargas (1991) realizó una lista de cefalópodos que habitan esta misma región pero enfocándose principalmente en aguas mexicanas y registró 10 especies de la familia Octopodidae mencionando que dos de ellas, *Octopus maya* y *O. joubini* son endémicas del golfo. Para la costa del Pacífico occidental, existen los listados taxonómicos de Roper *et al.* (1995) sobre cefalópodos en general y en el cual es presentada la primera clave para identificar especies de pulpo de México, y de Alejo-Plata (2002) y Granados-Amores (2008) sobre calamares. En cuanto a listados exclusivamente de octópodos no existe ninguno.

A pesar de la carencia de estudios taxonómicos de octópodos en México, han sido identificadas 11 especies, pertenecientes a la familia Octopodidae, que habitan la zona costera occidental de México, de las cuales varias de ellas tienen un estatus genérico incierto (Tabla 1) (Norman y Hochberg, 2005a). El trabajo más completo de octopodidos para la región es el listado de Roper *et al.* (1995) en el cual describen nueve especies de octopodidos para la provincia Panámica, ocho de ellos con distribución “mexicana”. Sin embargo, en su trabajo no incluyeron a “*O. fitchi*”, especie que fue descrita para el golfo de California (Berry, 1953) y que recientemente se menciona que habita hasta Ecuador (Norman *et al.*, 2013). *O. bimaculoides* fue otra especie que no se tomó en

cuenta debido a que su distribución comprende la provincia Californiana, no obstante, es una especie frecuentemente capturada en el norte de la Península de Baja California. Poco tiempo después al trabajo de Roper *et al.* (1995), el ámbito de distribución de *Euaxoctopus panamensis* fue ampliado hasta Zihuatanejo, Guerrero (Salcedo-Vargas y Jaime Rivera, 1999). Anteriormente se creía que la especie habitaba únicamente en Panamá.

Tabla 1. Lista de pulpos registrados en el Pacífico mexicano y golfo de California y su estatus genérico actual de acuerdo a Norman y Hochberg (2005a).

Taxa	Estatus genérico de acuerdo a Norman y Hochberg (2005a)
<i>Octopus alecto</i> Berry, 1953	<i>Incierto</i>
<i>O. bimaculatus</i> Verrill, 1883 (Fig. 1B)	Válido
<i>O. bimaculoides</i> Pickford & McConnaughey, 1949	Válido
<i>O. chierchiae</i> Jatta, 1889	<i>Incierto</i>
<i>O. fitchi</i> Berry, 1953 (Fig. 1D)	<i>Incierto</i>
<i>O. hubbsorum</i> Berry, 1953 (Fig. 1A)	Válido
<i>O. penicillifer</i> Berry, 1954	<i>Incierto</i>
<i>O. rubescens</i> Berry, 1953	<i>Incierto</i>
<i>O. veligero</i> Berry, 1953	<i>Incierto</i>
<i>Euaxoctopus panamensis</i> Voss, 1971	Válido
<i>Paroetopus digueti</i> Perrier & Rochebrune, 1894 (Fig. 1C)	Válido



### 5.3 Filogenias de la familia Octopodidae

Las relaciones filogenéticas entre octopodidos han sido establecidas con estudios de niveles jerárquicos mayores a nivel de familia y éstos han señalado que la familia Octopodidae es un grupo polifilético (Voight, 1993; Carlini *et al.*, 2001; Strugnell *et al.*, 2005). En un principio, las relaciones dentro de la familia fueron poco abordadas y enfocadas principalmente en el complejo de especies de *O. vulgaris* (Söller *et al.*, 2000; Warnke *et al.*, 2002, 2004; Leite *et al.*, 2008; Guerra *et al.*, 2010) y en especies del Antártico (Allcock y Piertney 2002; Allcock *et al.*, 2008). Fue a partir de estos que comenzaron a descubrirse especies crípticas. Sin embargo, vale la pena mencionar que el primer estudio filogenético que se realizó para la familia Octopodidae utilizó cinco especies de pulpos (*Octopus bimaculatus*, *O. bimaculoides*, *O. californicus*, *O. dofleini* y *O. rubescens*) del Pacífico Nororiental (Barriga-Sosa *et al.*, 1995). En ese estudio los autores mencionaron que probablemente los dos últimos pulpos, "*O.*" *dofleini* y *O. rubescens*, pertenecían a géneros distintos. Actualmente *dofleini* pertenece al género *Enteroctopus* (Hochberg, 1998) mientras que el estatus genérico de *rubescens* permanece incierto (Norman y Hochberg, 2005a).

El conocimiento sobre la filogenia de los octopodidos fue ampliado con el trabajo realizado por Guzik *et al.* (2005) que confirmó que el género *Octopus* es un taxón polifilético pero evidenció la existencia de grupos monofiléticos cercanamente relacionados dentro de la familia que pueden ser considerados como géneros distintos. Más tarde, en ese mismo año, Norman y Hochberg (2005a) reasignarían distintos géneros a varias especies de *Octopus*. Aún con todo este cambio taxonómico, el

género sigue considerándose polifilético (Acosta-Jofré *et al.*, 2012). Sin embargo, ha sido sugerido que las especies de *Octopus sensu stricto* (s. s.) son aquellas cercanamente relacionadas a *O. vulgaris* (*O. bimaculatus*, *O. bimaculoides*, *O. insularis*, *O. hubbsorum*, *O. maya*, *O. mimus*, *O. oculifer*, *O. tetricus*) (Guzik *et al.*, 2005; Norman *et al.*, 2013). Adicional y recientemente, ha sido propuesto, con base a filogenias moleculares, que las subfamilias de Octopodidae (Octopodinae, Eledoninae, Megaeledoninae y Bathypolipodinae) sean elevadas a familias y que sea creada una nueva familia, Enteroctopodidae, para incluir a *Enteroctopus*, *Benthooctopus*, *Muusoctopus*, *Sasakiopus* y *Vulcanooctopus* (Strugnell *et al.*, 2014).

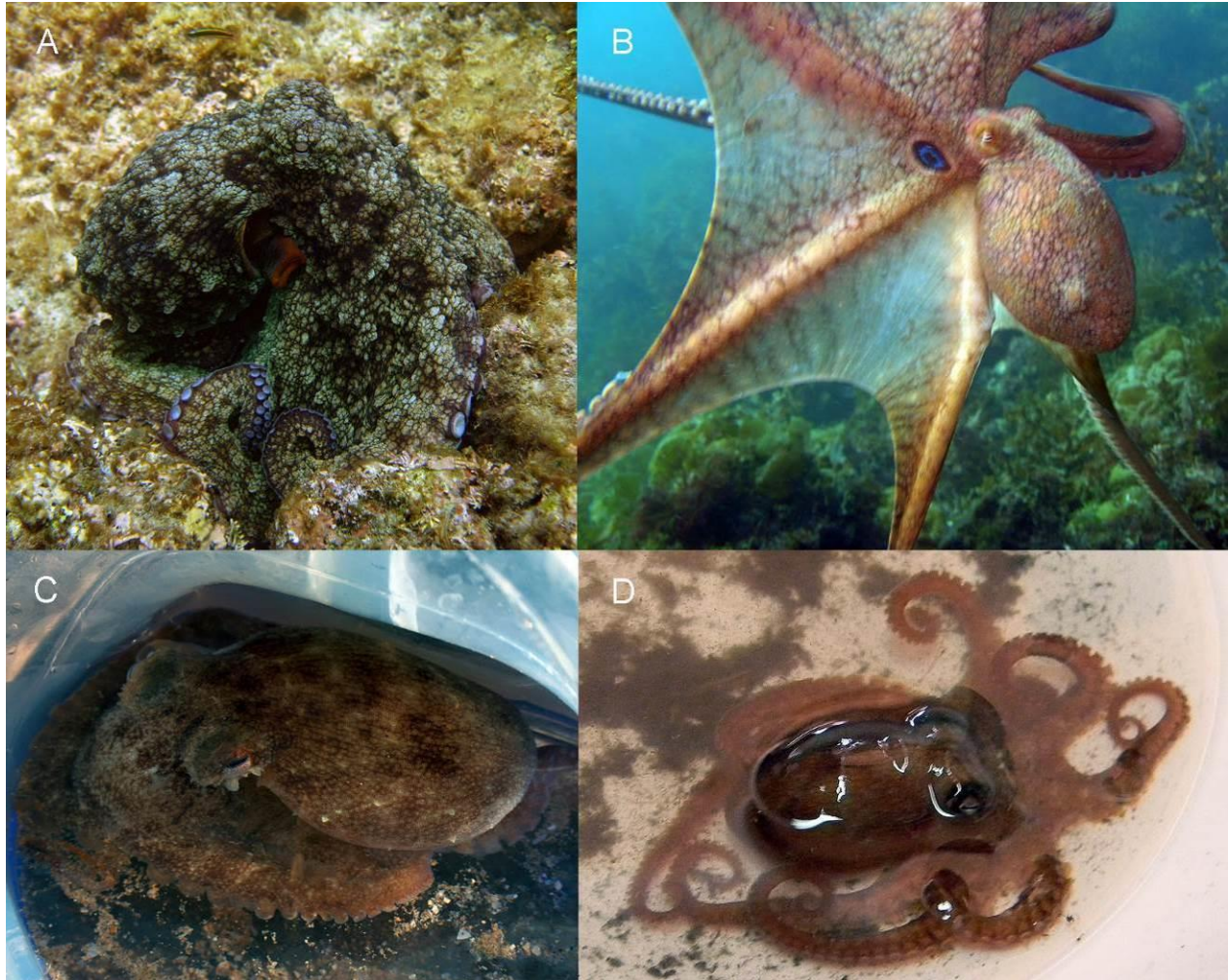


Figura 1. Pulpos capturados en este estudio. A. *Octopus hubbsorum*, B. *Octopus bimaculatus*, C. *Paroctopus digueti*, D. “*Octopus*” *fitchi*. (Fotos A y B de Ricardo Díaz, C de Ricardo Pliego, D de Verónica Castañeda).

#### 5.4 Estudios filogenéticos en México

En México los estudios sistemáticos, no solamente de pulpos sino también de otros cefalópodos, son escasos. Ya fue mencionado que el primer estudio filogenético de la familia (Barriga-Sosa *et al.*, 1995) incluyó especies del Pacífico mexicano y no fue sino

hasta años recientes que las relaciones filogenéticas entre pulpos que se distribuyen en México volvieron a ser retomadas. El trabajo de Flores-Valle (2010) fue el primero que estudió especies de pulpo de ambas costas mexicanas para conocer sus relaciones ancestrales utilizando dos genes mitocondriales (COIII y 16S ARNr) y con base a esto propone que la especie de Sudamérica *O. mimus* habita costas mexicanas. Más tarde, las relaciones filogenéticas de *Octopus maya*, especie endémica de la costa de la Península de Yucatán, fueron inferidas por Juárez *et al.* (2012) basadas en tres marcadores moleculares (COI, COIII y 16S ARNr). En las topologías de los dos estudios se muestra una relación cercana entre *O. maya*, *O. mimus* y *O. vulgaris* del Atlántico, y a *O. bimaculoides* como la especie hermana del grupo. Sin embargo, los trabajos incluyeron pocas especies de pulpos de México y más representantes de otras latitudes lo que pudo haber afectado las verdaderas relaciones entre los taxa.

## **6. Pregunta de investigación**

Dada la información obtenida sobre la falta de estudios taxonómicos de cefalópodos en México y a los cambios sistemáticos de la familia Octopodidae, propiciada por los análisis moleculares que también han contribuido a la identificación de especies crípticas; lo que este trabajo pretende responder es: ¿cuántas y cuáles especies de octopodidos, se encuentran en el Pacífico mexicano? así como ¿cuáles son sus relaciones filogenéticas?

## 7. Hipótesis

Durante mucho tiempo el género *Octopus sensu lato*, con más de 100 especies, ha sido señalado polifilético pero actualmente muchas de las especies han cambiado de estatus genérico y otras están esperando ser revisadas taxonómicamente y ahora es sugerido que *Octopus sensu stricto* está conformado únicamente por nueve especies. Dado lo anterior, se planteó una primera hipótesis.

H1: *Octopus* s. s. no es polifilético.

Los caracteres utilizados para la identificación de especies de pulpos son más útiles para la distinción de géneros y no de especies cercanas. Sin embargo, esto ha sido revelado para miembros de una familia distinta de Octopodidae. Por lo que la segunda hipótesis planteada es:

H2: Los caracteres usados tradicionalmente para la descripción de especies de pulpos servirán para identificar a las especies de la familia Octopodidae del Pacífico mexicano

## 8. Objetivo general

- Conocer y determinar genética y morfológicamente las especies de la familia Octopodidae que habitan en el Pacífico mexicano y en el golfo de California.

### 8.1 Objetivos específicos

- Determinar la identidad genética de las especies.
- Recuperar las relaciones filogenéticas de las especies de pulpo del Pacífico mexicano y golfo de California y el tiempo de divergencia del género *Octopus*.
- Identificar y describir morfológicamente a las especies encontradas y elaborar una clave taxonómica para su identificación

## 9. Material y métodos

### 9.1 Recolecta del material biológico

Fueron realizadas varias recolectas en las principales localidades pesqueras de pulpos, desde el Pacífico Central Mexicano hasta el golfo de California (de Sonora a Oaxaca) y la parte sur de la Península de Baja California (Fig. 2, Anexo 2). Asimismo, ejemplares de "*Octopus*" *fitchi* y muestras de tejidos de *O. mimus*, "*O.*" cf. *chierchiae* y *O.* cf. *oculifer* fueron donados al estudio (ver agradecimientos). Los especímenes fueron recolectados en la zona intermareal a través de los pescadores locales y por recolectas directas. Los ejemplares capturados fueron anestesiados agregando un poco de agua dulce al recipiente donde fueron colocados para posteriormente ser sacrificados por congelación. A continuación fueron fijados con formol (10%), después preservados en etanol (70%) y finalmente depositados como especímenes de referencia (vouchers) en la Colección de Moluscos de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional y en la Colección Nacional de Moluscos del Instituto de Biología. Antes de la fijación, fue cortada una porción de brazo y ésta fue almacenada en etanol (70%) para el posterior análisis molecular. Los tejidos fueron depositados en la colección de tejidos del Laboratorio de Genética y Biología Molecular de la Planta Experimental de Producción Acuícola. Adicionalmente, fueron incorporadas a los análisis moleculares varias secuencias parciales de pulpos de otras regiones para los cuatro genes utilizados y provenientes de GenBank (National Center for Biotechnology Information) (Anexo 3). De las secuencias recuperadas del Genbank, solo se usaron, aquellas que provinieran del mismo espécimen o de la misma localidad.



Figura 2. Localidades de recolecta de ejemplares de pulpo en el golfo de California y en el Pacífico mexicano.

### 9.2 Marcadores moleculares

Los genes utilizados para los análisis filogenéticos fueron los mitocondriales citocromo oxidasa subunidad I (COI) y III (COIII), así como la fracción 16S ARNr y el gen nuclear de la rodopsina (Rod). Estos genes fueron seleccionados de acuerdo a un análisis *in silico* de polimorfismo inter-específico realizado para todos los genes mitocondriales y nucleares disponibles en Genbank de varias especies que integran la familia Octopodidae y que mostraron un mayor número de sitios segregantes y las mayores distancias genéticas. Un análisis multigenético puede ayudar a resolver relaciones



ancestrales en diferentes niveles jerárquicos debido a las diferentes tasas evolutivas de los genes mitocondriales y nucleares.

### *9.3 Extracción de ADN, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación*

La extracción de ADN consistió en macerar el tejido para posteriormente colocarlo en tubos Eppendorf de 1.5 ml y lavarlo con 600 µl de agua inyectable. Enseguida fue adicionado 200 µl de *Nuclei Lysis Solution*, 50 µl de 0.5M EDTA pH8, 5 µl de *RNase A Solution* y 20 µl de Proteinasa K. La mezcla se incubó toda la noche a 55°C. La purificación de la extracción fue realizada de acuerdo al protocolo de Wizard SV Genomic ADN Purification System (PROMEGA). El ADN purificado fue almacenado a -20 °C.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fue empleada para la amplificación de las secuencias mitocondriales y nucleares. Los cebadores utilizados fueron tomados de las referencias listadas en la Tabla 2. La amplificación consistió en un ciclo inicial a 94 °C por 5 min y 30 subsecuentes ciclos a 94°C por 45 s, 38 - 52 °C (dependiendo del cebador, ver Tabla 2) por 45 s y 72 °C por 90 s. Cada reacción de 25 µl contenían 2mM MgCl<sub>2</sub> (QIAGEN), 1x PCR buffer (QIAGEN), 0.4 mM dNTP's, 0.75 U de Taq DNA polymerase (PROMEGA) y 0.4 µM de cada cebador. El producto de la PCR se purificó con QIAquick® (QIAGEN, Valencia, CA) siguiendo el protocolo del productor.

Tabla 2. Cebadores utilizados en este estudio con su respectiva temperatura de alineamiento y referencia.

Gen	Cebador	Temperatura de alineamiento (°C)	Tamaño del fragmento (pb)	Referencia
COI	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	49	695	Folmer <i>et al.</i> (1994)
COIII	CATTTAGTTGATCCTAGGCCTTGACC CAAACCACATCTACAAAATGCCAATATC	38	716	Barriga-Sosa <i>et al.</i> (1995)
16S	CGCCTGTTTATCAAAAACAT CCGGTCTGAACTCAGATCACGT	52	572	Simon <i>et al.</i> (1991)
Rod	GATCGTTATAACGTCATTGGAAGACC GTAGACAATYGGGTTGTGGATAGCTG	50	552	Strugnell (2004).

La secuenciación de los purificados de PCR se realizó en ambas direcciones con el kit BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) y utilizando el secuenciador automático ABI PRISM-3100 Avant del laboratorio divisional de Biología Molecular de la Universidad Autónoma Metropolitana. Las secuencias de nucleótidos se alinearon con MEGA versión 5 (Tamura *et al.*, 2011). Los alineamientos fueron revisados con la respectiva traducción de aminoácidos para las secuencias de COI, COIII y rodopsina. Fue necesario introducir gaps en el alineamiento de 16S ARNr y una región de alrededor de 100 pb no pudo ser alineada correctamente por lo que fue eliminada.

#### 9.4 Prueba de homogeneidad y saturación

El programa PAUP\*4.0b10 (Swofford, 2002) fue utilizado para la aplicación de la prueba chi-cuadrada ( $X^2$ ) de composición de homogeneidad de nucleótidos para investigar si

las secuencias difieren significativamente. La prueba fue aplicada a los genes individualmente así como a cada posición de codón para los genes codificantes. La saturación de nucleótidos fue examinada con la prueba de Xia (Xia *et al.*, 2003, Xia y Lemey, 2009) en el programa DAMBE version 5.2.73. (Xia y Xie, 2001).

La prueba de homogeneidad de particiones (Farris *et al.*, 1994), implementada en PAUP\*4.0b10 (Swofford, 2002), fue utilizada para comparar la topología entre cada uno de los genes y determinar si las secuencias de los genes pueden ser concatenadas en una sola secuencia de datos. El programa MrModeltest 2.3 (Nylander, 2004) fue utilizado para seleccionar el modelo de sustitución que mejor se ajustó a los datos bajo el criterio de información de Akaike (AIC).

#### *9.5 Estimación de distancias genéticas y determinación de identidades genéticas*

Las distancias genéticas pareadas entre y dentro de las especies de *Octopus sensu stricto* y entre las especies de género incierto del Pacífico Mexicano, “*O.*” cf. *chierchiae* y “*O.*” *fitchi*, se calcularon en MEGA versión 5 (Tamura *et al.*, 2011) utilizando el modelo de Tamura-Nei (Tamura y Nei, 1993) para determinar qué tan divergentes son estas últimas respecto al género *Octopus*. La prueba de U de Mann-Whitney fue aplicada para detectar distancias genéticas inter e intraespecíficas significativas utilizando los genes mitocondriales. El análisis de distancias genéticas mostró una fuerte similitud entre *O. hubbsorum* y *O. mimus* de tal forma que fueron aplicadas, adicionalmente, la regla 10x (Herbert *et al.*, 2004) para las distancias intraespecíficas de estas especies con COI y la regla 4x (Birky *et al.*, 2010) para las divergencias intraespecíficas con COIII debido a la mayor cantidad de secuencias de *O. mimus* en GenBank. La regla

10x es un valor mínimo para separar especímenes que pertenecen a especies diferentes. Este umbral es definido como 10 veces la media de la variación intraespecífica (Herbert *et al.*, 2004). La regla 4x en cambio no representa un umbral fijo y está basada en teoría de genética de poblaciones para identificar clados recíprocamente monofiléticos (Birky *et al.*, 2010). Si la diferencia media de secuencias entre estos clados es 4 veces mayor que la diversidad promedio de las secuencias dentro de cada clado entonces podrían definirse como especies diferentes.

### 9.6 Análisis filogenético

*Opisthoteuthis massyae* y *Scaevurgus unircirrhus* fueron utilizados como grupos externos debido a que ha sido comprobado que son taxa basales fuera y dentro de la familia Octopodidae respectivamente. La reconstrucción filogenética fue realizada utilizando una serie de datos concatenados (COI+COIII+16S) y los genes individuales. El análisis se realizó mediante métodos bayesianos usando el programa MrBayes versión 3.2 (Ronquist y Huelsenbeck, 2003). Los datos concatenados fueron particionados por gen y codón, los genes individuales fueron particionados únicamente por codón. Los modelos de sustitución y tasa de heterogeneidad y la frecuencia de bases fueron separados entre las particiones. Para el análisis se efectuaron dos corridas independientes con cuatro cadenas para 10 millones de generaciones y muestreando cada 1000 generaciones. El soporte de los clados fue obtenido mediante las probabilidades posteriores bayesianas.

### 9.7 Tiempos de divergencia

Un segundo análisis bayesiano fue implementado en Beast v1.8 (Drummond *et al.*, 2002-2013) para calcular los tiempos de divergencia utilizando todos los genes. La serie de datos fue particionada por gen. El reloj fue estimado utilizando un reloj relajado con una distribución lognormal no correlacionada y escogiendo el modelo del proceso de Yule como *prior* del árbol. Este es un modelo simple que asume que en cualquier punto en el tiempo cada linaje existente puede especiar a la misma tasa. La calibración de la tasa fue con los tiempos de divergencia de la familia Octopodidae (79 Ma) y entre *Hapalochlaena* y *Octopus* (65 Ma) registrados por Strugnell *et al.* (2006). Tres cadenas independientes de Markov (MCMC) fueron corridas; cada una consistió de 30 millones de generaciones y muestreando cada 3000 generaciones. Tracer v1.6 (Rambaut *et al.*, 2014) fue usado para determinar un *burn in* aceptable y para verificar que el análisis había alcanzado la estabilidad.

### 9.8 Identificación morfológica de los ejemplares

La identificación del material se llevó a cabo utilizando la bibliografía pertinente (claves y descripciones: Berry, 1953; Voss, 1971; Roper *et al.*, 1995) y con material de referencia alojado en las principales colecciones malacológicas de México: Colección Malacológica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB), Instituto Politécnico Nacional; Colección Nacional de Moluscos (CNMO), Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Colección Malacológica Dr. Antonio García-Cubas (COMA), Instituto de Ciencias Marinas y Limnología, Universidad Nacional

Autónoma de México; y la colección de moluscos del Santa Barbara Museum of Natural History (SBMNH), California, EUA.

#### *9.9 Re-descripción morfológica de las especies encontradas*

Las re-descripciones de los taxa fueron basados en los ejemplares maduros provenientes de los muestreos y de las colecciones. La re-descripciones se realizaron de acuerdo a la guía de Roper y Voss (1983) y también se basaron en la metodología y en los caracteres diagnósticos propuestos por Norman y Sweeney (1997) (Fig. 3) y Hochberg *et al.* (2005). Las medias y sus intervalos y las frecuencias relativas de los caracteres merísticos y morfométricos usados son presentados en los casos cuando fueron examinados más de 10 ejemplares de una especie.

#### *9.10 Clave taxonómica de la familia Octopodidae del Pacífico mexicano*

La elaboración de la clave taxonómica fue basada en aquella realizada por Roper *et al.* (1995) para las especies de pulpo de la provincia Panámica pero con datos adicionales como índice de la lígula y conteo de ventosas del hectocotilo.

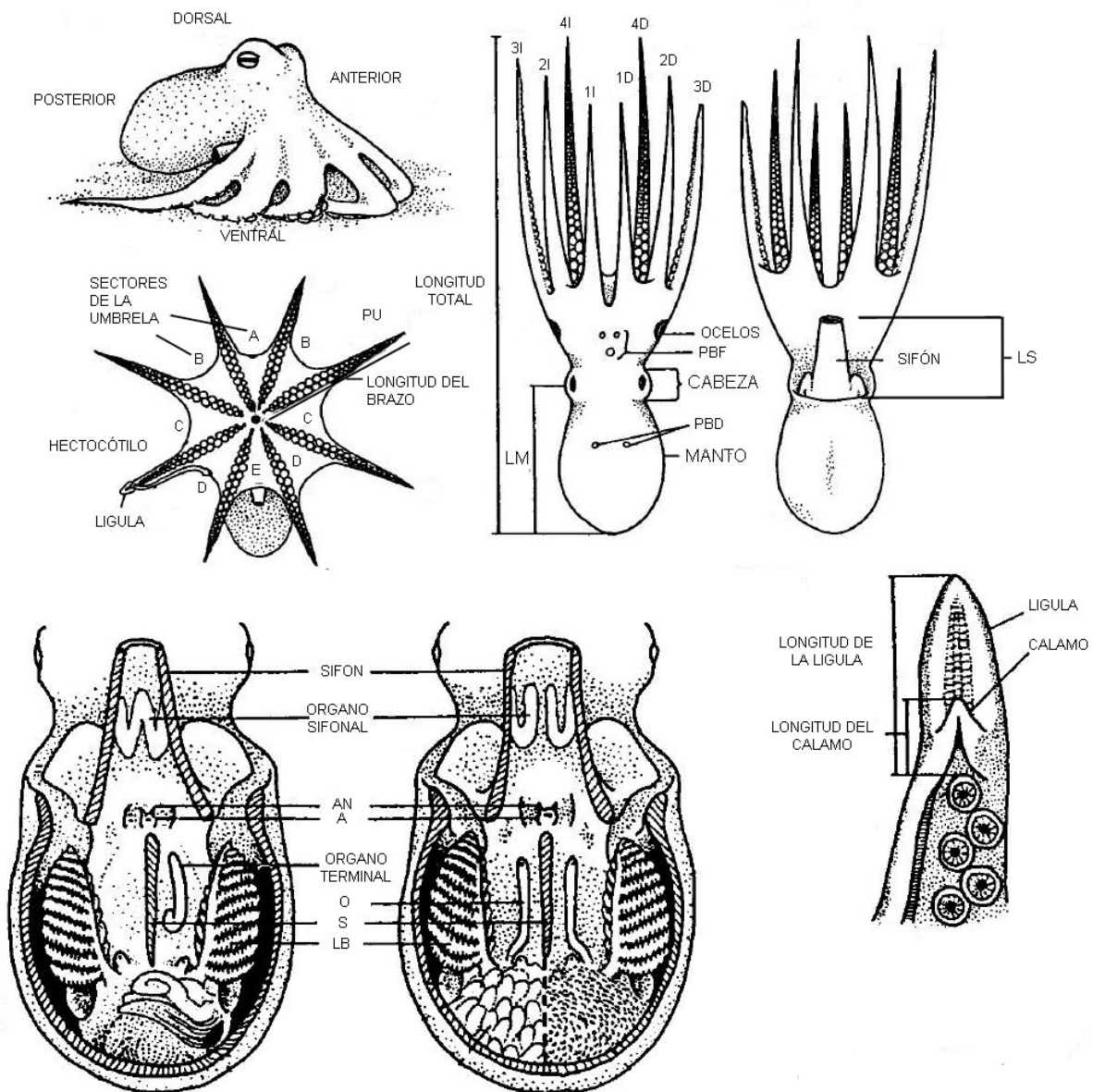


Figura 3. Mediciones y características diagnósticas utilizadas en octopodidos. A: ano, AN: aletas anales, LB: laminillas branquiales, LM: longitud del manto, LS: longitud del sifón, O: oviducto, PBD: puntos blancos dorsales, PBF: puntos blancos frontales, PU: profundidad de la umbrela, S: septo, 1-4D: numeración de los brazos derechos, 1-4I: numeración de los brazos izquierdos (Tomado de Norman y Sweeney, 1997).

## 10. Resultados

El presente apartado está constituido por dos secciones. La primera contiene las distancias genéticas y relaciones filogenéticas de las especies encontradas en este estudio y los tiempos de divergencia del género *Octopus* utilizando los cuatro marcadores moleculares y análisis bayesianos para determinar la identidad genética de las mismas. En la segunda sección son presentadas la clave taxonómica para la identificación y las descripciones morfológicas de ocho especies de la familia Octopodidae. Cabe enfatizar, que las especies utilizadas en ambos análisis fueron diferentes, es decir, algunas de las especies secuenciadas para la inferencia filogenética no fueron las mismas que se describieron. Esto porque, para el análisis molecular, algunas donaciones hechas al estudio fueron, únicamente, muestras de tejido y no los ejemplares completos y porque varias especies encontradas en las colecciones malacológicas no pudieron ser capturadas durante la recolección de material biológico.

### 10.1. Identidad genética de las especies de pulpo del Pacífico mexicano.

Se determinó la identidad genética de las especies *Octopus bimaculatus*, *O. bimaculoides*, “*O.*” cf. *chierchiae*, “*O.*” *fitchi*, *O. hubbsorum*, “*O.*” cf. *oculifer* y *Paroctopus digueti* a partir de secuencias parciales obtenidas para los cuatro marcadores moleculares pero para las últimas cinco especies su identificación fue por medio de las claves y descripciones debido a que no tuvieron datos genéticos previos publicados en GenBank que pudieran corroborar su identidad genética. Las longitudes en pares de



bases de las secuencias fueron de 694 para COI, 716 para COIII, 552 para rodopsina y 570 para 16S ARN. El total de nucleótidos analizados fue de 2532. Adicionalmente, fueron resueltos varios haplotipos para las especies *O. bimaculoides*, "*O.*" *fitchi*, *O. hubbsorum* y *Paroctopus digueti* (Tabla 3).

Las secuencias mitocondriales mostraron un sesgo de 66.6 a 71.6 % hacia T+A mientras que en las frecuencias nucleotídicas de rodopsina no hubo tal desviación, la composición de T+A fue de 54%. El mayor número de sitios variables se presentó en los dos genes mitocondriales codificantes, (262 para COI y 306 para COIII) seguidos de rodopsina (185) y 16S ARNr (129). Los cuatro genes tuvieron un mayor número de transiciones que transversiones (Tabla 4).

El análisis de homogeneidad de nucleótidos mostró que la tercera posición de COIII es significativamente heterogénea en cuanto a su composición de bases (Tabla 5) de tal forma que fue removida antes de realizar el análisis filogenético. Mientras que el análisis de secuencias mitocondriales concatenadas no mostró incongruencia entre las particiones, el análisis no soportó la concatenación de las secuencias mitocondriales y nucleares. Sin embargo, debido a que cada partición fue evaluada con su propio modelo evolutivo en un análisis de particiones separadas significa que cada una de ellas fue modelada independientemente. Asimismo, la prueba de Xie indicó que las secuencias no están saturadas con excepción de la tercera posición del codón en COIII ( $I_{ss}=0.4681$ ,  $I_{ss.c}=0.4147$ ,  $I_{ss}>I_{ss.c}$ )

Tabla 3. Lista de haplotipos para los genes, citocromo oxidasa subunidad I (COI) y III (COIII), 16Sr o ARN ribosómico y rodopsina (Rod), y número total de ejemplares de cada especie utilizados para el análisis molecular. Los números entre paréntesis indican el número de ejemplares utilizados para el gen respectivo. NTI: número total de individuos estudiados.

Especie (clave)	Haplotipos				NTI
	COI	COIII	16S	Rod	
<i>Octopus bimaculatus</i> (Obim)	1 (4)	1 (4)	1 (4)	1 (2)	4
<i>Octopus bimaculoides</i> (Obis)	2 (3)	2 (3)	1 (3)	1 (2)	3
" <i>Octopus</i> " cf. <i>chierchiae</i> (Och)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1
" <i>Octopus</i> " <i>fitchi</i> (Ofi)	1 (2)	2 (3)	1 (2)	1 (2)	3
<i>Octopus hubbsorum</i> (Ohu)	4 (28)	4 (29)	4 (23)	1 (7)	29
<i>Octopus</i> cf. <i>oculifer</i> (Ooc)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1
<i>Paroctopus digueti</i> (Pdi)	2 (2)	3 (3)	3 (3)	2 (3)	3
TOTAL					44

Tabla 4. Composición nucleotídica, sitios variables (SV), sitios parsimoniosamente informativos (SPI) y mutaciones por transición de los cuatros genes utilizados.

Gen	Frecuencias nucleotídicas (%)				SV (%)	SPI (%)	Transiciones (%)
	T	C	A	G			
COI	37	18.7	29.6	14.7	37.5	32.6	61.3
COIII	39.7	18.2	30.6	11.5	42.7	34.4	86.3
16S	35.7	10.7	33.9	19.6	26.5	18.5	70.5
Rod	30.6	24	24.3	21.1	26.7	12.6	66.3

Tabla 5. Valores de chi-cuadrada y probabilidad para las respectivas posiciones de codón de cada gen.

Gen	Posición del codón	X <sup>2</sup>	P
			(P<0.05)
COI	1 <sup>a</sup>	15.88	1
	2 <sup>a</sup>	9.79	1
	3 <sup>a</sup>	109.04	0.055
COIII	1 <sup>a</sup>	18.11	1
	2 <sup>a</sup>	12.467	1
	3 <sup>a</sup>	143.05	<b>0.000</b>
Rod	1 <sup>a</sup>	7.787	1
	2 <sup>a</sup>	8.679	1
	3 <sup>a</sup>	17.55	1
16S		10.46	1

Las distancias genéticas menores registradas entre especies fueron entre *O. hubbsorum* y *O. mimus* (0.6 - 1.5%) con los genes mitocondriales y entre *O. bimaculatus* y *O. bimaculoides* (0%) con rodopsina (Tabla 6). Las mayores divergencias observadas fueron entre *O. mimus* y "*O.*" cf. *chierchiae* (26.8%) con COI, *O. bimaculatus* y "*O.*" *fitchi* (23.2%) con COIII, *O. bimaculatus-bimaculoides-vulgaris* y "*O.*" *californicus* (6.9%) con el gen de la rodopsina y *O. mimus* y "*O.*" *californicus* (10.4%) con 16S ARNr. Las distancias promedios entre especies de *Octopus* s. s. fueron de 10.7% con COI y COIII, 1.4% con rodopsina y 3.4% con 16S ARNr y las distancias intergenéricas promedio fueron 20.7% con COI y COIII, 4.6% con rodopsina y 7.4% con 16S ARNr. Las especies panámicas de género incierto "*O.*" cf. *chierchiae* y "*O.*" *fitchi* divergieron de las demás especies alrededor de 20% con COI y COIII, 4% con rodopsina y 6.6% con 16S ARNr. Las diferencias entre las distancias genéticas inter e intraespecíficas, utilizando los tres marcadores mitocondriales, fueron significativas ( $U=0$ ,  $P=0.05$ ) (Fig. 4). Las reglas 10x y 4x para discriminación entre especies fueron aplicadas a las diversidades genéticas intraespecíficas entre *O. hubbsorum* y *O. mimus* debido a su diferencia genética pequeña. El umbral de 10x (promedio de la distancia intraespecífica en especies de *Octopus* fue de 0.2%) no fue suficiente para considerar a *O. hubbsorum* y *O. mimus* como especies diferentes. La mayor distancia genética registrada entre estos dos taxa fue de 0.8%, que es mucho menor del 2% (10x). Igualmente, la prueba 4x no soportó ( $D=0.015$ ) la monofilía recíproca de *O. hubbsorum* ( $\pi=0.00394$ ) y *O. mimus* ( $\pi=0.02$ ,  $D<4\theta$ ).

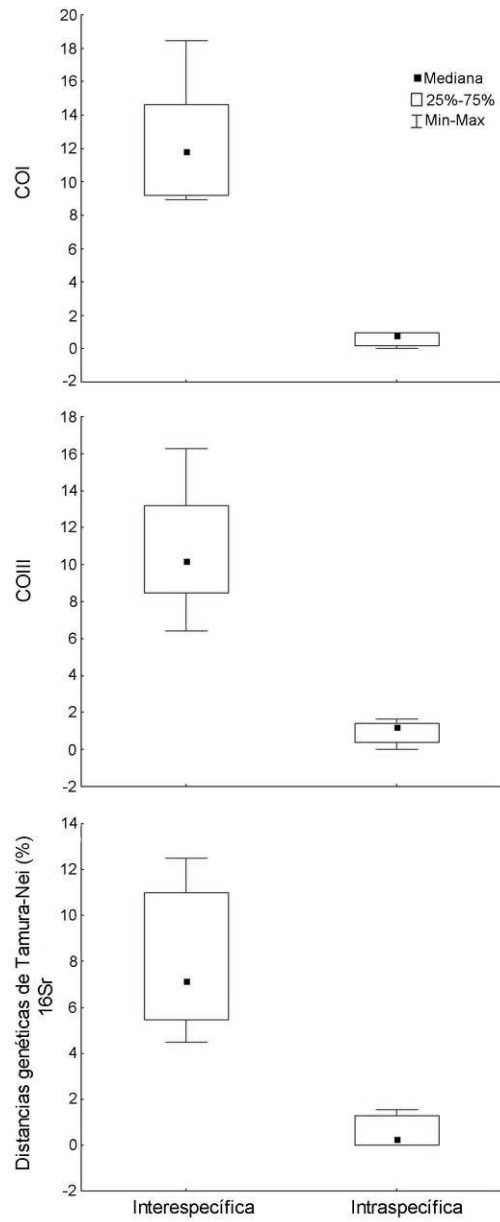


Figura 4. Variación inter e intraespecífica de las distancias genéticas de Tamura-Nei para secuencias nucleotídicas de citocromo oxidasa I y III, y 16S ARN ribosomal de diferentes especies de *Octopus*.

Tabla 6. Distancias genéticas pareadas entre las especies de pulpo del Pacífico central americano. Los valores de 16S ARNr y rodopsina son mostrados en la primera y segunda fila, respectivamente, de la diagonal superior. Los valores de COI y COIII son mostrados en la primera y segunda fila, respectivamente, de la diagonal inferior. Oca = “*Octopus californicus*”, Oin = *O. insularis*, Oma = *O. maya*, Omi = *O. mimus*, Ovu = *O. vulgaris*.

Taxa	Obim	Obis	Oca	Och	Pdi	Ofi	Ohu	Oin	Oma	Omi	Ooc	Ovu	Osp
Obim		2.6	9.6	7.2	7.6	7.6	4.2	2.2	3.5	4.2	4.3	3.1	5.5
		0	6.9	-	4.2	4.6	1.2	-	-	-	1.2	2.7	2.9
Obis	7		9.6	7.2	7.3	6.2	3.5	3.6	3.5	3.5	2.9	3.8	6.2
	5.8		6.9	-	4.2	4.6	1.2	-	-	-	1.2	2.7	2.9
Oca	21.3	23.1		9.6	9.7	9.3	9.3	9.3	8.6	9.7	10.4	9.6	9.6
	21.4	20		-	6.7	6.7	6	-	-	-	6.5	6.9	6.5
Och	21.1	23.1	16.2		4.2	4.5	8.2	7.5	7.1	8.2	7.9	7.5	7.9
	26.6	24.4	26.1		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pdi	19.8	21.1	19.3	15.6		2.9	7.6	6.5	6.5	7.5	7.3	7.2	5.5
	23.9	20.5	19.9	18.8		1.2	3.4	-	-	-	3.8	4.6	3.6
Ofi	23.2	22.9	22.1	18.6	13.5		6.2	6.5	6.1	6.1	6.9	8.7	8
	23.2	21.4	23.6	23.3	15.6		3.8	-	-	-	4.2	5	3.8
Ohu	11.8	11.1	21.8	19.9	20.2	18.3		1.9	1.9	0.6	2.8	5.8	7.2
	9.5	9.2	20.2	24.8	22.2	20		-	-	-	0.4	1.9	2.9
Oin	12	12.5	22.8	20.4	20.9	20.7	6.6		1.9	1.9	2.9	4.8	5.8
	9.8	10.7	21.4	23.2	22.3	20.8	8.8		-	-	-	-	-
Oma	12.9	13.4	22.9	19.9	22.7	20.7	8.4	9.3		1.9	3.5	5.5	5.5
	10.3	10.6	18.7	22.4	21.3	20	7.2	6.2		-	-	-	-
Omi	11.2	11	21.2	19.8	20.1	18.2	0.8	6.5	8.4		2.8	5.5	7.2
	10.8	10.2	21.3	26.8	24.1	20	1.5	9.2	8.1		-	-	-
Ooc	10.8	11.5	22.4	18.1	18.2	20.1	7.6	9.2	6.8	7.6		5.6	6.5
	12.5	9.4	21.6	21.5	19.4	19.5	9.2	10	9.7	9.6		1.9	3.3
Ovu	16.6	18.8	21.8	19.4	19.8	20.6	14.9	13.7	17.4	14.8	16.3		6.1
	14.4	14.2	25.4	19	25.3	25.3	15.3	14.4	13.1	16.3	15.6		4.4
Osp	17.8	17.6	21.7	18.1	20.4	22.1	19.2	17.8	16.5	19.1	17	22.5	
	20.1	19.3	19	20.1	21.4	20.1	20	19.3	18.8	20.6	21.1	16.6	

## 10.2 Análisis filogenético y tiempos de divergencia

En las dos filogenias concatenadas (Figs. 5 y 6) y en las individuales de COI y 16s ARNr (Figs 7 y 8) se formó un clado monofilético constituido por las especies pertenecientes al género *Octopus* s. s. (probabilidad bayesiana posterior (pbp)=1),, cuya edad estimada fue de aproximadamente 41 millonesde años (Ma) (Intervalo de alta densidad posterior=32-52 Ma). Sin embargo, en las filogenias individuales de COIII y Rodopsina, *Octopus* s. s. es parafiletico. Las especies de género incierto del Pacifico Americano, “O.” cf. *chierchiae* y “O.” *fitchi* se agruparon con “O.” *tehuelchus* y *Paroctopus digueti* (pbp=1) y fue estimado que divergieron aproximadamente hace 58 Ma (intervalo de alta densidad posterior=39-75 Ma). La otra especie de género incierto que no se agrupó con las otras especies de *Octopus* s. s. fue “O.” *californicus* que está más relacionada con *Benthoctopus oregonensis* y *Enteroctopus dofleini*.

Las topologías de los marcadores mitocondriales, analizados individualmente (Figs. 7 y 8), resuelven a *Octopus hubbsorum* y *O. mimus* como clado monofilético (pbp = 1.0). En las topologías, la especie más cercana al grupo de *O. hubbsorum-mimus* fue distinta pero fue evidente la cercanía que tiene este grupo con las especies del Atlántico, *O. insularis* y *O. maya*, y la especie del Pacifico, *O. cf. oculifer*. Las especies oceladas, *O. bimaculatus* y *O. bimaculoides*, conformaron tambien un clado monofiletico en todas las topologias excepto para el 16S ARNr, constituyendo el grupo hermano de las especies arriba mencionadas.

Existe una relación cercana entre *Octopus tetricus* y *O. vulgaris* que se presentó en las filogenias de los genes concatenados, COI y COIII. Estos dos pulpos están asociados al

grupo de *O. hubbsorum* y *O. mimus*. Sin embargo, en las topologías de 16S ARNr y concatenadas, *O. vulgaris* es la especie más basal del género *Octopus* s. s.

Las relaciones cercanas entre géneros que se repitieron en prácticamente en todas las topologías fueron *Scaevurgus* con *Macroctopus*, *Hapalochlaena* con *Amphioctopus* y *Abdopus* con *Ameloctopus*.



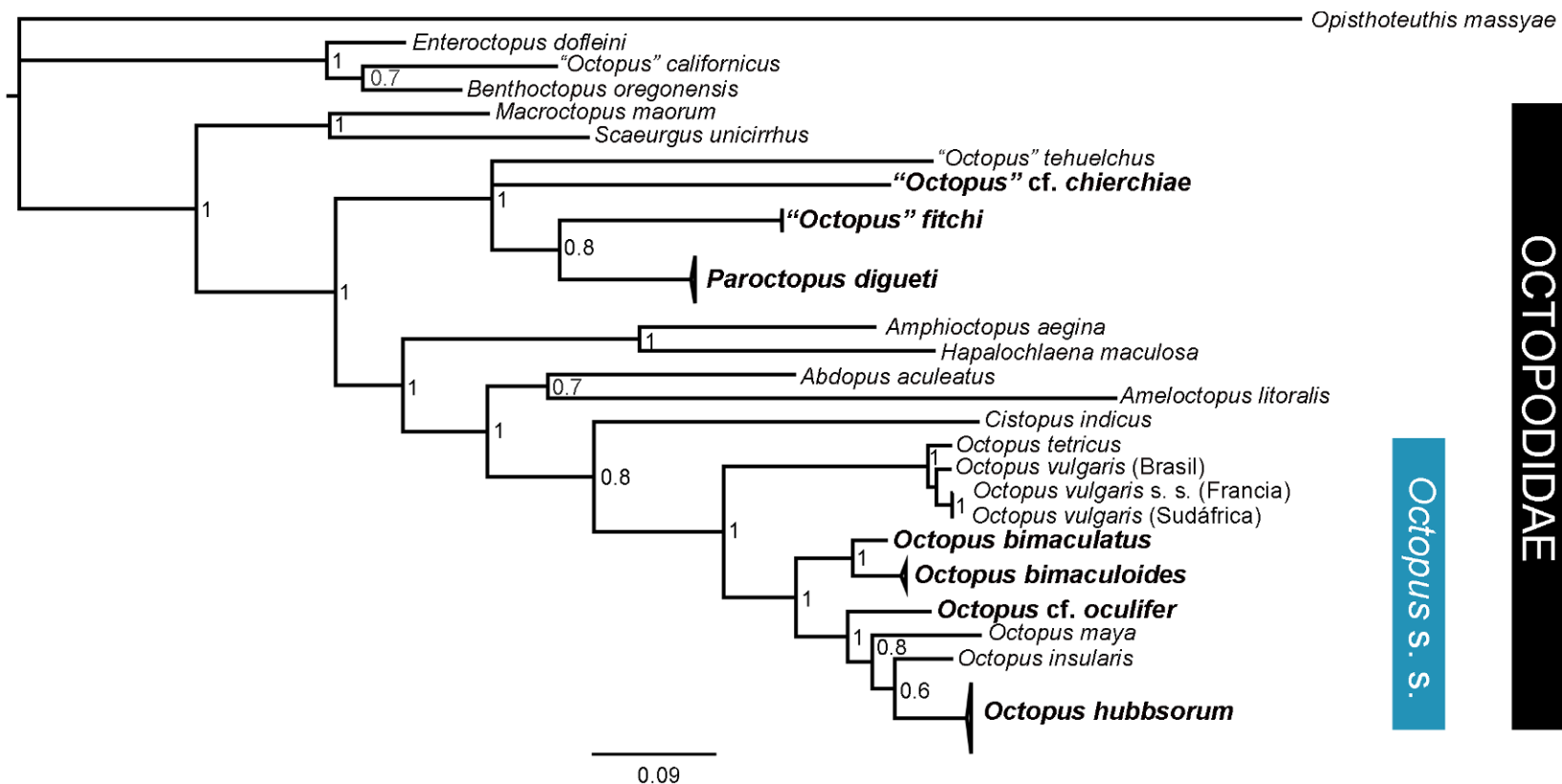


Figura 5. Filogenia bayesiana para los pulpos del Pacifico Mexicano basada en secuencias mitocondriales parciales concatenadas de citocromo oxidasa subunidad I y III (COI y COIII), y de 16S ARN ribosómico. El conjunto de datos fue particionado por posición de codón y gen. La 3ª posición de codón en COIII fue removida debido a que es significativamente heterogénea. Los valores arriba de los nodos indican la probabilidad bayesiana posterior.

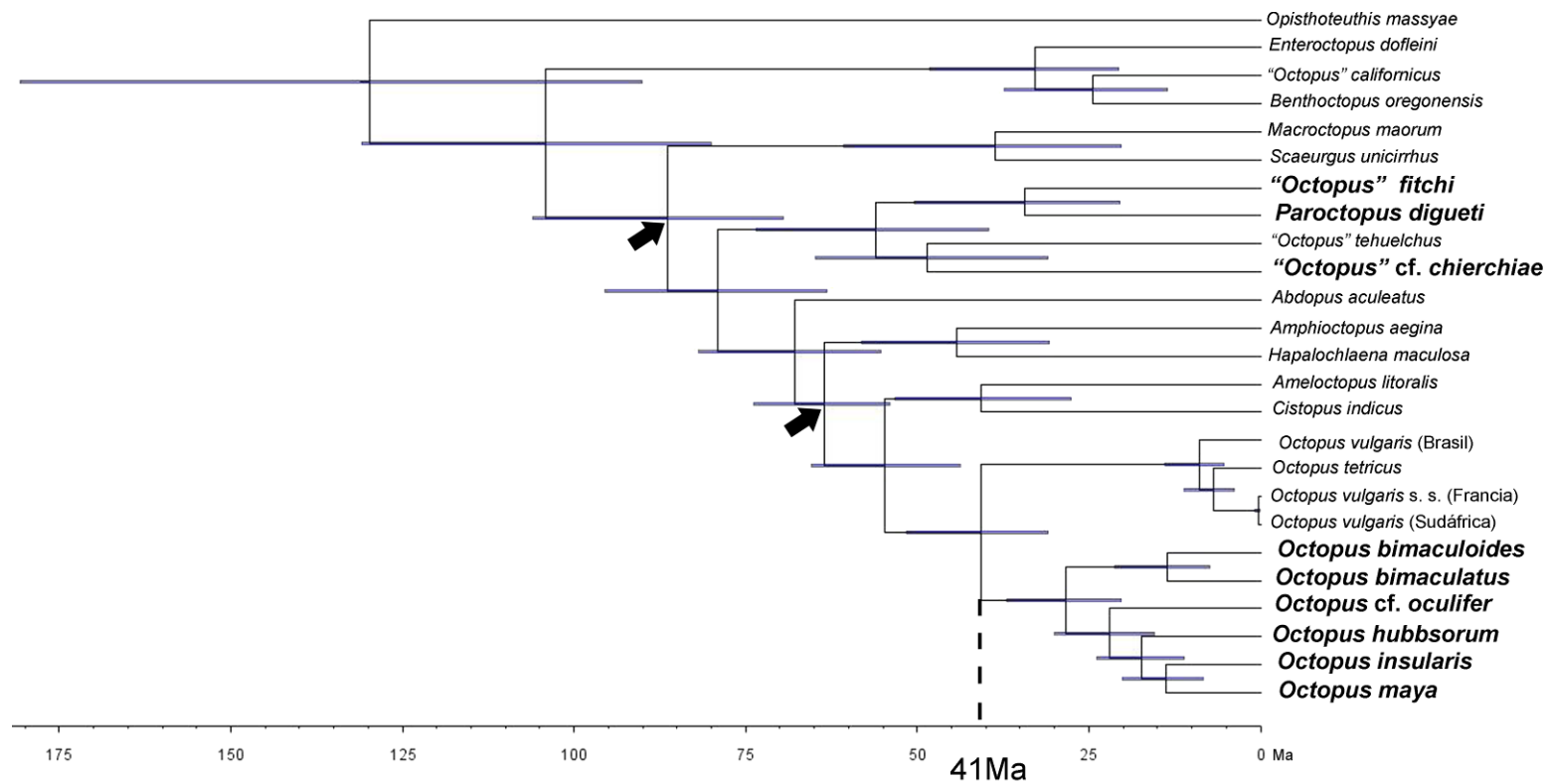
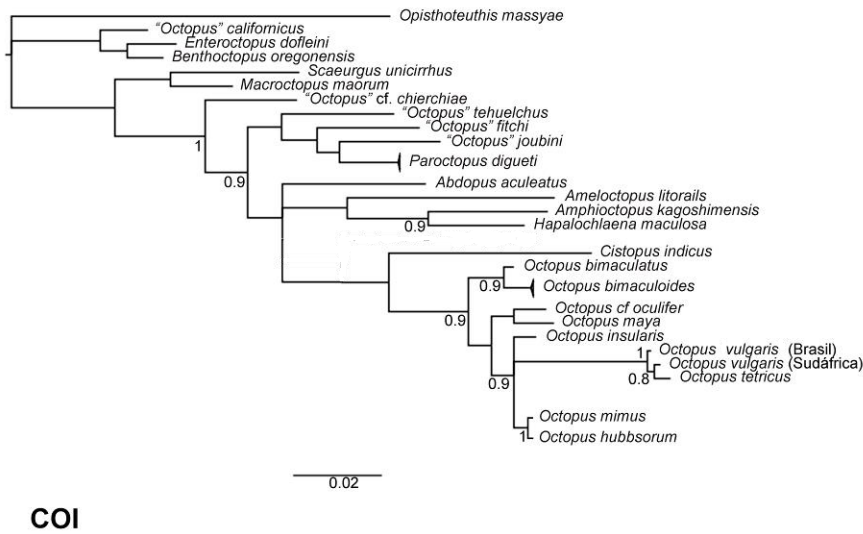


Figura 6. Filogenia bayesiana relajada con los tiempos de divergencia estimados con citocromo oxidasa subunidad I y III (COI y COII), 16S ARNr y el gen de la rodopsina. Las barras indican el intervalo de densidad posterior de 95%. Las flechas indican los dos puntos de calibración, clado de Octopodidae (79Ma) y clado de *Hapalochlaena-Octopus* (65 Ma) (Strugnell *et al.*, 2006). La divergencia estimada para el clado de *Octopus* s. s. fue hace 41 Ma (32- 52 Ma).



Octopus s. s.

OCTOPODIDAE

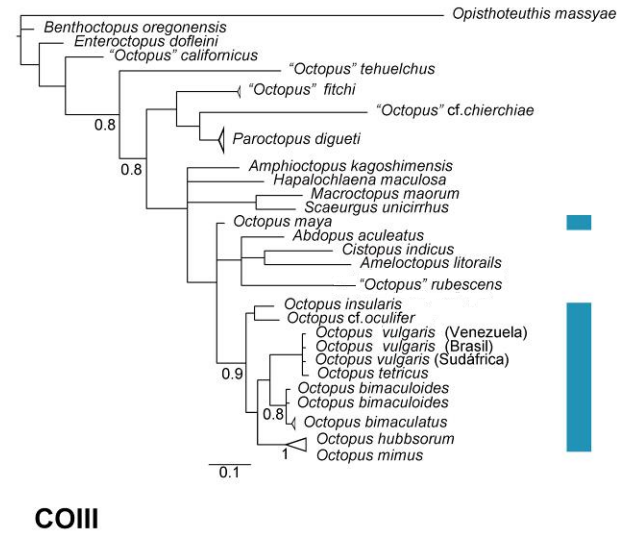
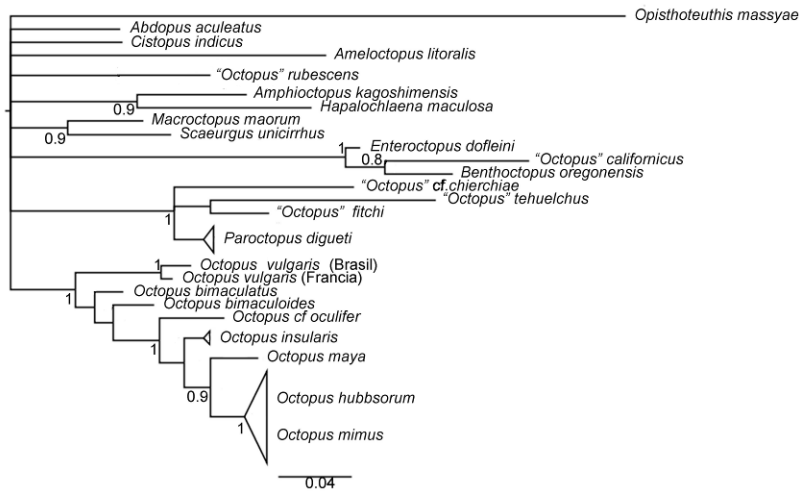
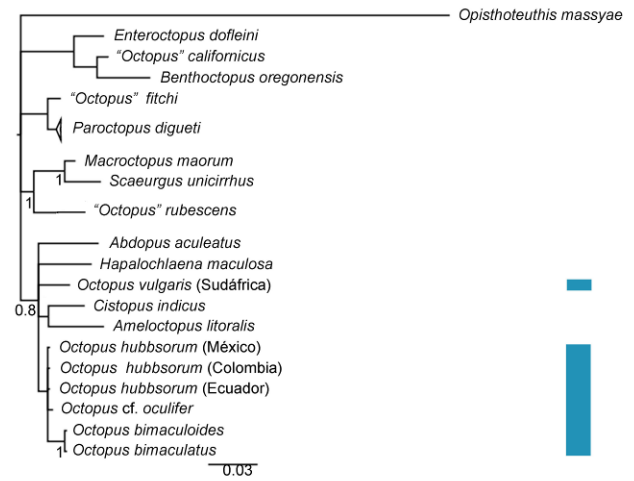


Figura 7. Filogenia bayesiana para los pulpos del Pacífico Mexicano basada en secuencias parciales de COI y COIII. Los genes fueron particionados por posición de codón. Únicamente la 3ª posición de codón en COIII fue removida debido a que es significativamente heterogénea. Los valores junto a los nodos indican la probabilidad bayesiana posterior. Los valores menores a 8 no son mostrados.



16S



RODOPSINA

Figura 8. Filogenia bayesiana para los pulpos del Pacífico Mexicano basada en secuencias parciales de 16S ARNr y rodopsina. Únicamente rodopsina fue particionado por posición de codón. Los valores junto a los nodos indican la probabilidad bayesiana posterior. Los valores menores a 8 no son mostrados.

### 10.3. Descripciones de los pulpos del Pacífico mexicano.

Las ocho descripciones de las especies que se presentan a continuación están ordenadas por sus relaciones filogenéticas y estatus genérico, y están basadas en ejemplares de referencia de las colecciones malacológicas consultadas así como de los especímenes que fueron capturados durante el estudio. El formato de presentación de la descripción de especies está organizado con los siguiente apartados: 1. Presentación del nombre válido seguido por el autor y el año de publicación, 2. Referencias a figuras de la especie previamente publicadas por el autor original y otros autores, 3. Localidad tipo, 4. Sinónimos, 5. Diagnósis presentando los caracteres que permiten identificar a la especie de otros taxa, 6. Material examinado con el número de catálogo, la colección en donde está albergados el material, el número de ejemplares examinados, la localidad y la fecha de colecta, 7. Descripción, 8. Distribución geográfica y 9. Observaciones, donde se comparan la especie referida en la descripción con otros taxa que por sus características similares podrían ser confundidos con ésta y también se mencionan datos adicionales de la especie.

Aunque fueron obtenidos ejemplares de *O. bimaculoides* estos eran juveniles como para ser considerados para las redescrpciones. Aunado a esto, no hubo ejemplares de *O. bimaculoides* provenientes de México en las colecciones visitadas. El estatus taxonómico de cada especie fue consultado en el listado de Norman y Hochberg (2005a) y Norman *et al.* (2013). La clasificación usada es la propuesta por Young *et al.* (2012). Debido a la evidencia genética conseguida en este estudio, *O. hubbsorum* es

considerado a partir de aquí como *O. mimus* (ver *implicaciones taxonómicas* en Discusión).

## **TRATADO SISTEMÁTICO**

Clase Cephalopoda Cuvier, 1797

Subclase Coleoidea Bather, 1888

Superorden Octopodiformes Berthold and Engeser, 1987

Orden Octopoda Leach, 1818

Suborden Incirrata Grimp, 1916

Superfamilia Octopodoidea Orbigny, 1839

Familia Octopodidae Orbigny, 1839

### *10.3.1 Octopodidae*

Es la familia más diversa dentro del orden Octopoda. Está constituida, principalmente por especies bentónicas de aguas someras distribuidas en todas las regiones del mundo. Son pulpos que presentan de una o dos series de ventosas en los brazos; el tercer brazo derecho (hectocótilo), generalmente, modificado para la reproducción. Pueden tener una concha reducida en un par de estiletes o en su caso puede estar ausente.

### *10.3.2 Octopus sensu stricto*

Pulpos de aguas poco profundas de distribución tropical y subtropical, de tamaño mediano a grande (hasta 250 mm de la longitud del manto). Con un patrón característico de parches y surcos que le dan la apariencia de estar reticulado. Algunas

especies con ocelos. Con 7 a 11 laminillas branquiales. Órgano sifonal con forma de "W". Ventosas dispuestas biserialmente. El tercer brazo derecho es el hectocotilizado con hasta 180 ventosas. Los demás brazos con hasta 330 ventosas. Generalmente con ventosas engrandecidas en los brazos 2 y 3 de los machos maduros. Lígula pequeña (0.7 a 2.8% de la longitud del brazo hectocotilizado).

***Octopus bimaculatus* Verril, 1883 (Fig. 9).**

*Referencia a figuras:* Roper *et al.* (1995): Fig. oct24; Alejo-Plata *et al.* (2012): Fig.2 (paralarvas); Norman *et al.* (2013): Fig. 41.

*Localidad tipo:* San Diego, California, Estados Unidos.

*Sinónimos:* Ninguno

*Estatus genérico:* Válido

*Diagnosis:* Pulpo mediano a grande (Longitud máxima del manto = 125 mm) con un ocelo debajo de cada ojo constituido por un círculo externo negro que rodea un círculo azul iridiscente. Con 8 a 9 laminillas branquiales. Órgano sifonal con forma de "W". Ventosas biseriales, con 2 a 3 ventosas engrandecidas en los machos maduros. Hectocotilo con hasta 202 ventosas, los demás brazos con 146 a 332 ventosas.

*Material examinado:* 72 ejemplares. CNMO *pendiente:* 8 ejemplares, Puerto Peñasco, Sonora. 30 de diciembre de 2010. CNMO *pendiente:* 8 ejemplares, San Carlos, Sonora, 30 de junio de 2011. ENCB 5502: 1 ejemplar, Bahía Tortugas, Baja California Sur. 14 de noviembre de 1982. ENCB 5530: 1 ejemplar, San Buto, Baja California Sur. 26 de enero de 1983. ENCB 5571: Bahía de Ensenada, Baja California. Marzo de 1961. ENCB 6244: 1 ejemplar, Bahía Tenacatita, Jalisco. 28 de octubre de 1986. SBMNH

45703: 1 ejemplar, Puerto, Peñasco, Sonora. 23 de marzo de 1967. SBMNH 63409: 3 ejemplares, San Felipe, Baja California. *Sin fecha de colecta*. SBMNH 63416: 1 ejemplar, Punta Salsipuedes, Baja California. 10 de junio de 1945. SBMNH 63425: 2 ejemplares, Sur de Isla Tiburón, golfo de California. *Sin fecha de colecta*. 63461: 11 ejemplares, San Felipe, Baja California. 29 de julio de 1988. SBMNH 63462: 7 ejemplares, San Felipe, Baja California, 29 de julio de 1988. SBMNH 63467: 1 ejemplar, San Felipe, Baja California. 2 de octubre de 1986. SBMNH 64525: 1 ejemplar, Isla Coronado, Baja California. 19 de agosto de 1977. SBMNH 64526: 1 ejemplar, Isla San Benito, Baja California 15 de agosto de 1977. SBMNH 64529: 1 ejemplar, Arrecife Sacramento, Baja California, 18 de agosto de 1977. SBMNH 64533: 1 ejemplar, Isla Coronado, Baja California, 18 de julio de 1979. SBMNH 64549: 1 ejemplar, Isla San Benito, Baja California. 17 de agosto de 1977. SBMNH 64561: 1 ejemplar, Isla San Martín, Baja California. 14 de agosto de 1977. SBMNH 64563: 1 ejemplar, Isla Coronado, Baja California. 19 de agosto de 1977. SBMNH 64564: 1 ejemplar, Isla Coronado, 19 de julio de 1979. SBMNH *pendiente*: 6 ejemplares, Puerto Peñasco, Sonora. 1 de diciembre de 2012. SBMNH *pendiente*: 1 ejemplar, Guaymas, Sonora. 14 de julio de 1977. SBMNH *pendiente*: 2 ejemplares, Punta San Eugenia, Baja California Sur. 31 de octubre de 1951. SBMNH *pendiente*: Isla Coronado, golfo de California. 21 de octubre de 1998.

*Descripción:* Las mediciones y conteos realizados a los ejemplares examinados son presentados en la tabla 7. Tamaño mediano a grande (Longitud del Manto (LM) 103♀ y 125♂ mm). Manto ovoide a en forma de pera, más largo que ancho (Ancho del Manto



(AM) 90♀ y 79♂ mm). Abertura del manto amplia (57♀ y 43♂ mm). Sifón moderado (de 30 a 43% de la LM), la parte libre de moderada a larga (45 a 85% la longitud del sifón). Órgano sifonal con forma de "W". Branquias con 8 - 9 laminillas branquiales.

Brazos largos (de 3 a 5 veces la LM), subcilíndricos. El primer par de brazos, generalmente más corto que los demás, el tercer par habitualmente es el más largo. Autotomía en la base de los brazos ausentes. Con 2 a 3 ventosas engrandecidas en el segundo y tercer par de brazos a partir de la posición 11 a 13. Con hasta 332 ventosas en los brazos completos (140 - 332 en la hembra y 212 - 312 en el macho).

Umbrela poco profunda (de 13 a 23% de la longitud del brazo más largo), el sector C es más profundo que los otros sectores. Fórmula de la umbrela más común C>D>B>E>A. Tercer brazo derecho del macho hectocotilizado, el brazo con una longitud similar a la de los demás brazos pero más corto su brazo opuesto (3 a 4 veces la LM y 70 a 80% de longitud del brazo opuesto). Lígula pequeña (0.8 a 1.8% de la longitud del brazo). Cálamo mediano (alrededor del 40% de la longitud de la lígula). Hectocotilo con 155 hasta 202 ventosas. Órgano terminal corto (10 a 16% de la LM) con divertículo más corto.

El color de los organismos vivos es café en diferentes tonalidades. Con un patrón característico de parches y surcos lo que le da la apariencia de estar reticulado. Los surcos son color más oscuro que los parches. Presenta dos ocelos, uno de cada lado, por debajo de los ojos entre el segundo y tercer par de brazos. Los ocelos son circulares y están constituido por dos anillos, el más grande, con un diámetro de hasta 27 mm, de color oscuro y encierra un anillo de color azul iridiscente de hasta 9.5 mm de

diámetro. En la región del manto anterior, debajo y entre los ojos, se observan dos manchas circulares de color más claro que el resto de cuerpo y rodeadas por círculos más pequeños. El color de los organismos fijados es morado oscuro a gris, a veces café oscuro y los ocelos son completamente negros. Sin embargo, el patrón reticulado aún puede ser observado.

*Distribución geográfica:* Desde el norte de Baja California hasta el sur de la península de Baja California y todo el golfo de California hasta el Suroeste de México (Alejo *et al.*, 2012).

*Observaciones:* Los ejemplares revisados en este estudio fueron pequeños en comparación a lo reportado en la literatura (Hochberg *en preparación*), en la cual mencionan que puede llegar hasta 200 mm de LM. Asimismo, el número máximo de laminillas branquiales para *O. bimaculatus* en este estudio fue 9 mientras que Norman *et al.* (2013) reportan un número máximo de 10. *O. bimaculatus* es una especie fácil de identificar debido a su tamaño y a la presencia de los dos ocelos característicos que la diferencian de *O. mimus*. Sin embargo, en la región occidental de la península de Baja California Sur, *O. bimaculatus* podría ser confundida con su especie hermana, *O. bimaculoides*. Norman *et al.* (2013) mencionan que la diferencia del número de ventosas tanto en los brazos normales como en el brazo hectocotilizado es una buena forma de diferenciar a los organismos fijados. *Octopus bimaculatus* es frecuentemente capturado en el golfo de California como parte de las pesquerías artesanales locales (López-Rocha *et al.*, 2012). Las secuencias de COIII confirman que los pulpos ocelados

del norte del golfo de California son *O. bimaculatus* y no una especie diferente como era especulado (Hochberg, comunicación personal).



Figura 9. *Octopus bimaculatus*. La flecha indica el ocelo.

Tabla 7. Medias e intervalos de los caracteres merísticos y morfométricos tomados a ejemplares de *Octopus bimaculatus*. Izq.= Izquierdo, Der. = Derecho

Caracteres	Medias	Intervalos y frecuencias relativas
Longitud total	452.4	362-535
Peso (g)	455	250-600
Longitud del manto (dorsal)	90	60-125.5
Longitud del manto (ventral)	59.9	39.2-75
Ancho del manto	62.3	33-90
Ancho de la cabeza	37.1	22-56
Longitud del sifón	32.3	21-44
Longitud libre del sifón	18.9	11-30
Profundidad del umbrera A	44.2	25.8-70
Profundidad del umbrera B (Izq., Der.)	61.9, 61.6	39-112
Profundidad del umbrera C (Izq., Der.)	78.4, 77.3	44-123
Profundidad del umbrera D (Izq., Der.)	71.9, 63.9	33-130
Profundidad del umbrera E	52.0	23-98
Fórmula de la umbrera más común	C>D>B>E>A	55%
Longitud del brazo 1 (Izq., Der.)	310.2, 298.8	190 -568, 171-573
Longitud del brazo 2 (Izq., Der.)	310.1, 300.4	142-642, 215-392
Longitud del brazo 3 (Izq., Hectocotilo)	381.9, 300.7	230-635, 194-354
Longitud del brazo 4 (Izq., Der.)	334.3, 332.5	191-570, 200-532
Fórmula de los brazos más común	3>4>2>1	33%
Ancho del brazo	15.7	8-26.7
Número de ventosas 1 (Izq., Der.)	254, 265	233-270, 260-268
Número de ventosas 2 (Izq., Der.)	280, 296	240-316, 250-296
Número de ventosas 3 (Izq., Hectocotilo)	303, 175	278-326, 155-202
Número de ventosas 4 (Izq., Der.)	287, 299	212-332, 262-330
Número de láminas branquiales externas	9	7-9
Longitud de la lígula	3.7	1.8-5
Longitud del cálamo	2.1	0.2-2
Longitud del órgano terminal	10.5	5.7-21
Aletas anales	Si	-
Ocelos	Si	-
Longitud del huevo	-	-
Ancho del huevo	-	-
Número de huevos	-	-

***Octopus mimus* Gould, 1852 (Fig. 10).**

*Referencias a figuras:* Gould, (1852): 587, 587a; Guerra *et al.* (1999): Figs. 2-4; Norman *et al.* (2013): Fig. 51; como *O. hubbsorum* Roper *et al.* (1995): Fig. oct27; Norman *et al.* (2013): Fig. 45. Alejo y Herrera (2014): Fig. 2 y 3 (Paralarvas).

*Localidad tipo:* Bahía San Carlos, Sonora, México.

*Sinonimos:* *Octopus hubbsorum* Berry, 1953

*Estatus genérico:* Válido

*Diagnosis:* Pulpo mediano a grande (longitud máxima del manto = 156 mm), robusto con brazos musculosos y un patrón de parches y surcos que le da la apariencia de estar reticulado. Con 7 a 10 laminillas branquiales. Órgano sifonal con forma de "W". Ventosas biseriales y con dos a cuatro ventosas engrandecidas en los organismos maduros. Hectocótilo con hasta 147 ventosas, los demás brazos con 105 a 286 ventosas.

*Material examinado:* 106 ejemplares. CNMO 1544: 1 ejemplar, canal de La Paz, Baja California Sur. 25 de abril de 1966. CNMO 1549: 1 ejemplar, Zihuatanejo, Guerrero. 15 de junio de 1997. ENCB 0000: 4 ejemplares, Manzanillo, Colima. 13 de agosto de 2010. ENCB *pendiente*: 12 ejemplares, Bahía de Banderas, Jalisco. 19 de agosto de 2010. ENCB *pendiente*: 17 ejemplares, Playa Platanitos, Nayarit. Agosto de 2010. ENCB *pendiente*: 8 ejemplares, San Carlos, Sonora. 30 de junio de 2011. ENCB *pendiente*: 6 ejemplares, San Carlos, Sonora. 30 de junio de 2011. ENCB *pendiente*: 11 ejemplares, Estacahuite, Oaxaca. Marzo de 2013. ENCB 674: 1 ejemplar, San Pedrito, Manzanillo, Colima. 13 de enero de 1942. ENCB 5167: 1 ejemplar, Bahía Falsa, Baja California Sur.

7 de mayo de 1964. ENCB 5728: 1 ejemplar, San Juan de la Costa, Baja California Sur.  
9 de junio de 1982. ENCB 7580: Bahía de Chipehua, Oaxaca. Mayo de 1983. ENCB 8446: 10 ejemplares, Punta Mita, Nayarit. 21 de agosto de 2010. ENCB 8447: 10 ejemplares, Caleta de Campos, Michoacán. 11 de agosto de 2010. ENCB 8448: 9 ejemplares, Barra de Navidad, Jalisco. ENCB 8449: 5 ejemplares, Isla Alcatraz, Sonora.  
29 de junio de 2011. SBMNH 0000: 1 ejemplar, sur de Isla Tiburón (estación 1045), Sonora. Agosto de 1988. SBMNH 0000: 1 ejemplar, sur de Isla Tiburón (estación 1045B). Agosto de 1988. SBMNH 0000: 1 ejemplar, Bahía Tepoca, Sonora. Sin fecha de colecta. SBMNH 0000: 1 ejemplar, Boca de Partida, Isla Espíritu Santo. 24 de junio de 1961. SBMNH 0000: 1 ejemplar, Mahahuitas, Bahía de Banderas, Jalisco. 21 de julio de 1995. SBMNH 0000: 2 ejemplares, Isla Cerralvo, golfo de California. 16 de julio de 1993. SBMNH 0000: 1 ejemplar, golfo de California. Sin fecha de colecta. SBMNH B6169: 1 ejemplar, Punta Paraíso, Jalisco. 2 de agosto de 1994

*Descripción:* Las mediciones y conteos realizados a los ejemplares examinados son presentados en la Tabla 8. Tamaño mediano a grande (LM 45-153 mm). Manto ovoide a en forma de pera, más largo que ancho (AM 35-114 mm). Abertura del manto moderada (20 a 40% de LM). Sifón moderado (25 a 55% de la LM), la parte libre comprende del 40 al 80% de la longitud del sifón. Órgano sifonal con forma de "W". Branquias con 7 a 10 laminillas branquiales.

Brazos largos (2.5 a 4.9 veces la LM), subcilíndricos; de similar tamaño pero el primer par siempre más cortos que los otros tres. Autotomía en la base de los brazos ausente. Machos y hembras maduros presentan de 2 a 4 ventosas engrandecidas en el segundo

y tercer par de brazos, a partir de la ventosa 11 hasta la 15. Con hasta 286 ventosas en los brazos completos (105 – 286 en la hembra y 110 – 264 en el macho). Ventosas dispuestas en series de dos líneas.

Umbrela de moderada profundidad (13 a 35% de la longitud del brazo más largo). Los sectores C y D generalmente más profundos. La fórmula más común de la umbrela es C>D>B>E>A. Tercer brazo derecho de los machos hectocotilizado, más corto que el correspondiente brazo izquierdo (de 70 a 96% de la longitud del brazo opuesto y de 2 a 4 veces la LM). Lígula pequeña (de 0.5 a 2% de la longitud del tercer brazo derecho). Cálamo moderado (de 15 a 30% la longitud de la lígula). El hectocotilo presenta de 106 a 147 ventosas. Órgano terminal pequeño (7 a 14% de la LM).

La coloración en vivo, generalmente, es café en diferentes tonalidades, gris o purpura con algunos tonos anaranjados. No presentan ocelos. Con un patrón de parches y surcos que la dan la apariencia de estar reticulado. Los parches son de color más claro que los surcos. El sifón es de color anaranjado. La textura es rugosa. La coloración cuando el organismo está fijado es café oscuro a purpura y el patrón reticulado aún puede observarse a pesar de la fijación. El sifón es de color café claro. El manto presenta papilas en los costados dispuestas en 3 a 5 series. Con papilas supraoculares.

*Distribución geográfica:* Del norte de Perú hasta Valparaíso, Chile (Norman *et al.*, 2013). Flores-Valle *et al.* (sin publicar) ampliaron el rango de distribución hasta el sur de México. Como *O. hubbsorum* ha sido registrado en la parte suroccidental de la Península de Baja California (Domínguez-Contreras *et al.*, 2013) y el golfo de California hasta Oaxaca (López-Uriarte *et al.*, 2005).

*Observaciones:* *O. mimus* podría confundirse con las especies oceladas de pulpo, *O. bimaculatus* y *O. bimaculoides*, sin embargo, la ausencia de ocelos la hace fácil de distinguir. Aunque de acuerdo a Guerra *et al.* (1999), Cardoso (comunicación personal) y Flores-Valle *et al.* (sin publicar) algunos ejemplares presentan unas tenues manchas oscuras similares a los ocelos cuando el animal está vivo pero estos no presentan la coloración azul iridiscente característica de los pulpos ocelados del Pacífico. El patrón de parches y surcos característico del género hace a *O. mimus* identificable de los otros géneros de pulpo. En las descripciones originales de *O. mimus* y de *O. hubbsorum*, Gould (1852) y Berry (1953) respectivamente, no fue registrado el conteo de ventosas ni número de laminillas branquiales o cualquier otro dato merístico que sirvieran para la comparación entre estos dos pulpos. Debido a la descripción poco informativa de Gould (1852), Guerra *et al.* (1999) redescubrió a *O. mimus* y para la cual registraron de 7 a 8 laminillas branquiales y de 129 a 149 ventosas en el hectocotilo. El número de laminillas branquiales es muy variable en los ejemplares de *O. mimus* de México (anteriormente *O. hubbsorum*). Roper *et al.* (1995) registraron de 8 a 10 laminillas branquiales mientras que Norman *et al.* (2013) registraron de 9 a 11 laminillas y en este estudio fueron contadas de 7 a 10 laminillas. En lo que respecta al número de ventosas del hectocotilo, el conteo hecho en este estudio (de 106 a 147 ventosas) es muy similar al número de ventosas registrado por Guerra *et al.* (1999). Los datos genéticos generados en este estudio sugirieron la sinonimia de *O. hubbsorum* y *O. mimus*. Este pulpo es el más capturado a lo largo de la costa occidental mexicana siendo el componente principal de la pesquería de pulpo para esta región (López-Uriarte *et al.*, 2005).





Figura 10. *Octopus mimus*

Tabla 8. Medias e intervalos de los caracteres merísticos y morfométricos tomados a ejemplares de *Octopus mimus*. Izq.= Izquierdo, Der. = Derecho

Caracteres	Medias	Intervalos y frecuencias relativas
Longitud total	469.3	300-695
Peso (g)	529.5	159-1220
Longitud del manto (dorsal)	96.9	46.6-153
Longitud del manto (ventral)	69.9	28.1-116
Ancho del manto	71.5	25-114
Ancho de la cabeza	41.7	16.1-55
Longitud del sifón	36.7	24.5-50
Longitud libre del sifón	24.5	13-43
Profundidad del umbrela A	41.6	18.2-73
Profundidad del umbrela B (Izq., Der.)	59.4, 58.6	23.2-105, 27.3-95
Profundidad del umbrela C (Izq., Der.)	75.5, 75.6	35.3-128, 31.7-115.8
Profundidad del umbrela D (Izq., Der.)	72.5, 67.6	29.5-135, 30.6-113
Profundidad del umbrela E	52.7	24.5-107
Fórmula de la umbrela más común	C>B>D>A>E	62%
Longitud del brazo 1 (Izq., Der.)	288.3, 271.5	210-453, 145-456
Longitud del brazo 2 (Izq., Der.)	330.8, 325	205-549, 210-455
Longitud del brazo 3 (Izq., Hectocotilo)	349.3, 273.9	107-528, 88-476
Longitud del brazo 4 (Izq., Der.)	330.7, 332.1	235-472, 190-504
Fórmula de los brazos más común	3>2>4>1	29%
Ancho del brazo	14.1	5.4-25.2
Número de ventosas 1 (Izq., Der.)	206, 195	137-265, 50-246
Número de ventosas 2 (Izq., Der.)	203, 214	76-264, 119-271
Número de ventosas 3 (Izq., Hectocotilo)	223, 131	105-282, 106-147
Número de ventosas 4 (Izq., Der.)	236, 222	151-286, 129-282
Número de láminas branquiales externas	8	7-10
Longitud de la lígula	2.7	1.2-4.7
Longitud del cálamo	0.8	0.4-1.1
Longitud del órgano terminal	10.8	4-15
Aletas anales	Si	-
Ocelos	No	-
Longitud del huevo	-	-
Ancho del huevo	-	-
Número de huevos	-	-

### 10.3.3 *Euaxoctopus*

Pulpos de aguas poco profundas que habita en ambas costas americanas. Son pulpos delgados y pequeños, de hasta 32 mm de la longitud del manto. Con dos manchas conspicuas en el manto. Con 7 a 13 laminillas branquiales. Ventosas biseriales. El tercer brazo izquierdo es el hectocotilizado, con hasta 51 ventosas; los demás brazos con 100 a 140 ventosas. Sin ventosas engrandecidas. Lígula mediana, de 6 a 9% de la longitud del brazo.

#### ***Euaxoctopus panamensis* Voss, 1971 (Fig. 11).**

*Referencias a figuras:* Voss (1971): Fig. 5.

*Localidad tipo:* Norte de Isla Iguana, Panamá

*Sinónimos:* Ninguno

Estatus genérico: Válido

*Diagnosis:* Pulpo pequeño (LM 17.2 mm) con dos manchas en forma de media luna en la región del manto dorsal. Con 10 laminillas branquiales externas. Tercer brazo izquierdo hectocotilizado y con 48 ventosas. Ventosas biseriales. Sin ventosas engrandecidas.

*Material examinado:* 1 ejemplar. CNMO 1552: 1♂, submaduro, Zihuatanejo, Guerrero, México. 10 de enero de 1963.

*Descripción:* Las mediciones y conteos respectivos del ejemplar examinado se muestran en la Tabla 9. Pulpo pequeño, LM 17.2 mm, longitud total (LT) 112 mm. Manto en forma de pera, más largo que ancho (anchura 70% de la LM). Cabeza

moderada (54% del ancho del manto). Ojos grandes. Longitud del sifón moderada (43% de la LM), la porción libre también de longitud moderada (42% de la LM). Órgano sifonal en forma de “UU”. Branquias con 10 laminillas externas.

Brazos largos y delgados, abarcando 5 veces la LM. Autotomía en la base de los brazos ausente. Los brazos ventrales más cortos que los demás. Sin ventosas engrandecidas. Tercer brazo izquierdo hectocotilizado y de longitud corta (abarca 2 veces la LM y el 37% del brazo opuesto). Lígula de tamaño moderado (7.3% de la longitud del brazo), en forma de hoja y con un surco amplio. Hectocótilo con 48 ventosas. Órgano terminal corto (19% de la longitud del manto), sin divertículo.

El color en vivo de esta especie es desconocido. El color del organismo fijado es gris en diferentes tonalidades en el manto, cabeza y brazos. La parte ventral es de color beige. En la región dorsal del manto sobresalen dos machas oscuras con forma de media luna.

*Distribución geográfica:* *Euaxoctopus panamensis* se distribuye desde el Pacífico Sur de México hasta Ecuador.

*Observaciones:* Esta especie no pudo ser recolectada durante este estudio y sólo existe un registro para México. Anteriormente *Euaxoctopus panamensis* únicamente se conocía en Panamá (Voss, 1971), ahora se tiene conocimiento de que la especie se encuentra en el Sur de México (Salcedo-Vargas y Jaime-Rivera 1999). *E. panamensis* podría confundirse con “*Octopus*” *alecto*, otra especie con brazos largos y delgados, pero la particularidad de que el tercer brazo izquierdo está modificado para fertilizar a la

hembra y por las dos manchas en el manto en forma de media luna en *Euaxoctopus panamensis* lo hacen fácil de identificar. La posición del brazo hectocotilizado es motivo de discusión porque existen ejemplares de *E. panamensis*, o relacionados a éste, provenientes de Centroamérica, en los que el brazo hectocotilizado es el derecho (observación personal) y de acuerdo a Hochberg (sin publicar), la descripción original de *E. panamensis* (Voss, 1971) está basada en especímenes de dos especies diferentes, aquellos con hectocotilo derecho y aquellos con hectocotilo izquierdo. Sin embargo, Voss (1971), nunca hizo mención sobre la presencia de organismos con hectocotilo derecho. En la misma descripción, Voss (1971), reporta que la especie puede tener de 11 a 13 láminas branquiales pero el ejemplar de México tiene 10 laminillas. Se requiere un mayor número de ejemplares de México para investigar si podría existir alguna variación latitudinal. La descripción de la especie fue ampliada por Hochberg (sin publicar). Sin datos genéticos publicados.



Figura 11. *Euaxoctopus panamensis*. Las flechas muestran las manchas dorsales con forma de media luna.

Tabla 9. Caracteres merísticos y morfométricos de *Euaxoctopus panamensis*. Izq.= Izquierdo, Der.= Derecho.

Colección	CNMO
Número de catálogo	1552
Sexo	Macho
Madurez	Submaduro
Longitud total	112
Peso (g)	-
Longitud del manto (dorsal)	17.2
Longitud del manto (ventral)	12.5
Ancho del manto	12.1
Ancho de la cabeza	6.5
Longitud del sifón	7.4
Longitud libre del sifón	3.1
Profundidad del umbrella A	-
Profundidad del umbrella B (Izq., Der.)	-, -
Profundidad del umbrella C (Izq., Der.)	-, -
Profundidad del umbrella D (Izq., Der.)	-, -
Profundidad del umbrella E	-
Fórmula de la umbrella	-
Longitud del brazo 1 (Izq., Der.)	68, 72
Longitud del brazo 2 (Izq., Der.)	-, -
Longitud del brazo 3 (Izq., Hectocotilo)	34, 91
Longitud del brazo 4 (Izq., Der.)	58, 50
Fórmula de los brazos	3>1>4
Ancho del brazo	2.5
Número de ventosas 1 (Izq., Der.)	-, -
Número de ventosas 2 (Izq., Der.)	-, -
Número de ventosas 3 (Izq., Hectocotilo)	48, -
Número de ventosas 4 (Izq., Der.)	-, -
Número de láminas branquiales externas	10, -
Longitud de la lígula	2.5
Longitud del cálamo	-
Longitud del órgano terminal	3.2
Aletas anales	-
Ocelos	No
Longitud del huevo	-
Ancho del huevo	-
Número de huevos	-

#### 10.3.4 *Paroctopus*

Pulpos de aguas poco profundas que aparentemente sólo habitan las costas tropicales americanas y puede ser encontrado en conchas vacías de bivalvos. Son de tamaño pequeño a mediano, hasta 78 mm de longitud del manto (Norman *et al.*, 2013). La coloración es café en diferentes tonalidades con pequeños manchas blancas. Con 6 a 8 laminillas branquiales. Órgano sifonal en forma "W". Ventosas biseriales. Con 1 a 3 ventosas engrandecidas en los machos maduros. Tercer brazo derecho es el hectocotilizado, con hasta 95 ventosas. El número de ventosas en los brazos normales es hasta 142. Lígula mediana, de 5 a 8% de la longitud del brazo.

#### ***Paroctopus digueti* (Perrier y Rochebrune, 1894) (Fig. 12).**

*Referencias a figuras:* Roper *et al.* (1995): Fig. oct26; Norman *et al.* (2013): Fig. 159.

*Localidad tipo:* golfo de California, México

*Sinonimos:* *Octopus digueti* Perrier y Rochebrune, 1894

*Estatus genérico:* Válido

*Diagnosis:* Pulpo mediano (longitud máxima del manto = 49 mm) de color café-pardo con pequeños puntos blancos, sin ningún patrón característico de bandas y machas en el manto. Con 7 a 8 laminillas branquiales. Órgano sifonal en forma de "W". Ventosas biseriales y con dos ventosas engrandecidas en los machos maduros. Hectocótilo con hasta 95 ventosas, los demás brazos con 96 a 142 ventosas.

*Material examinado:* 17 ejemplares. CNMO 0000: 1 ejemplar, muelle de Bahía Kino, Sonora. 29 de junio de 2011. CNMO 0000: 8 ejemplares, Bahía Kino, Sonora. 22 de agosto de 2013. CNMO 1533: 1 ejemplar, Bahía Falsa, La Paz, Baja California Sur. 2



de mayo de 1969. CNMO 4426: 4 ejemplares, de Punta Baja hasta estero Tastiota. 18 de febrero de 1982. ENCB 3528: 2 ejemplares, San Ignacio, Sinaloa. 22 y 23 de mayo de 1962. SBMNH 63714: 4 ejemplares, Playa Blanca, San Felipe, Baja California. 25 de octubre de 1988. SBMHN 63717: 2 ejemplares, San Felipe, Baja California, 8-9 de marzo de 1986. SBMNH 0000: 1 ejemplar, Guaymas, Sonora. 3 de julio de 1996. SBMNH 0000: 1 ejemplar, Ensenada de Ampe, La Paz, Baja California Sur. *Sin fecha de colecta.*

*Descripción:* Las mediciones y conteos realizados a los ejemplares examinados son presentados en la Tabla 10. Tamaño mediano (LM 36-49 mm). Manto ovoide a en forma de pera, más largo que ancho (AM 27-32 mm). Abertura del manto moderada (de 45 a 52% de la LM). Sifón moderado (30 a 55% de la LM), la parte libre abarca del 49 al 57% de la LS. Órgano sifonal en forma de "W". Branquias con 6 a 8 laminillas branquiales.

Brazos ligeramente largos (2.5 a 3.1 veces la LM), subcilíndricos. Brazos subiguales pero el segundo y cuarto par ligeramente más largos que los otros dos. Autotomía en la base de los brazos ausente. Los machos presentan 2 ventosas engrandecidas en todos los brazos, generalmente, en la posición 11 y 12, en ocasiones 9 y 10 o 10 y 11. Presentan hasta 142 ventosas en los brazos completos (96 – 142 en la hembra y 112 – 136 en el macho). Ventosas dispuestas en dos líneas.

La umbrela es de moderada profundidad (de 17 a 30 % de la longitud del brazo más largo). Los sectores C y D usualmente más profundos. La fórmula de la umbrela es muy variable, las más comunes fueron C>D>E>B>A, D>C>E>B>A y D>E>C>B>A. Tercer

brazo derecho del macho hectocotilizado, ligeramente más corto que el tercer brazo izquierdo, (alrededor del 90 al 96% de la longitud del brazo opuesto y de 2 a 3 veces la LM). Lígula moderada (de 5 a 6% de la longitud del brazo hectocotilizado), con forma de hoja y con un surco amplio. Cálamo mediano (19 a 27% de la longitud de la lígula. Hectocótilo con 88 a 95 ventosas.

Órgano terminal pequeño (17 a 21% de la LM). Huevos medianos (22% de la LM en una hembra en desove y 16% de la LM en una hembra madura). Fueron contados 105 huevos en una hembra en desove.

En los organismos vivos, la coloración es café con manchas redondas muy pequeñas de color más claro. El color de los organismos fijados es gris a café con líneas oscuras, sin ningún patrón característico de surcos y parches ni franjas transversales como en *Octopus* s. s. y "*O.*" *chierchiae* respectivamente. Con varias papilas alrededor del ojo pero sobresalen dos por su gran tamaño situadas en la parte inferior.

*Distribución geográfica:* Pulpo al parecer endémico del golfo de California y la parte central del Pacífico Mexicano (Norman *et al.*, 2013).

*Observaciones:* *Paroctopus digueti* es frecuentemente confundido con "*O.*" *fitchi* pero su mayor tamaño, así como su mayor número de ventosas en el brazo hectocotilizado y de laminillas branquiales permiten diferenciarlo. Este pulpo puede ser hallado dentro de las conchas vacías de bivalvos. En Sonora, los pulpos capturados estaban dentro de las valvas de *Anadara* y *Megapitaria*. Sin datos genéticos previos publicados pero los generados en este estudio lo relacionan fuertemente con "*O.*" *fitchi*.



Figura 12. *Paroctopus digueti*

Tabla 10. Medias e intervalos de los caracteres merísticos y morfométricos tomados a ejemplares de *Paroctopus digueti*. Izq.= Izquierdo, Der. = Derecho

Caracteres	Medias	Intervalos y frecuencias relativas
Longitud total	164.8	135-179
Peso	-	-
Longitud del manto (dorsal)	41.7	31.3-58.3
Longitud del manto (ventral)	31.2	18.3-47.3
Ancho del manto	29.6	22.1-33.7
Ancho de la cabeza	19.5	12.6-25.4
Longitud del sifón	18.2	12.3-25.6
Longitud libre del sifón	9.8	6.5-13.1
Profundidad de la umbrela A	16.7	9.1-23
Profundidad de la umbrela B (Izq., Der.)	18.4, 18.1	12-28, 11-25
Profundidad de la umbrela C (Izq., Der.)	22.3, 21	12.9-35, 12.5-29
Profundidad de la umbrela D (Izq., Der.)	23.5, 21.5	14.5-36, 13.5-32
Profundidad de la umbrela E	20.2	7.7-33
Formula de la umbrela más común	C>D>E>B>A, D>C>E>B>A, D>E>C>B>A	19%
Longitud del brazo 1 (Izq., Der.)	96.8, 89.2	65-118, 76-125
Longitud del brazo 2 (Izq., Der.)	102.5, 97.8	42-141, 63-130
Longitud del brazo 3 (Izq., Hectocotilo)	103.2, 101	68-153, 83-136
Longitud del brazo 4 (Izq., Der.)	102, 94	65-131, 67-121
Formula de los brazos más común	2>3>4>1	38%
Ancho del brazo	5.9	4.5-7
Número de ventosas 1 (Izq., Der.)	120, 111	98-152, 102-142
Número de ventosas 2 (Izq., Der.)	126, 118	104-142, 96-142
Número de ventosas 3 (Izq., Hectocotilo)	127, 98	101-138, 88-116
Número de ventosas 4 (Izq., Der.)	124, 110	106-135, 96-134
Número de láminas branquiales externas	7	6-8
Longitud de la lígula	5,1	1.6-7.6
Longitud del cálamo	1.1	0.7-1.5
Longitud del órgano terminal	7.2	3.4-9.5
Aletas anales	Si	-
Ocelos	No	-
Longitud del huevo	10.1	8-11.9
Ancho del huevo	3.6	2.3-4.6
Número de huevos	110	105-114

### 10.3.5 Especies de género incierto

#### **“Octopus” fitchi Berry, 1953 (Fig. 13).**

*Referencias a figuras:* Hochberg *et al.* (1992): Fig. 263e (paralarva).

*Localidad tipo:* Punta San Felipe, Baja California.

*Sinonimos:* Ninguno

*Estatus genérico:* incierto

*Diagnosis:* Pulpo pequeño (LM = 40 mm) con brazos relativamente largos y delgados. Color café a gris sin ningún patrón característico de parches y surcos. Con 4 a 6 laminillas branquiales. Órgano sifonal en forma de “W”. Ventosas biseriales y con una a dos ventosas engrandecidas en algunos o en todos los brazos en los organismos maduros. Hectocótilo con hasta 69 ventosas, los demás brazos con 62 a 122 ventosas.

*Material examinado:* 37 ejemplares. CNMO *pendiente:* 1 ejemplar, Bahía Magdalena, Baja California Sur. 13 de marzo de 2011. CNMO *pendiente:* 1 ejemplar, Bahía Magdalena, Baja California Sur. 30 de marzo de 2011. CNMO *pendiente:* 1 ejemplar, Bahía Magdalena, Baja California Sur. 19 de mayo de 2011. CNMO *pendiente:* 1 ejemplar, Bahía Magdalena, Baja California Sur. 1 de junio de 2011. CNMO *pendiente:* 1 ejemplar, Bahía Magdalena, Baja California Sur. 2 de junio de 2011. CNMO *pendiente:* 2 ejemplares, Bahía Magdalena, Baja California Sur. 7 de junio de 2011. CNMO *pendiente:* 2 ejemplares, Bahía Magdalena, Baja California Sur. 14 de junio de 2011. SBMNH 63341: 13 ejemplares, San Felipe, Baja California. 5 de marzo de 1988. SBMNH 63721: 14 ejemplares, Isla Tornero, golfo de California. *Sin fecha de colecta.* SBMNH 45761: 1 ejemplar. San Felipe, Baja California. Junio de 1960.

*Descripción:* Las mediciones y conteos realizados a esta especie son mostrados en la Tabla 11. Pulpo pequeño (LM 13-40 mm). Manto ovado redondo, ligeramente más largo que ancho (AM 10-28 mm). Abertura del manto amplia (29 a 79% de LM). Sifón moderado (25 a 52% de la LM), la parte libre comprende del 33 al 75% de la longitud del sifón. Órgano sifonal en forma de "W". Branquias con 4 a 6 laminillas branquiales.

Brazos ligeramente largos (1.7 a 3.6 veces la LM), delgados cilíndricos; de similar tamaño pero el tercer y cuarto par generalmente son los más largos que los otros dos pares. Autotomía en la base de los brazos ausente. Los machos maduros y algunas hembras maduras presentan de 1 a 2 ventosas engrandecidas en algunos o en todos los brazos, las ventosas suelen ser de la 6 a la 9. Con hasta 122 ventosas en los brazos completos (62 – 122 en la hembra y 74 – 108 en el macho). Ventosas dispuestas en series de dos líneas.

Umbrela de moderada profundidad (13 a 27% de la longitud del brazo más largo). Los sectores C y D generalmente más profundos. La fórmula más común de la umbrela es  $D > C > E > B > A$ . Tercer brazo derecho de los machos hectocotilizado, ligeramente más corto que el correspondiente brazo izquierdo (de 73 a 89% de la longitud del brazo opuesto y de 2 a 3 veces la LM). Lígula grande (de 8 a 11% de la longitud del tercer brazo derecho). Cálamo moderado (de 8 a 28% la longitud de la lígula). El hectocótilo presenta de 49 a 69 ventosas. Órgano terminal mediano (de 17 a 28% de la LM). Las hembras llegan a producir de 235 a 492 huevos de tamaño mediano (de 19 a 25% de la LM).

La coloración del organismo cuando está vivo es café claro a café rojizo o gris con manchas más claras. La coloración cuando el organismo está fijado es purpura oscuro a café oscuro o gris uniforme. Textura lisa sin ninguna papila aparente y sin ningún patrón de parches y surcos. No presentan ocelos.

*Distribución geográfica:* golfo de California a Ecuador (Norman *et al.*, 2013). Sin embargo, 10 especímenes examinados fueron capturados en la parte occidental de la península de Baja California sugiriendo un mayor intervalo de distribución de la especie.

*Observaciones* Debido a su tamaño "*O. fitchi*" podría ser confundido con *Paroctopus digueti*. No obstante, como fue mencionado anteriormente, su menor número de laminillas branquiales y de ventosas así como sus huevos de menor tamaño son las principales características para diferenciarla de *P. digueti*. En la descripción original de "*O. fitchi*" únicamente es reportado algunas medidas del holotipo. Una descripción ampliada de la especie ha sido realizada por Hochberg (sin publicar). "*Octopus fitchi*" suele ser encontrado en la zona intermareal en áreas rocosas, en pastos marinos y bancos de arena. Sin datos genéticos previos publicados. Las secuencias obtenidas en este estudio indican la no pertenencia de *fitchi* al género *Octopus*.



Figura 13. "*Octopus*" *fitchi*



Tabla 11. Medias e intervalos de los caracteres merísticos y morfométricos tomados a ejemplares de “*Octopus*” *fitchi*. Izq.= Izquierdo, Der. = Derecho

Caracteres	Medias	Intervalos y frecuencias relativas
Longitud total	76.5	52-137
Peso (g)	-	-
Longitud del manto (dorsal)	20	13.4-40
Longitud del manto (ventral)	15.4	10.3-28.2
Ancho del manto	13.8	8.5-23.2
Ancho de la cabeza	10.2	6.6-14.6
Longitud del sifón	8.5	3.3-15.5
Longitud libre del sifón	5.1	1.1-10.5
Profundidad del umbrela A	9.8	6.2-13
Profundidad del umbrela B(Izq., Der.)	9.1, 8.8	6.4-14.5, 7.3-14.3
Profundidad del umbrela C (Izq., Der.)	11, 10.5	6.8-18.2, 8-15
Profundidad del umbrela D (Izq., Der.)	10.8, 10.8	5.6-17.3, 7.3-16.7
Profundidad del umbrela E	9.4	7.1-15
Fórmula de la umbrela más común	D>C>E>B>A	33%
Longitud del brazo 1 (Izq., Der.)	46.7, 48.9	32.8-96, 31-99
Longitud del brazo 2 (Izq., Der.)	51.2, 51.1	34.8-108, 33-100
Longitud del brazo 3 (Izq., Hectocotilo)	55.6, 43.7	33.3-111, 28.9-87
Longitud del brazo 4 (Izq., Der.)	56.3, 53.5	33.1-105, 36.6-109
Fórmula de los brazos más común	3>4>2>1	20%
Ancho del brazo	2.9	2.1-4
Número de ventosas 1 (Izq., Der.)	83, 86	62-117, 68-119
Número de ventosas 2 (Izq., Der.)	89, 90	69-122, 73-112
Número de ventosas 3 (Izq., Hectocotilo)	90, 57	62-112, 49-69
Número de ventosas 4 (Izq., Der.)	88, 90	49-122, 76-114
Número de láminas branquiales externas	5	4-6
Longitud de la lígula	4.4	2.4-8.5
Longitud del cálamo	0.7	0.2-1.0
Longitud del órgano terminal	5.1	3.2-6.7
Aletas anales	Si	-
Ocelos	No	-
Longitud del huevo	4.3	4.1-4.6
Ancho del huevo	1.6	1.5-1.7
Número de huevos	364	235-492

**“Octopus” aff. *chierchiae* (Fig. 14)**

*Referencias a figuras:* como “O”. *chierchiae* Voss, 1968: Fig. 1b, 2g-h, 3f-j y m, 4e-f.

*Localidad tipo:* No determinada

*Sinónimos:* Ninguno

*Estatus genérico:* Incierto

*Diagnosis:* Pulpo mediano (Longitud maxima del manto = 55 mm) con franjas transversales en el manto y manchas circulares a ovoides en los brazos de color blanco. Con 8 a 9 laminillas branquiales. Órgano sifonal en forma de “W”. Ventosas biseriales, sin ventosas engrandecidas. Hectocótilo con hasta 50 ventosas, los demás brazos con 66 -115 ventosas.

*Material examinado:* 3 ejemplares. ENCB 7268B: 2 ejemplares, frente a Playa de Barrón, Sinaloa. 8 de junio de 1984. COMA *pendiente*: 1 ejemplar, Salina Cruz, Oaxaca.  
*Sin fecha de recolecta.*

*Descripción:* Las mediciones y conteos realizados a los ejemplares examinados son presentados en la Tabla 12. Tamaño mediano (LM 55.2♀ y 44.1♂ mm). Manto ovoide a en forma de pera, más largo que ancho (AM 39.1♀ y 35♂ mm). Abertura del manto amplia (25♀ y 21.5♂ mm). Sifón moderado (de 35 a 40% de la LM), la parte libre de moderada a larga (46 a 66% la longitud del sifón). Órgano sifonal en forma de “W”. Branquias con 8 - 9 laminillas branquiales.

Brazos modestamente largos (de 1.7 a 2.5 veces la LM), subcilíndricos. Brazos similares en longitud pero los pares ventrales ligeramente más largos que los dorsales. Autotomía en la base de los brazos ausentes. Sin ventosas engrandecidas. Con hasta

115 ventosas en los brazos completos (58 - 86 en la hembra y 66 - 115 en el macho).

Ventosas de las puntas de los brazos normales no tubulares.

La umbrela es medianamente profunda (de 25 a 30% de la longitud del brazo más largo), en la parte lateral es más profunda que en los otros sectores. Fórmula de la umbrela  $C=D>E>B>A$  y  $D>C>B=E>A$  (♀) y  $C=D>E=B>A$  (♂). Tercer brazo derecho del macho hectocotilizado, el brazo con una longitud similar a la de los demás brazos (1.8 veces la LM y 78% de longitud del brazo opuesto). Lígula mediana (6% de la longitud del brazo) con forma de hoja y con un surco amplio. Cálamo pequeño (20% de la longitud de la lígula). Hectocotilo con 50 ventosas. Órgano terminal corto (19% de LM) con divertículo más corto que la parte distal. Huevos medianos (7.4 a 12% de la LM).

El color de los organismos vivos reportado es blanco a beige con bandas negras a café rojizas en el manto y con manchas circulares a ovoides blancas en los brazos y en la umbrela. El color de los organismos fijados es morado oscuro, con cinco franjas grises transversales en el manto dorsal, la más proximal en forma de herradura, la segunda se origina desde los ojos. Las franjas pueden estar continuas o discontinuas. Una franja en forma de barra se presenta en medio de los ojos. La región de la umbrela y de los brazos con varias manchas circulares a ovoides más claras que el resto del cuerpo.

*Distribución geográfica:* Oaxaca hasta Panamá (Voight, 1988). Sin embargo, los ejemplares examinados provenientes de Sinaloa sugieren un mayor ámbito de distribución

*Observaciones:* Esta especie no pudo ser recolectada durante el estudio. Muestras de tejido de ejemplares, identificados por Unai Markaida (ECOSUR), como “O.” cf. *chierchiae*, provenientes de Ecuador, fueron donadas para el análisis molecular. Las características de esta especie no concuerdan con las descripciones existentes de los pulpos del Pacífico mexicano. Al parecer es una especie crecanamente relacionada a “O.” *chierchiae* por su patrón de coloración que ha ocasionado que frecuentemente sea confundida con ésta (Norman y Hochberg, sin publicar). Sin embargo, una característica particular de “O.” *chierchiae* son las ventosas tubulares alargadas con forma de clavija en las puntas de los machos que fueron descritas por Jatta y dibujadas por Roper y Mangold (1991). Voss (1968) señaló algunas discrepancias con las descripciones de Jatta y los ejemplares examinados por él y menciona que las ventosas de un “O.” *chierchiae* de El Salvador estaban ligeramente modificadas. En este estudio los organismos examinados no presentan tales ventosas y otras diferencias notables fueron el mayor tamaño, el mayor número de laminillas branquiales y de ventosas que “O.” *chierchiae*. Norman y Hochberg (sin publicar) señalan la existencia de otra especie no descrita similar a “O.” *chierchiae* con las características arriba mencionadas y que en algunos trabajos se refieren como el mayor pulpo rayado del Pacífico (Larger Pacific Striped Octopus) (Hochberg, sin publicar). Indudablemente, los ejemplares aquí revisados pertenecen a esa especie y hasta que no sea formalmente descrita, aquí es definida como “O.” aff. *chierchiae*. No existen datos genéticos previos publicados para esta especie.

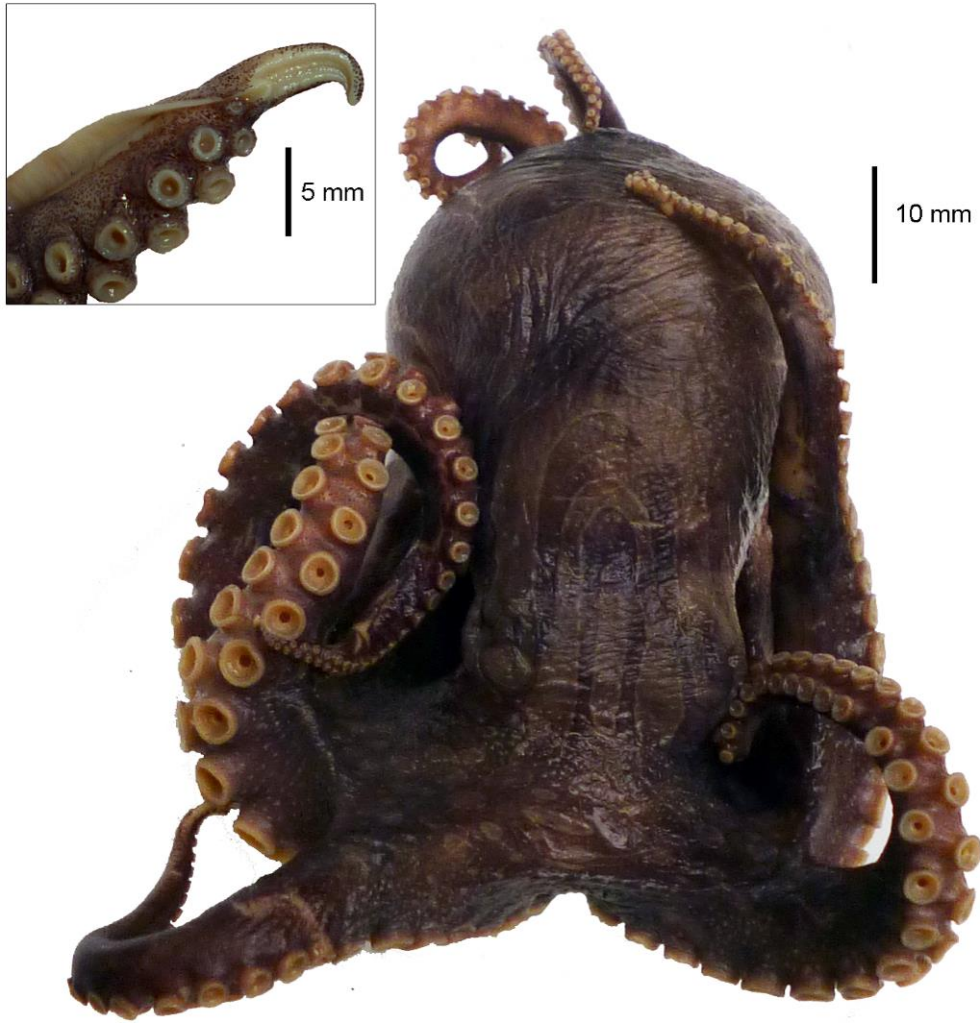


Figura 14. "Octopus" aff. chierchiae. En el cuadro superior izquierdo se muestra la lígula.

Tabla 12. Caracteres merísticos y morfométricos de “*Octopus*” *aff. chierchiaae*. Izq. = Izquierdo, Der.= Derecho

Colección	ENCB	ENCB	COMA
Número de catálogo	7268B	7268B	<i>Pendiente</i>
Sexo	♂	♀	♀
Madurez	Maduro	Madura	Madura
Longitud total	-	-	169
Peso (g)	-	-	-
Longitud del manto (dorsal)	44.1	36.5	55.2
Longitud del manto (ventral)	34	29.3	47.8
Ancho del manto	35	34.1	39.1
Ancho de la cabeza	23.7	16.9	26
Longitud del sifón	17.6	14.7	19.1
Longitud libre del sifón	8.1	8	12.7
Profundidad del umbrela A	18	15.5	26
Profundidad del umbrela B (Izq., Der)	21.6, 24.5	21, 21.4	26.3, 29.2
Profundidad del umbrela C (Izq., Der)	26.1, 27.6	27.3, 26	29.6, 30.3
Profundidad del umbrela D (Izq., Der)	27, 25.2	27, 27	32.4, 31.3
Profundidad del umbrela E	24	24.5	26.8
Fórmula de la umbrela	C=D>E=B>A	C=D>E>B>A	D>C>B=E>A
Longitud del brazo 1 (Izq., Der)	-, 94	-, 70	80, 81
Longitud del brazo 2 (Izq., Der)	95, 81	79, 77	95, 86.7
Longitud del brazo 3 (Izq., Hectocotilo)	103, 80	-, 86	94.9, 98.8
Longitud del brazo 4 (Izq., Der)	112, 96	87, 89	98.2, 96.8
Fórmula de los brazos	4>3>2=1	4>3>2>1	4=3>2>1
Ancho del brazo	8.7	7	9.8
Número de ventosas 1 (Izq., Der)	-, 81	-, 74	64, 58
Número de ventosas 2 (Izq., Der)	85,66	80,76	72, 68
Número de ventosas 3 (Izq., Hectocotilo)	106, 50	79,82	66, 76
Número de ventosas 4 (Izq., Der)	115, 102	86,85	72, 70
Número de láminas branquiales externas	8, 8	8, 8	9, 9
Longitud de la lígula	5	-	-
Longitud del cálamo	1	-	-
Longitud del órgano terminal	8.2	-	-
Aletas anales	Si	Si	Si
Ocelos	No	No	No
Longitud del huevo	-	4.4	4.1
Ancho del huevo	-	1.2	1.5
Número de huevos	-	-	-

**“Octopus” aff. *rubescens* (Fig. 15).**

*Referencias a figuras:* Sin referencias

*Localidad tipo:* No determinada

*Sinonimos:* Ninguno

*Estatus genérico:* Incierto

*Diagnosis:* Pulpo mediano (longitud máxima del manto = 47.4 mm) de color café rojizo en diferentes tonalidades, con pequeños parches circulares a ovoides de color más claro que el resto del cuerpo. Con 14 a 16 laminillas branquiales. Órgano sifonal en forma de “UU”. Ventosas biseriales y con ventosas engrandecidas en los machos maduros. Hectocotilo con hasta 100 ventosas, los demás brazos con 86 a 148 ventosas.

*Material examinado:* 11 ejemplares. ENCB 5507: 1 ejemplar, Golfo de California. 12 de julio de 1982. ENCB 7997: 2 ejemplares, Oaxaca. Mayo de 1983. ENCB 7998: 4 ejemplares, Guerrero. Abril de 1988. SBMNH *pendiente*: 1 ejemplar, Bahía Magdalena, Baja California Sur. 3 de mayo de 1950. SBMNH *pendiente*: 1 ejemplar, Isla Cedros, Golfo de California. 4 de abril de 1951. SBMNH *pendiente*: 1 ejemplar, Isla Cedros, Golfo de California. 20 de abril de 1951. SBMNH *pendiente*: 1 ejemplar, Isla Espíritu Santo, Golfo de California. 15 de marzo de 1949.

*Descripción:* Las mediciones y conteos realizados a los ejemplares examinados son presentados en la Tabla 13. Tamaño mediano (LM 11-45 mm). Manto ovoide a en forma de pera, más largo que ancho (AM 17-33 mm). Abertura del manto moderada (de 39 a 51% de la LM). El Sifón igualmente de tamaño moderado (32 a 44% de la LM), la

parte libre abarca del 36 al 53% de la LS. Órgano sifonal en forma de "UU". Branquias con 10 a 16 laminillas branquiales.

Brazos ligeramente largos (1.8 a 3.9 veces la LM) y delgados, subcilíndricos únicamente el par de brazos dorsales son más cortos que el resto. Autotomía en la base de los brazos ausente. Los machos maduros presentan 2 ventosas engrandecidas en todos los brazos, en la posición 9 y 10. Las primeras 8 ventosas más cercanas a la región oral sobre salen por su tamaño pequeño. Presentan hasta 148 ventosas en los brazos completos. Ventosas dispuestas en dos líneas.

La umbrela es poco profunda (de 13 a 27 % de la longitud del brazo más largo). La fórmula de la umbrela es muy variable pero, generalmente, los sectores C y D son más profundos que los otros sectores. El tercer brazo derecho del macho hectocotilizado, ligeramente más corto que el tercer brazo izquierdo, (alrededor del 74 al 99% de la longitud del brazo opuesto y de 1.4 a 2.7 veces la LM). Lígula de moderada a grande (de 4.6 a 9% de la longitud del brazo hectocotilizado), muy larga y delgada y con un surco amplio. Cálamo pequeño (alrededor del 14% de la longitud de la lígula. Hectocótilo con 98 a 100 ventosas. Órgano terminal pequeño (12.5 a 22% de la LM).

El color reportado de los ejemplares vivos es rojizo en la parte dorsal del manto, cabeza y brazos con patrón más oscuro reticulado café rojizo. El color de los organismos fijados es café pardo a rojizo, con parches pequeños de color blanco

*Distribución geográfica:* Suroeste de México.



*Observaciones:* Esta especie no pudo ser capturada durante la realización de este estudio y además es poco frecuente en las colecciones de moluscos. La mayoría de los ejemplares maduros revisados estaban en malas condiciones y varios del SBMNH estaban identificados como *O. rubescens* debido a la gran similitud de ambos taxa pero se distingue de ella por el mayor número de laminillas branquiales (14-16) y por el órgano sifonal en forma de “UU”. También podría confundirse con ejemplares jóvenes de *O. mimus*. Sin embargo, la lígula larga característica de los machos y el gran número de laminillas branquiales lo hace fácil de identificar. Hasta el momento no existe referencia alguna a esta especie.



Figura 15. “*Octopus*” aff. *rubescens*.

Tabla 13. Medias e intervalos de los caracteres merísticos y morfométricos tomados a ejemplares de "*Octopus*" aff. *rubescens*. Izq.= Izquierdo, Der. = Derecho

Caracteres	Medias	Intervalos y frecuencias relativas
Longitud total	-	-
Peso	-	-
Longitud del manto (dorsal)	33.1	23-47.4
Longitud del manto (ventral)	24.2	17-33.4
Ancho del manto	23.3	17.6-28.7
Ancho de la cabeza	14.5	10.4-17.6
Longitud del sifón	13.1	9-19.9
Longitud libre del sifón	6.2	3.7-10.5
Profundidad de la umbrella A	13.6	8-23.8
Profundidad de la umbrella B (Izq., Der.)	13.3, 18.3	7-22.8, 11-27.5
Profundidad de la umbrella C (Izq., Der.)	13.7, 17.5	9-22, -
Profundidad de la umbrella D (Izq., Der.)	15.8, 15	9-25, -
Profundidad de la umbrella E	10.2	8-12.4
Formula de la umbrella más común	D>E>B>C>A, D>A>B>C>E D=C>A=E>B	33%
Longitud del brazo 1 (Izq., Der.)	45, 80	37-53, 53-111
Longitud del brazo 2 (Izq., Der.)	98.4, 79.3	51-176, 57-115
Longitud del brazo 3 (Izq., Hectocotilo)	88.6, 70	53-142, 41-130
Longitud del brazo 4 (Izq., Der.)	80, 64	46-122, 36-112
Formula de los brazos más común	3>2>4>1, 2>3>4>1	20%
Ancho del brazo	5.6	3.2-7.5
Número de ventosas 1 (Izq., Der.)	86, 123	-
Número de ventosas 2 (Izq., Der.)	145, 120	142-148, 114-126
Número de ventosas 3 (Izq., Hectocotilo)	141, 97	136-146, 91-100
Número de ventosas 4 (Izq., Der.)	133, 118	132-134, 112-124
Número de láminas branquiales	15	14-16
Longitud de la lígula	11.3	11-11.6
Longitud del cálamo	1.6	1.3-1.7
Longitud del órgano terminal	9.8	-
Aletas anales	Si	-
Ocelos	No	-
Longitud del huevo	-	-
Ancho del huevo	-	-
Número de huevos	-	-

**“Octopus” alecto Berry, 1953**

*Referencias a figuras:* Roper *et al.* (1995): Fig. oct23; Norman *et al.* (2013): Fig. 186.

*Localidad tipo:* Sur del Estero del Soldado, Sonora

*Sinonimos:* Ninguno

*Estatus genérico:* Incierto

*Diagnosis:* Pulpo mediano (Longitud máxima del manto = 45 mm) con brazos largos y delgados. Coloración café rojizo con muchas papilas pequeñas en el manto y en la cabeza. Con 7 laminillas branquiales. Órgano sifonal en forma de “W”. Ventosas biseriales. Sin ventosas engrandecidas en los organismos maduros. Tercer brazo derecho hectocotilizado, con 133 ventosas, los demás brazos con 136 - 195 ventosas.

*Material examinado:* 3 ejemplares. SBMNH 63409: 1 ejemplar, San Felipe, Baja California. *Sin fecha de colecta.* SBMNH 64482: 1 ejemplar, Puerto Peñasco, Sonora. 12 de junio de 1980. SBMNH 64483: 1 ejemplar, San Felipe, Baja California. 6 de marzo de 1989.

*Descripción:* Las mediciones y conteos realizados a los ejemplares examinados son presentados en la tabla 14. Tamaño mediano (LM 45♀ y 24♂ mm). Manto ovoide en forma de pera, más largo que ancho (AM 41.5♀ y 21♂ mm). Abertura del manto moderada (22♀ y 12♂ mm). Sifón ligeramente largo (de 36 a 57% de la LM), la parte libre de moderada a larga (de 40 a 60% la longitud del sifón). Órgano sifonal en forma de “W”. Branquias con 7 laminillas branquiales.

Brazos largos (de 5 a 6.7 veces la LM) y cilíndricos, el segundo y tercer par más largos que los otros dos pares. Autotomía en la base de los brazos presente en los tres últimos pares. Sin ventosas engrandecidas en organismos maduros. Ventosas biseriales pero las primeras 4 uniseriales. Con hasta 195 ventosas en los brazos completos (162 - 195 en la hembra y 136 - 150 en el macho).

La umbrela es poco profunda (de 16 a 18% de la longitud del brazo más largo), la profundidad de los sectores es variable entre especímenes, un sector puede ser más profundo en un ejemplar y otro sector distinto puede ser el más profundo en otro individuo, de tal forma que la fórmula de la umbrela fue  $D > A > C > B > E$  y  $C > A > B = D > E$  (♀) y  $B > A > D > C$  (♂). Tercer brazo derecho del macho hectocotilizado, el brazo con una longitud similar a la de los demás brazos (4 veces la LM). Lígula mediana (4% de la longitud del brazo) con alrededor de 25 láminas transversales, rectangular, surco largo y poco profundo. Cálamo pequeño (13% de la longitud de la lígula). Hectocótilo con 133 ventosas. Órgano terminal pequeño (22% de LM) con divertículo evidente.

El color reportado de los organismos vivos es café rojizo con pequeños puntos blancos en el manto, umbrela y brazos. El color de los organismos fijados es un uniforme purpura oscuro. No hay presencia de ocelos ni del patrón de parches y surcos característico del género *Octopus*. La textura es rugosa debido a la presencia de varias papilas pequeñas en la cabeza y en el manto. Sin embargo, de 1 a 2 papilas de mayor tamaño sobresalen a la altura de los ojos.

*Distribución geográfica:* golfo de California a Ecuador (Norman *et al.*, 2013)

*Observaciones:* Esta especie no pudo ser encontrada durante la realización del estudio ni tampoco se pudieron obtener muestras de tejido para el análisis molecular. Tampoco existen ejemplares en las colecciones mexicanas. La apariencia delgada y los brazos largos de *Octopus* " *alecto* " podría hacer que se confunda con *Euaxoctopus panamensis* pero ambas especies pueden diferenciarse una de la otra por la posición del brazo hectocotilizado. El hectocotilo en " *Octopus* " *alecto* " es el tercer brazo derecho mientras que en *Euaxoctopus panamensis* es el tercer brazo izquierdo. La descripción original de Berry (1953) está basada en tres ejemplares y como en todas sus descripciones la información de los caracteres merísticos y morfológicos fue muy sencilla. La información sobre la morfología de " *Octopus* " *alecto* " fue ampliada en los trabajos de Roper *et al.* (1995) y Norman *et al.* (2013). Sin datos genéticos publicados.

Tabla 14. Caracteres merísticos y morfológicos de “*Octopus*” *alecto*. Izq.= Izquierdo, Der. = Derecho.

Colección	SBMNH	SBMNH	SBMNH
No. catálogo	63409	64482	64483
Sexo	♂	♀	♀
Estado de madurez	Maduro	Madura	Submadura
Longitud total	-	-	-
Peso (g)	-	-	-
Longitud del manto (dorsal)	23.7	45	40.3
Longitud del manto (ventral)	16.2	39.5	26.5
Ancho del manto	21	41.5	33
Ancho de la cabeza	15.5	27.5	20.7
Longitud del sifón	8.5	21.5	22.8
Longitud libre del sifón	5	9	9
Profundidad del umbrela A	19.3	45	34.5
Profundidad del umbrela B (Izq., Der.)	20, 21.5	-, 38	33, -
Profundidad del umbrela C (Izq., Der.)	-, 16	-, 44.5	44.5, -
Profundidad del umbrela D (Izq., Der.)	-, 18	34.5, 52	32.7, -
Profundidad del umbrela E	-	43.7	22.6
Fórmula de la umbrela	B>A>D>C	D>A>C>E>B	C>A>B=D>E
Longitud del brazo 1 (Izq., Der.)	99, 97	-	215, 231
Longitud del brazo 2 (Izq., Der.)	117, 112	-	272, -
Longitud del brazo 3 (Izq., Hectocotilo)	-, 101	-	251, -
Longitud del brazo 4 (Izq., Der.)	-, 96	-	221, 225
Fórmula de los brazos	2>3>1>4	-	2>3>1>4
Ancho del brazo	5.7	10.1	10
Número de ventosas 1 (Izq., Der.)	136, 140	-, 174	164, 172
Número de ventosas 2 (Izq., Der.)	150, 144	-, 168	174, -
Número de ventosas 3 (Izq., Hectocotilo)	-, 133	174, 186	186, -
Número de ventosas 4 (Izq., Der.)	-, 138	175, 195	166, 162
Número de láminas branquiales externas	7, 7	7, 7	7, 7
Longitud de la lígula	4.4	-	-
Longitud del cálamo	0.6	-	-
Longitud del órgano terminal	5.2	-	-
Aletas anales	2.5	-	-
Ocelos	Si	Si	Si
Longitud del huevo	No	No	No
Ancho del huevo	-	-	-
Número de huevos	-	-	-

10.4 Clave para la identificación de especies de la familia Octopodidae del Pacífico mexicano

- 1a. El tercer brazo derecho es el hectocotilizado.....2
- 1b. El tercer brazo izquierdo es el hectocotilizado..... *Euaxoctopus panamensis*
- 2a. Pulpos grandes, con una longitud del manto de hasta 153 mm. Con un patrón de parches y surcos que le dan la apariencia de estar reticulados. Lígula pequeña, de 0.7 a 2.8% de la longitud del brazo (*Octopus*).....3
- 2b. Pulpos pequeños a medianos, con una longitud del manto hasta 60 mm. El patrón de coloración es variable pero sin ningún patrón de parches y surcos. Lígula mediana, de 4 a 11% la longitud del brazo.....4
- 3a. Pulpo con dos manchas circulares por debajo de los ojos (ocelos), cuando el animal está vivo, el ocelo está constituido por dos anillos, el interno de color azul iridiscente y el externo que lo rodea totalmente negro. El color de los ocelos cuando el organismo está fijado son completamente negros..... *Octopus bimaculatus*
- 3b. Pulpo sin ocelos..... *Octopus mimus*
- 4a. Pulpo pequeño, con una longitud del manto de hasta 40 mm. Con menos de 6 laminillas branquiales..... "*Octopus*" *fitchi*
- 4b. Pulpos con más de 6 laminillas branquiales.....5
- 5a. Con 7 a 10 laminillas branquiales.....6
- 5b. Con 14 a 16 laminillas branquiales..... "*Octopus*" aff. *rubescens*

6a. Pulpos con más de 100 ventosas en el brazo hectocotilizado.....7

6b. Pulpo con alrededor de 50 ventosas en el brazo hectocotilizado. Con 8 a 9 laminillas branquiales....."Octopus" aff. *chierchiae*

7a. Con alrededor de 133 ventosas en el brazo hectocotilizado, con 7 laminillas branquiales....."Octopus" *alecto*

7b. Con hasta 116 ventosas en el brazo hectocotilizado, con 6 a 8 laminillas branquiales.....*Paroctopus digueti*



## 11. Discusión

### 11.1 *Identidad genética de las especies de pulpo del Pacífico mexicano.*

El sesgo de A-T en las secuencias nucleotídicas mitocondriales ha sido previamente registrado para otras especies de pulpos, sugiriendo selección en el ADN mitocondrial hacia A-T (Barriga-Sosa et al., 1995; Guzik et al., 2005).

Las distancias genéticas entre *O. hubbsorum* y *O. mimus* fueron mucho menores que las distancias registradas para otras especies cercanamente relacionadas de *Octopus* calculadas con los mismos fragmentos de genes usados en este estudio y fueron similares a valores intraespecíficos registrados para poblaciones de *O. vulgaris*. Por ejemplo, en el Mediterráneo, utilizando secuencias del gen COI, fueron registradas distancias de 0.2% a 3.9% entre especímenes de *O. vulgaris* (Keskin y Huseyin, 2011); en Sudáfrica, las divergencias intraespecíficas, utilizando COIII, fueron de 0.6% a 1.5% (Oosthuizen et al., 2004). Incluso otros géneros tienen valores intraespecíficos similares. *Enteroctopus*, presenta valores de 0 a 0.8% (Toussaint et al., 2012) y *Pareledone*, de 0 a 2.5% (Undheim et al., 2010) ambos con COI. En este sentido, *O. hubbsorum* y *O. mimus* presentan un valor de divergencia mucho menor (0.8%) al valor medio de divergencia interespecífica (2.8%) en pulpos registrado por Kaneko et al. (2011) con COI.

El uso de COI como código de barras para identificar especies de cefalópodos ha sido ampliamente discutido debido a que no se comporta de la misma forma en todos los linajes de cefalópodos (Strugnell y Lindgren, 2007). Sin embargo, en estudios a nivel de

familia de cefalópodos COI fue útil en la separación de especies siempre y cuando los ejemplares no estuvieran mal identificados (Strugnell y Lindgren, 2007). Igualmente, para la familia Octopodidae, ha sido demostrado que COI es un buen marcador para discriminar a las especies (Kaneko *et al.* 2011). Como en todos los organismos en los cuales se usa este marcador, la exactitud de COI como identificador de especies de cefalópodos depende del grado de variación intraespecífica e interespecífica. Mientras mayor sea el traslapamiento entre la variación intraespecífica y la divergencia entre especies cercanas, menor será la eficacia de COI (Meyer y Paulay, 2005). Debido a esto han sido propuestas varias reglas que permitan dar soporte a la discriminación de especies basadas en este gen.

Las reglas 10x y 4x son métodos que permiten delimitar especies basadas en las divergencias intra e interespecíficas. La primera es la definición de un valor umbral a partir del cual se puedan reconocer especies diferentes. Hebert *et al.* (2004) establecieron que una especie puede diferenciarse de otra cuando la divergencia entre ellas es 10 veces mayor que el valor promedio de la distancia intraespecífica. La regla 4x, a diferencia de la regla anterior, tiene fundamentos teóricos de genética de poblaciones y su aplicación requiere de grupos monofiléticos fuertemente soportados. Esta basada en la idea de que un linaje monofilético se convierte en especie cuando las diferencias con sus linajes hermanos es muy grande para ser atribuida únicamente a deriva génica. Cuando la diferencia media entre dos linajes es 4 veces mayor que la diversidad dentro de cada clado quiere decir son especies diferentes. En este estudio, ambas reglas, indicaron que *O. hubbsorum* y *O. mimus* no son especies distintas.

La regla 10x mostró que la distancia interespecífica entre estas dos especies es menor que el umbral propuesto (10 veces la distancia genética intraespecífica). Como ya fue mencionado, la exactitud de los intervalos para delimitar especies depende del no traslapamiento entre las distancias inter e intraspecíficas (Meyer y Paulay, 2005). Aquí no hubo traslapamiento alguno lo que sugiere que ambos pulpos son la misma especie. Además, Dai *et al.* (2012) menciona que la aplicación de la regla 10x utilizando COI es efectiva para separar especies de cefalópodos.

Aunque la regla 4x fue aplicada inicialmente para organismos partenogenéticos (Birky *et al.*, 2010) puede ser usada para secuencias mitocondriales de organismos sexuales (Marrone *et al.*, 2010 y 2013). La regla 4x detectó que la divergencia promedio entre el linaje de *Octopus hubbsorum* y el de *O. mimus* fue menor que la diversidad dentro de cada linaje y por lo tanto no pueden considerarse como clados monofiléticos recíprocos por lo que las diferencias genéticas entre ellas podrían ser el resultado de la deriva génica.

### 11.2 Relaciones filogenéticas entre las especies de género *Octopus*

La polifilia del género *Octopus* ha sido sugerida a partir de diferentes datos moleculares (secuencias parciales de COI, COIII, citocromo b y el factor de elongación) (Carlini, *et al.*, 2001; Guzik *et al.*, 2005; Acosta-Jofré *et al.*, 2012). Pero estos resultados fueron basados en análisis que incluyeron especies que actualmente ya no pertenecen más a *Octopus* (ver Norman *et al.*, 2013). Aunque esto fue considerado por Acosta-Jofré *et al.* (2012) en su filogenia de Octopodidae, ellos aún concluyeron que *Octopus* es polifilético. El presente estudio es el primero que consideró a las especies validas de

*Octopus* s. s. y las cuales se agruparon en un clado monofilético. Sin embargo, en las filogenias de COIII y de la Rodopsina, el género *Octopus* s. s. es parafilético. Para realizar la filogenia de COIII fue eliminada la tercera posición del codón debido a la alta heterogeneidad entre las secuencias y esto ocasionó la falta de resolución entre algunas especies cercanas. Guzik *et al.* (2005) menciona que COIII es un buen marcador para reconstruir filogenias de especies cercanas de pulpo y no para especies distantes y esto se ve reflejado cuando es considerada la tercera posición para realizar la inferencias filogenética porque se recupera la monofilia de *Octopus* s. s. (Anexo 3). Para el caso de la filogenia basada en secuencias de la Rodopsina, la explicación de que *Octopus* s. s. sea recuperado como parafilético es porque la tasa de evolución en los genes nucleares es más lenta que los mitocondriales y presentan un grado alto de conservación entre secuencias de especies cercanas.

La posición basal de *O. vulgaris* s. s. dentro del género (Figs. 5 y 6) ya había sido demostrada en otras reconstrucciones filogenéticas (Söller *et al.*, 2000; Warnke *et al.*, 2002; Juárez *et al.*, 2012) pero en otras (Fig. 7, COI), *O. bimaculoides* es la especie ancestral (Warnke *et al.*, 2004; Acosta-Jofré *et al.*, 2012; Sales *et al.*, 2013). Esta inconsistencia dentro del grupo de *Octopus* s. s. podría deberse al análisis usado en cada estudio. Ha sido demostrado que utilizar diferentes métodos filogenéticos y genes produce distintas relaciones en cada árbol filogenético (Strugnell *et al.*, 2007). Todos los estudios mencionados utilizaron de uno a tres genes mitocondriales y pocas especies de *Octopus* s. s., en este estudio, adicionalmente a los tres genes mitocondriales, fue empleado un gen nuclear, Rodopsina. La utilidad de incluir varios genes en un análisis

radica en que tienen diferentes tasas evolutivas de tal forma que cada gen permite resolver relaciones a distintos niveles jerárquicos. Por esta razón, la filogenia concatenada con los cuatro genes podría ser la que mejor resuelve las relaciones entre los taxa.

Una relación cercana entre *O. vulgaris* y *O. tetricus* fue detectada en las topologías de los genes concatenados y en las de los genes mitocondriales codificantes. Esta relación ya había sido demostrada en trabajos previos (Guzik *et al.*, 2005; Guerra *et al.*, 2010; Acosta-Jofré *et al.*, 2012; Amor *et al.*, 2014). Sin embargo, de acuerdo a la filogenia resuelta por Amor *et al.* (2014), el *O. vulgaris* del este de Asia parece ser más cercano a *O. tetricus* que los otros *O. vulgaris* de Brasil, Francia y Sudáfrica consecuencia, de acuerdo a los autores, de un ancestro común. En este estudio, no fue incluido el *O. vulgaris* de Asia.

Por otro lado, todas las topologías de los genes individuales (Figs. 7 y 8) muestran que *Octopus hubbsorum* y *O. mimus* son monofileticas. Resultado que refuerza lo obtenido con las distancias genéticas entre estos dos pulpos y sugiere que ambas especies son la misma especie. El clado conformado por *O. hubbsorum* y *O. mimus* está muy cercanamente relacionado con las especies del Atlántico, *O. insularis* y *O. maya*. Resultados similares han sido obtenidos por varios autores y asocian esta relación con la ancestría común que compartían estas especies antes de la formación del istmo de Panamá (Pérez-Losada *et al.*, 2002, Warnke *et al.*, 2004; Leite *et al.*, 2008; Sales *et al.*, 2013). Sin embargo, Acosta-Jofré (2012) y Söller *et al.* (2000), en sus respectivas filogenias de *Octopus sensu lato*, basada únicamente en secuencias de COIII

demonstraron que *O. mimus* está más relacionado con el *O. vulgaris* del Atlántico Oriental Central que los otros taxa. Cabe mencionar que en tales estudios no contemplaron a *O. hubbsorum* y a *O. maya*, respectivamente.

La relación monofilética entre *Octopus bimaculatus* y *O. bimaculoides* fue también recuperada en todas las topologías tanto de los genes individuales como concatenados. Sin importar su distinción como especies diferentes, ambas siempre han sido consideradas como especies gemelas (Pickford y McConnaughey, 1949) y su relación estrecha también fue registrada igualmente por Barriga-Sosa *et al.* (1995). Incluso las secuencias de rodopsina para estos dos pulpos fueron idénticas, no hubo ninguna sustitución que los diferenciara.

Las topologías resueltas aquí y las generadas por Ibáñez *et al.* (2014) sugieren que *Cistopus* y *Octopus* son grupos hermanos. Sin embargo, otros trabajos han revelado que *Abdopus*, *Ameloctopus*, *Amphioctopus* y *Hapalochlaena* tiene una relación cercana con *Octopus* (Guzik *et al.*, 2005; Acosta-Jofré *et al.*, 2012; Strugnell *et al.*, 2014).

No existe una relación cercana entre el clado de *Octopus* s. s. y el clado monofilético de “*O.* cf. *chierchiae*, “*O.* *fitchi*, “*O.* *tehuelchus* y *Paroctopus digueti* lo que soporta lo propuesto por Norman y Hochberg (2005) y por Acosta-Jofré *et al.* (2012) respecto a que estas tres especies no pertenecen al género *Octopus*.

Igualmente, el agrupamiento de “*O.* *californicus* con *Benthoctopus* y *Enteroctopus* apoya el hecho de que la primera especie debería ser colocada dentro de un género distinto, e incluso dentro de la nueva familia, Enterootopodidae. Barriga-Sosa *et al.* (1995), basados en distancias genéticas de COIII, sugirieron la necesidad de una

revisión genérica de “*O.*” *californicus* debido a la gran diferencia genética entre ésta y las especies de *Octopus bimaculatus* y *O. bimaculoides*. Posteriormente, Norman y Hochberg (2005) lo colocaron en la lista de pulpos con género incierto. Hay una evidencia fuerte sobre la relación cercana entre *Benthooctopus* y *Enterooctopus* (Strugnell *et al.*, 2008, 2011, 2013) y que “*O.*” *californicus* tiene parentesco con ellos (Barriga-Sosa *et al.*, 1995; Söller *et al.*, 2000; Strugnell *et al.*, 2011, 2014; Ibáñez *et al.*, 2014).

### 11.3 Tiempos de divergencia

La calibración del reloj molecular fue basado en el tiempo de divergencia reportado por Strugnell *et al.* (2006) para Octopodidae y la separación de *Hapalochlaena* y *Octopus*. Ellos utilizaron fósiles para la calibración y seis genes, tres mitocondriales (COI, 16S ARNr and 12S ARNr) y tres nucleares (octopina deshidrogenasa, pax-6 y rodopsina), para inferir las relaciones de los mayores linajes de cefalópodos. En este estudio, únicamente fueron utilizados tres de los mismos genes usados por Strugnell *et al.* (2006), COI, 16S ARNr y rodopsina más COIII. Sin embargo, los tiempos de divergencias utilizados fueron similares a otros. Strugnell *et al.* (2011) estimaron un tiempo de divergencia para Enterooctopodidae (*Enterooctopus*, *Benthooctopus*, *Sasakiopus* y “*O.*” *californicus*) alrededor de 40 Ma y entre “*O.*” *californicus* y *Benthooctopus* alrededor de 30 Ma. Datos promedios para esas divergencias en la topología bayesiana relajada encontradas en este estudio fueron de 33 Ma (21-48 Ma) y 24 Ma (13-38 Ma) respectivamente. El promedio de tiempo de divergencia estimado para *Octopus* y *Benthooctopus* en este estudio (103 Ma) fue similar al estimado por Strugnell *et al.* (2008) (125 Ma). Barriga-Sosa *et al.* (1995) sugirió un tiempo de divergencia menor a

25 Ma entre “*O.*” *californicus* y *Enteroctopus*, y entre *O. bimaculoides* y *O. bimaculatus*. Para la separación de la primera especie, el estimado en este trabajo es ligeramente mayor a 25 Ma pero para la divergencia de las especies oceladas es, de hecho, como lo propuesto por Barriga-Sosa *et al.* (1995), 13 Ma. El tiempo de divergencia calculado para *O. tetricus* y *O. vulgaris* (4-12 Ma) fue prácticamente idéntico al registrado por Amor *et al.* (2014) para la primera especie y el *O. vulgaris* del Atlántico (5-12 Ma). De acuerdo a la literatura *O. mimus* compartió un ancestro común con *O. insularis* y *O. maya* antes de la formación del Istmo de Panamá (hace aproximadamente 3.3 Ma). De acuerdo a las divergencias calculadas para estos pulpos, estos se separaron hace aproximadamente 17 Ma (11-24 Ma), mucho tiempo antes de que ocurriera dicho evento geológico.

#### 11.4 Taxonomía de la familia Octopodidae del Pacífico mexicano

Históricamente las descripciones de las especies de pulpos siempre han sido muy sencillas, de hecho podrían considerarse más como diagnósticos que como descripciones, y proporcionan datos de caracteres poco importantes en la identificación de los taxa. Esto ha ocasionado muchos sinónimos y ha conducido a que los taxónomos establezcan una serie de caracteres, conteos e índices para la descripción de las especies (Roper y Voss, 1983; Norman y Sweeney, 1997; Hochberg *et al.*, 2005). Aunque, actualmente, las descripciones de las nuevas especies se basan en estos autores, mucho de esos caracteres, que comúnmente son utilizados para discriminar especies, sirven mejor para la separación de géneros y no de especies cercanas (Allcock *et al.*, 2008). Sin embargo, en este estudio los caracteres empleados fueron



útiles para la distinción de especies y esto pudo deberse a que los taxa analizados no están relacionados cercanamente. En particular, el conteo de ventosas del tercer brazo derecho, el número de láminas branquiales así como la longitud total y patrones de coloración de los ejemplares fueron las principales características que permitieron la identificación. Únicamente, *O. bimaculatus* y *O. mimus* presentaron un número similar de láminas branquiales así como un valor parecido de longitud total pero esto es porque, aunque no son especies cercanas, ambas pertenecen al mismo género.

Las ocho especies descritas no contaban con índices morfológicos y conteos de varios caracteres en sus descripciones originales. Berry (1953) en las descripciones de “*O.*” *alecto*, “*O.*” *fitchi*, *O. hubbsorum* y “*O.*” *rubescens* manifestó que eran diagnosis preliminares y no descripciones sin embargo nunca las describió formalmente y durante mucho tiempo han sido considerado como descripciones. Para estas especies solo registró, la fórmula de los brazos y la umbrela, el índice del brazo opuesto y de la lígula. Con excepción de este último, los demás índices son poco informativos para la identificación de las especies. Las descripciones ampliadas de Norman *et al.* (2013) y Hochberg (sin publicar) permitieron una certidumbre mayor en la identidad de las especies estudiadas.

Varias discrepancias menores en el número de laminillas branquiales, conteo de ventosas, longitud del manto y total, fueron observadas al comparar las descripciones previas de *Octopus bimaculatus*, *O. mimus*, “*O.*” *fitchi*, *Euaxoctopus panamensis* y *Paroctopus digueti* con las presentadas en este estudio pero probablemente se deben a variación dentro de la especie o errores de medición y conteo. Sin embargo, diferencias

mayores fueron observadas en dos especies que en un principio fueron identificadas como "*Octopus chierchiae*" y "*O. rubescens*" por su similitud morfológica pero al realizar un análisis más profundo tuvieron varias diferencias con las descripciones originales respectivas y en este estudio son definidas como "*O.* aff. *chierchiae*" y "*O.* aff. *rubescens*".

De acuerdo a Berry (1953) *O. rubescens* tiene un órgano sifonal con forma de "W" y Norman *et al*, (2013) menciona que presenta de 11 a 13 laminillas branquiales. En los ejemplares de México examinados presentaron un órgano sifonal con forma de "UU" y de 14 a 16 laminillas branquiales. Tanto la forma del órgano sifonal y el número de laminillas branquiales, cuyo intervalo suele ser muy corto, son caracteres específicos lo que sugiere la distinción de "*O.* aff. *rubescens*" con "*O.* *rubescens*".

"*O.* *chierchiae*", es un caso raro. Es muy bien conocido que en el Pacífico mexicano existe otra especie muy similar a *O. chierchiae* (Rodaniche, 1984; Voight, 1988; Norman y Hochberg, sin publicar) que hasta el momento no ha sido formalmente descrita y que ha sido confundida frecuentemente con *O. chierchiae* (Voss, 1968, Voss, 1971). Esta especie es de mayor tamaño que *O. chierchiae* por lo que ha recibido el nombre común del mayor pulpo rayado del Pacífico ("larger pacific striped octopus") y también difiere en otros aspectos como un mayor número de branquias y de ventosas en el brazo hectocotilizado, no poseer ventosas modificadas cilíndricas en las puntas de los brazos y en lugar de tener franjas en los brazos presenta machas ovales o circulares (Norman y Hochberg, sin publicar). Estas características concuerdan con los tres ejemplares examinados en este estudio sugiriendo que son el mayor pulpo rayado del Pacífico. La

causa de la falta de una descripción formal de este pulpo, que desde hace 30 años se tiene conocimiento de su existencia, es desconocida.

La falta de ejemplares y las malas condiciones de los mismos impidió hacer una mejor descripción de "*O.* aff. *chierchiae* y "*O.* aff. *rubescens* y de proponer los nombres específicos correspondientes. Las descripciones formales de ambas tendrán que esperar hasta que un mayor esfuerzo de captura de ejemplares sea realizado. Por lo pronto es propuesto, que para *O.* aff. *chierchiae*, los ejemplares registrados por Voss (1968, 1971), quien fue el primero en dibujar y proporcionar datos importantes de la especie, podrían ser considerados como los ejemplares tipo para la descripción formal siendo la localidad tipo el golfo de Panamá.

Considerando estas dos especies no descritas hasta el momento, en el Pacífico mexicano existen más de 11 especies que las registradas en la literatura especializada. Ejemplares de *Octopus bimaculoides*, "*O.* *chierchiae*, "*O.*" *penicillifer*, "*O.* *rubescens* "*O.*" *veligero* provenientes del Pacífico mexicano no estaban representados en las colecciones ni tampoco pudieron ser capturados, con excepción de juveniles de *O.* *bimaculoides*. Esta especie en México sólo puede ser hallada en la parte noroccidental de la Península de Baja California tal vez esto, y el hecho de que "*O.*" *penicillifer* y "*O.*" *veligero* son especies raras y además de que la segunda es de aguas profundas, pudo ser la causa de su falta de ejemplares en las colecciones, sin descartar la necesidad de mayor esfuerzo de campo. Por otra parte, si bien la importancia de las colecciones científicas radica en que son fuente de conocimiento sobre la biodiversidad que existe en el mundo y que el material biológico depositado en ellas sirven para investigaciones

científicas y la enseñanza, las colecciones malacológicas mexicanas no tienen una buena representación de la fauna de octopodidos del Pacífico mexicano y posiblemente del Atlántico.

### 11.5 Implicaciones taxonómicas

Las especies que pertenecen al género *Octopus* s. s. se distinguen de los demás géneros, aquí presentados, principalmente por el mayor tamaño (47 a 153 mm de LM), por el manto y los brazos musculosos, por el patrón distintivo de parches y surcos que le dan la apariencia de estar reticulado y por la lígula pequeña. “*O*”. *chierchiae* y “*O*”. *fitchi* son especies de menor tamaño (menos de 55 mm de LM), además “*O*”. *chierchiae* presenta un patrón de franjas blancas en el manto, en la umbrela y en los brazos mientras que “*O*”. *fitchi* no presenta ningún patrón característico evidente. La colocación de estas dos especies dentro del género *Octopus* s. l. probablemente se debió a cuestiones históricas puesto que anteriormente, prácticamente cualquier especie que presentaba dos series de ventosas y un saco de tinta era colocado dentro de este género (Norman *et al.*, 2013). Y aunque estas dos especies están cercanamente relacionadas a *Paroctopus*, no considero que pertenezcan a éste debido a diferencias morfológicas notables. Las dos especies de *Octopus* s. s., *O. bimaculatus* y *O. mimus* son similares en tamaño, presentan un número semejante de laminillas branquiales y de número de ventosas. “*O*”. *chierchiae* y “*O*”. *fitchi* difieren con *Paroctopus* en estas tres características: son más pequeñas, tiene un menor número de laminillas branquiales y un menor número de ventosas en el hectocotilo. Tampoco considero que “*O*”. *chierchiae* y “*O*”. *fitchi* pertenezcan al mismo género porque en las dos topologías

con datos concatenados (Fig. 5 y 6) y aquella basada en COI (Fig. 7), muestran que "*O. fitchi*" está más relacionada a *Paroctopus digueti* que a "*O. chierchiae*". Además, ambas especies difieren en el número de ventosas en el hectocotilo ("*O. chierchiae*" presenta de 23 a 27 ventosas (Norman *et al.*, 2013) mientras que "*O. fitchi*" de 49 a 69 ventosas), en el tamaño ("*O. chierchiae*" de 10 a 25 mm de LM, "*O. fitchi*" de 13 a 40 mm de LM) y en el patrón de coloración (cuya comparación ya fue mencionada en párrafos anteriores). De tal forma que ambas pertenecen a géneros nuevos y totalmente distintos uno del otro. Un trabajo taxonómico sobre estos nuevos taxa de *Octopus* fue elaborado por Hochberg y Norman (sin publicar).

*Octopus mimus* es una especie que ha sido registrada recientemente en México (Flores-Valle, 2010). Fue descrita por Gould en 1852 pero posteriormente Guerra *et al.* (1999) ampliaron la descripción, resaltando la presencia de dos manchas oscuras tenues situadas en el lugar de los ocelos y únicamente observables cuando el animal está vivo. La presencia de estas manchas en *O. mimus* es un tema controversial. Warnke *et al.* (2002) reportaron que no pudieron observarlas. Sin embargo, Franz Cardoso (comunicación personal) registró que ambos pulpos con y sin manchas pueden ser encontrados en Perú. Igualmente, Flores-Valle *et al.* (sin publicar) encontraron ambos pulpos en México y manifestaron que éstos presentan una gran similitud genética con *O. mimus* pero a diferencia de lo mencionado por Guerra *et al.* (1999) y lo comunicado por Cardoso, las manchas pudieron aún ser visibles cuando el animal ya estaba fijado y aunado a eso sólo capturaron un único ejemplar con tales lunares por lo que estas marcas en el ejemplar de México probablemente no sean las

mismas a las que se refieren los investigadores citados. En contraste, *O. hubbsorum* no presenta tales manchas, siendo esta característica la principal diferencia con *O. mimus*. En las colecciones visitadas no existen ejemplares de *O. mimus*, de tal forma que no se pudo realizar una comparación entre esta y *O. hubbsorum*. Sin embargo, algunas hipótesis pueden ser propuestas. 1) Las secuencias registradas como *O. mimus* en GenBank provenientes de Perú y Chile y utilizadas en este estudio no pertenecen en realidad al verdadero *O. mimus* y podrían pertenecer a la otra especie de pulpo que no presenta las manchas negras. Si este es el caso, entonces *O. hubbsorum* puede ser encontrado en Sudamérica. 2) La presencia de las manchas es una característica plástica dentro de la especie. La plasticidad morfológica ha sido documentada en algunas poblaciones de pulpo (Doubleday *et al.*, 2009; Storero *et al.*, 2010) y además una especie puede exhibir diferentes patrones de coloración (Borrelli *et al.*, 2006; Barbato *et al.*, 2007; Leite y Mather, 2008). 3) *O. hubbsorum* y *O. mimus* son dos especies genéticamente similares pero morfológicamente diferentes. Aunque esto es raro en la naturaleza, existe un ejemplo en las langostas europeas y americanas (Hedgecock *et al.*, 1977). 4) El pulpo con manchas es una especie totalmente diferente que ha sido frecuentemente confundida con *O. mimus*.

Han sido varios los trabajos que cuestionan la verdadera identidad de las secuencias de pulpos publicadas en GenBank y que sugieren que los ejemplares utilizados para la obtención de dichas secuencias fueron identificados erróneamente. (Leite *et al.*, 2008; Undheim *et al.*, 2010; Acosta-Jofré *et al.*, 2012). Sin embargo, debido a que las secuencias de *O. mimus* usadas en este estudio provienen de diferentes fuentes (Söller

*et al.*, 2000; Warnke *et al.*, 2002, Warnke *et al.*, 2004, Acosta-Jofré *et al.*, 2012) y a que *O. mimus* es el pulpo que más se captura en el Pacífico Sudamericano (Guerra *et al.*, 1999; Cardoso *et al.*, 2004), podría esperarse que las secuencias de GenBank efectivamente sean de *O. mimus*. Por esto y por los resultados generados en este estudio, es propuesto que *O. hubbsorum* sea considerado como sinónimo junior y *O. mimus* como sinónimo senior.

## 12. Conclusiones

El presente trabajo realizó una contribución importante a la taxonomía y sistemática de la familia Octopodidae y al conocimiento de la biodiversidad de pulpos en México. Los objetivos planteados fueron alcanzados y con base a los resultados obtenidos es concluido que:

*Octopus* s. s. es monofilético. El hecho de que anteriormente hubiera sido considerado como polifilético pudo deberse a que, históricamente, todo pulpo que era capturado era colocado dentro del género y que las filogenias previas a este estudio utilizaban a especies de *Octopus* s. l.

“*Octopus*” *chierchiae* y “*O*”. *fitchi* pertenecen cada uno a un género nuevo distinto que no están relacionados con *Octopus* s. s. pero si con *Paroctopus*.

*Octopus hubbsorum* Berry, 1953 y *O. mimus* Gould, 1852 son sinónimos. Siendo el primero sinónimo junior del segundo debido a que *O. mimus* tiene prioridad sobre *O. hubbsorum* por el año de publicación.

Existen dos especies nuevas en el Pacífico mexicano morfológicamente similares a *O. chierchiae* y *O. rubescens*, las cuales no pudieron ser descritas completa y detalladamente debido a la carencia del material biológico correspondiente. De tal forma que existen más de 11 especies de pulpo en el Pacífico mexicano.

Son ampliados los intervalos de distribución de dos especies. Es propuesto que la distribución de “*Octopus*” *fitchi* comprenda la parte suroccidental de la península de Baja California, el golfo de California hasta Ecuador y que la distribución geográfica de



la especie conocida como “el mayor pulpo rayado del Pacífico”, definido aquí como *O. aff. chierchiae*, sea desde el golfo de Panamá hasta Sinaloa, México.

El número de laminillas branquiales y el conteo de ventosas del hectocotilo son de los caracteres más útiles para la identificación de octopodidos pero esto fue porque la mayoría de las especies examinadas no eran especies cercanas sino géneros distintos.

### 13. Referencias bibliográficas

Acosta-Jofré, M. S., R. Sahade, J. Laudien y M. B. Chiappero. 2012. A contribution to the understanding of phylogenetic relationships among species of the genus *Octopus* (Octopodidae: Cephalopoda). *Scientia Marina*. 76(2): 311-318.

Alejo-Plata, M. C. 2002. Sistemática de los calamares de importancia comercial del golfo de California y Pacífico centro oriental. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. Distrito Federal, México.

Alejo-Plata, M. C., R. García-Guillén y J. Herrera-Galindo. 2012. Paralarvas y juveniles de *Octopus bimaculatus* (Cephalopoda: Octopodidae) en el Pacífico Sur de México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. 47(2): 359-365.

Alejo-Plata, M. C., R. García-Guillén y J. Herrera-Galindo. 2013. Paralarvas y juveniles de cefalópodos en el Pacífico Sur de México. *Hidrobiológica*. 23(2): 250-264.

Alejo-Plata, M. C., y S. Herrera-Alejo. 2014. First description of eggs and paralarvae of green octopus *Octopus hubbsorum* (Cephalopoda: Octopodidae) under laboratory conditions. *American Malacological Bulletin*. 32(1): 132-139

Allcock, A. L., F. G. Hochberg, P. G. K. Rodhouse y J. P. Thorpe. 2003. *Adelieledone*, a new genus of octopodid from the Southern Ocean. *Antarctic Science*. 15(4): 415-424.

Allcock, A. L. y S. B. Piertney. 2002. Evolutionary relationships of Southern Ocean Octopodidae (Cephalopoda: Octopoda) and a new diagnosis of *Pareledone*. *Marine Biology*. 140: 129-135.

Allcock, A. L., J. M. Strugnell y M. P. Johnson. 2008. How useful are the recommended counts and indices in the systematics of the Octopodidae (Mollusca: Cephalopoda). *Biological Journal of the Linnean Society*.95: 205–218.

Allcock, A. L., J. M. Strugnell, P. Prodöhl, U. Piatkowski y M. Vecchione. 2007. A new species of *Pareledone* (Cephalopoda: Octopodidae) from Antarctic Peninsula Waters. *Polar Biol.* 30: 883-893.

Amor, M. D., M. D. Norman, H. E. Cameron, J. M. Strugnell. 2014. Allopatric speciation within a cryptic species complex of Australasian Octopuses. *Plos one* 9(6): e98982. doi:10.1371/journal.pone.0098982.

Barbato, M., M. Bernard, L. Borrelli y G. Fiorito. 2007. Body patterns in cephalopods. “Polyphenism” as a way of information exchange. *Pattern Recognition Letters*. 28: 1854-1864.

Barriga-Sosa, I., K. Beckenbach, B. Hartwick y M. J. Smith. 1995. Molecular phylogeny of five eastern north pacific octopus species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 4(2): 163-174.

Beebee, T. y G. Rowe. 2008. *An Introduction to Molecular Ecology*. Oxford University Press. New York. 400 p.

Berry, S. S. 1953. Preliminary diagnoses of six west American species of Octopus. *Leaflets in Malacology*. 1(10): 51-58.

Birky, C. W., J. Adams, M. Gemmel y J. Perry. 2010. Using population genetic theory and DNA sequences for species detection and identification in asexual organisms. PLOS ONE. 5(5): e10609.

Borrelli, L., F. Gherardi y G. Fiorito. 2006. A Catalogue of Body Patterning in Cephalopoda. Firenze: Firenze University Press. 626 pp

Brown W. M., E. M. Prager, A. Wang y A. C. Wilson. 1982. Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution. Journal of Molecular Evolution. 18:225–239

Carlini, D. V., R. E. Young y M. Vecchione. 2001. A molecular phylogeny of the Octopoda (Mollusca: Cephalopoda) evaluated in light of morphological evidence. Molecular Phylogenetics and Evolution. 21(3): 388-397.

Cardoso, F., P. Villegas y C. Estrella. 2004. Observaciones sobre la biología de *Octopus mimus* (Cephalopoda: Octopoda) en la costa peruana. Revista Peruana de Biología. 11: 45-50.

Dai, L., X. Zheng, L. Kong y Q. Li. 2012. DNA barcoding analysis of Coleoidea (Mollusca: Cephalopoda) from Chinese waters. Molecular Ecology Resources. 12: 437-447.

Domínguez-Contreras, J. F., B. P. Ceballos-Vázquez, F. G. Hochberg y M. Arellano-Martínez. A new record in a well-established population of *Octopus hubbsorum* (Cephalopoda: Octopodidae) expands its known geographic distribution range and maximum size. American Malacological Bulletin. 31(1): 95-99.

Doubleday, Z. A., J. M. Semmens, A. J. Smolenski y P. W. Shaw. 2009. Microsatellite DNA markers and morphometrics reveal a complex population structure in a merobenthic octopus species (*Octopus maorum*) in south-east Australia and New Zealand. *Marine Biology*. 156: 1183-1192.

Drummond A. J., M. A. Suchard, D. Xie y A. Rambaut. 2002-2013. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7 *Molecular Biology and Evolution* 29: 1969-1973.

Farris, J. S., M. Källersjö, A. G. Kluge y C. Bult. 1994. Testing significance of incongruence. *Cladistics*. 10: 315-319.

Flores-Valle, A. 2010. Descripción morfológica y determinación de identidades genéticas de pulpos de las costas mexicanas. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. Distrito Federal, México. 118p.

Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz y R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 3: 294-299.

Granados-Amores, J. 2008. Calamares epiplanctónicos de la Costa Occidental de la Península de Baja California, México. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Instituto Politécnico Nacional. La Paz, Baja California Sur, México. 129p.

Goyenechea, I. y A. Contreras-Ramos. 2007. Controversias en sistemática filogenética. En: Contreras-Ramos, A., Cuevas Cardona C., Goyenechea, I. y Iturbe, U. (Eds.), La

Sistemática, Base del Conocimiento de la Biodiversidad. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 158 p.

Guerra, A., T. Cortez y F. Rocha. Redescrición del pulpo de los Changos, *Octopus mimus* Gould, 1852, del litoral Chileno-Peruano (Molusca, Cephalopoda). *Iberus*. 17(2): 37-57.

Guerra, A., A. Roura, A. F. González, S. Pascual, Y Cherel y M. Pérez-Losada. 2010. Morphological and genetic evidence that *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 inhabits Amsterdam and SaintPaul Islands (southern Indian Ocean). *ICES Journal of Marine Science*. 67(7): 1401-1407.

Guzik, M. T., M. Norman y R. H. Crozier. 2005. Molecular phylogeny of the benthic-shallow water octopuses (Cephalopoda: Octopodinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 37: 235-248.

Hebert, P. D. N., M. Y. Stoeckle, T. S. Zemlak y C. M. Francis. 2004. Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS Biology*. 2(10): e312.

Hedgecock, D., K. Nelson, J. Simons y R. Shleser. 1977. Genic similarity of America and European species of the lobster *Homarus*. *The Biological Bulletin*. 152 (1): 41-50.

Hillis, D. M., B. K. Mable, A. Larson, S. K. Davis y E. A. Zimmer. 1996. Nucleic Acids IV: Sequencing and Cloning. En: Hillis, D. M., Moritz, C. y Zimmer E. A. (Eds.), *Molecular Systematics*. Sinauer Associates Inc. Sunderland. 655pp.

Hochberg, F. G. 1980. Class Cephalopoda, 201-204. En: Brusca, R. C. (Ed.), Common Intertidal Invertebrates of the Gulf of California. 2a ed. The University of Arizona Press. Tucson, Arizona. 513 pp.

Hochberg, F.G. 1998. Class Cephalopoda. En: Scott, P. V., Blake, J. A. (Eds.), Taxonomic atlas of the benthic fauna of the Santa Barbara basin and the western Santa Barbara channel, Vol. 8: The Mollusca, Part 1. Santa Barbara Museum of Natural History, Santa Barbara, California. 250pp.

Hochberg, F. G. 1992. Order Octopoda. En: Sweeney, M. J., Roper C. F. E., Mangold K. M., Clarke, M. R. y S. V. Boletzky (Eds.), "Larval and juvenile cephalopods: A manual for their identification. Smithsonian Institution Press. Washington. 282pp.

Hochberg, F. G., M. D. Norman y J. K. Finn. 2006. *Wunderpus photogenicus* n. gen. and sp., a new octopus from the shallow waters of the Indo-Malayan Archipelago (Cephalopoda: Octopodidae). Molluscan Research.26(3): 128-140

Hochberg, F. G., M. D. Norman y C. L. Huffard. 2005. Summary of CIAC Octopus Workshop. Phuket Marine Biological Center Research Bulletin. 66: 5–9.

Ibáñez C. M., F. Peña, M. C. Pardo-Gandarillas, M. A. Méndez, C. E. Hernández, E. Poulin. 2014. Evolution of development type in benthic octopuses: holobenthic or pelago-benthic ancestor? Hydrobiologia. 725: 205-214.

Jereb, P. y C. F. E. Roper. 2005-2013. Cephalopods of the World. An Annotated and Illustrated Catalogue of Cephalopod Species Known to Date. Vols. I-III. FAO Species Catalogue for Fishery Purposes. Roma

Juárez O. E., C. Rosas, M. L. Arena-Ortiz. 2012. Phylogenetic relationships of *Octopus maya* revealed by mtDNA sequences. 38: 563-575.

Kaneko, N. y T. Kubodera. 2008. Two new species of pygmy octopuses (Cephalopoda: Octopodidae) from deep water off Ryukyo Archipelago, southern Japan. Molluscan Research. 28(3): 145-157.

Kaneko N., T. Kubodera y K. Iguchis. 2011. Taxonomic study of shallow-water octopuses (Cephalopoda: Octopodidae) in Japan and adjacent waters using mitochondrial genes with perspectives on octopus DNA barcoding. Malacologia. 54: 97-108.

Keskin, E. y H. Huseyin. 2011. Genetic divergence of *Octopus vulgaris* species in the eastern Mediterranean. Biochemical Systematic and Ecology. 39: 277-282.

Leite, T. S., M. Haimovici, W. Molina y K. Warnke. 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.

Leite, T. S. y J. Mather. 2008. A new approach to octopuses' body pattern analysis: A framework for taxonomy and behavioral studies. American Malacological Bulletin. 24(1): 31-41.

Lindgren, A. R., O. N. Katugin, E. Amezcua y M. K. Nishiguchi. 2005. Evolutionary relationships among squids of the family Gonatidae (Mollusca: Cephalopoda) inferred from three mitochondrial loci. Molecular Phylogenetics and Evolution. 36:101-111.



López-Rocha J. A., M. Arellano-Martínez, B. P. Ceballos-Vázquez, I. Velázquez-Abunader I, S. Castellanos-Martínez, E. Torreblanca-Ramírez. 2012 Use of length-frequency analysis for growth estimation of the California two-spotted Octopus *Octopus bimaculatus* Verril 1883 of the Gulf of California. Journal of Shellfish Research. 31(4):1173–1181.

López-Uriarte, E., E. Ríos-Jara y M. Pérez-Peña. 2005. Range extension for *Octopus hubbsorum* Berry, 1953 (Cephalopoda, Octopodidae) in the Mexican Pacific. Bulletin of Marine Science. 77(2): 171-179.

Marrone, F., S. Lo Bruto y M. Arculeo. 2010. Molecular evidence for the presence of cryptic evolutionary lineages in the freshwater copepod genus *Hemidiaptomus* G. O. Sars, 1903 (Calanoida, Diaptomidae). Hydrobiologia. 644: 115-125.

Marrone, F., S. Lo Brutto, A. K. Hundsdoerfer y M. Arculeo. 2013. Overlooked cryptic endemism in copepods: Systematics and natural history of the calanoid subgenus *Occidodiaptomus* Borutzky 1991 (Copepoda, Calanoida, Diaptomidae). Molecular. Phylogenetics and Evolution. 66: 190-202.

Martínez-Castilla, L. 2007. Reconstrucción de la historia de cambio de los caracteres. En: Eguiarte, L. F., Souza, V y Aguirre, X (Eds.), Introducción a la Ecología Molecular. Instituto Nacional de Ecología. México. 594 p.

Meyer, C. P. y G. Paulay. 2005. DNA Barcoding: Error rates base don comprehensive sampling. PLoS Biol. 3(12): e422.

Moritz, C., T. E. Dowling, W. M. Brown. 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 18:269–292

Nishiguchi, M. K., J. E. López y S. v. Boletzky. 2004. Enlightenment of old ideas from new investigations: the evolution of bacteriogenic light organs in squids. *Evolution and Development*. 6:41–49.

Norman, M. D., R. Boucher-Rodoni y F. G. Hochberg. 2009. A new genus and two new species of mesobenthic octopuses from Australia and New Caledonia. *Journal of Molluscan Studies*. 75(4): 323-336

Norman, M. D. y F. G. Hochberg. 2005a. The current status of *Octopus* taxonomy. *Phuket Marine Biological Center Research Bulletin*. 66:127–154.

Norman, M. D. y F. G. Hochberg. 2005b. The “Mimic Octopus” (*Thaumoctopus mimicus* n. gen. et sp.), a new octopus from the tropical Indo-west Pacific (Cephalopoda: Octopodidae). *Molluscan Research*. 25: 57–70.

Norman, M. D., F. G. Hochberg y R. Boucher-Rodoni. 2004. *Microeledone mangoldi* n. gen. and n. sp., a deep-water pygmy octopus from the Norfolk Ridge, New Caledonia (Cephalopoda: Octopodidae). *Molluscan Research*. 24: 193-209.

Norman M. D., J. K. Finn, F. G. Hochberg. 2013. Family Octopodidae. En: Jereb P., Roper C. F. E., Norman M. D., Finn J. K. (Eds.), *Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of cephalopod species known to date. Volume 3. Octopods and Vampire Squids*. FAO. Roma. 352 pp.

Norman, M. D. y M. Sweeney. 1997. The shallow water octopuses (Cephalopoda: Octopodidae) of Philippines. *Invertebrate Taxonomy*. 11: 89-140.

Nylander J. A. A. 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.

Oosthuizen, A., M. Jiwaji y P. Shaw. 2004. Genetic analysis of the *Octopus vulgaris* population on the coast of South Africa. *South African Journal of Science*. 100: 603-607.

Pérez-Losada M., A. Guerra y A. Sanjuan. 2002. Allozyme divergence supporting the taxonomic separation of *Octopus mimus* and *Octopus maya* from *Octopus vulgaris* (Cephalopoda: Octopoda). *Bulletin of Marine Science* 71: 653-664.

Pickford, G.E. y B. H. McConnaughey. 1949. The *Octopus bimaculatus* problem: a study in sibling species. *Bulletin of the Bingham Oceanographic Collection*. 12(4): 1-66.

Rambaut A., M. A. Suchard, D. Xie, A. J. Drummond. 2014. Tracer v1.6, Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>

Robson, G. C. 1929. A monograph of the recent cephalopoda (Part 1 Octopodinae). Oxford University Press. Londres. 236pp.

Rodaniche, A. F. 1984. Iteroparity in the lesser Pacific striped octopus, *Octopus chierchiae* (Jatta, 1889). *Bulletin of Marine Science*. 35(1): 99-104.

Ronquist, F. y J. P. Huelsenbeck. 2003. MrBayes3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.

Roper, C. F. E. y K. M. Mangold. 1991. *Octopus schultzei* (Hoyle, 1910): A redescription with designation of *Aphrodoctopus* new genus (Cephalopoda; Octopodinae). Bulletin of Marine Science. 49 (1-2): 57-72.

Roper, C.F. E., M. J. Sweeney y F. G. Hochberg.1995. Cefalópodos, 305-353. En: Flescher, W., F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K. E. Carpenter y V. H. Niem (Eds.) Guía FAO para la Identificación de Especies para los Fines de la Pesca. Pacifico Centro-Oriental. Vol. I. Plantas e Invertebrados. FAO. Roma. 646 pp.

Roper, C. F. E. y G. L. Voss. 1983. Guidelines for taxonomic description of cephalopods species. Memoirs of National Museum of Victoria. 44: 48-63

Salcedo-Vargas, A. y M. Jaime-Rivera. 1999. The octopod *Euaxoctopus panamensis* (Octopodidae: Cephalopoda) in Mexican waters. Revista de Biología Tropical. 47(4): 1139-1139.

Salcedo-Vargas, A. 1991. Checklist of the cephalopods from the Gulf of Mexico. Bulletin of Marine Science. 49(1-2): 216-220.

Sales, J.B.L., P. S. Rego, A. W. S. Hilsdorf, A. A. Moreira, M. Haimovici, A. R. Tomás, B. B. Baptista, R. A. Marinho, U. Markaida, H. Schneider e I. Sampaio. 2013. Phylogeographical features of *Octopus vulgaris* and *Octopus insularis* in the Southeastern Atlantic based on the analysis of mitochondrial markers. Journal of Shellfish Research. 32: 325-339.

Simon, C., A Franke y A. P. Martin. 1991. The polymerase chain reaction: DNA extraction and amplification. En: G. M. Hewitt, A. W. B. Johnston y J. P. W. Young, editors. *Molecular Techniques in Taxonomy*. New York: Springer Verlag. pp. 329-355.

Simmons, M. P., K. M. Pickett y M. Miya. 2004. How meaningful are Bayesian support values? *Molecular Biology and Evolution*. 21:188-199.

Söller, R., K. Warnke, U. Saint-Paul y 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.

Storero, L. P., M. Ocampo-Reinaldo, R. A. González y M. A. Narvarte. 2010. Growth and life span of the small octopus *Octopus tehuelchus* in San Matías Gulf (Patagonia): Three decades of study. *Marine Biology*. 157: 555-564.

Strugnell, J. 2004. The Molecular evolutionary history of the class Cephalopoda (Phylum Mollusca). Tesis de doctorado. University of Oxford. 438p.

Strugnell J. M., Y. Cherel, I. R. Cooke, I. G. Gleadall, F. G. Hochberg, C. M. Ibáñez, E. Jorgensen, V. V. Laptikhovskiy, K. Linse, M. Norman, M. Vecchione, J. R. Voight, A. L. Allcock. 2011. The Southern Ocean: source and sink? *Deep Sea Research II* 58: 196-204.

Strugnell, J., J. Jackson, A. J. Drummond y A. Cooper. 2006. Divergence time estimates for major cephalopod groups: evidence from multiple genes. *Cladistics*. 22: 89-96.

Strugnell, J. M. y A. Lindgren. 2007. A barcode of life database for the Cephalopoda? Considerations and concerns. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*.17: 337-344.

Strugnell, J. y M. K. Nishiguchi. 2007. Molecular phylogeny of coleoid cephalopods (Mollusca: Cephalopoda) inferred from three mitochondrial and six nuclear loci: a comparison of alignment, implied alignment and analysis methods. *Journal of Molluscan Studies*. 73:399-410.

Strugnell, J., M. D. Norman, A. J. Drummond y A. Cooper. 2004. Neotenus origins for pelagic octopuses. *Current Biology*. 18: R300-R301.

Strugnell, J., M. Norman, J. Jackson, A. J. Drummond y A. Cooper. 2005. Molecular phylogeny of coleoid cephalopods (Mollusca: Cephalopoda) using a multigene approach; their effect of data partitioning on resolving phylogenies in a Bayesian framework. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 37: 426-441.

Strugnell, J.M., M. D. Norman, M. Vecchione, M. Guzik, A. L. Allcock. 2014. The ink sac clouds octopod evolutionary history. *Hydrobiologia*. 725: 215-235.

Strugnell, J., A. D. Rogers, P. A. Prodöhl, M. A. Collins y A. L. Allcock. 2008. The thermohaline expressway: the Southern Ocean as a centre of origin for deep-sea octopuses. *Cladistics*. 24: 853-860.

Swofford, D. L. 2002. PAUP\* 4.0- Phylogenetic analysis using parsimony (\*and other methods). Sinauer, Sunderland. M. A.

Takumiya, M., M. Kobayashi, K. Tsunki y H. Furuya. 2005. Phylogenetic relationships among major species of Japanese coleoid cephalopods (Mollusca, Cephalopoda) using three mitochondrial DNA sequences. *Zoological Science*. 22:-147-155.

Tamura, K. y M. Nei. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*. 10(3): 512-526.

Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei y S. Kumar. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*. 28(10): 2731-2739.

Toussaint, R. K., D. Scheel, G. K. Sage y S. L. Talbot. 2012. Nuclear and mitochondrial markers reveal evidence for genetically segregated cryptic speciation in giant Pacific octopuses from Prince William Sound, Alaska. *Conservation Genetics*. 13: 1483-1497.

Undheim, E. A. B., J. A. Norman, H. H. Thoen y B. G. Fry. 2010. Genetic identification of Southern Ocean octopod samples using mtCOI. *Comptes Rendus Biologies* 333: 395-404.

Voight, J. R. 1988. Trans-Panamanian geminate octopods (Mollusca: Octopoda). *Malacologia*. 29(1): 289-294.

Voight, J. R. 1993. A cladistic reassessment of octopodid classification. *Malacologia*. 33: 343-349.

Voss, G. L. 1954. Cephalopoda of the Gulf of Mexico. Fishery Bulletin of the Fish and Wildlife Service. 89: 475-478.

Voss, G. L. 1956. A review of the cephalopods of the Gulf of Mexico. Bulletin of Marine Science. 6(2): 85-178

Voss, G. L. 1968. Octopods from the R/V Pillsbury Southwestern Caribbean Cruise, 1966, with a description of a new species, *Octopus zonatus*. Bulletin of Marine Science. 18(3): 645-659.

Voss, G. L. 1971. Cephalopods collected by the R/V John Elliott Pillsbury in the Gulf of Panama in 1967. Bulletin of Marine Science. 21(1): 1-34.

Voss, G. L. 1977. Present status and new trends in cephalopod systematics. Symposia of the Zoological Society of London. 38: 40-60.

Voss, N. A., M. Vecchione, R. B. Toll, M. J. Sweeney. 1998. Systematics and Biogeography of Cephalopods Vol. I y II. Smithsonian Contributions to Zoology. Smithsonian Institution Press. Washington.

Warnke, K., R. Söller, D. Blohm y U. Saint-Paul. 2002. Assessment of the phylogenetic relationship between *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 and *O. mimus* Gould, 1852, in combination with morphological characters. Abhandlugen der Geologischen Bundesanstalt. 57:401-405.

Warnke, K., R. Söller, D. Blohm y U. Saint-Paul. 2004. A new look at geographic and phylogenetic relationships within species group surrounding *Octopus vulgaris* (Mollusca,



Cephalopoda): indications of a very wide distribution from mitochondrial DNA sequences. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. 42: 306-312.

Xia, X. y P. Lemey. 2009. Assessing substitution saturation with DAMBE. En: P. Lemey, M. Salemi y A. M. Vandamme, (Eds). *The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to DNA and Protein Phylogeny*. Cambridge: Cambridge University Press. pp. 615-630.

Xia, X. y Z. Xie. 2001. DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution. *Journal of Heredity*. 92: 371-373

Xia, X., Z. Xie, M. Salemi, L. Chen y Y. Wang. 2003. An index of substitution saturation and its application. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 26: 1-7.

Young, R. E., M. Vecchione y K. M. Mangold (1922-2003). 2012. Cephalopoda Cuvier 1797. Octopods, squids, nautiluses, etc.. Version 10 November 2012 (under construction). <http://tolweb.org/Cephalopoda/19386/2012.11.10> in The Tree of Life Web Project, <http://tolweb.org/>

## 14. Anexos

### Anexo1



---

#### **Close Genetic Relationships between Two American Octopuses: *Octopus hubbsorum* Berry, 1953, and *Octopus mimus* Gould, 1852**

Author(s): Ricardo Pliego-Cárdenas, Frederick G. Hochberg, Francisco Javier García De León and Irene De Los Angeles Barriga-Sosa

Source: *Journal of Shellfish Research*, 33(1):293-303. 2014.

Published By: National Shellfisheries Association

DOI: <http://dx.doi.org/10.2983/035.033.0128>

URL: <http://www.bioone.org/doi/full/10.2983/035.033.0128>

---

BioOne ([www.bioone.org](http://www.bioone.org)) is a nonprofit, online aggregation of core research in the biological, ecological, and environmental sciences. BioOne provides a sustainable online platform for over 170 journals and books published by nonprofit societies, associations, museums, institutions, and presses.

Your use of this PDF, the BioOne Web site, and all posted and associated content indicates your acceptance of BioOne's Terms of Use, available at [www.bioone.org/page/terms\\_of\\_use](http://www.bioone.org/page/terms_of_use).

Usage of BioOne content is strictly limited to personal, educational, and non-commercial use. Commercial inquiries or rights and permissions requests should be directed to the individual publisher as copyright holder.

CLOSE GENETIC RELATIONSHIPS BETWEEN TWO AMERICAN OCTOPUSES: *OCTOPUS HUBBSORUM* BERRY, 1953, AND *OCTOPUS MIMUS* GOULD, 1852

RICARDO PLIEGO-CÁRDENAS,<sup>1,2\*</sup> FREDERICK G. HOCHBERG,<sup>3</sup> FRANCISCO JAVIER GARCÍA DE LEÓN<sup>4,5</sup> AND IRENE DE LOS ANGELES BARRIGA-SOSA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, División CBS., Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, Del. Iztapalapa, México, Distrito Federal, 09340. México; <sup>2</sup>Laboratorio de Genética y Biología Molecular, Planta Experimental de Producción Acuicola, Departamento de Hidrobiología, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, Del. Iztapalapa, México, Distrito Federal, 09340. México; <sup>3</sup>Department of Invertebrate Zoology, Santa Barbara Museum of Natural History, Santa Barbara, CA; <sup>4</sup>Laboratorio de Genética Para la Conservación, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., La Paz, Baja California Sur 23090, México; <sup>5</sup>Laboratorio de Ecología Molecular, Fundación CEQUA, c/21 de Mayo 1690 (esq. Bellavista), Punta Arenas, Chile

**ABSTRACT** The octopuses *Octopus hubbsorum* and *Octopus mimus* are two species of octopuses that inhabit shallow waters of the eastern Pacific Ocean. The former species is found in the north, from the Gulf of California to Oaxaca, Mexico, whereas *O. mimus* lives in the south, from Peru to Chile. To infer the phylogenetic relationships between these species we used the mitochondrial genes cytochrome oxidase subunits I and III, and r16S with the aim of comparing their genetic distances with those of other *Octopus* sp. The genetic distance values between both species estimated per gene or concatenated were low (0%–1.6%) in comparison with other interspecific distances values (4.6%–18.4%). Application of 10× rule showed there is no overlap between intra- and interspecific octopus distances, whereas the application of the 4× rule confirmed that both octopuses belong to the same lineage. The resolved topologies with maximum parsimony and Bayesian approaches clustered the specimens of *O. hubbsorum* and *O. mimus* in a single clade with high bootstrap and posterior probability values (100 and 1.0, respectively). These results allow us to suggest that *O. hubbsorum* and *O. mimus* could represent the same species.

**KEY WORDS:** Octopodidae, taxonomy, mitochondrial DNA, synonymy, *Octopus hubbsorum*, *Octopus mimus*

INTRODUCTION

The taxonomy of the Octopodidae is complex. Of the 374 nominal species listed in Norman and Hochberg (2005), only 186 are considered as valid and 55 are uncertain. The lack of hard structures and the soft bodies of octopods, which often are poorly preserved and, as a result, badly distorted after death, plus the high phenotypic plasticity they exhibit, which allows them to change their body pattern in color and texture as an expression of their behavior, lead teuthologists to use molecular data to discriminate taxa, find cryptic species in several regions of the world, and place uncertain specimens in the correct genus or species (Söller et al. 2000, Warnke et al. 2002, Allcock et al. 2007, Leite et al. 2008, Undheim et al. 2010, Kaneko et al. 2011, Toussaint et al. 2012).

The octopuses *Octopus hubbsorum* Berry, 1953, and *Octopus mimus* Gould, 1852, are two species of octopuses that inhabit the shallow waters of the eastern Pacific Ocean. The former is found in the north, where it is reported to range from the Gulf of California to Oaxaca, Mexico (López-Uriarte et al. 2005); *O. mimus* lives in the south and ranges in distribution from north of Peru to Chile (Guerra et al. 1999). Both species are the main targets of octopus fisheries in their respective geographic areas. However, the distribution boundaries of these two species are not well documented. López-Uriarte et al. (2005) pointed out the presence of *O. hubbsorum* farther south of the Mexican coast whereas Guerra et al. (1999) argued that more specimens

need to be analyzed to define the distribution of *O. mimus*. Recently, the geographic distribution range of *O. hubbsorum* has been extended (Dominguez-Contreras et al. 2013) and, at the beginning of the past decade, molecular studies indicated that *O. mimus* was present in Central America (Söller et al. 2000, Warnke et al. 2002). Current data suggest the presence of *O. mimus* off the Pacific coast of Mexico (Flores-Valle et al. unpubl. data).

The phylogenetic relationships of *Octopus hubbsorum* are unknown whereas those of *Octopus mimus* have drawn little attention. For decades it had been considered that the principal species inhabiting the South American Pacific was *Octopus vulgaris*, and it was not until 1995 and 1999, that Cortez and Warnke, respectively, indicated that *O. mimus* was the species captured along the Chilean and Peruvian coasts. Subsequently, molecular studies revealed the distinction between *O. mimus* and *O. vulgaris* (Söller et al. 2000, Pérez-Losada et al. 2002, Warnke et al. 2002). These works also described a close relationship between *O. mimus* and two Atlantic species, *Octopus insularis* Leite and Haimovici, 2008, and *Octopus maya* Voss and Solís-Ramírez, 1966. Nevertheless, the relationship of *O. mimus* with other species from the American Pacific is not known; thus, the aim of the current study is to define the phylogenetic relationship between *O. hubbsorum* and *O. mimus* based on 3 mitochondrial molecular markers, cytochrome oxidase subunit I (COI), cytochrome oxidase subunit III (COIII), and r16S. This study will help to clarify the taxonomy of these two morphologically similar species.

\*Corresponding author. E-mail: rip\_rojo@hotmail.com  
DOI: 10.2983/035.033.0128

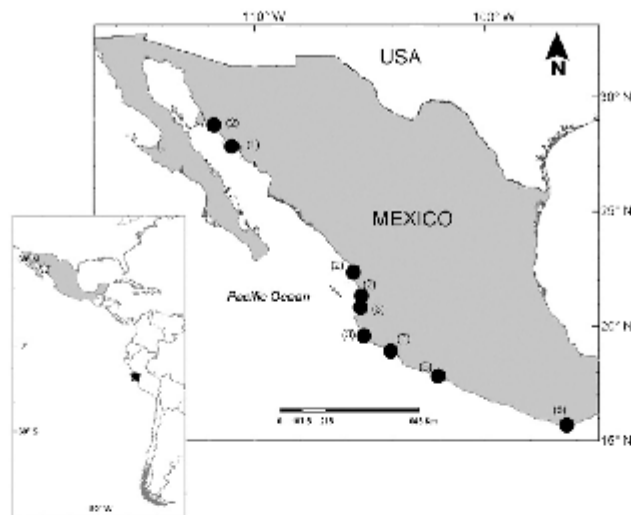


Figure 1. Type localities of *Octopus hubbsorum* (white star) and *Octopus minus* (black star), and sampling localities of *O. hubbsorum* (black circles). The numbers between brackets indicate the octopuses that were used for the DNA analysis.

#### MATERIALS AND METHODS

##### Sampling

Specimens of one octopus species identified as *Octopus hubbsorum* were captured in several localities off the Pacific coast of Mexico (Fig. 1). Identifications were based on the key in Roper et al. (1995) for cephalopods from the American Central Pacific and the original description of *O. hubbsorum* in Berry (1953), and by comparison of voucher specimens of *O. hubbsorum* deposited in the malacological collection of the Santa Barbara Museum of Natural History.

An arm tissue sample was taken from each octopus and stored in 70% ethyl alcohol until DNA extraction. The remainder of each octopus specimen was fixed in 10% formaldehyde and then preserved in 70% ethyl alcohol to be deposited as voucher specimens in the malacological collection of the Escuela Nacional de Ciencias Biológicas of the Instituto Politécnico Nacional. In addition, tissue samples of two unidentified *Octopus* specimens from Colombia and one of *Octopus bimaculoides* Pickford and McConnaughey, 1949, were donated by the Santa Barbara Museum of Natural History. The sequences of *Octopus minus* included in this study were 4 for COI, 6 for COIII, and 2 for r16S, and these were taken from Söller et al. (2000), Warnke et al. (2002, 2004), and Acosta-Jofré et al. (2012). In addition, partial sequences for these 3 genes were obtained from GenBank for 7 taxa, including the outgroup taxon *Opisthotethis* sp. (see Appendix A for accession numbers).

##### DNA Extraction, Amplification, and Sequencing

Total DNA was extracted and purified with the kit Wizard SV Genomic DNA Purification System (Promega) according to the manufacturer's protocol. The primers used were those indicated in the references listed in Table 1. Polymerase chain

reaction (PCR) was used for the amplification of genomic DNA. Each 25- $\mu$ L reaction contained 2 mM MgCl<sub>2</sub> (Qiagen), 1 $\times$  PCR buffer (Qiagen), 0.4 mM dNTPs, 0.75 U Taq DNA polymerase (Promega), and 0.4  $\mu$ M of each primer. The thermal cycles included 1 initial cycle at 94°C for 5 min, followed by 30 cycles at 94°C for 45 sec, 38–52°C (according to the primers used; Table 1) for 45 sec, and 72°C for 90 sec. The amplified products were purified with Qiaquick PCR Purification Kit (Qiagen) according to the manufacturer's protocol.

The purified PCR product was sequenced in both directions with the BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit on an ABI PRISM-3100 Avant automated sequencer at the Universidad Autónoma Metropolitana (Distrito Federal, Mexico). DNA sequences were aligned with Clustal W (Thompson et al. 1994) implemented in MEGA 5.0 (Tamura et al. 2011). The alignments of the sequences were verified with the respective translation of amino acids for COI and COIII. No gaps were included in the alignment of COI and COIII.

##### Data Analysis and Genetic Distances

Nucleotide saturation was tested using Xia's test (Xia et al. 2003, Xia & Laney 2009) executed in DAMBE version 5.2.73.

TABLE 1.

Primer reference and the annealing temperature of the primers used in this study.

Gene	Annealing temperature (°C)	Reference
COI	49	Folmer et al. (1994)
COIII	38	Barriga-Sosa et al. (1995)
r16S	52	Simon et al. (1991)

(Xia & Xie 2001). The sequence composition for each genetic region and the nucleotide substitutions per site at each codon position between species pairs for COI and COIII were analyzed. The genetic distances were calculated by using the Tamura–Nei model (Tamura & Nei 1993). Bootstrap support was estimated using 500 iterations. All analysis were implemented in MEGA 5.0 (Tamura et al. 2011). A Mann–Whitney *U* test was carried out in Statistica 10 to detect significant genetic differences between inter- and intraspecific Tamura–Nei distances for the *Octopus* species analyzed. Moreover, the 10× rule (Hebert et al. 2004) was applied for COI distances because it frequently is used as DNA bar coding; the 4× rule (Birky et al. 2010) was applied for COIII distances because there are more *Octopus mimus* sequences available for this marker in GenBank. Both rules were implemented for discriminate species.

The Tajima test (Tajima 1989) was executed in DnaSP v5 (Librado & Rozas 2009) to elucidate whether the sequences are under selective pressure.

The chi square test for composition homogeneity of nucleotide, and the homogeneity test (Farris et al. 1995) for evaluation of the congruence between the data were implemented in PAUP\* (Swofford 2002). JModeltest (Posada 2008) was used to select the best-fit model for each data set under the Akaike information criterion.

**Phylogenetic Analysis**

Phylogenetic reconstruction was done using the genes separately and as a concatenated data set. In the latter case, only COI and COIII were used because of the availability of sequences of *Octopus mimus* in GenBank for those 2 gene regions. Because the matrices of the data were less than 20 taxa, and because redundant sequences were discarded, an implicit enumeration search in the T.N.T. software (version 1.1) (Goloboff et al. 2008) was performed. The bootstrap values for clades support were generated by resampling 1,000 replicates.

Bayesian inference was performed in MrBayes3.2 (Ronquist & Huelsenbeck 2003). The analysis consisted of 2 independent runs with 4 chains for 1,000,000 generations, and sampling every 100. A total of 25% of the samples were discarded. In the case of the concatenated data 2,000,000 generations were required to minimize the SD.

**RESULTS**

**Sequences Analyses and Codon Base Composition**

Partial sequences of 24 *Octopus hubbsorum*, 2 *Octopus* sp. from Colombia, and 1 *Octopus bimaculoides* were obtained for

each gene with lengths of 688 nucleotides for COI, 634 for COIII, and 526 for r16S, and a total of 1,848 bp. Because redundant sequences were discarded for the analyses and because homologous GenBank sequences for the *Octopus* species used in this study are not available for all 3 molecular markers, some sequences are available just for one; the number of sequences of the data set varied between each gene. Thus, 14 sequences were analyzed for COI, r16S, and COI + COIII, and 19 sequences for COIII (Appendix A).

Nucleotide saturation was not detected in any of the three molecular markers (Iss < Iss.c, *P* < 0.05). No significant values of Tajima's D were observed, indicating selective neutrality of the sequence data. All three mitochondrial gene regions analyzed in the *Octopus* species showed bias against G + C content, which prompted for the analysis of codon usage in COI and COIII regions.

All variable sites for the two coding genes were transitions except at position 429 for COIII. Nonsynonymous substitutions were detected between *Octopus hubbsorum* and *Octopus mimus*. A transition at position 475 of the COI sequences resulted in a substitution at the first position of codon 159, with *O. hubbsorum* having ATC (I) and *O. mimus* having GTC (V). Other nonsynonymous substitutions detected in COIII sequences were two transitions at positions 427 and 502, and a transversion at position 429. Mutations at positions 427 and 429 resulted in changes at the first and third positions of codon 143, resulting in ATC (I) for *O. hubbsorum* and GTA (V) for *O. mimus*. A mutation at position 502 resulted in a change in the first position of codon 168, with *O. hubbsorum* exhibiting the GAT (D) codon and *O. mimus*, the AAT (N) codon. In general, a bias against G at the third codon position was detected. Base composition per codon position for COI and COIII sequences are listed in Table 2.

Nucleotide site differences between *Octopus hubbsorum* and *Octopus mimus* for each gene are summarized in Tables 3 and 4. Four haplotypes for COI and COIII, and 3 for r16S were resolved from 24 specimens of *O. hubbsorum* whereas two haplotypes for COI and r16S, and 4 for COIII were resolved for *O. mimus* (some sequences of this species showed ambiguous sites, so they were excluded). The haplotypes were resolved respectively from 4, 2, and 6 sequences of *O. mimus*. Nucleotide variation between haplotypes of *O. hubbsorum* and *O. mimus* was low, with only 1 or 2 substitutions per sequence.

**Genetic Distances**

The calculated genetic distances were very similar between *Octopus hubbsorum* and *Octopus mimus* (Table 5) using the 3 genes. Low values were registered between *O. hubbsorum*,

TABLE 2. Base composition per codon position for COI and COIII partial sequences.

Species	1 <sup>st</sup>				2 <sup>nd</sup>				3 <sup>rd</sup>				
	T	C	A	G	T	C	A	G	T	C	A	G	
<i>Octopus mimus</i>	26.1	21.6	25.6	26.7	43.2	24.9	14.7	17.3	43.5	9.3	45.9	1.3	COI
<i>Octopus hubbsorum</i>	26.1	20.9	27.0	26.1	43.2	24.0	15.7	17.0	44.0	9.3	45.9	0.9	
<i>O. mimus</i>	34.0	18.9	29.2	17.9	42.2	23.2	19.9	14.7	45.9	12.0	41.1	0.9	COIII
<i>O. hubbsorum</i>	33.9	19.4	28.3	18.4	41.3	23.3	20.5	14.9	46.0	11.4	41.2	1.3	

TABLE 3.

Variable nucleotide positions of partial sequences of COI and COIII found between *Octopus hubbsorum* and *Octopus mimus* haplotypes.

		COI Sites							COIII Sites															
Haplotypes		135	231	243	264	348	402	429	475	Haplotypes	21	54	120	147	219	243	304	309	409	427	429	450	502	
OhGC	C	A	C	C	A	T	T	A	OhGC	A	C	C	T	T	C	T	T	G	A	C	T	G		
OhN1	T	—	—	—	—	—	—	—	OhN1	—	—	—	C	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
OhM	—	—	—	—	—	C	—	—	OhN2	T	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	C	—	—
OhO	—	—	—	—	—	—	C	—	OhM	—	—	T	—	—	—	—	C	—	—	—	—	—	—	—
OmCh1	—	G	T	T	G	—	—	G	OmCR	—	—	C	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
OmCh2	—	G	—	T	G	—	—	G	OmCh1	—	T	—	—	—	T	C	C	—	G	A	—	A	—	—
									OmCh2	—	T	—	—	—	T	C	C	A	G	A	—	A	—	—
									OmCh3	—	T	—	—	G	T	C	C	—	G	A	—	—	—	—

OhGC, *O. hubbsorum* Gulf of California; OhM, *O. hubbsorum* Michoacán; OhN1, *O. hubbsorum* Nayarit 1; OhN2, *O. hubbsorum* Nayarit 2; OhO — *O. hubbsorum* Oaxaca; OmCh1, *O. mimus* Chile 1; OmCh2, *O. mimus* Chile 2; OmCh3, *O. mimus* Chile 3; OmCR, *O. mimus* Costa Rica.

*O. mimus* specimens from Costa Rica, and the *Octopus* sp. from Colombia (0%–0.2%). Greater values were observed between *O. hubbsorum* and the *O. mimus* specimens from Chile and Peru (0.8%–1.4%), but these values are much lower than the interspecific distances calculated for *Octopus* sp. The lowest divergences between taxa for COI, COIII, and r16S were 8.9%, 6.4%, and 4.5%, respectively (Fig. 2). The average intraspecific divergence for *O. hubbsorum* was 0.2% for COI, 0.4% for COIII, and 0.3% for r16S. The differences between interspecific and intraspecific Tamura–Nei genetic distances of *Octopus* sp. with the 3 molecular markers were significant ( $U = 0$ ,  $P < 0.05$ ). The 10 $\times$  threshold for *Octopus* (average intraspecific distance, 0.2%) is not enough to separate *O. hubbsorum* from *O. mimus*. The greatest COI distance value between *O. hubbsorum* and *O. mimus* specimens was 0.9%, which is less than the 2.0% threshold. The 4 $\times$  rule did not support ( $D = 0.013$ ) the reciprocal monophyly of *O. hubbsorum* ( $\pi = 0.00394$ ) and *O. mimus* ( $\pi = 0.002$ ,  $D < 40$ ).

#### Phylogenetic Inferences

The evolution models that fit the data best were GTR + (I + G) (COI + COIII), TIM2 + G (COI and COIII), and TIM3 + G (r16S). Because the last two models cannot be implemented in MrBayes, we used the GTR + G model to infer the relationships. The topologies generated analyzing the concatenated genes (Fig. 3A, B) as well as the Bayesian and parsimony

topologies of COI and r16S (Appendices B and C) concurred with the clustering of *Octopus hubbsorum*, *Octopus mimus*, and *Octopus* sp. from Colombia in a monophyletic clade, with the specimens from South America (Peru and Chile) forming 1 group and the octopuses from North and Central America (Mexico, Costa Rica, and Colombia) forming another. In the two combined data trees and the r16S Bayesian tree, *Octopus maya* is the sister group of the *O. hubbsorum*–*O. mimus* clade. In the Bayesian COIII topology, the clade conformed by *O. maya* and *Octopus insularis* is the sister group of *O. hubbsorum*–*O. mimus*. The position of *Octopus binaculoides* could not be resolved using COI and COIII separately. In the r16S topologies,

TABLE 5.

Genetic distances (percentage) calculated with the Tamura–Nei model (Tamura & Nei 1993) based on mitochondrial sequences of COI (first row), COIII (second row), and r16S (third row) for *Octopus hubbsorum*, *Octopus maya* and *Octopus mimus*.

Taxa	OmCh(I)	OmCh(C)	OmP	OmCR	OspC	OhGC
OmCh(C)	—	—	—	—	—	—
	0.6	—	—	—	—	—
OmP	—	0.2	—	—	—	—
	0.4	0.2	—	—	—	—
OmCR	—	—	—	—	—	—
	1.4	1.6	1.4	—	—	—
	1.3	—	—	—	—	—
OspC	—	0.6	0.8	—	—	—
	1.2	1.4	1.2	0.2	—	—
	—	—	—	0.0	—	—
OhGC	—	0.8	0.9	—	0.2	—
	1.2	1.4	1.2	0.2	0.0	—
	1.3	—	—	0.0	0.0	—
OmyGM	—	9.2	8.9	—	9.0	9.0
	8.0	8.3	8.0	7.0	7.3	7.3
	4.5	—	—	5.5	5.5	5.5

—, missing sequences for the respective gene; OhGC, *Octopus hubbsorum* Gulf of California; OmCh(C), *Octopus mimus* Coloso, Chile; OmCh(I), *O. mimus* Iquique, Chile; OmCR, *O. mimus* Costa Rica; OmP, *O. mimus* Peru; OmyGM, *Octopus maya* Gulf of Mexico; OspC, *Octopus* sp. Colombia.

TABLE 4.  
Variable nucleotide positions of partial sequences of r16S found between *Octopus hubbsorum* and *Octopus mimus* haplotypes.

		r16S Sites							
Haplotypes		33	238	249	266	317	331	341	345
OhGC	A	G	C	A	G	G	T	A	—
OhN3	G	—	—	—	—	—	—	—	—
OhM	—	—	—	—	—	A	—	—	—
OmCR	—	—	—	—	—	—	—	—	—
OmCh3	—	A	T	G	A	—	C	G	—

OhGC, *O. hubbsorum* Gulf of California; OhM, *O. hubbsorum* Michoacán; OhN3, *O. hubbsorum* Nayarit 3; OmCh3, *O. mimus* Chile 3; OmCR, *O. mimus* Costa Rica.

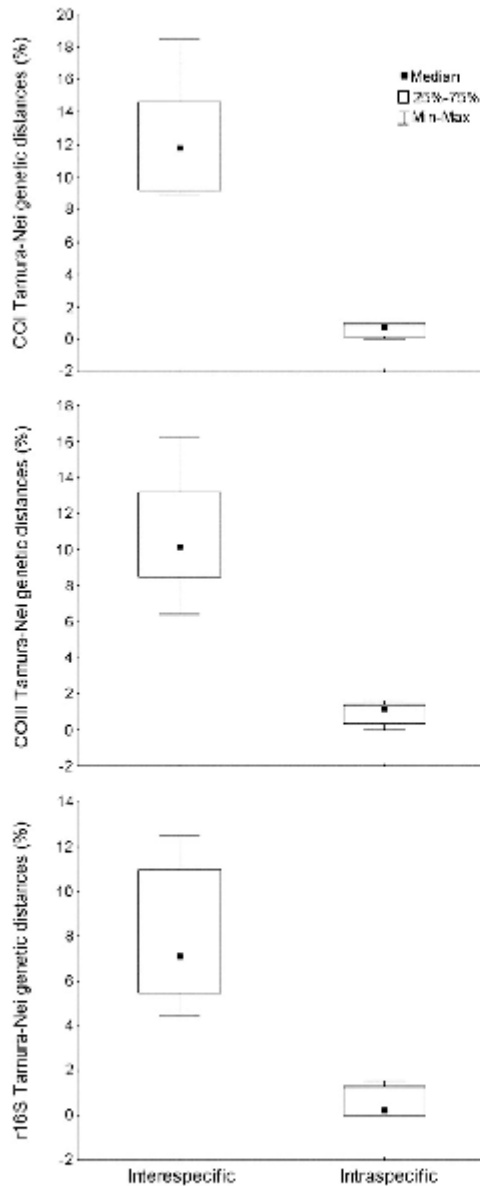


Figure 2. Variation of inter- and intraspecific Tamura-Nei distances for nucleotide sequences of COI, COIII, and r16S in species of *Octopus*.

*O. bimaculoides* is related to the clade conforming *O. hubbsorum*–*O. mimus*, *O. maya*, and *O. insularis*.

#### DISCUSSION

The A-T bias in the nucleotide sequences of codon regions has been reported previously for other species of octopuses, suggesting that the mitochondrial DNA is under directional selection toward A-T (Barriga-Sosa et al. 1995, Guzik et al. 2005). Also, a high transition-to-transversion ratio has been reported in closely related *Octopus* sp. (Barriga-Sosa et al. 1995). In species with high divergence, the transversion rate increases and erases the record of transitions (Brown et al. 1982). Only a transversion in the COIII sequence between *Octopus hubbsorum* and *Octopus mimus* was observed, suggesting they are still in a divergent process or they diverged recently.

The distances between *Octopus hubbsorum* and *Octopus mimus* were similar to intraspecific divergences calculated for other *Octopus* sp. The COI distance values of specimens of *Octopus vulgaris* from the Mediterranean ranged from 0.2%–3.9% (Keskin & Huseyin 2011); in South Africa, the intraspecific divergence, using COIII, for *Octopus vulgaris* ranged from 0.6%–1.5% (Oosthuizen et al. 2004). Even other genera in the family Octopodidae show similar intraspecific distances values. For COI, specimens of *Enteroctopus* have distance values ranging from 0.0%–0.8% (Toussaint et al. 2012); specimens of *Pareledone*, from 0.0%–2.5% (Undheim et al. 2010). Kaneko et al. (2011) reported a mean value of COI intraspecific variation of 0.2%, which is much lower than the mean value of interspecific divergence (2.8%) in benthic octopuses.

The genetic distances resolved between *Octopus mimus* and *Octopus hubbsorum* were significantly less than those reported for other closely related *Octopus* sp. calculated with the same fragments of genes used in the current study. The greatest distance value for the genes COIII and r16S between *O. hubbsorum* and *O. mimus* was much lower than the lowest distance value between other species of *Octopus*. The ocellate octopus species from the northeastern Pacific Ocean—*Octopus bimaculatus* Verril, 1883, and *Octopus bimaculoides*—showed a divergence of 5.5% calculated with COIII (Barriga-Sosa et al. 1995). These two species are morphologically very similar. They are distinguished primarily by egg size and hatching habits. The hatchlings of the small-egg species, *O. bimaculatus*, are planktonic paralarvae whereas the hatchlings of the large-egg species, *O. bimaculoides*, are benthonic juveniles. Similarly, high genetic distances using r16S have been reported for *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797, and *Octopus insularis* (7.2%); and *O. insularis* and *O. mimus* (4.6%) (Leite et al. 2008). In the same manner, *O. vulgaris* and *O. mimus* showed high divergence with COIII (15%) (Söller et al. 2000) and with r16S (6.7%) (Wamke et al. 2002). In the eastern Pacific, these two species have been treated as synonymous for a long time.

It has been demonstrated that COI is good marker to separate benthic octopuses (Kaneko et al. 2011). However, the use of COI as DNA bar coding has been widely discussed, and rules to discriminate species based on DNA markers have been proposed (Hebert et al. 2004, Meyer & Paulay 2005, Birky et al. 2010).

In this study, the 10 $\times$  and 4 $\times$  rules showed that *Octopus hubbsorum* and *Octopus mimus* are not distinct and separate species. The 10 $\times$  rule (Hebert et al. 2004) showed that the interspecific distance between *O. hubbsorum* and *O. mimus* was

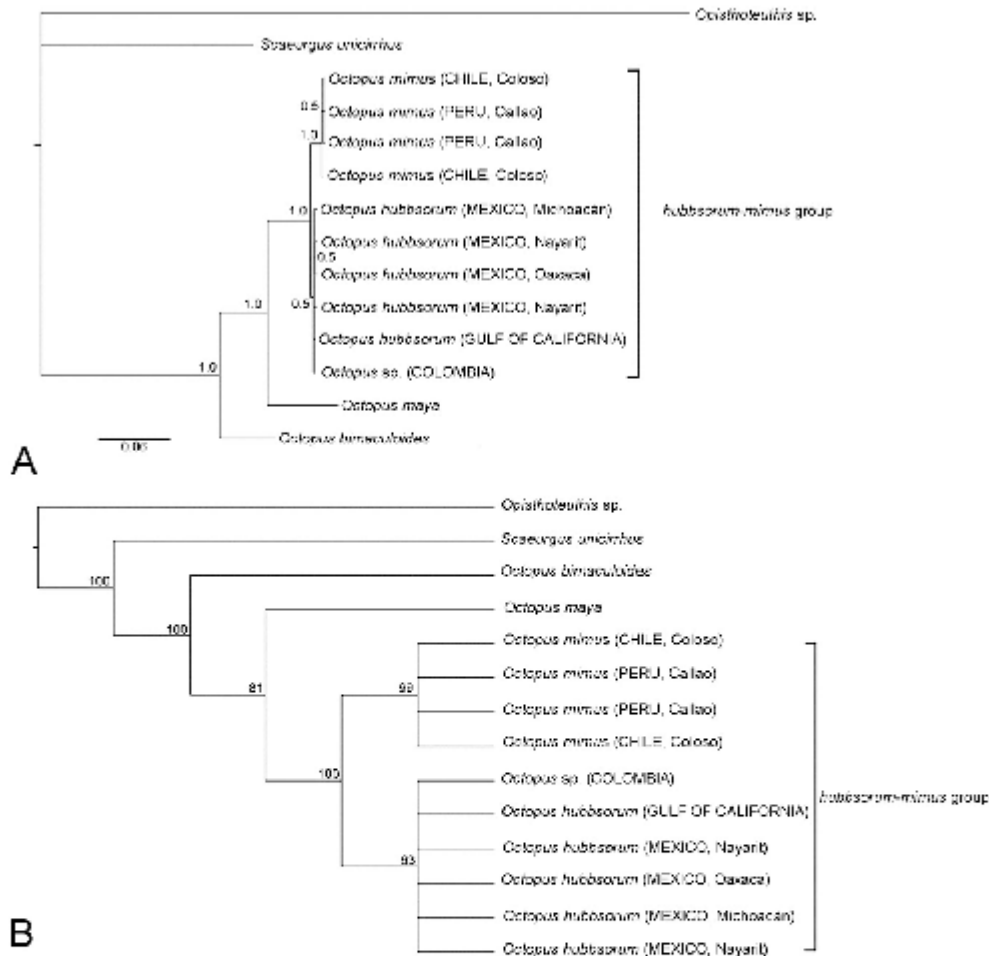


Figure 3. (A, B) Topologies of *Octopus hubbsorum* and *Octopus minus* specimens constructed using Bayesian analysis (A) and parsimony (B) based on a data set concatenated of 2 mitochondrial genes, COI and COIII. The node values indicate the probability posterior and bootstrap. Consistency index, 0.86; retention index, 0.72 for parsimony phylogeny.

less than 10× threshold. The accuracy of thresholds for delimiting species depends on the nonoverlapping between inter and intraspecific distances (Meyer & Paulay 2005). In the current study, there was no overlap, which suggests that both these octopuses are the same. Similarly, Dai et al. (2012), applying the 10× rule, indicated that COI is effective to discriminate among cephalopod species.

Although the 4× rule was applied initially to parthenogenetic organisms (Birky et al. 2010), it can be used for mitochondrial sequences of sexual organisms (Marrone et al. 2010, Baird et al. 2011, Kienke et al. 2012, Marrone et al. 2013.) because it is based on the evolutionary genetic model of speciation (Birky

et al. 2010). The 4× rule detected that the average distance between *Octopus hubbsorum* and *Octopus minus* clades was less than the intraclade diversity and therefore they could not be considered separate species, but the same species, with differences that might be the result of random drift or population structure.

The topologies resolved here for *Octopus hubbsorum* and *Octopus minus* with the 3 genes analyzed either independently or combined showed a close relationship between these 2 American *Octopus* sp. A monophyletic clade included *O. hubbsorum*, *O. minus*, and the *O. sp.* from Colombia. Nevertheless, the resolved topologies using COIII and r16S gene regions showed a polytomy of *O. minus* from Costa Rica along with *O. hubbsorum* specimens.



In the concatenated and Bayesian r16S topologies, *Octopus maya*, an endemic species in the Gulf of Mexico, was the sister group of the *Octopus hubbsorum*–*Octopus minus* clade. Several studies have suggested that *O. minus* is related closely to the Atlantic *Octopus* sp. For instance, Pérez-Losada et al. (2002), using allozyme data, reported a close relationship between *O. minus* and *O. maya*, and proposed that both octopuses originated from a common ancestor. This issue was discussed much earlier by Voight (1988) for morphologically similar species of octopus from both the Atlantic and Pacific oceans. Similarly, Söller et al. (2000) and Acosta-Jofré et al. (2012) considered that *O. minus* and *Octopus "vulgaris"* from the Caribbean are related, and suggested that this could be the result of gene flow before the closure of the Panama Isthmus, and that the Caribbean and northeastern Atlantic *O. "vulgaris"* might be a cryptic species that represents a distinct species from the true *O. vulgaris* found in the Mediterranean and the northwestern Atlantic.

The results shown here are similar to those reported by Warnke et al. (2002, 2004) and Leite et al. (2008), in which they postulated that *Octopus minus* is closely related to *Octopus insularis* from the north of Brazil. However, none of these works included *Octopus maya*.

Following the recommendation of Stragnell and Nishiguchi (2007), this study shows several topologies using different markers and phylogenetic analysis because, currently, it cannot be ruled out which gene and method is the best to infer phylogenetic relationships. However, we consider the concatenated Bayesian tree to be the most appropriate phylogeny to use for two reasons: (1) it considers a model of evolution that parsimony does not; and (2) the concatenated data set contains more characters (information) than genes analyzed individually.

#### Taxonomic Implications

The octopus *Octopus minus* has been described previously to have a faint ocelli, which can be observed when the animal is alive (Guerra et al. 1999; F. Cardoso, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, pers. comm., October 2012). The presence of ocelli in *O. minus* is a controversial issue. They were not observed in the study by Warnke et al. (2002). However, F. Cardoso (Universidad Nacional Mayor de San Marcos, pers. comm., October 2012) has mentioned that octopuses, both with and without ocelli, are present in Peru. Ocelli are absent in *Octopus hubbsorum*, but this characteristic and diagnostic body pattern feature is present in *O. minus*. In this regard, several hypotheses can be proposed. First, the sequences reported in GenBank as *O. minus* and used in this study do not belong to the true *O. minus* species, and they could

belong to the other species without ocelli referred to by Cardoso. If this is the case, then *O. hubbsorum* could be found in South America. Second, the presence of ocelli is a morphological variable characteristic within species. Morphological plasticity has been documented in quite a few octopus populations (Doubleday et al. 2009, Storero et al. 2010), and 1 species could show several different color and texture body patterns (Borrelli et al. 2006, Barbato et al. 2007, Leite & Mather 2008). Third, the octopuses *O. hubbsorum* and *O. minus* are two genetically similar species but with slight morphological differences. Although this is rare in nature, currently it cannot be ruled out. The American and European lobsters—*Homarus americanus* Milne Edwards, 1837, and *Homarus gammarus* (Linnaeus, 1758)—respectively, are a case of 2 species that, although they are genetically similar, exhibit morphological differences (Hedgecock et al. 1977). Fourth, and last, the ocellate *Octopus* sp. that has been confused frequently with *O. minus* is a distinct and different species.

Some studies have questioned the taxonomic identity of GenBank sequences, addressing that such sequences might correspond to different species of octopus in relation to those reported in articles in which the sequences were published (Leite et al. 2008, Undheim et al. 2010, Acosta-Jofré et al. 2012). Nevertheless, because the *Octopus minus* sequences used in the current study came from different sources (Söller et al. 2000, Warnke et al. 2002, Warnke et al. 2004, Acosta-Jofré et al. 2012), and because *O. minus* is the octopus collected most frequently off the coast of South America (Guerra et al. 1999, Cardoso et al. 2004), it would be expected that the sequences from GenBank are in fact from *O. minus*. Thus, the possibility that *Octopus hubbsorum* and *O. minus* are synonymous represents the continuum of a single octopus species present off both Central and South America that sustains the artisanal coastal octopus fisheries in these regions. However, comparative morphological analyses between the two octopuses would help to confirm our results. Plus, it is critical, in the future, to archive specimens in collections that voucher octopuses from which tissue samples were taken and used for DNA analyses.

#### ACKNOWLEDGMENTS

We thank Ruben García and Miguel A. Regalado for the Mexican octopus specimens donated from Oaxaca and Nayarit, respectively; and Alejandro Flores-Valle for allowing us to use unpublished sequences of *Octopus maya*. R. P. C. thanks the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for the scholarship received. This study was supported by grant no. 147.09.01 to IDLABS

#### LITERATURE CITED

- Acosta-Jofré, M. S., R. Sahade, J. Laudien & M. B. Chiappero. 2012. A contribution to the understanding of phylogenetic relationships among species of the genus *Octopus* (Octopodidae: Cephalopoda). *Sci. Mar.* 76:311–318.
- Alcock, A. L., J. M. Stragnell, P. Prodöhl, U. Piatkowski & M. Vecchione. 2007. A new species of *Paradedone* (Cephalopoda: Octopodidae) from Antarctic Peninsula waters. *Polar Biol.* 30:883–893.
- Baird, H. P., K. J. Miller & J. S. Stark. 2011. Evidence of hidden biodiversity, ongoing speciation diverse patterns of genetic structure in giant Antarctic amphipods. *Mol. Ecol.* 20:3439–3454.
- Barbato, M., M. Bernard, L. Borrelli & G. Fiorito. 2007. Body patterns in cephalopods: "polyphenism" as a way of information exchange. *Pattern Recogn. Lett.* 28:1854–1864.
- Barriga-Sosa, I. D. L. A., K. Beckenbach, B. Hartwick & M. J. Smith. 1995. The molecular phylogeny of five eastern North Pacific octopus species. *Mol. Phylogenet. Evol.* 4:163–174.
- Berry, S. 1953. Preliminary diagnoses of six west American species of octopus. *Lauf. Malacol.* 1:51–58.

- Birky, C. W., J. Adams, M. Gemmel & J. Perry. 2010. Using population genetic theory and DNA sequences for species detection and identification in asexual organisms. *PLoS One* 5:e10609.
- Borrelli, L., F. Gherardi & G. Fiorito. 2006. A catalogue of body patterning in Cephalopoda. Firenze: Firenze University Press. 626 pp.
- Brown, W. M., E. M. Prager, A. Wang & A. C. Wilson. 1982. Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution. *J. Mol. Evol.* 18:225-239.
- Cardoso, F., P. Villegas & C. Estrella. 2004. Observaciones sobre la biología de *Octopus mimus* (Cephalopoda: Octopoda) en la costa peruana. *Rev. Peruana Biol.* 11:45-50.
- Cortez, T. 1995. Biología y ecología del pulpo común *Octopus mimus* Gould, 1852 (Mollusca: Cephalopoda) en aguas litorales del norte de Chile. PhD diss., Universidad de Vigo. 293 pp.
- Dai, L., X. Zheng, L. Kong & Q. Li. 2012. DNA barcoding analysis of Coleoidea (Mollusca: Cephalopoda) from Chinese waters. *Mol. Ecol. Resour.* 12:437-447.
- Dominguez-Contreras, J. F., B. P. Ceballos-Vázquez, F. G. Hochberg & M. Arellano-Martínez. 2013. A new record in a well-established population of *Octopus hubbsorum* (Cephalopoda: Octopodidae) expands its known geographic distribution range and maximum size. *Am. Malacol. Bull.* 31:95-99.
- Doubleday, Z. A., J. M. Semmens, A. J. Smolenski & P. W. Shaw. 2009. Microsatellite DNA markers and morphometrics reveal a complex population structure in a merobenthic octopus species (*Octopus maorum*) in south-east Australia and New Zealand. *Mar. Biol.* 156:1183-1192.
- Farris, J. S., M. Källersjö, A. G. Kluge & C. Bult. 1995. Testing significance of incongruence. *Cladistics* 10:315-319.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz & R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3:294-299.
- Goloboff, P., J. Farris & K. Nixon. 2008. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics* 24:774-786.
- Guerra, A., T. Cortez & F. Rocha. 1999. Redescripción del pulpo de los cambios, *Octopus mimus* Gould, 1852, del litoral chileno-peruano (Mollusca, Cephalopoda). *Iberus* 17:37-57.
- Guzik, M. T., M. Norman & R. H. Crozier. 2005. Molecular phylogeny of the benthic-shallow water octopuses (Cephalopoda: Octopodidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 37:235-248.
- Hebert, P. D. N., M. Y. Stoeckle, T. S. Zemlak & C. M. Francis. 2004. Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS Biol.* 2:e312.
- Hedgecock, D., K. Nelson, J. Simons & R. Shleser. 1977. Genic similarity of American and European species of the lobster *Homarus*. *Biol. Bull.* 152:41-50.
- Kaneko, N., T. Kubodera & K. Iguchi. 2011. Taxonomic study of shallow-water octopuses (Cephalopoda: Octopodidae) in Japan and adjacent waters using mitochondrial genes with perspectives on octopus DNA barcoding. *Malacologia* 54:97-108.
- Keakin, E. & H. Huseyin. 2011. Genetic divergence of *Octopus vulgaris* species in the eastern Mediterranean. *Biochem. Syst. Ecol.* 39:277-282.
- Kieneke, A., P. M. Martínez-Arbizú & D. Fontaneto. 2012. Spatially structured populations with a low level of cryptic diversity in European marine Gastrotricha. *Mol. Ecol.* 21:1239-1254.
- Leite, T. S., M. Haimovici, W. Molina & K. Warnke. 2008. Morphological and genetic description of *Octopus insularis*, a new cryptic species in the *Octopus vulgaris* complex (Cephalopoda: Octopodidae) from the tropical southwestern Atlantic. *J. Mollusc. Stud.* 74:63-74.
- Leite, T. S. & J. Mather. 2008. A new approach to octopuses' body pattern analysis: a framework for taxonomy and behavioral studies. *Am. Malacol. Bull.* 24:31-41.
- Librado, P. & J. Rozas. 2009. DnaSPv5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25:1451-1452.
- López-Uriarte, E., E. Ríos-Jara & M. Pérez-Peña. 2005. Range extension for *Octopus hubbsorum* (Mollusca: Octopodidae) in the Mexican Pacific. *Bull. Mar. Sci.* 77:171-175.
- Marrone, F., S. Lo Brutto & M. Arculeo. 2010. Molecular evidence for the presence of cryptic evolutionary lineages in the freshwater copepod genus *Hemidiaptomus* G. O. Sars, 1903 (Calanoida, Diaptomidae). *Hydrobiologia* 644:115-125.
- Marrone, F., S. Lo Brutto, A. K. Hundsdoerfer & M. Arculeo. 2013. Overlooked cryptic endemism in copepods: systematics and natural history of the calanoid subgenus *Oecobdiaptomus* Borutzky 1991 (Copepoda, Calanoida, Diaptomidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 66:190-202.
- Meyer, C. P. & G. Paulay. 2005. DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling. *PLoS Biol.* 3:e222.
- Norman, M. D. & F. G. Hochberg. 2005. The current status of octopus taxonomy. *Phuket Mar. Biol. Cent. Res. Bull.* 66:127-154.
- Oosthuizen, A., M. Jiwaji & P. Shaw. 2004. Genetic analysis of the *Octopus vulgaris* population on the coast of South Africa. *South Afr. J. Sci.* 100:603-607.
- Pérez-Losada, M., A. Guerra & A. Sanjuan. 2002. Allozyme divergence supporting the taxonomic separation of *Octopus mimus* and *Octopus maya* from *Octopus vulgaris* (Cephalopoda: Octopoda). *Bull. Mar. Sci.* 71:653-664.
- Posada, D. 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Mol. Biol. Evol.* 25:1253-1256.
- Ronquist, F. & J. P. Huelsenbeck. 2003. MrBayes3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19:1572-1574.
- Roper, C. F. E., M. J. Sweeney & F. G. Hochberg. 1995. Cefalópodos. In: W. Fleischer, F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K. E. Carpenter & V. H. Niem, editors. Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca: Pacífico Centro-Oriental. Vol. I. plantas e invertebrados. Rome: FAO. pp. 305-353.
- Simon, C., A. Franke & A. P. Martin. 1991. The polymerase chain reaction: DNA extraction and amplification. In: G. M. Hewitt, A. W. B. Johnston & J. P. W. Young, editors. Molecular techniques in taxonomy. New York: Springer Verlag. pp. 329-355.
- Söllner, R., K. Warnke, U. Saim-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). *Mar. Biol.* 136:29-35.
- Storero, L. P., M. Ozampo-Reinaldo, R. A. González & M. A. Narvarte. 2010. Growth and life span of the small octopus *Octopus tehuelchus* in San Matías Gulf (Patagonia): three decades of study. *Mar. Biol.* 157:555-564.
- Strugnell, J. & M. K. Nishiguchi. 2007. Molecular phylogeny of coleoid cephalopods (Mollusca: Cephalopoda) inferred from three mitochondrial and six nuclear loci: a comparison of alignment, implied alignment and analysis methods. *J. Mollusc. Stud.* 73:399-410.
- Swofford, D. L. 2002. PAUP\* 4.0: phylogenetic analysis using parsimony (\*and other methods). Sunderland, MA: Sinauer. 144 pp.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585-595.
- Tamura, K. & M. Nei. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.* 10:512-526.
- Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei & S. Kumar. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 28:2731-2739.
- 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. *Nucl. Acids Res.* 22:4673-4680.
- Toussaint, R. K., D. Scheel, G. K. Sage & S. L. Talbot. 2012. Nuclear and mitochondrial markers reveal evidence for genetically segre-

- gated cryptic speciation in giant Pacific octopuses from Prince William Sound, Alaska. *Conserv. Genet.* 13:1483-1497.
- Undheim, E. A. B., J. A. Norman, H. H. Thoen & B. G. Fry. 2010. Genetic identification of Southern Ocean octopod samples using mtCOI. *C. R. Biol.* 333:395-404.
- Voight, J. R. 1988. Trans-Panamanian geminate octopods (Mollusca: Octopoda). *Malacologia* 29:289-294.
- Warnke, K. 1999. Observations on the embryonic development of *Octopus minus* (Mollusca: Cephalopoda) from northern Chile. *Veliger* 42:211-217.
- Warnke, K., R. Söller, D. Blohm & U. Saint-Paul. 2002. Assessment of the phylogenetic relationship between *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 and *O. minus* Gould, 1852, in combination with morphological characters. *Abh. Geol. Bundesanst.* 57:401-405.
- Warnke, K., R. Söller, D. Blohm & U. Saint-Paul. 2004. A new look at geographic and phylogenetic relationships within the species group surrounding *Octopus vulgaris* (Mollusca, Cephalopoda): indications of very wide distribution from mitochondrial DNA sequences. *J. Zool. Sys. Evol. Res.* 42:306-312.
- Xia, X. & P. Lemey. 2009. Assessing substitution saturation with DAMBE. In: P. Lemey, M. Salemi & A.-M. Vandamme, editors. *The phylogenetic handbook: a practical approach to DNA and protein phylogeny*. Cambridge: Cambridge University Press. pp. 615-630.
- Xia, X. & Z. Xie. 2001. DAMBE: data analysis in molecular biology and evolution. *J. Hered.* 92:371-373.
- Xia, X., Z. Xie, M. Salemi, L. Chen & Y. Wang. 2003. An index of substitution saturation and its application. *Mol. Phylogenet. Evol.* 26:1-7.

## APPENDIX A

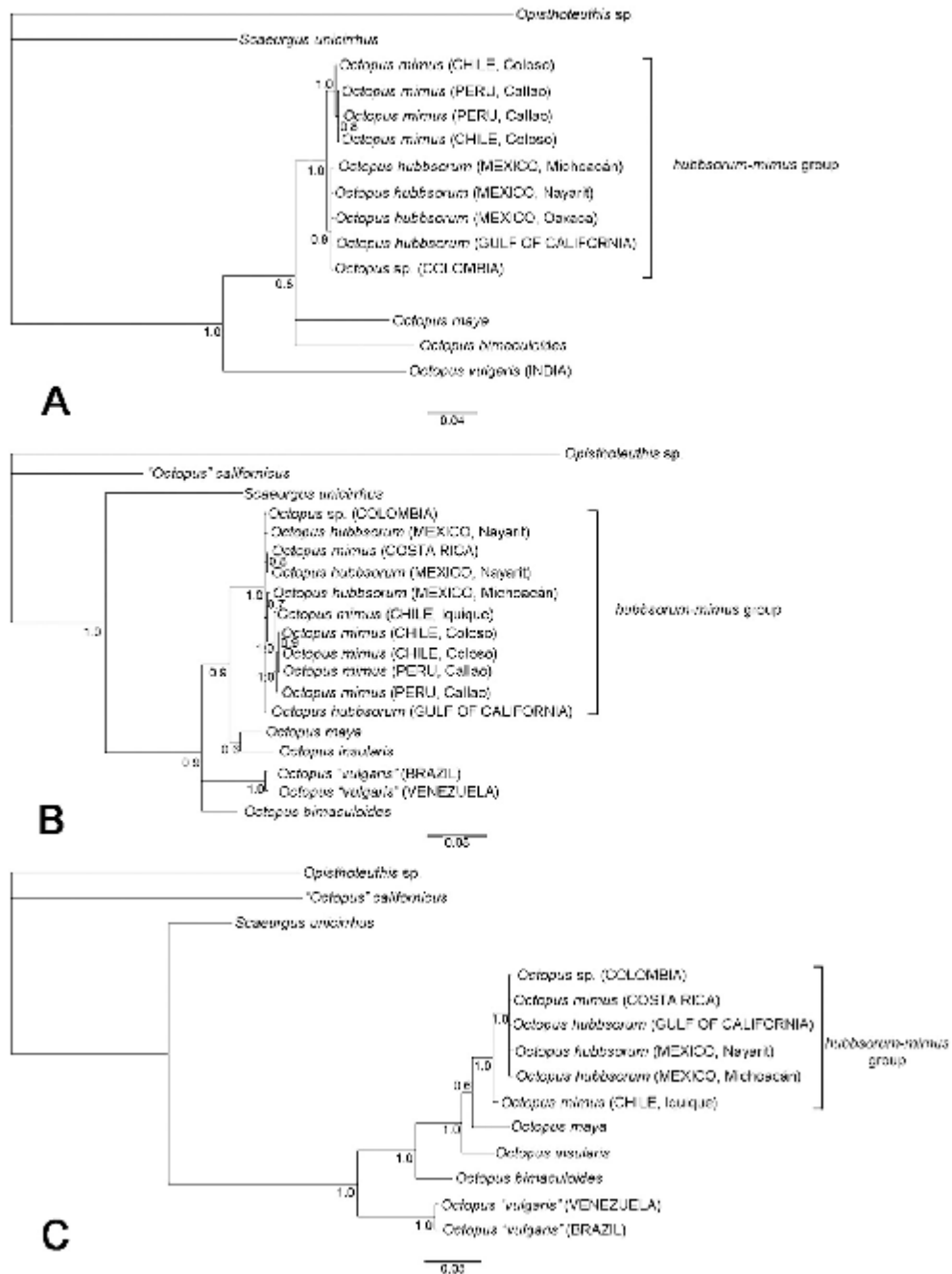
List of octopus species used in this study with its corresponding GenBank accession number and the malacological collections record where the voucher specimens are stored.

Collection record	Taxa	Specimens (n)	Locality	Accession number		
				COI	COIII	r16S
ENCB pending	<i>Octopus hubbsorum</i>	1	Oaxaca, Mexico	KF225003	—	—
ENCB pending	<i>O. hubbsorum</i>	1	Michoacán, Mexico	KF225001	KF225007	KF373761
ENCB pending	<i>O. hubbsorum</i>	1	Nayarit 1, Mexico	KF225002	KF225008	—
ENCB pending	<i>O. hubbsorum</i>	2	Nayarit 2, Mexico	—	KF225009	KF373762
ENCB pending	<i>O. hubbsorum</i>	1	Sonora, Mexico	KF225004	KF225010	KF373763
—	<i>Octopus minus</i>	1	Costa Rica	—	AJ250480	AJ390319
—	<i>O. minus</i>	1	Iquique, Chile	—	AJ012128	AJ390318
—	<i>O. minus</i>	2	Coloso, Chile	GU355923	GU355926	GU355928
—	<i>O. minus</i>	2	Callao, Peru	GU355924	GU355925	GU355927
SBMNH pending	<i>Octopus</i> sp.	1	Malpelo Island, Colombia	KF225005	KF225011	KF373764
SBMNH pending	<i>Octopus bimaculoides</i>	1	California	KF225006	KF225012	KF373765
—	<i>Octopus californicus</i>	1	USA	—	AJ250483	AJ390322
—	<i>Octopus insularis</i>	2	Brazil	—	AJ012123	AJ390315
—	<i>Octopus maya</i>	2	Yucatan, Mexico	HQ214117	Pending*	Pending*
—	<i>Octopus "vulgaris"</i>	1	Brazil	—	AJ616312	AJ616308
—	<i>O. "vulgaris"</i>	1	Venezuela	—	AJ250478	AJ390316
—	<i>O. "vulgaris"</i>	1	India	FN424379	—	—
—	<i>Octostoteuthis</i> sp.	1	South Africa	AF377961	AJ250486	AJ414702
—	<i>Scoaragus unicolor</i>	2	Northeast Atlantic and South Africa	HM104263	AJ012129	AJ390324

—, the sequence is not available for the gene and there is no voucher specimen; ENCB, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas; SBMNH, Santa Barbara Museum of Natural History. \* Flores-Valle et al. (unpubl.).

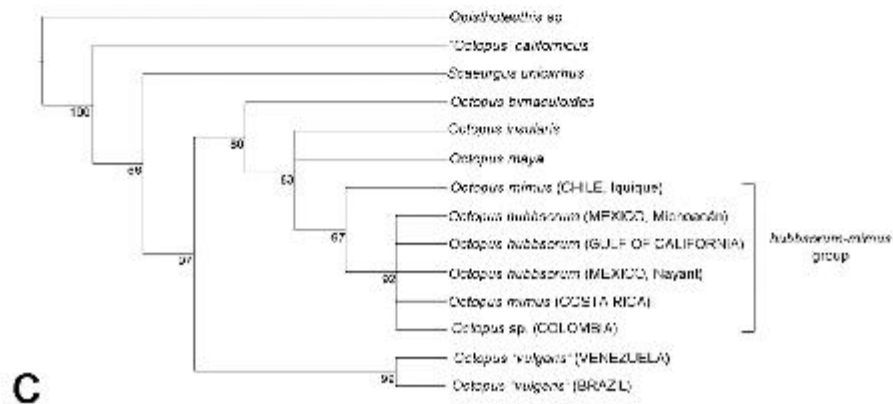
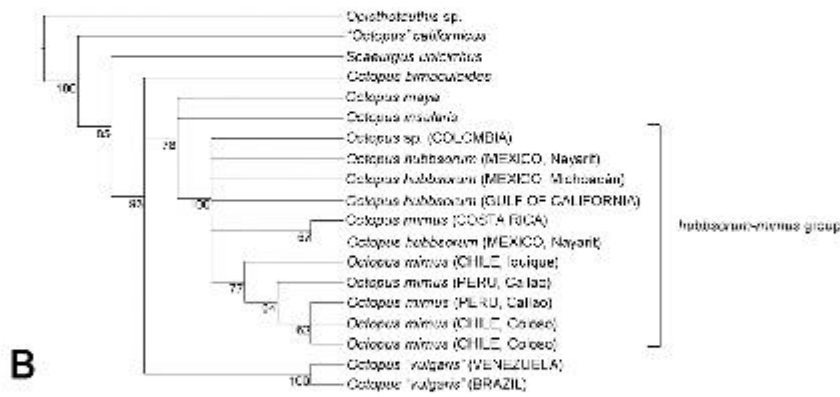
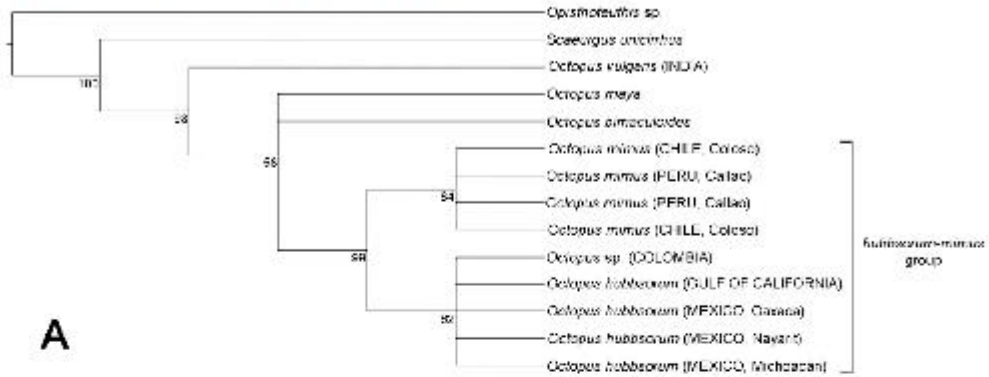
## APPENDIX B

Topologies of *Octopus hubbsorum*–*Octopus minus* specimens constructed using Bayesian analysis based on 3 genes: COI, COIII, and r16S. The values of the nodes indicate the probability posterior.



APPENDIX C

Topologies of *Octopus hubbsorum*–*Octopus mimus* specimens constructed using parsimony based on 3 genes: COI, COIII, and r16S. The bootstraps values are indicated below the nodes.



Anexo 2. Lista de pulpos capturados en este estudio con sus respectivas localidades de recolecta. ENCB = Colección de Moluscos de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas IPN, CNMO = Colección Nacional de Moluscos, UNAM.

No. de catálogo	Taxa	Localidad	Coordenadas	Fecha	Ejemplares
Pendiente	<i>Octopus mimus</i>	Caleta de Campos, Michoacán	18° 4.475' N; 102° 46.117' W	11/08/2010	10
Pendiente	<i>Octopus mimus</i>	Playa El Viejo, Manzanillo, Colima	19° 3' 25" N; 104° 19' 13" W	13/08/2010	5
Pendiente	<i>Octopus mimus</i>	Barra de Navidad, Jalisco	19° 12' N; 104° 41.2' W	16/08/2010	9
Pendiente	<i>Octopus mimus</i>	Cerca de Mismaloya, Bahía de Banderas, Jalisco	20° 36' N; 105° 15 W	19/08/2010	12
Pendiente	<i>Octopus mimus</i>	Las Tres Marietas, Punta Mita, Nayarit	20° 42' N; 105° 34' W	21/08/2010	10
Pendiente	<i>Octopus mimus</i>	Cerca de Playa Platanitos, Nayarit	21° 22' N; 105° 14' W	Agosto de 2010	17
Pendiente	<i>Octopus mimus</i>	Isla Alcatraz, frente a Bahía Kino, Sonora	28° 48.9' N; 111° 58.017' W	29/06/2011	5
Pendiente	<i>Octopus mimus</i>	San Carlos, Sonora	27° 57' 25.9"N;	31/06/2011	7

			111° 2' 11.2" W		
Pendiente	<i>Octopus mimus</i>	San Carlos, Sonora	27° 58' 44.5" N; 111° 7' 25.8" W	31/06/2011	7
Pendiente	<i>Octopus mimus</i>	Estacahuite, Oaxaca	15° 40' 3.61" N; 96° 28' 50.25" W	Marzo de 2012	11
Pendiente	<i>Octopus bimaculatus</i>	Playa Las Conchas, Puerto Peñasco, Sonora	31.3° N; 113.5° W	30/12/2010	8
Pendiente	<i>Octopus bimaculatus</i>	Isla Alcatraz, frente de Bahía Kino, Sonora	28° 48.9' N; 111° 58.017'	29/06/2011	8
Pendiente	<i>Octopus bimaculoides</i>	La Curva, Bahía Magdalena, Baja California Sur	24° 48' N; 112° 06' W	2010	2
Pendiente	<i>Octopus fitchi</i>	La Curva, Bahía Magdalena, Baja California Sur	24° 48' N; 112° 06' W	Diciembre de 2010	1
Pendiente	<i>Octopus fitchi</i>	La Curva, Bahía Magdalena, Baja California Sur	24° 48' N; 112° 06' W	13/03/2011	2
Pendiente	<i>Octopus fitchi</i>	Bahía Magdalena, Baja California Sur	24° 48' N; 112° 06' W	19/05/2011	1
Pendiente	<i>Octopus fitchi</i>	Bahía Magdalena, Baja California Sur	24° 48' N; 112° 06' W	01/06/2011	1
Pendiente	<i>Octopus fitchi</i>	Bahía Magdalena, Baja California Sur	24° 48' N;	07/06/2011	2

---

			112° 06' W		
Pendiente	<i>Octopus fitchi</i>	Bahía Magdalena, Baja California Sur	24° 48' 20.9" N; 112° 6' 21.9" W	14/06/2011	1
Pendiente	<i>Octopus fitchi</i>	Bahía Magdalena, Baja California Sur	24° 48' 22.2" N; 112° 6' 19.6" W	14/06/2011	1
Pendiente	<i>Paroctopus digueti</i>	Muelle de Bahía Kino, Sonora	28° 49.2' N; 111° 57.3'	29/06/2011	1
Pendiente	<i>Paroctopus digueti</i>	Bahía Kino, Sonora	Sin coordenadas	22/08/2013	8

---



Anexo 3. Lista de secuencias de pulpos utilizadas en el análisis filogenético

<b>Taxa</b>	<b>COI</b>	<b>COIII</b>	<b>16S</b>	<b>Rodopsina</b>
<i>Abdopus aculeatus</i>	HM104254	AJ628213	HM104244	HM104287
<i>Ameloctopus litoralis</i>	HM104255	AJ628207	HM104245	No disponible
<i>Amphioctopus aegina</i>	AB191111	AB191276	AJ628214	HM104289
<i>Amphioctopus kagoshimensis</i>	AB430520	AB573193	HQ846033	No disponible
<i>Benthoctopus oregonensis</i>	HM572180	FJ603538	FJ603543	GQ226016
<i>Cistopus indicus</i>	HM104258	AJ628208	AJ252744	HM104291
<i>Enteroctopus dofleini</i>	AY545190	FJ603531	AY545109	AY545174
<i>Hapalochlaena maculosa</i>	AF000043	AJ628212	AY545107	AY545171
<i>Macroctopus maorum</i>	HM104266	AJ628231	AJ311110	HM104296
<i>Octopus bimaculatus</i>	Este estudio	Este estudio	Este estudio	Este estudio
<i>Octopus bimaculoides</i>	KF225006	KF225012	KF373765	No disponible
<i>Octopus bimaculoides</i>	Este estudio	Este estudio	Este estudio	Este estudio
" <i>Octopus</i> " <i>californicus</i>	AF377968	HM572187	HM572164	HM572214
" <i>Octopus</i> " cf. <i>chierchiai</i>	Este estudio	Este estudio	Este estudio	Este estudio
" <i>Octopus</i> " <i>fitchi</i>	Este estudio	Este estudio	Este estudio	Este estudio

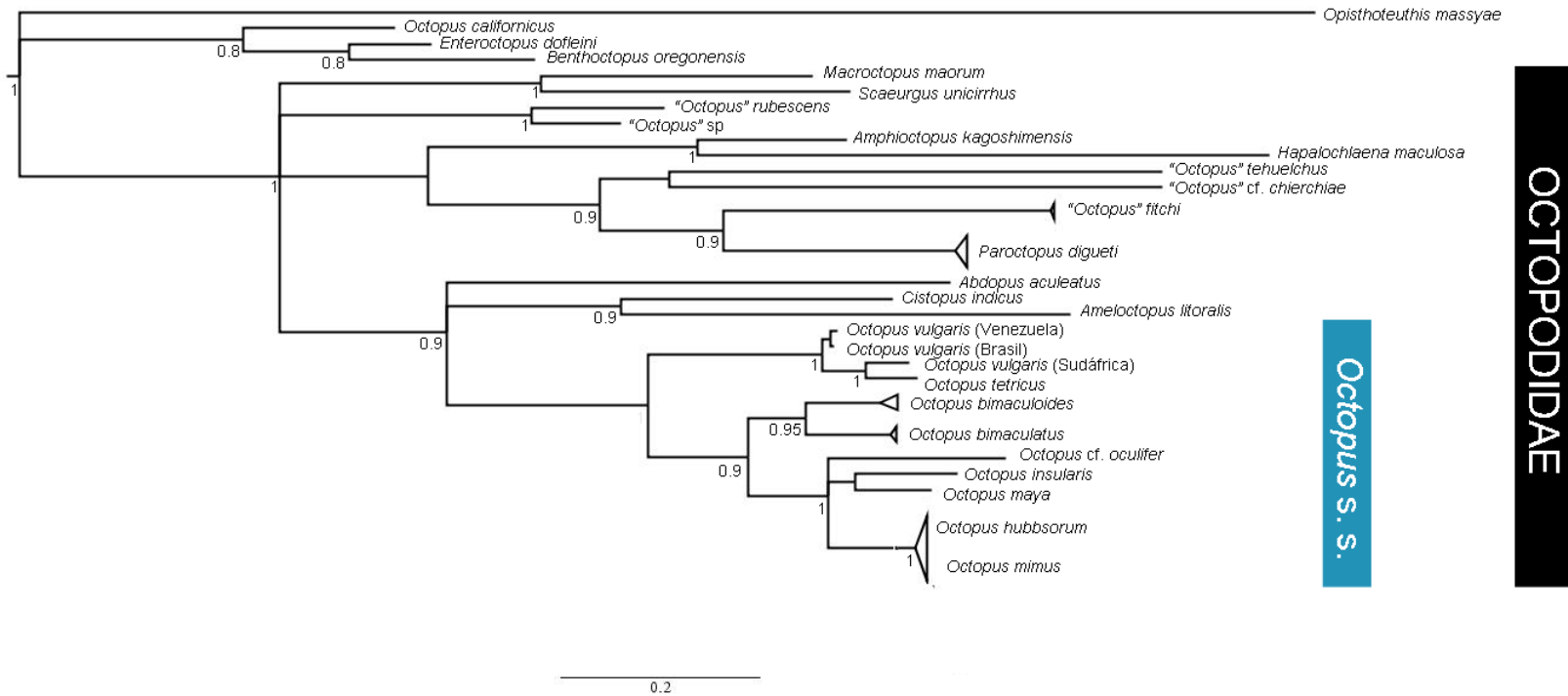
<i>“Octopus” fitchi</i>	Este estudio	Este estudio	Este estudio	Este estudio
<i>Octopus insularis</i>	KF844020	AJ012123	KF843966	No disponible
<i>Octopus maya</i>	GU362545	Sin publicar	Sin publicar	No disponible
<i>Octopus mimus</i> (golfo de California)	Este estudio	Este estudio	Este estudio	Este estudio
<i>Octopus mimus</i> (Mexico)	Este estudio	Este estudio	Este estudio	Este estudio
<i>Octopus mimus</i> (Colombia)	Este estudio	Este estudio	Este estudio	Este estudio
<i>Octopus mimus</i> (Ecuador)	Este estudio	Este estudio	Este estudio	Este estudio
<i>Octopus mimus</i> (Costa Rica)	No disponible	AJ250480	AJ390319	No disponible
<i>Octopus mimus</i> (Chile)	No disponible	AJ012128	AJ390318	No disponible
<i>Octopus mimus</i> (Chile)	GU355923 GU355926	GU355928 GU355929	No disponible	No disponible
<i>Octopus mimus</i> (Perú)	GU355924 GU355925	GU355927 GU355933	No disponible	No disponible
<i>Octopus cf. oculifer</i>	Este estudio	Este estudio	Este estudio	Este estudio
<i>“Octopus” rubescens</i>	No disponible	X83101	AJ252755	AY545170
<i>“Octopus” tehuelchus</i>	GU355934	GU355937	AJ252761	No disponible
<i>Octopus tetricus</i>	KJ605251	KJ605290	KJ605231	No disponible
<i>Octopus vulgaris</i> s. s. (Francia)	EF016328	EF016319	EF016336	EF016312
<i>Octopus vulgaris</i> tipo II (Brasil)	KF844032	AJ616312	KF843976	No disponible
<i>Octopus vulgaris</i> tipo III (Sudáfrica)	HM104262	AJ628241	DQ683228	HM104297

---

<i>Octopus</i> sp	Este estudio	Este estudio	Este estudio	Este estudio
<i>Opisthoteuthis massyae</i>	AY545187	EU071451	AY545103	HM104301
<i>Paroctopus digueti</i>	Este estudio	Este estudio	Este estudio	Este estudio
<i>Paroctopus digueti</i>	Este estudio	Este estudio	Este estudio	Este estudio
<i>Paroctopus digueti</i>	Este estudio	Este estudio	Este estudio	Este estudio
<i>Scaergus unicirrhus</i>	HM104263	HM104253	HM104248	HM104298

---

Anexo 4. Filogenia bayesiana para los pulpos del Pacífico Mexicano y golfo de California basada en secuencias parciales de COIII. El gen fue particionado por posición de codón. Los valores junto a los nodos indican la probabilidad posterior.





Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No. 00042

Matrícula: 210380959

CARACTERIZACION GENETICA,  
MORFOLOGICA Y RELACIONES  
FILOGENETICAS DE LA FAMILIA  
OCTOPODIDAE DEL PACIFICO  
MEXICANO

En México, D.F., se presentaron a las 12:00 horas del día 25 del mes de febrero del año 2015 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. IRENE DE LOS ANGELES BARRIGA SOSA  
DR. PABLO CORCUERA MARTINEZ DEL RIO  
DR. HECTOR OMAR MEJIA GUERRERO  
DR. FRANCISCO JAVIER GARCIA DE LEON

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretario el último, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DE: RICARDO PLIEGO CARDENAS

y de acuerdo con el artículo 78 fracción IV del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

*APROBAR*

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



RICARDO PLIEGO CARDENAS  
ALUMNO

REVISÓ

LIC. JULIO CESAR DE LARA SASSI  
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS

DRA. EDITH PONCE ALQUICIRA

PRESIDENTA

DRA. IRENE DE LOS ANGELES BARRIGA  
SOSA

VOCAL

DR. PABLO CORCUERA MARTINEZ DEL RIO

VOCAL

DR. HECTOR OMAR MEJIA GUERRERO

SECRETARIO

DR. FRANCISCO JAVIER GARCIA DE LEON