



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Tecnológico Nacional de México
Instituto Tecnológico de Chetumal



Título:

**Conectividad genética de las poblaciones de *Octopus maya* en el
sureste del Golfo de México**

Asesora interna:

Dra. Carmen Amelia Villegas Sánchez

Asesora externa:

Dra. María Geovana León Pech

Presentado por:

Sandra Nohemy Gómez Gómez

Para obtener el título de:

Lic. en Biología

Chetumal, Quintana Roo

Enero 2025

Dedicatoria

A mis padres María Carmela Gómez Alamilla y Oscar Rene Gómez Barrera que siempre me apoyaron en los estudios desde un inicio y siempre estuvieron al final. Con sus consejos y amor pude lograr mi carrera soñada y más. Siempre serán los mejores padres. Lo están haciendo bien.

Agradecimientos

Agradezco a la Dra. Carmen Villegas Sánchez que me dio la oportunidad de realizar este proyecto, confió en mi para trabajarlo y gracias a ella pude culminarlo.

A mi asesora externa la Dra. Geovana León Pech por apoyarme en el proceso de mi tesis, me enseñó muchas cosas, me ayudó a mejorar cada aspecto de mi trabajo, estuvo conmigo en todo lo que necesitaba. Realmente es una excelente asesora y un ejemplo a seguir, sin ella nunca hubiera sabido que me encanta la genética.

A mis revisores gracias por dar su aprobación, con ello pude culminar un sueño más.

A mis hermanos y padres, que me apoyaron en mis trabajos de la carrera, y por ellos tuve buenas calificaciones.

A “Vichito”, fuiste la persona más inesperada al final de este trayecto, que estuvo dándome ánimos para poder terminar este trabajo en los momentos más difíciles. Eres una persona muy especial, cree en ti como creíste en mí.

Al Instituto Tecnológico de Chetumal, por brindarme sus clases, a excelentes maestros, para finalizar mi carrera. Y al laboratorio de Código de Barras del Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR)-Unidad Chetumal por llevar a cabo las amplificaciones de las secuencias de ADN.



Educación
Secretaría de Educación Pública



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



Instituto Tecnológico de Chetumal
Departamento de ING. Química y Bioquímica

SECCIÓN: DEPTO. ING. QUÍM. Y BIOQ.
OFICIO No 0044-DT-2025

Chetumal, Q. Roo., 22/Enero/2025

ASUNTO: Liberación de Proyecto para Titulación Integral

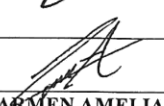
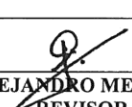
LIC. CECILIA LORÍA TZAB
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES
PRESENTE

Por este medio le informo que ha sido liberado el siguiente proyecto para la Titulación integral:

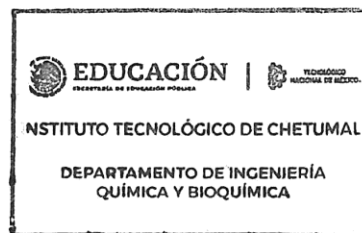
a) Nombre del Egresado:	SANDRA NOHEMY GÓMEZ GÓMEZ
b) Carrera:	LICENCIATURA EN BIOLOGÍA
c) N° de control	19390277
d) Nombre del proyecto	CONECTIVIDAD GENÉTICA DE LAS POBLACIONES DE <i>Octopus maya</i> EN EL SURESTE DEL GOLFO DE MÉXICO.
d) Producto	TITULACIÓN INTEGRAL (TESIS)

A T E N T A M E N T E
Excelencia en Educación Tecnológica.
Cultura, Ciencia y Tecnología para la Superación de México®

M.C. ALEJANDRO MEDINA QUEJ
JEFE DEL DEPTO. DE INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOQUÍMICA.

 DRA. CARMEN AMELIA VILLEGAS SÁNCHEZ ASESOR	 M.C. ALEJANDRO MEDINA QUEJ REVISOR	 M.C. JOSÉ HÉCTOR LARA ARENAS REVISOR
---	--	---

C.c.p. Expediente



2025
Año de
La Mujer
Indígena

Av. Insurgentes #330, esq. Andrés Quintana
Roo, Col. David Gustavo Gutiérrez, Apdo. Postal
67 C.P. 77013,
Chetumal, Quintana Roo. Tel. (983) 8322330
ext. 101. / www.chetumal.tecnm.mx





LICENCIA DE USO OTORGADA POR **SANDRA NOHEMY GÓMEZ GÓMEZ** de nacionalidad mexicana, mayor de edad, en mi calidad de autor y titular de los derechos patrimoniales y morales del proyecto de tesis denominado CONECTIVIDAD GENÉTICA DE LAS POBLACIONES DE *Octopus maya* EN EL SURESTE DEL GOLFO DE MÉXICO en adelante "LA OBRA", a quien para todos los fines del presente documento se denominará "EL AUTOR", a favor del Instituto Tecnológico de Chetumal del Tecnológico Nacional de México, la cual se registrará por las cláusulas siguientes:

PRIMERA –OBJETO: "EL AUTOR", mediante el presente documento otorga al Instituto Tecnológico de Chetumal del Tecnológico Nacional de México, licencia de uso gratuita e indefinida respecto de "LA OBRA", para almacenar, preservar, publicar, reproducir y/o divulgar la misma, con fines académicos, por cualquier medio en forma física y a través del repositorio institucional y del repositorio nacional, éste último consultable en la página: <https://www.repositorionacionalcti.mx/>

SEGUNDA - TERRITORIO: La presente licencia se otorga, de manera no exclusiva, sin limitación geográfica o territorial alguna, de manera gratuita e indefinida.

TERCERA -ALCANCE: La presente licencia contempla la autorización para formato uso de "LA OBRA" en cualquier formato o soporte material y se extiende a la utilización, de manera enunciativa más no limitativa a los siguientes medios: óptico, magnético, electrónico, virtual (red), mensaje de datos o similar.

CUARTA – EXCLUSIVIDAD: La presente licencia de uso aquí establecida no implica exclusividad en favor del Instituto Tecnológico de Chetumal; por lo tanto, "EL AUTOR" conserva los derechos patrimoniales y morales de "LA OBRA", objeto del presente documento.

QUINTA – CRÉDITOS: El Instituto Tecnológico de Chetumal y/o el Tecnológico Nacional de México reconoce que el "AUTOR" es el único, primigenio y perpetuo titular de los derechos morales sobre "LA OBRA"; por lo tanto, siempre deberá otorgarle los créditos correspondientes por la autoría de la misma.

SEXTA – AUTORÍA: "EL AUTOR Y/O TITULAR" manifiesta ser el único titular de los derechos de autor que derivan de "LA OBRA" y declara que el material objeto del presente fue realizado por él, sin violentar o usurpar derechos de propiedad intelectual de terceros; por lo tanto, en caso de controversia sobre los mismos, se obliga a ser el único responsable.

Dado en la Ciudad de Chetumal, Quintana Roo, a los 21 días del mes de enero de 2025.

EL AUTOR

C. Sandra Nohemy Gómez Gómez

DIRECTOR

Mtro. Mario Vicente González Robles



2025
Año de
La Mujer
Indígena

Av. Insurgentes #330, esq. Andrés Quintana
Roo, Col. David Gustavo Gutiérrez, Apdo. Postal
67 C.P. 77013,
Chetumal, Quintana Roo. Tel. (983) 8322330
ext. 101. / www.chetumal.tecnm.mx



Resumen

El pulpo de la especie *Octopus maya*, presente en el sur del Golfo de México y Mar Caribe, es de gran importancia para la pesca y, aunque se han realizado numerosos estudios sobre las pesquerías de estos individuos, la información relacionada con la estructura genética poblacional es limitada. Los estudios genéticos son fundamentales para el diseño eficiente de las estrategias de manejo pesquero. Por lo anterior, la presente investigación tiene como objetivo general evaluar la conectividad genética usando el gen mitocondrial Citocromo C Oxidasa I (COI) en los sitios de Champotón, Campeche; Celestún, Yucatán; y Holbox, Quintana Roo, ubicado al sureste del Golfo de México. El trabajo de laboratorio incluyó las extracciones de ADN con el Kit comercial Qiagen DNeasy Blood & Tissue, la amplificación con la técnica de PCR y posteriormente la secuenciación del ADN. En total se analizaron 36 secuencias de ADN, los resultados de diversidad genética arrojaron valores altos de diversidad haplotípica intrapoblacional: Celestún 0.8596, Holbox 0.9524 y Champotón 0.9556, mientras que los resultados de los análisis de varianza molecular (AMOVA) mostraron diferenciación genética entre las tres poblaciones, mientras que el análisis de varianza (ANOVA) mostró diferenciación genética entre Celestún y Holbox con un valor de 0.04505, sugiriendo que las poblaciones de la especie *O. maya* estudiadas no son una unidad genética poblacional en la Península de Yucatán.

Palabras clave: Conectividad genética, Gen COI, pulpo maya, AMOVA.

Abstract

The octopus of the species *Octopus maya*, present in the southern Gulf of Mexico and Caribbean Sea, is of great importance for fishing and, although numerous studies have been carried out on the fisheries of these individuals, the information related to the population genetic structure is limited. Genetic studies are fundamental for the efficient design of fishery management strategies. Therefore, the general objective of this research is to evaluate genetic connectivity using the mitochondrial gene Cytochrome C Oxidase I (COI) at the sites of Champotón, Campeche; Celestún, Yucatán; and Holbox, Quintana Roo, located southeast of the Gulf of Mexico. The laboratory work included DNA extractions with the commercial Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit, amplification with the PCR technique and subsequently DNA sequencing. In total 36 DNA sequences were analyzed, the results of genetic diversity showed high values of intrapopulation haplotypic diversity: Celestún 0.8596; Holbox 0.9524 and Champotón 0.9556, while the results of the analyzes of molecular variance (AMOVA) showed genetic differentiation between the three populations, while the analysis of variance (ANOVA) showed genetic differentiation between Celestún and Holbox with a value of 0.04505, suggesting that, the populations of the species *O. maya* studied are not a population genetic unit in the Yucatan Peninsula.

Keywords: Genetic connectivity, COI gene, mayan octopus, AMOVA

Contenido

1. Introducción	11
2. Antecedentes	13
3. Marco teórico	15
3.1. Plan de Manejo pesquero en el Golfo de México y Mar Caribe.....	15
3.2. Biología del pulpo maya: <i>Octopus maya</i>	15
3.3. Fundamentos de la Conectividad genética	18
3.4. Gen mitocondrial COI como marcador molecular	19
4. Justificación	21
5. Objetivos	22
5.1. Objetivos generales.....	22
5.2. Objetivos específicos.....	22
6. Materiales y métodos	23
6.1. Área de estudio	23
6.2. Corrientes marinas del Golfo de México y Mar Caribe.....	25
6.3. Trabajo de Campo.....	27
6.4. Trabajo de laboratorio.....	27
7. Resultados	33
7.1. Análisis genéticos.....	34
7.2. Diversidad genética	35
7.3. Estructura genética	35
7.4. Red de haplotipos	37
8. Discusión	38
8.1. Diversidad genética	38
8.2. Estructura genética de <i>O. maya</i>	38
8.3. Factores que influyen en la estructura genética poblacional de <i>O. maya</i>	39

8.4. Manejo pesquero	41
8.5. Red de haplotipos	42
9. Conclusión	43
10. Referencias bibliográficas	44

Índice de Figuras

Figura 1. Pulpo rojo (<i>O. maya</i>), individuo capturado en Holbox, Quinta Roo. Fotografía tomada por Levita Sánchez López.....	16
Figura 2. Molécula del mtDNA. Presenta 13 genes para mRNA codificantes para proteínas (Color verde), 22 genes de tRNA (color amarillo) y 2 genes para 2 rRNAs mitocondriales (color anaranjado) (Daza y Montenegro, 2018).	20
Figura 3. Representación geográfica de las zonas donde se obtuvieron las muestras de los pulpos: Champotón, Campeche; Celestún, Yucatán y Holbox, Quintana Roo. Mapa elaborado por Manuel Montejo Sosa.....	23
Figura 4. Cámara de electroforesis horizontal YRO3419. Modificado de: https://kalstein.com.mx/producto/electroforesis-horizontal-yr03419/	28
Figura 5. Representación de electroforesis con gel de Agarosa. Modificado de Checo, (2017).	29
Figura 6. Transiluminador E300. Modificado de: https://www.ddbiolab.com/article/062779	30
Figura 7. Individuos capturados de Holbox, Quintana Roo (izquierda) y Champotón, Campeche (derecha). Fotografías tomadas por Levita Sánchez López.....	33
Figura 8. Primeros datos de la amplificación con PCR. Las bandas blancas debajo de los números indican que el ADN se amplificó correctamente.	33
Figura 9. Mapa de distribución geográfica de los haplotipos identificados en cada sitio de estudio.	34
Figura 10. Red de haplotipos generado en el programa PopArt. Los haplotipos están representados con círculos y los sitios de estudio en colores: Azul: Celestún; Verde: Holbox; Morado: Champotón. El tamaño de cada círculo determina la frecuencia de los haplotipos en cada sitio. Las líneas transversales representan los pasos mutacionales entre ellas.....	37

Índice de tablas

Tabla 1. Tamaño de peine por cantidad de muestra. Novel juice (Reactivo de tinción de ADN). El tamaño del peine depende de la cantidad de muestras que se analizan.....	29
Tabla 2. Primers a partir del ADN del zooplankton. (Primers utilizado del ADN del zooplancton, donde se describe las secuencias 5' 3').	30
Tabla 3. Índices de diversidad genética. Análisis a nivel intrapoblacional de <i>O. maya</i> con el gen mitocondrial COI. Asterisco y negritas (*) indican valores altos de h y π	35
Tabla 4. ANOVA, a partir de las frecuencias de los haplotipos. Asterisco y negritas (*) indica el mayor porcentaje de variación.....	35
Tabla 5. Comparaciones de pares de muestras de población. Valores de F_{st} por pares de población (diagonal inferior) y valores de p (diagonal superior). Asterisco y negritas (*) indican comparaciones con significancia estadística.....	36
Tabla 6. Resultados Análisis de Varianza Molecular basado en una matriz de distancia genética definida. Asterisco y negritas (*) indica el mayor porcentaje de variación.....	36
Tabla 7. Comparaciones de pares de muestras de población. Valores de F_{st} por pares de población (diagonal inferior) y valores de p (diagonal superior). Asterisco y negritas (*) indican comparaciones con significancia estadística.....	36

1. Introducción

Los moluscos, nombre en latín “*molluscus*”, que significa “blando”, son un filo de animales que presentan el cuerpo blando, es un grupo diverso, generalmente presentan una concha calcárea de carbonato de calcio, tienen un desarrollo con segmentación de tipo espiral en mosaico, viven en hábitats marinos y terrestres; en este filo se encuentran ocho clases: Aplacophora, Caudofoveata, Monoplacophora, Polyplacophora, Gastropoda, Bivalvia, Scaphopoda y Cephalopoda (Hickman, 2008 y Domínguez, 2015). Los cefalópodos, en particular, tienen características que los distinguen de los otros grupos, éstas son la ausencia de una concha externa, así como la modificación de brazos y tentáculos y tienen vida corta; en este grupo se encuentran los pulpos, calamares y sepias (Albarrán, 2010). Dentro del grupo de los pulpos se encuentra la especie *Octopus maya*, la cual se distingue por la presencia de manchas oscuras, también llamados ocelos, que se ubican debajo de los ojos y en la base del segundo y tercer brazo, también por no presentar paralarva en su ciclo de vida (Albarrán, 2010).

Algunas especies de pulpos son parte importante en la pesquería a nivel mundial (González, 2021). En el Golfo de México y Mar Caribe existen normas legales que regulan el aprovechamiento de estos organismos, estableciendo tallas mínimas para la captura y protección durante la temporada de pesca, por ejemplo, con arte de pesca autorizada (Instituto Nacional de Pesca, 2014). El pulpo *O. maya* es considerado uno de los principales recursos pesqueros de la Península de Yucatán en México (Juárez, 2011). Se encuentra distribuido desde la costa de Ciudad del Carmen en el Estado de Campeche hasta Isla Mujeres en el Estado de Quintana Roo (Blancas *et al.* 2012). Habita en aguas someras de la plataforma continental de la península de Yucatán, donde se desarrolla la pesquería del pulpo con embarcaciones menores a profundidades de 27 a 43 m, extendiéndose desde la Isla Aguada, Campeche hasta Holbox, Quintana Roo; la norma que regula la pesca de este organismo es la NOM-008-PESC-1993, la cual ordena establecer veda en aguas de Campeche, Yucatán y Quintana Roo desde el periodo del 16 de diciembre al 31 de julio (Instituto Nacional de Pesca, 2014).

Los patrones de conectividad y estructura genética de poblaciones marinas que poseen etapa larvaria han sido relacionados con el patrón de corrientes oceánicas, sin embargo, el pulpo maya no posee una fase larval ya que presenta desarrollo directo, es decir, al eclosionar poseen

las características anatómicas y conductuales de un pulpo adulto (Instituto Nacional de Pesca, 2014). Por lo anterior, la conectividad entre poblaciones de esta especie podría ser limitada, a menos de que exista intercambio de organismos durante su etapa adulta. A este respecto, se ha encontrado que el flujo genético puede deberse a la migración entre poblaciones, como sugiere Tello *et al.*, (2021), y Cabrera *et al.*, (2012), quienes mencionan que se deriva a un comportamiento reproductivo, dando como resultado un patrón migratorio.

La determinación de la estructura genética poblacional es una herramienta crucial para la preservación de especies de importancia comercial y ecológica (Bates e Innes, 1995). Los estudios sobre la diversidad genética permiten diferenciar los stocks poblacionales, lo que facilita la explotación sostenible de los recursos pesqueros y ayuda a evaluar el impacto antropogénico en procesos ecológicos y evolutivos de las especies (Moritz, 1994; Villanueva *et al.* 2001). Zamora *et al.* (2011) destaca la relevancia de identificar las variaciones genéticas en los stocks, ya que estas son clave para la capacidad de adaptación de las especies ante cambios ambientales ocasionados por actividades humanas, como la explotación pesquera y la pérdida de hábitat.

Con el fin de realizar una adecuada evaluación a las poblaciones de pulpo de importancia pesquera se han realizado diversos trabajos como el de Domínguez (2015) en el noroeste de México, donde utilizaron métodos genéticos para identificar a las especies de pulpo: *Octopus bimaculatus*, *Octopus bimaculoides* y *Octopus hubbsorum* y evaluar la conectividad genética de las poblaciones. Flores *et al.*, (2018) en el Golfo de México, realizaron una identificación genética mediante el gen COI de la especie *Octopus insularis*, especie que no estaba registrada en México y era considerada como *Octopus vulgaris*, los resultados del estudio demostraron que *O. insularis* se distribuye desde el Golfo de México hasta las aguas costeras frente al sur de Brasil. En el sureste de México se han encontrado trabajos de identificación de especies, utilizando métodos genéticos, sin embargo, existen limitada información sobre la conectividad y estructura genética de las poblaciones de *O. maya*.

En este estudio utilizaremos análisis genéticos para evaluar las poblaciones de *O. maya* en el sureste del Golfo de México (Champotón, Campeche; Celestún, Yucatán; y Holbox, Quintana Roo). El objetivo de este estudio es evaluar la conectividad genética entre las poblaciones de pulpo de la especie *O. maya*, utilizando el marcador mitocondrial Citocromo Oxidasa I (COI), siendo una herramienta genética efectiva por la capacidad de identificar la variabilidad existente entre poblaciones (Villanueva *et al.*, 2001).

2. Antecedentes

Uno de los trabajos que se enfocan en el estudio de la diversidad y estructura genética de pulpo en México es el de Domínguez, (2015) quien resalta que existen normas legales que regulan el aprovechamiento del pulpo en el Golfo de México y Mar Caribe, pero no en el noroeste de México, y que existe un desconocimiento de las especies presentes en esa región, por lo que se dificulta la evaluación de sus poblaciones, como es la identificación ya que entre las especies no hay una consistencia en los rasgos morfológicos. En su estudio utilizaron microsatélites para estimar la conectividad genética por especie. Con secuenciación masiva obtuvieron 22 loci microsatélites y ensamblaron el genoma mitocondrial completo como referencia para las secuencias de 16s rARN y COI (desconocido para una de las especies). Con el marcador mitocondrial COI registraron diferencias filogenéticas para tres especies *Octopus bimaculatus*, *Octopus bimaculoides* y *Octopus hubbsorum* con un rango de divergencia de 3.3% a 7.1% para 16s ARN y de 6.3% a 10.4% para COI, siendo más cercanas *O. bimaculatus* y *O. bimaculoides*. Con el análisis de clúster bayesiano de 20 poblaciones y 7 loci microsatélites compartidos entre las tres especies, se identificaron 3 clústers. Los resultados de los microsatélites para *O. bimaculatus* en 9 poblaciones mostraron 5 poblaciones definidas y se observó una diferencia genética significativa entre dos poblaciones, la estructura genética fue mayor en el Golfo de California encontrando un flujo de genes predominantemente unidireccional, es decir, del norte de Golfo de California hacia el sur. Además, en Puerto Peñasco se mostró evidencia de retención local de larvas, mostrando una tendencia a reducir la diversidad genética. Para *O. hubbsorum* se observaron tres poblaciones con 7 microsatélites, de las cuales la de Bahía Kino fue la fuente para las poblaciones a su alrededor, incluyendo la costa oeste de la península; Santa Rosalía se consideró la población sumidero con diversidad genética alta. Puerto Libertad fue el área que presentó menor flujo genético respecto a las otras poblaciones, pero con mayor diversidad genética. La conectividad genética se aprecia que coincide con la circulación estacional del Golfo de California en la temporada de eclosión de larvas.

En la región del sureste de México y Península de Yucatán se han realizado diversos estudios sobre biomasa, abundancia y distribución del género *Octopus*, ya que tiene un alto valor comercial. Avendaño *et al.*, (2019) evaluaron la biomasa y distribución del pulpo rojo (*O. maya*) en el noreste del Banco de Campeche, en profundidades entre 30 y 60 m. Sus resultados

mostraron que las diferencias en las estimaciones de biomasa de cada uno de los cuatro métodos que utilizaron: método de área barrida, método aleatorio estratificado, modelo geoestadístico de biomasa y método no publicado de área barrida ponderada, podrían ser biológicamente relevantes y una consideración importante para los manejadores. En otro estudio se evaluó la abundancia de “*O. vulgaris*” Tipo II y *O. maya*, en la zona nororiental de la plataforma continental frente a la península de Yucatán. Los resultados arrojaron que “*O. vulgaris*” Tipo II presentó la menor biomasa ($37,8 \pm 3,36t$) durante los meses de mayo y julio, y la mayor ($189,56 \pm 11,6t$) en el mes de diciembre. La abundancia total de ambas especies fue similar; las dos especies presentaron una superposición geográfica, cuya amplitud cambió con la posición geográfica y con el periodo del año, para *O. maya* fue dominante en la longitud de aproximadamente $88^{\circ}O$, mientras que *O. vulgaris* Tipo II dominó hacia el sudeste de la plataforma de Yucatán aproximadamente $87^{\circ}W$ (Avendaño *et al.* 2020).

Con respecto a estudios genéticos en las poblaciones de *O. maya*, Juárez, (2011) realizó una investigación de identificación de las unidades de pesca de *O. maya*, utilizando microsatélites específicos, ante la alta variabilidad observada en la producción de *O. maya* a lo largo de su ámbito de distribución y las diferencias que se observaban en las tallas de los ejemplares capturados en las distintas localidades de Campeche, Sabancuy, Sisal, Dzilam y Río Lagartos en la Península de Yucatán, no encontraron diferencias significativas entre las localidades; los datos mostraron que ha existido un alto flujo genético entre las áreas estudiadas.

Así mismo, Tello *et al.*, (2021) evaluaron la conectividad genética en el sureste de México, donde utilizaron isoenzimas en geles de poliacrilamida para determinar la estructura genética de sus poblacional en los estados de Campeche y Yucatán. Utilizaron como muestras el manto de 25 organismos para caracterizar la expresión genotípica revelada por la expresión de 23 loci en treinta sistemas enzimáticos. Sus resultados mostraron que las poblaciones de *O. maya* presentan cierto grado variabilidad genética interpoblacional que no refleja fragilidad en la subsistencia de estas poblaciones. Las poblaciones analizadas de *O. maya* presentaron baja variabilidad y bajos valores de diferenciación geográfica entre ellas.

3. Marco teórico

3.1. Plan de Manejo pesquero en el Golfo de México y Mar Caribe

En el Golfo de México y Mar Caribe el pulpo es un recurso económico importante. El Plan de Manejo Pesquero destaca las principales zonas de captura en los estados de Campeche y Yucatán, con menor intensidad en Veracruz y Quintana Roo. También se presenta una caracterización de estos hábitats, su interacción con el ambiente, las problemáticas ambientales, y la relación con otras pesquerías y especies (Instituto Nacional de Pesca, 2014). La pesquería de pulpo actualmente está regulada con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-008-PESC-1993 para ordenar el aprovechamiento de las especies de pulpo en las aguas de jurisdicción federal del Golfo de México y mar Caribe (Instituto Nacional de Pesca, 2014).

3.2. Biología del pulpo maya: *Octopus maya*

3.2.1. Morfología de *Octopus maya*

La clasificación de los pulpos con métodos fenotípicos tradicionales resulta difícil debido a su gran plasticidad fenotípica y carencia de estructuras duras, sin embargo, en las últimas décadas, mediante datos genéticos moleculares, se han logrado mejorar las identificaciones y el conocimiento de las relaciones filogenéticas del género *Octopus* (Juárez *et al.*, 2012).

El Instituto Nacional de Pesca, (2014) menciona que la característica que distingue a esta especie es una mancha u ocelo bajo los ojos y entre éstos; y llegando a la etapa adulta los ocelos presentan una porción central más clara.

Octopus maya posee una coloración café oscura, aunque, debido a su capacidad de mimetización, su tonalidad varía según el entorno y otras condiciones. Por ejemplo, cuando esta especie se encuentra bajo estrés, su coloración cambia a un tono café rojizo. En cuanto a su anatomía, en la parte anterior del cuerpo se encuentra la cabeza con un cráneo cartilaginoso (Figura 1), nervios branquiales, y una boca con un resistente pico quitinoso. La masa visceral se encuentra en la región anterodistal del pulpo, protegida por un órgano muscular denominado manto, que cubre las branquias (branquias grandes de 9 a 10 laminillas) y las vísceras. El manto

es de un color café grisáceo claro con manchas oscuras, es grande, y ovalado, aunque algo estrecho; su pared es gruesa y muscular. El cuello es corto, y el sifón es largo y tubular. Tienen cuatro pares de brazos largos teniendo la misma longitud, con los extremos afinados (Figura 1) y presentan ventosas dispuestas en dos hileras; a excepción de los machos, en los cuales el brazo derecho del tercer par es más corto que el resto, este recibe el nombre de hectocotilo porque tiene un canal espermatoforico donde la punta termina hasta la lígula, encontrándose el cálamo y las laminillas copulatorias (Albarrán 2010 y Ontiveros, 2014).



Figura 1. Pulpo rojo (*O. maya*), individuo capturado en Holbox, Quinta Roo. Fotografía tomada por Levita Sánchez López.

3.2.2. Distribución y hábitat de *Octopus maya*

El pulpo maya se distribuye desde las aguas adyacentes a Isla del Carmen en Campeche, hasta Isla Mujeres, Quintana Roo (Instituto Nacional de pesca, 2014), así como en la plataforma continental de la Península de Yucatán (Albarrán, 2010).

La especie tiene hábitos bentónicos, habita en aguas someras de la plataforma continental de Yucatán en praderas de *Thalassia testudinum*, en conchas vacías de moluscos gasterópodos como *Strombus gigas*, *S. costatus* y *Pleuroploca gigantea*, así como en cuevas

existentes en la loza cárstica del fondo, incluso entre rocas coralinas (a una profundidad máxima de 60 m) (Instituto Nacional de Pesca, 2014).

3.2.3. Reproducción de *Octopus maya*

Los machos suelen madurar antes que las hembras y durante la cópula introducen el hectocótilo dentro del manto de la hembra. Los espermatóforos (paquetes de espermatozoides) pasan a través de los oviductos y se depositan en las glándulas oviductales que actúan como reservorio de espermatozoides. Las hembras almacenan los espermatóforos hasta que maduran, se observa un desarrollo constante del ovario, aumentando más de 100 veces su peso inicial y se produce el desove. Las gónadas de las hembras comienzan a madurar en octubre hasta alcanzar su punto máximo en diciembre y enero (Instituto Nacional de Pesca, 2014). Albarrán, (2010) menciona que el apareamiento del pulpo maya ocurre a partir de septiembre y continúa hasta octubre, en este periodo es frecuente encontrar hembras perfectamente maduras; en noviembre se observan los huevos o hembras incubando; en diciembre en los huevos se puede observar el embrión y el saco vitelino; en enero se encuentran los huevos recién eclosionados y en febrero se da por terminado el periodo reproductivo.

La fecundidad fluctúa entre 1,500 y 2,000 huevos por cada hembra. Los huevos maduros miden en promedio 17 mm, tienen forma de pera y son de color ámbar. La ovoposición ocurre comúnmente sobre fondos duros y rocosos, donde la hembra busca una oquedad para depositar los huevos en racimos pegados a las paredes. Las hembras realizan un único desove anual y en este periodo cuidan a los huevecillos, los limpian y los protegen con sus tentáculos y sifón hasta la eclosión, para morir posteriormente por inanición. Las crías presentan desarrollo directo ya que al eclosionar poseen todas las características anatómicas y conductuales propias de un pulpo adulto, e incluso responden a los estímulos de coloración, textura de piel, expulsión de la tinta y adoptan la vida béntica casi de inmediato (Instituto Nacional de Pesca, 2014).

3.2.4. Alimentación de *Octopus maya*

Los pulpos son considerados depredadores activos, de tipo atacante y oportunista. Su dieta incluye cangrejos (crustáceos), almejas y caracoles (moluscos), por lo que sus madrigueras suelen estar rodeadas de fragmentos de exoesqueletos. También consumen peces pequeños y, en algunas ocasiones, cuando escasea el alimento o aumenta la competencia, pueden llegar a

practicar el canibalismo. En la Sonda de Campeche, la parte fundamental de su dieta son los gasterópodos pequeños como es el caso de *Strombus pugilis*. La especie *O. maya* durante toda su vida mantiene un estilo de caza, su dieta tampoco cambia sustancialmente con el incremento de la talla, aunque si se ha reportado que va disminuyendo el consumo de cangrejos y aumentando el número de peces y moluscos (Instituto Nacional de Pesca, 2014 y Albarrán, 2010). Durante el periodo de incubación las hembras por lo general no se alimentan, cuidan los huevos hasta el momento de la eclosión, es como a los pocos días mueren, ya que han perdido un tercio o más de su peso inicial (Ontiveros, 2014).

3.2.5. Relación con otros organismos

Los pulpos son una fuente importante de alimento para especies como los grandes meros y pargos. Poseen ingeniosos mecanismos de defensa, como la capacidad de cambiar rápidamente de forma, textura y color de piel para mimetizarse con el entorno marino. Además, pueden expulsar una nube de tinta para confundir a sus depredadores y facilitar su escape. Utilizan su sifón para propulsarse mediante la expulsión de agua, lo que les proporciona una vía de escape eficiente. Los pulpos de menor tamaño son presa de gasterópodos más grandes, como *Pleuroploca gigantea*, *Busycon perversum* y *Turbinella angulata*. En el ecosistema, los pulpos actúan como convertidores eficientes de alimentos en biomasa disponible para niveles tróficos superiores (Instituto Nacional de Pesca, 2014).

3.3. Fundamentos de la Conectividad genética

La conectividad poblacional es el grado de conexión entre diferentes poblaciones y se determina tanto por propiedades intrínsecas de las especies, como su período de vida larval, como por factores extrínsecos, como la disponibilidad de alimento (León, 2015). Por otro lado, la conectividad genética se refiere al flujo de genes entre poblaciones, y su estimación se basa en las diferencias genéticas entre ellas o en el cálculo probabilístico del origen de un individuo. (Pérez y Díaz, 2009). Domínguez, (2015) menciona que la conectividad poblacional es el resultado de la dispersión de individuos, la cual, en la mayoría de los organismos marinos, ocurre en los primeros estadios de su historia de vida, asociándose con el ambiente pelágico. *Octopus maya* (sin etapa larval) es una especie holobentónica, lo cual limita el alcance de su dispersión.

3.3.1. Herramientas para medir la conectividad:

Se han utilizado varios métodos naturales para evaluar niveles de conectividad como marcas químicas o ambientales, así como marcas artificiales. Los avances de la tecnología han permitido implementar herramientas moleculares para estudiar los patrones de conectividad de las poblaciones. Las técnicas moleculares utilizan marcadores genéticos polimórficos para poder identificar la variabilidad intra e interespecífica en las poblaciones, de tal forma que es posible determinar las diferencias genéticas dadas por el nivel y patrón de flujo genético (León, 2015).

Los marcadores son secuencias no codificantes, es decir que no tienen una función específica y son utilizadas como puntos de marca o anclaje, por lo que son denominados marcadores, estos se encuentran cercanos o unidos a las secuencias propias de los genes. Un marcador es una entidad genética que expresa un polimorfismo, es decir que detecta un locus con una variación detectable demostrada experimentalmente (Universidad Tecnológica de Pereira, 2015).

3.4. Gen mitocondrial COI como marcador molecular

La mitocondria, al desempeñar funciones de obtención de energía y respiración celular, permite la conservación del ADN con una calidad similar a la del núcleo, con la diferencia de que en animales esta información es heredada exclusivamente de la madre (Figura 2) (Daza y Montenegro, 2018). El gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I (COI), presente en bacterias y en la mitocondria de eucariotas, es la última enzima de la cadena de transporte de electrones en la respiración celular y constituye la subunidad principal del complejo Citocromo C Oxidasa (Figura 2). Este gen se ha utilizado como marcador filogenético en estudios macro-evolutivos y como un "código de barras" de ADN para la identificación de especies animales. (Daza y Montenegro, 2018).

4. Justificación

La pesca sustentable del pulpo maya (*Octopus maya*) en el sureste del Golfo de México es crucial para preservar las poblaciones de esta especie y asegurar su disponibilidad para futuras generaciones. Actualmente, es fundamental que la cantidad de individuos extraídos sea adecuada para no comprometer la reproducción y mantenimiento de las poblaciones. Con el presente estudio sobre la conectividad genética de *O. maya*, se podrá determinar si esta especie actúa como una unidad poblacional o si, en cambio, existen distintas poblaciones con un intercambio limitado de individuos entre ellas. Este conocimiento es clave para optimizar los planes de manejo pesquero.

Estudios previos, como el de Villanueva *et al.* (2001), sugieren que diferencias genéticas entre poblaciones pueden reflejar variaciones en aspectos biológicos como la reproducción, la alimentación y el crecimiento, lo cual impacta directamente en las prácticas de explotación sostenible. La integración de estos datos en los planes de manejo permitiría establecer estrategias específicas basadas en la estructura genética de las poblaciones y en sus patrones de conectividad. Además, los pescadores de la región, quienes dependen económicamente de esta especie, se beneficiarían al recibir información actualizada sobre los recursos que explotan, facilitando una pesca más informada y responsable.

Dado que el pulpo maya es un recurso económico significativo en la región, la identificación de los stocks pesqueros y el conocimiento de los niveles de diferenciación y diversidad genética son esenciales para determinar el momento adecuado y la cantidad permitida de captura. A pesar de que investigaciones anteriores han estudiado la dinámica de las pesquerías del pulpo maya (Albarrán, 2010) y propuesto que esta especie en la Península de Yucatán puede funcionar como una unidad poblacional (Juárez, 2011), estos estudios se basan principalmente en análisis morfológicos y ecológicos. La falta de estudios genéticos limita el conocimiento sobre la verdadera estructura y conectividad de sus poblaciones. Este estudio contribuirá a llenar esa brecha mediante el análisis de la conectividad genética de *O. maya* en tres localidades pesqueras del sureste del Golfo de México, utilizando el marcador genético mitocondrial Citocromo Oxidasa I (COI).

5. Objetivos

5.1. Objetivos generales

Determinar la conectividad genética entre las poblaciones de *Octopus maya* en el sureste del Golfo de México, utilizando el gen mitocondrial Citocromo C Oxidasa I.

5.2. Objetivos específicos

- Establecer la variabilidad genética de las poblaciones de *Octopus maya* el sureste del Golfo de México.
- Evaluar la estructura genética de las poblaciones de *Octopus maya* en el sureste del Golfo de México.
- Determinar el patrón de conectividad genética de *Octopus maya* en el sureste del Golfo de México.

6. Materiales y métodos

6.1. Área de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en las localidades de Champotón, Campeche; Celestún, Yucatán y Holbox, Quintana Roo (Figura 3):

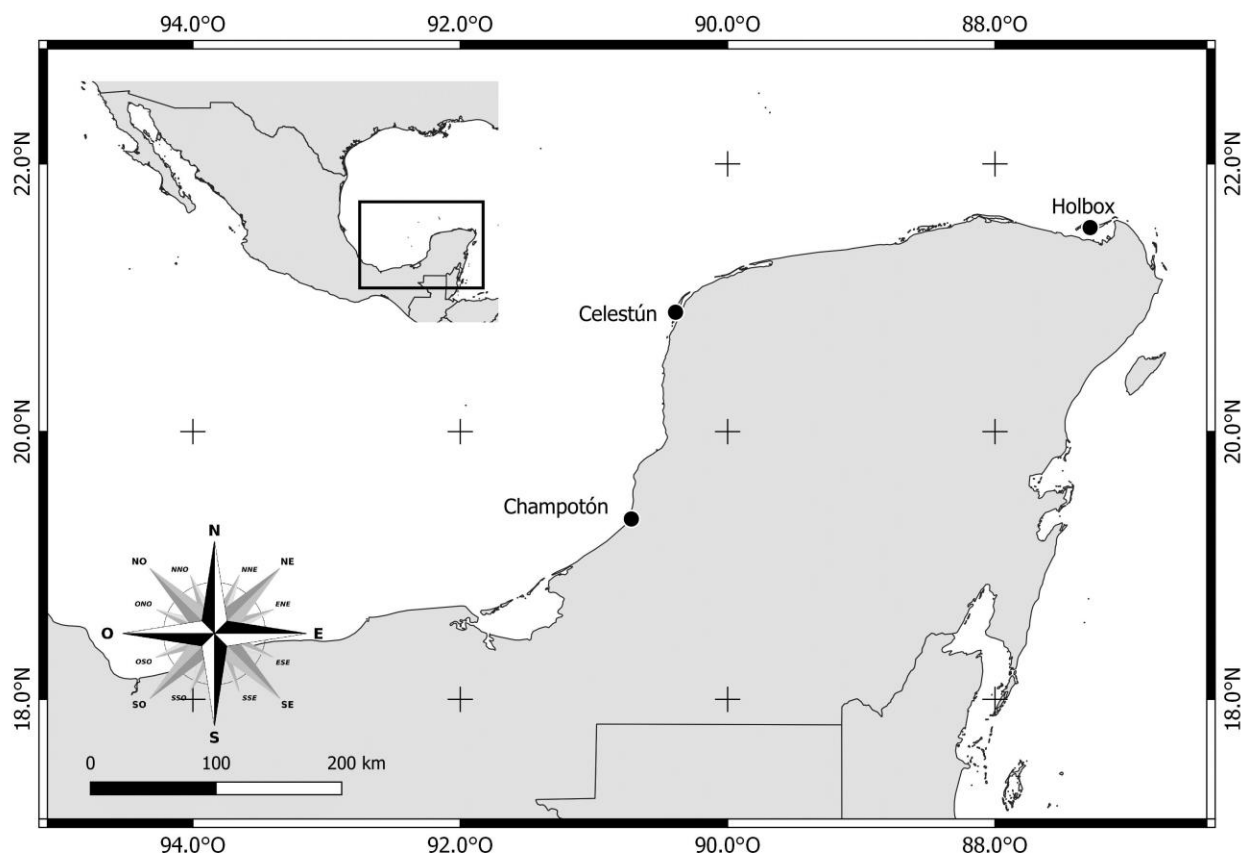


Figura 3. Representación geográfica de las zonas donde se obtuvieron las muestras de los pulpos: Champotón, Campeche; Celestún, Yucatán y Holbox, Quintana Roo. Mapa elaborado por Manuel Montejo Sosa.

6.1.1. Champotón, Campeche.

Se localiza en la zona centro del estado de Campeche en las coordenadas 19°20'46.04''N y 90°43' 11'' W. En el área de Champotón no hay un sistema de Arrecifes, pero cuenta con un banco costero que se extiende en frente de la playa hasta una distancia de 12 millas, entre Punta Palmar chico y Champotón (Dirección General Adjunta de Oceanografía,

Hidrografía y Meteorología., s. f.). El rango de temperatura es de 26°C a 28°C, el clima es cálido subhúmedo con lluvias en verano, de humedad media de 93.29% (INEGI, 2010).

Características oceanográficas de la región: la corriente de lazo tiene un flujo continuo este-oeste, sumándose un movimiento de sureste-noreste en la cuenca de Yucatán y teniendo influencia en el Golfo de México, ocasionando que las corrientes superficiales de agua se distribuyan al oeste sobre el banco de Campeche, hacia el noreste rumbo a la plataforma Texas-Luisiana y al este rumbo al estrecho de Florida. Esta corriente se debilita durante los meses de junio-julio, formando núcleos anticiclónicos que alcanzan su máxima velocidad en invierno, esta corriente tiene su máxima intromisión hasta los 27°N (Dirección General Adjunta de Oceanografía, Hidrografía y Meteorología., s. f.).

Por su ubicación geográfica respecto a la Península de Yucatán, en Champotón el oleaje es calmo con olas no mayores a medio metro. Sin embargo, durante los eventos de Frentes Fríos (nortes), que ocurren entre los meses de octubre a mayo, la altura de las olas puede llegar a los 2.5 m (Dirección General Adjunta de Oceanografía, Hidrografía y Meteorología., s. f.).

6.1.2. Celestún, Yucatán.

Sus coordenadas son 20° 52' 50'' N y 90° 23' 57'' W. Se localiza al oeste del Estado de Yucatán, a 109 km de la ciudad de Mérida, y a 123 km al poniente de Progreso (Yucatan.gob.mx., s.f.). El rango de temperatura es entre 24°C a 28°C, con un rango de precipitación de 600 a 1,000 mm; el clima es semiseco muy cálido (INEGI, 2010).

Características oceanográficas de la región: las corrientes marinas son paralelas a la costa de la península de Yucatán, con dirección hacia al suroeste, con una velocidad promedio de 0.719 nudos y máxima de hasta 2 nudos (Dirección General Adjunta de Oceanografía, Hidrografía y Meteorología., s.f.).

El oleaje dominante en la costa norte de Yucatán, es del este y noreste, es originado por los vientos dominantes en la región este, noroeste y sureste. Se propaga hacia el este y se refracta al aproximarse a la línea de costa, debido a las bajas profundidades, por lo que cuando llega a la zona de playas, suele arribar con dirección al noroeste. En Celestún, el oleaje que llega a las playas tiene dirección del norte (Dirección General Adjunta de Oceanografía, Hidrografía y Meteorología., s.f.).

6.1.3. Holbox, Quintana Roo.

Sus coordenadas son 21° 32' 03'' N y 87° 17' 19''W; la isla se localiza a 12 km del Puerto de Chiquilá y de Cancún a 160 km al noroeste. Se encuentra situada en el trópico de cáncer y tiene una extensión de 43 km. Durante el verano el clima es cálido-húmedo, mientras que la estación seca inicia en diciembre para concluir en mayo (Dirección General Adjunta de Oceanografía, Hidrografía y Meteorología., s.f.).

Características oceanográficas de la región: las corrientes son resultado de la acción del oleaje sobre una ramificación de la corriente que proviene del Caribe, que pasa por el Canal de Yucatán y una de sus ramas se interna en el Golfo de México. La dirección de la corriente es de este a oeste, y de acuerdo a la época del año la velocidad es de 10 a 50 cm/seg (Dirección General Adjunta de Oceanografía, Hidrografía y Meteorología., s.f.).

La isla puede ser afectada por vientos provenientes del noroeste, oleaje de hasta cuatro metros, imposibilitando la salida de embarcaciones menores a alta mar (Dirección General Adjunta de Oceanografía, Hidrografía y Meteorología., s.f.).

6.2. Corrientes marinas del Golfo de México y Mar Caribe

En el Golfo de México la circulación es dominada por dos flujos semipermanentes: un giro anticiclónico a escala de toda la cuenca y la Corriente de Lazo en la parte oriental, así como por una celda de circulación anticiclónica en la frontera occidental. El patrón de circulación en el Golfo de México está condicionado por el transporte de masa que entra al golfo por el Canal de Yucatán, el forzamiento del viento, y las surgencias que ocurren en la parte este de la Península de Yucatán. Un giro ciclónico de mesoescala domina la circulación en la Bahía de Campeche, oscila tanto en su tamaño como en su posición durante su traslado hacia el oeste, originando pequeños giros. Los vientos del este son dominantes durante el verano, cuando las tormentas tropicales afectan el sur del Golfo de México (Expósito *et al.*, 2009).

La circulación superficial del Mar Caribe se compone por un flujo hacia el oeste con velocidades de 0.5-1.0 m/s, que transporta ~28 Sv (Sverdrup: se usa para cuantificar los volúmenes de agua desplazados por las corrientes oceánicas, y esto equivale a un millón de metros cúbicos por segundo) desde el Océano Atlántico; este flujo forma la Corriente del Caribe

con varios remolinos grandes y energéticos asociados con flujo de gran escala (Kastner *et al.*, 2024). Cuando la Corriente del Caribe pasa a través de la Cuenca Caimán se convierte en la Corriente Caimán, fluyendo hacia el oeste a lo largo de $19 \pm 2^\circ\text{N}$, antes de girar hacia el norte a lo largo de la Península de Yucatán para formar la corriente de Yucatán. La Corriente de Yucatán es una corriente cálida fuerte y persistente con velocidades hasta 2 m/s, que ingresa al Golfo de México como un chorro y se desarrolla la Corriente del Lazo. Finalmente, este flujo sale del Golfo de México a través del Estrecho de Florida, formando la Corriente de Florida y posteriormente la Corriente del Golfo en el Océano Atlántico Norte occidental (Carrillo *et al.*, 2015).

Carrillo *et al.*, (2016) mencionan en su estudio los períodos de tiempo de dos cruceros que utilizaron siendo del 26 al 30 de marzo de 2006 (M06) y del 17 al 22 de enero de 2007 (J07). Ambos cruceros mostraron campos de velocidades geostróficas superficiales similares, con un fuerte flujo hacia el norte de la Corriente de Yucatán y velocidades relativamente más débiles en la porción sur. Durante M06, el área de Chinchorro mostró flujos débiles, mientras que, durante J07, las velocidades geostróficas hacia el norte están claramente definidas desde 18.25°N hacia el norte, y estaban más cerca de la costa y confinadas en un área más estrecha que la observada durante M06.

En el Mar Caribe domina la Corriente del Caribe que, corre de sur a norte, en forma paralela a la línea de costa, frente a Quintana Roo. Esta corriente se caracteriza por tener aguas cálidas y salinas; cuando pasa por el Canal de Yucatán recibe el nombre de Corriente de Yucatán. La corriente del Caribe provoca que las masas de agua que circulan en las profundidades asciendan, trayendo sedimento del fondo y aflorando sobre la extensa plataforma continental del norte y occidente de la Península de Yucatán (Secretaría de Manejo Reserva de la Biosfera Caribe Mexicano, 2019).

6.3. Trabajo de Campo

La captura de los organismos se realizó con el apoyo de los pescadores locales, mediante la pesca artesanal en las siguientes fechas: Celestún del 12 al 14 de agosto 2022 con pesca de garete; Champotón del 18 al 19 de noviembre 2022 con pesca de garete a una profundidad de 2 a 2.5 m y Holbox el 21 noviembre 2022 con pesca de garete y gancho pulpero a una profundidad de 3 a 15 m.

Las muestras se colectaron a partir del tejido de uno de los brazos de cada individuo, cortando aproximadamente 5 cm con la ayuda de pinzas y bisturí; para evitar la contaminación cruzada entre los individuos las pinzas y el bisturí se enjuagaron con cloro (proporción 1:5) y posteriormente con una solución de alcohol al 96% entre cada muestra. En campo las muestras se preservaron en etanol (no desnaturalizado) al 96% a una temperatura de -5°C. Posteriormente se transportaron al Tecnológico Nacional de México/ I. T. Chetumal, en donde se realizó un recambio de etanol y se almacenaron a -20°C.

6.4. Trabajo de laboratorio

Extracción de ADN

La extracción de ADN se llevó a cabo utilizando el kit comercial DNeasy Blood & Tissue Kits de la marca Qiagen, siguiendo las instrucciones que la empresa señala, a continuación, se presenta una breve explicación de lo que sucede en cada paso:

Se transfirieron 25 mg de tejido a un tubo de microcentrífuga de 1.5 ml, para realizar la lisis celular para la liberación del ADN. El buffer de extracción contiene detergentes, una molécula quelante para desestabilizar la membrana celular, sales, Tris-HCL 20mM con pH y proteinasa K para la degradación de proteínas o enzimas.

El siguiente paso consiste en ciclos de incubación y vórtex para facilitar la ruptura de lípidos en la membrana celular, permitiendo que el ADN se libere de la estructura celular. Posteriormente se agregaron 200 µl de etanol al 90% al lisado de las células, agitando en un vórtex de 5 a 10 segundos para la precipitación del ADN.

Después se realizaron los lavados, en el primer lavado se diluyo la solución de lavado concentrada con etanol. Se agregaron 500 µl de la solución de lavado diluida a la columna de unión y se centrifugó durante 1 minuto a $\geq 6500 \times g$. Se desechó el líquido, pero conservando el tubo de recolección. En el segundo lavado se agregaron otros 500 µl de la solución de lavado

diluida a la columna de unión; se centrifugó durante 3 minutos a una velocidad de $16,000 \times g$ para secar. Finalmente, se desechó el tubo de recolección que contenía el líquido de flujo continuo y se colocó la columna de unión en un nuevo tubo de recolección de 2 ml.

Finalmente se realizó la elución de ADN pipeteando 200 μl de la solución de elución directamente en el centro de la columna de unión, se centrifugó durante 1 minuto a $\geq 6500 \times g$ para eluir el ADN.

Para verificar el éxito de la extracción del ADN se realizó la electroforesis (Figura 4) con el gel de agarosa siguiendo la técnica de Eguiarte *et al.*, (2007):

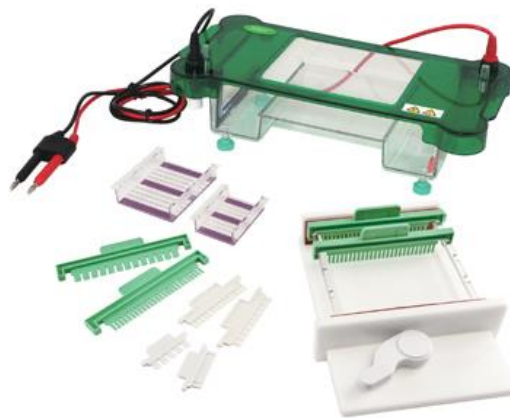
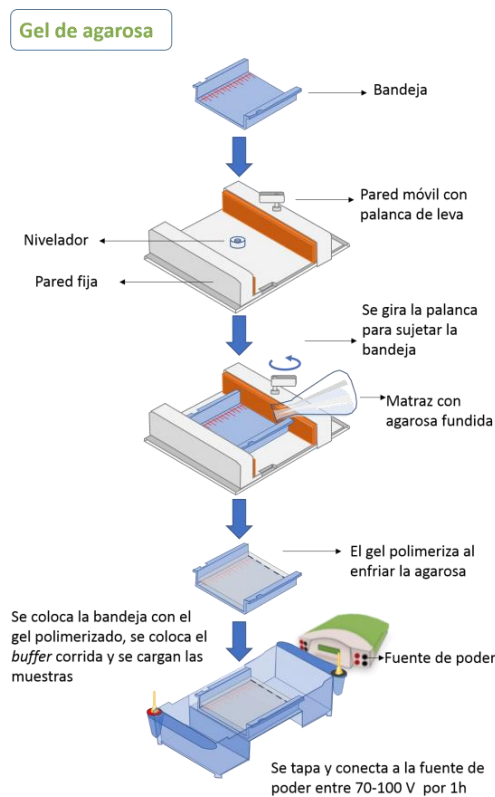


Figura 4. Cámara de electroforesis horizontal YR03419. Modificado de: <https://kalstein.com.mx/producto/electroforesis-horizontal-yr03419/>.

A continuación, protocolo para la elaboración del gel de agarosa (Figura 5):

Para preparar el gel de agarosa al 0.8% se pesaron 0.16 g de agarosa y se disolvieron en 100 mL de buffer EDTA 1X en un matraz. La mezcla se pesó y calentó en un horno de microondas dando pulsos de 5 segundos hasta obtener una mezcla homogénea. Se pesó de nuevo y se complementó al peso inicial con agua.

Se colocó la bandeja en el recipiente para gel girando la palanca de levas, cerciorándose de que cerrara herméticamente. Se vació la mezcla con cuidado evitando hacer burbujas y se colocó un peine en un extremo. Se dejó enfriar hasta que polimerizara el gel, y se retiró el peine.



conogasi

Imagen: Alberto Checa

Figura 5. Representación de electroforesis con gel de Agarosa. Modificado de Checo, (2017).

Para la visualización del ADN y como reactivo de carga se usó Novel juice. Se diluyó una parte de novel juice con la muestra y se colocaron en cada pozo con buffer de carga (Tabla 1). Como dato importante, el Novel juice y el marcador se sacaron antes para descongelarse. El novel juice recibió un vórtex de 10 segundos antes de usarse.

Para verificar el gel, se expuso a la luz UV (Transiluminador E3000, Figura 6).

Tabla 1. Tamaño de peine por cantidad de muestra. Novel juice (Reactivo de tinción de ADN). El tamaño del peine depende de la cantidad de muestras que se analizan.

	Peine grande	Peine pequeño
Muestra	5 ml de ADN	4 ml de ADN
Novel juice	1.5 ml	1 ml



Figura 6. Transiluminador E300. Modificado de: <https://www.ddbiolab.com/article/062779>

Amplificación del gen mitocondrial Citocromo C Oxidasa I (COI):

Las amplificaciones se llevaron a cabo en el laboratorio de Código de Barras del Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR-Unidad Chetumal), usando el primer de zooplancton de Prosser *et al.*, 2013, (Tabla 2):

Tabla 2. Primers a partir del ADN del zooplankton. (Primers utilizado del ADN del zooplankton, donde se describe las secuencias 5' → 3').

Primer	Secuencia (5' → 3')	Referencia
ZplankF1_t1	tgtaaacgacggccagtTCTASWAATCATAARGATATTGG	Prosser <i>et al.</i> 2013
ZplankR1_t1	caggaaacagctatgacTTCAGGRTGRCCRAARAATCA	Prosser <i>et al.</i> 2013

La purificación de los productos de PCR positivos y la secuenciación de las muestras se realizó en Macrogen Inc, Seúl, Corea del Sur.

El proceso de amplificación de las muestras se llevó a cabo de acuerdo con la metodología de Prosser *et al.*, (2013). Para la amplificación de las muestras se preparó la reacción con un volumen final de 12.5 µl, incluido el ADN. La reacción contenía dihidrato de D-(+)-trehalosa al 10 % (Fluka Analytical), 1 x PlatinumTaq buffer (Invitrogen), 50mM MgCl₂ (Invitrogen), 10 Mm dNTP (KAPA Biosystems), 10 µM de cada cebador, 0.3 U de PlatinumTaq (Invitrogen) y 2 µl de ADN. Posteriormente, durante 1 minuto las reacciones se ciclaron en un termociclador a 95°C por 1 min, seguido de cinco ciclos de: 94°C durante 40 s, 45°C durante 40 s, 72°C durante 1 min; luego 35 ciclos de: 94°C durante 40 s, 51°C por 40 s, 72°C por 1 min, y una extensión final de 72 °C por 5 min. Los productos de la PCR se visualizaron en un gel de agarosa al 2% utilizando un sistema de electroforesis de agarosa prefabricada E-Gel95

(Invitrogen). Por último, fueron seleccionados los productos de PCR visualmente positivos para la secuenciación.

Análisis de datos

Para la limpieza y el filtrado de las secuencias primero se eliminaron los extremos de baja calidad de las secuencias, los fragmentos de buena calidad se ensamblaron, y se alinearon en el programa Codon Code Alligner. Para preparar los archivos para los análisis estadísticos se exportaron las secuencias en formato FASTA al programa MEGA v.5; (Molecular Evolutionary Genetics Analysis).

Para confirmar la identidad taxonómica de las secuencias amplificadas, se utilizó la función de BLAST en el banco de datos genéticos GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Las secuencias limpias y de buena calidad se compararon con el fin de encontrar homología con secuencias de otros organismos de la especie *O. maya* o sus congéneres (León, 2015).

Para determinar los patrones geográficos de diversidad genética primero se identificaron los diferentes haplotipos en el programa DnaSP 5.10 (Librado y Rozas, 2009), y se generaron los archivos de entrada para realizar los análisis de diversidad genética mediante los índices de diversidad haplotípica (h) y nucleotídica (π) de Tajima & Nei. Para estimar la estructura genética poblacional, se realizó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) que es un método estadístico que se basa en el análisis de varianza de las frecuencias genotípicas para probar diferencias genéticas entre grupos o poblaciones (Tripp, 2009) y un Análisis de Varianza (ANOVA) que es un método estadístico que determina la existencia de diferencias significativas entre la media de varios grupos (Data Analytics Core Group, 2020 y Excoffier *et al.* 1992), utilizando una matriz de distancias euclidiana cuadrada definida que contiene el número de alelos diferentes entre dos haplotipos y basado solo en las frecuencias alélicas (Michalakis and Excoffier, 1996), en el programa Arlequin v.3.5.1.2. Adicionalmente se calculó del estadístico de F global convencional a partir de las frecuencias de haplotipos y se calcularon para ambos modelos estadísticos las comparaciones de pares de muestras para identificar diferencias entre localidades.

Finalmente, para representar las relaciones genealógicas entre las secuencias de ADN de *O. maya* se construyó la red de haplotipos con el programa PopArt (<https://popart.maths.otago.ac.nz/download/>).

7. Resultados

De las salidas al campo se muestrearon 10 individuos de Champotón; 20 de Celestún y 9 de Holbox. (Figura 7).



Figura 7. Individuos capturados de Holbox, Quintana Roo (izquierda) y Champotón, Campeche (derecha). Fotografías tomadas por Levita Sánchez López.

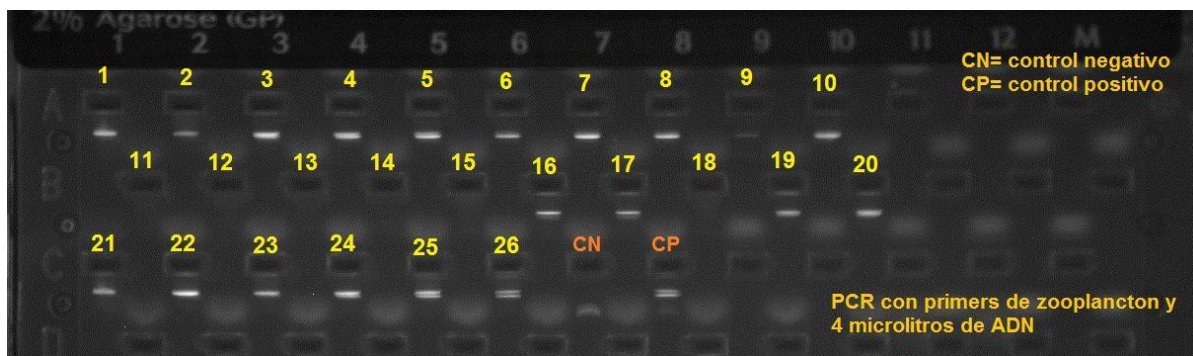


Figura 8. Primeros datos de la amplificación con PCR. Las bandas blancas debajo de los números indican que el ADN se amplificó correctamente.

De las 39 muestras recolectadas todas se amplificaron y fueron secuenciadas. Durante el análisis de las secuencias de ADN se eliminaron 3: dos de Champotón y una de Holbox por baja calidad. Por lo tanto, para los análisis genéticos solo se utilizaron 36 secuencias en total.

7.1. Análisis genéticos

7.1.1. Variabilidad haplotípica

En total se registraron 21 haplotipos: 8 en Champotón, 10 en Celestún, 6 en Holbox. El haplotipo 10 se compartió entre Celestún y Holbox; y los haplotipos 1 y 2 se compartieron entre Celestún y Champotón (Figura 9).

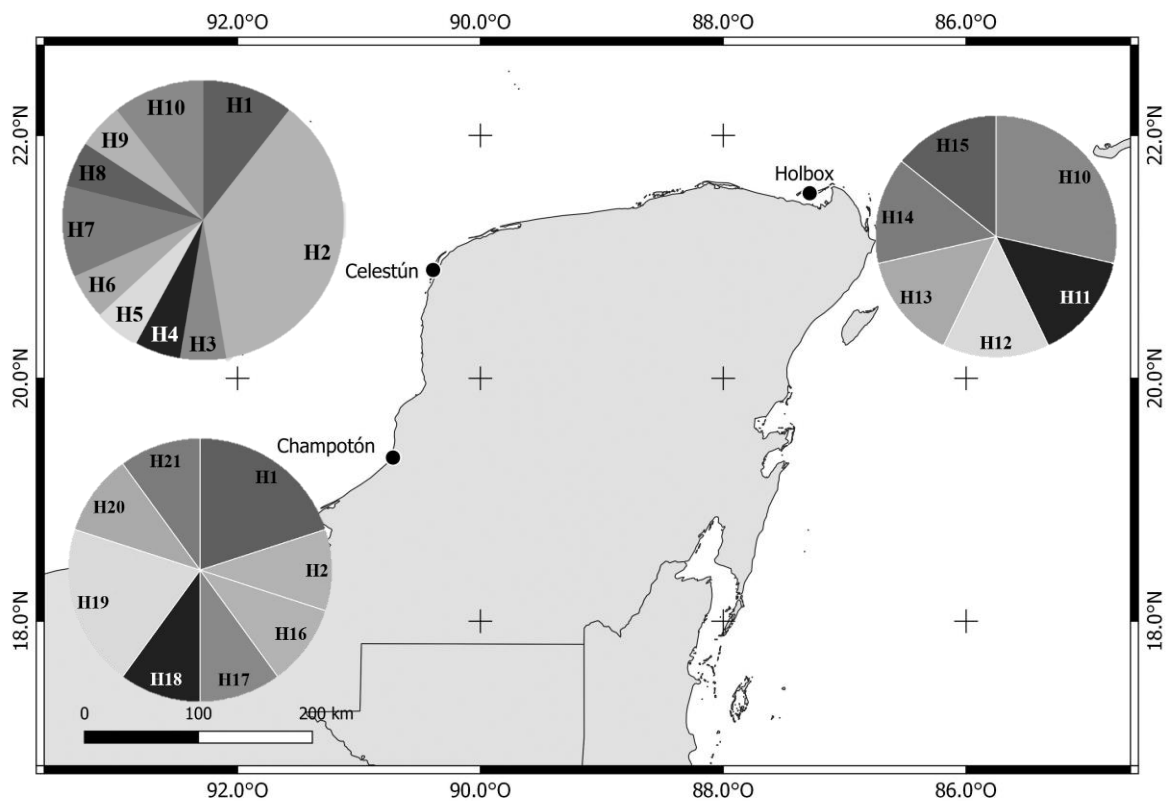


Figura 9. Mapa de distribución geográfica de los haplotipos identificados en cada sitio de estudio.

7.2. Diversidad genética

Se registraron altos valores de diversidad haplotípica. En el sitio de Champotón se encontró el mayor número de sitios polimórficos, y los valores más altos de diversidad haplotípica y diversidad nucleotídica (Tabla 3).

Tabla 3. Índices de diversidad genética. Análisis a nivel intrapoblacional de *O. maya* con el gen mitocondrial COI. Asterisco y negritas (*) indican valores altos de h y π .

Sitio	No. de individuos	Sitios polimórficos	No. haplotipos por sitio	Diversidad haplotípica/genética (h)	Diversidad nucleotídica (π)
					Tajima & Nei
Celestún	19	9	10	0.8596	0.002676
Holbox	7	4	6	0.9524	0.002419
Champotón	10	11	8	0.9556*	0.004875*

7.3. Estructura genética

Los resultados del Análisis de Varianza (ANOVA) basado en frecuencias haplotípicas, mostraron que el mayor porcentaje de variación se encuentra dentro de las poblaciones (94.84%). El índice de fijación F_{st} fue bajo pero significativo ($F_{st}=0.05$, $p=0.02$), lo que sugiere la existencia de flujo restringido y por consecuencia una estructuración genética en las poblaciones de *O. maya* en el sureste del Golfo de México (Tabla 4).

Tabla 4. ANOVA, a partir de las frecuencias de los haplotipos. Asterisco y negritas (*) indica el mayor porcentaje de variación.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación
Entre poblaciones	2	1.439	0.02458 V_a	5.16
Dentro de poblaciones	33	14.894	0.45133 V_b	94.84*
Total	35	16.333	0.47591	

Los resultados de las comparaciones pareadas entre localidades mostraron que los sitios que presentan un significativamente bajo flujo genético fueron Holbox y Celestún. Mientras que

las demás comparaciones entre sitios presentaron valores bajos de F_{st} y no significativos (Tabla 5).

Tabla 5. Comparaciones de pares de muestras de población. Valores de F_{st} por pares de población (diagonal inferior) y valores de p (diagonal superior). Asterisco y negritas (*) indican comparaciones con significancia estadística.

Nombre del sitio	Celestún	Holbox	Champotón
Celestún	0	0.04505 *	0.14414
Holbox	0.07178	0	0.14414
Champotón	0.03970	0.04595	0

Los resultados del AMOVA basados en una matriz de distancia genética definida, también mostraron un mayor porcentaje de variación dentro de poblaciones (75.8%). El índice de fijación F_{st} fue significativo ($F_{st}=0.24$, $p<0.05$) (Tabla 6), lo cual refuerza los resultados registrados en el ANOVA de diferenciación genética significativa entre las poblaciones de *O. maya* en el sureste del Golfo de México.

Tabla 6. Resultados Análisis de Varianza Molecular basado en una matriz de distancia genética definida. Asterisco y negritas (*) indica el mayor porcentaje de variación.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación
Entre poblaciones	2	10.249	0.36478 Va	24.2
Dentro de poblaciones	33	37.695	1.14229 Vb	75.8*
Total	35	47.944	1.50707	

Los resultados de las comparaciones pareadas entre localidades mostraron que la existencia de diferencia genética significativa está presente entre todos los sitios (Tabla 7), presentaron valores altos de F_{st} .

Tabla 7. Comparaciones de pares de muestras de población. Valores de F_{st} por pares de población (diagonal inferior) y valores de p (diagonal superior). Asterisco y negritas (*) indican comparaciones con significancia estadística.

Nombre del sitio	Celestún	Holbox	Champotón
Celestún	0	0*	0*
Holbox	0.32394	0	0*
Champotón	0.18211	0.2571	0

7.4. Red de haplotipos

La red haplotípica fue construida a partir de 21 haplotipos obtenidos de 36 secuencias de la región COI. Los 21 haplotipos indican alta diversidad haplotípica respecto a las secuencias estudiadas. Tres haplotipos fueron los de mayor frecuencia para cada sitio estudiado: el haplotipo 1 y 2 se compartió entre Celestún y Champotón, y el 10 se compartió entre Celestún y Holbox. La mayoría de los haplotipos son privados, es decir, se presentan en un solo sitio y solo 3 haplotipos están compartidos en las 3 poblaciones. Se observan pocas conexiones de haplotipos entre sitios, sin embargo, en cada sitio hay conexiones, es decir, de un haplotipo se generan más, formando 2 subgrupos (A y B); representando una estructura expandida de toda la red similar a un *Star-like network* (red estelar). El subgrupo B nos muestra que los haplotipos 1 y 2 tienen mayores conexiones y más pasos mutacionales (Figura 10).

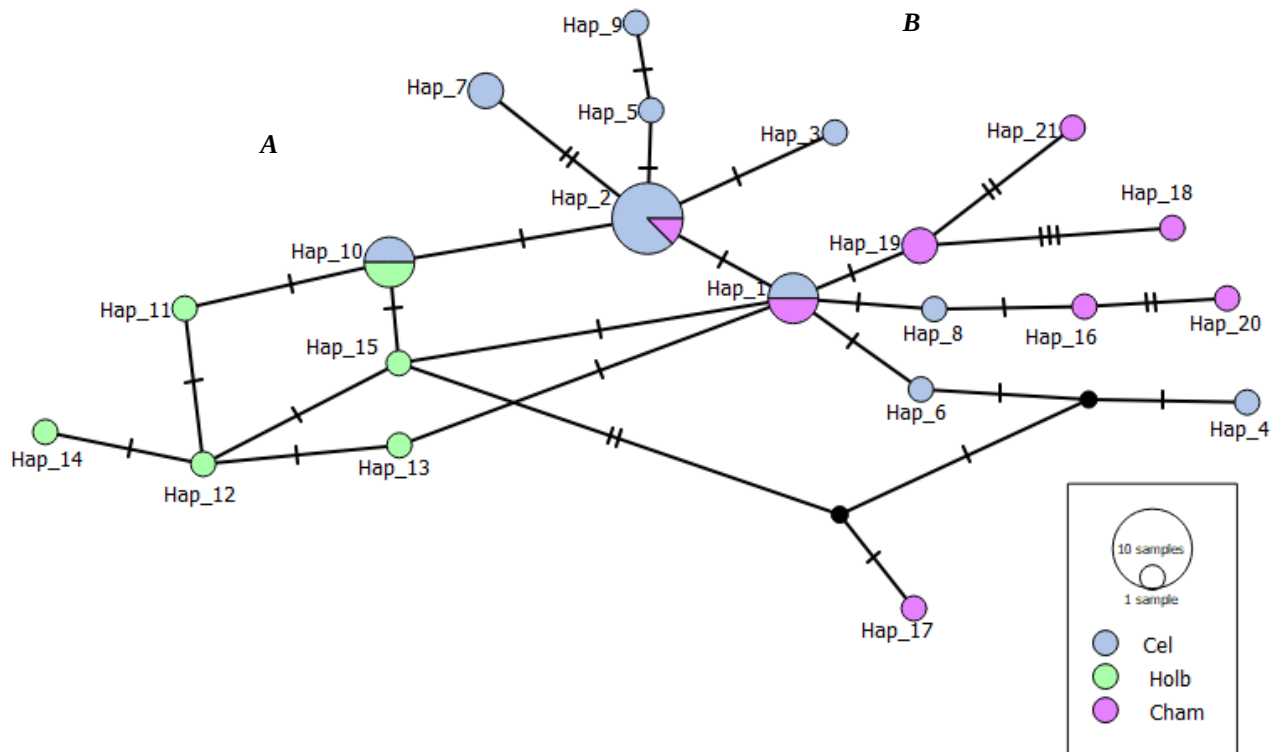


Figura 10. Red de haplotipos generado en el programa PopArt. Los haplotipos están representados con círculos y los sitios de estudio en colores: Azul: Celestún; Verde: Holbox; Morado: Champotón. El tamaño de cada círculo determina la frecuencia de los haplotipos en cada sitio. Las líneas transversales representan los pasos mutacionales entre ellas.

8. Discusión

8.1. Diversidad genética

De las 36 secuencias de buena calidad que se obtuvieron en el presente estudio se detectaron 21 haplotipos, lo que indica una alta variabilidad genética con relación al tamaño de muestra. No obstante, las frecuencias de los haplotipos fueron bajas. En otros trabajos donde se ha encontrado el mismo resultado como el de Tello *et al.*, (2021), sugieren que la baja frecuencia genética indica la estabilidad de la especie, es decir, que no ha presentado eventos genéticos recientes.

Los resultados de diversidad genética sugieren que hay diversidad dentro de cada sitio. Champotón presentó el mayor valor de diversidad haplotípica y nucleotídica, lo cual resalta ya que este no fue el sitio con mayor tamaño de muestra (n=10). Celestún, a pesar de haber presentado el mayor número de secuencias (n=20) presentó los menores valores de diversidad haplotípica y nucleotídica. Otros trabajos como el de Tello *et al.*, (2021), quienes hicieron análisis enzimáticos en nueve poblaciones de la Península de Yucatán con *O. maya*, también reportaron la existencia de diversidad dentro de las poblaciones, con un valor de heterocigosidad de 0.1142 siendo el más bajo en su estudio, y valores de polimorfismo de 34.6154% para Celestún y 26.9231% para Sabancuy, con un valor promedio global de 29.6190%.

8.2. Estructura genética de *O. maya*

Los resultados del ANOVA y AMOVA mostraron diferenciación genética significativa entre las poblaciones, lo que sugiere un limitado flujo genético en la región del sureste del Golfo de México. Los resultados de las comparaciones pareadas en ANOVA mostraron que entre la localidad de Celestún y Holbox existen diferencias genéticas significativas, a partir de las frecuencias de los haplotipos. Por su parte, en las comparaciones pareadas de AMOVA las tres localidades presentaron diferencias significativas, basado en una matriz de distancia genética. En el estudio realizado por Juárez, (2011), en Sabancuy, Campeche, Sisal, Dzilam y Río Lagartos en la Península de Yucatán, mostraron resultados contrastantes al presente trabajo, ya que ellos no reportan estructura genética entre sus poblaciones. Esta diferencia puede deberse a diferentes factores como una mayor cantidad de número de muestras empleado en el estudio de Juárez.

También puede estar asociado al marcador que emplearon, ya que ellos usaron microsatélites, los cuales presentan mayor variabilidad intraespecífica, y presentan señales genéticas más recientes (Juárez, 2011 y Universidad Tecnológica de Pereira, 2015). El marcador genético mitocondrial COI presenta varias características: se hereda por vía materna (Varela, 2016), tiene una baja tasa de mutación en cefalópodos y muestra menor diversidad en comparación con otras especies (Carvajal *et al.*, 2022). Estas propiedades sugieren que nuestros resultados podrían reflejar señales genéticas de origen más antiguo. Por lo tanto, se sugiere incluir otros marcadores en estos estudios para complementar la información de los patrones genéticos de las poblaciones estudiadas.

8.3. Factores que influyen en la estructura genética poblacional de *O. maya*

Se sugiere que la estructura genética reportada en el presente estudio puede estar relacionada con el origen de las poblaciones, como es mencionado en el estudio de Juárez *et al.*, (2012) sobre relaciones filogenéticas de *O. maya*. Los autores realizaron un análisis con las secuencias de los especímenes de Sisal, Yucatán con los genes ARNr 16 S y COI. Sus resultados indican que la secuencias se agruparon con los pulpos del Pacífico oriental usando ambos marcadores (ARNr 16S y COI); con el gen COI realizaron un árbol de los genes concatenados con las secuencias, los resultados indicaron que la divergencia estimada de esta especie fue de hace 5 y 2,5 millones de años, proponen que *O. maya* tuvo origen durante la formación del istmo de Panamá, cuando las cuencas del Pacífico y el Atlántico se separaron. Sugieren que los estadios larvales durante la primera etapa de vida es el estado ancestral, por lo que apoyan la idea de que la especie *O. maya* se creó durante este accidente geográfico y es que, el pulpo maya no presenta etapa larval, a diferencia de otras especies del mismo género que poseen estadios larvales y poslarvales. La diferencia genética encontrada entre las poblaciones puede deberse al origen de las poblaciones, como se mencionó antes, las poblaciones de *O. maya* se pudo derivar por un accidente geográfico. La estructura genética observada en el estudio puede ser de hace millones de años, sin embargo, hay estudios actuales que muestran la existencia de flujo genético entre ellas, como los estudios de Tello *et al.*, (2021) y Cabrera *et al.*, (2012), quienes mencionan que puede deberse a la migración entre poblaciones, derivándose de un comportamiento reproductivo,

por consiguiente, se sugiere que las poblaciones de *O. maya* se han estado conectando a partir de millones de años.

La estructura genética reportada puede estar relacionada a, como lo indica Arreguín *et al.*, (2000), que esta especie no posea larvas planctónicas en su ciclo reproductivo, por lo que, no se dispersan a distancias largas, sino que permanecen en el sitio donde eclosionaron. Sin embargo, se sugiere que, durante la época de reproducción, los individuos de diferentes poblaciones puedan encontrarse formando agregaciones reproductivas, lo cual puede explicar la poca conectividad que se reportó en el presente estudio. Otro punto importante son las corrientes marinas, Carballo, (2016) menciona la inexistencia de corrientes marinas superficiales en la Península de Yucatán, las únicas corrientes superficiales se encuentran en Campeche y Quintana Roo, es decir, a extremos de la Península de Yucatán. Mientras, Expósito *et al.*, (2009); Carrillo *et al.*, (2015) y Secretaría de Manejo Reserva de la Biosfera Caribe Mexicano, (2019) mencionan que en el Mar Caribe domina la Corriente del Caribe que corre de sur a norte, cuando pasa por el canal de Yucatán recibe el nombre de Corriente de Yucatán, provocando que las masas de agua que circulan por las profundidades tengan que ascender, trayendo consigo los sedimentos del fondo y aflorando finalmente sobre la extensa plataforma continental del norte y occidente de la Península de Yucatán, dicha corriente es cálida fuerte y persistente, de la misma manera, en el Mar Caribe converge la Corriente del Lazo, siendo la principal fuerza motriz para la entrada de agua oceánica y este inicia por el estrecho canal de Yucatán e ingresa al Golfo de México. Así mismo, en el Golfo de México la corriente del Lazo origina remolinos ciclónicos y anticiclónicos. Por último, Carrillo *et al.*, (2015) mencionan que al caracterizar las rutas regionales de transporte de superficie, desplegando diecisiete drifters (boyas derivantes) rastreados por satélite ARGOS, que posteriormente fueron liberados durante los cruceros de marzo de 2006 y enero de 2007, concluyeron que la circulación en el Sistema Arrecifal Mesoamericano se pudo caracterizar por tres regiones: una región norte con una corriente de Yucatán bien definida, una región sur con flujo débil hacia el sur y una región de transición donde la corriente de Caimán impacta sobre la Península de Yucatán, parte de sus resultados revelan la trayectoria de los drifters en esas regiones, uno de ellos muestra la trayectoria hacia la corriente de Yucatán, desviándose al oeste, frente a la Península de Yucatán. Esto indica la existencia de corrientes en la Península de Yucatán, no obstante, es unidireccional y el transporte de agua es débil. Así pues, se sugiere que las corrientes no tienen un efecto significativo en la dispersión, ya que, al no poseer paralarvas, la

intensidad de las corrientes no los transporta como individuos recién eclosionados, sino que podría retenerlos. Cabe señalar, que la especie se desarrolla en la plataforma continental de la Península de Yucatán (Albarrán, 2010), es decir a un máximo de 60 m (Instituto Nacional de Pesca, 2014), donde dicha corriente tendría poca influencia.

Otro factor importante a sugerir es el momento de la formación de la Península de Yucatán, siendo este hace 200 millones de años. El bloque de Yucatán se encontraba hundido en el Cretácico, se desplazó hacia el sur durante el jurásico temprano y medio, al término del Calloviano este bloque empezó a recibir sedimentos marinos en posición norte, a finales del triásico se detuvo el movimiento del bloque, teniendo la posición actual que ahora conocemos (Carballo, 2016), con esto se puede argumentar que las poblaciones de *O. maya* se fueron integrando y adaptándose a las costas de la Península de Yucatán. La península de Yucatán cuenta con un sistema de control de temperatura, es decir, una surgencia de agua fría hacia la plataforma, lo cual provoca que, incluso en verano, en la zona frente a este estado el agua del fondo se mantenga entre los 22 y los 26 °C, por lo mismo es que estas poblaciones de pulpo han permanecido en toda esta área geográfica, ya que ellos son sensibles a la temperatura (Rosas, 2024).

8.4. Manejo pesquero

La explotación pesquera del pulpo maya no podría influir en la estructura genética observada en el estudio, ya que dicha estructura genética parte de millones de años. No obstante, esta especie ha sido explotada desde hace varios años, tal como se menciona en el estudio de Arreguín *et al.*, (2000), quienes, basándose en la temporada de pesca de 1994, concluyen que durante esta temporada la especie fue plenamente explotada, por lo que sugirieron necesario controlar la mortalidad de pesca.

Aunque los resultados del presente estudio no están relacionados con la explotación de la especie, se ha reportado que la sobreexplotación y los métodos de pesca están afectando las poblaciones actuales de *O. maya*. Cabrera *et al.*, (2012) menciona que las poblaciones están distribuidas con base a un gradiente de tallas que se presenta más a escala intra-anual, donde los organismos más pequeños habitan en aguas costeras en Campeche y Celestún, en cuanto a los que son más grandes se encuentran desde el Río Lagartos hasta Contoy en aguas más profundos.

8.5. Red de haplotipos

La diversidad de haplotipos es alta comparada con lo reportado en el estudio de Puentes (2021), quien reportó menores valores de diversidad haplotípica con la especie *O. insularis* en el Caribe Colombiano. Sin embargo, la diversidad haplotípica en nuestro estudio es baja en comparación con Quinteiro *et al.*, (2020), quien estudió el complejo *O. vulgaris*.

Existe alta frecuencia en 3 haplotipos, lo que podría sugerir que las poblaciones se expanden con lentitud. Las conexiones entre haplotipos son limitadas (Quinteiro *et al.*, 2020), estos resultados son congruentes con el bajo flujo genético encontrado, por lo que se sugiere que la población no ha alcanzado el tiempo suficiente para diversificarse.

La red haplotípica muestra una estructura similar a una red estelar (Stefenon *et al.*, 2019), lo que indica que de un haplotipo de alta frecuencia se generan otros de baja frecuencia, indicando que la población está en expansión. No obstante, las secuencias son del ADN mitocondrial, por lo que dicha expansión es lenta en esta especie (Carvajal *et al.* 2022). La red muestra una historia evolutiva compleja (Figura 10), de la cual se podría sugerir que el haplotipo 1 es el más ancestral de donde se derivan haplotipos con más pasos mutacionales y el haplotipo 2 muestra ser el central, de este se derivan mayores haplotipos y es el de mayor frecuencia.

Holbox puede ser un sitio que posiblemente está aislado, se sugiere que se debe a una barrera ecológica, como pudiera ser la temperatura en el hábitat, Cabrera *et al.*, (2012) mencionan que la especie tiene un comportamiento reproductivo, por lo que *O. maya* para reproducirse se mueve hacia áreas con temperaturas optimas.

Es importante tomar en cuenta que el tamaño de muestra del estudio para construir la red es menor al recomendado para representar adecuadamente la diversidad genética de la población, ya que las redes haplotípicas son de gran tamaño, como en el estudio de Puentes (2021).

9. Conclusión

Los resultados de diversidad genética indicaron que existe alta diversidad en todas las poblaciones. Sin embargo, se encontraron bajas frecuencias haplotípicas, esto puede explicarse debido al bajo número de muestras en cada localidad.

Los resultados obtenidos con el marcador mitocondrial COI indicaron que existe diferenciación genética entre las poblaciones de *O. maya* de la zona costera de la Península de Yucatán, que es donde se distribuye esta especie. Por lo cual podemos sugerir que el flujo genético es restringido.

El patrón de estructura genética que encontramos en este estudio mostró ser significativo entre las tres poblaciones, lo cual sugiere que las poblaciones de *O. maya* en la Península de Yucatán no forman una unidad genética poblacional. Nuestros resultados fueron contrastantes con otros autores que han estudiado las poblaciones de *O. maya* en la misma región, esto podría deberse al marcador genético empleado, mientras los estudios donde utilizan marcadores microsatelitales reflejan señales genéticas recientes, estudios que incluyen marcadores mitocondriales, como el gen COI, muestran información genética histórica.

Los resultados de la red haplotípica sugieren que las poblaciones del pulpo maya se expanden lentamente y los individuos migran entre poblaciones.

Para futuros estudios se recomienda aumentar el número de muestras y sitios que puedan aportar mayor robustez a los resultados y complementar con otros marcadores para obtener mayor información para el manejo adecuado de esta especie comercial en la Península de Yucatán.

10. Referencias bibliográficas

- Albarrán Méizer, N. (2010). Edad y crecimiento del pulpo rojo *Octopus maya* (Voss y Solís, 1966) por medio de la lectura de incrementos en el estilete. ECOSUR. Recuperado de: https://ecosur.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1017/1888/1/100000049980_documento.pdf
- Alcalde Alvites, M. (2014). Bioinformática: Tecnologías de la información al servicio de la biología y otras ciencias. Revista semestral de divulgación científica Hamut'ay. Vol. 1(2) Julio-diciembre: Hamut'ay 2014. Lima-Perú. ISSN: 2313-7878
- Arreguín Sánchez, F., Solís Ramírez, M., y González de la Rosa, M. (2000). Dinámica poblacional y evaluación de stock para la pesquería de *Octopus maya* (Cephalopoda:Octopodidae) en el Banco de Campeche, Golfo de México. Revista de Biología Tropical, 48 (2-3), 323-331. Recuperado de: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442000000200005
- Athié, G, Candela, J, Sheinbaum, J, Badanf, A, y Ochoa, J. (2011). Estructura de la corriente de Yucatán en los canales de Cozumel y Yucatán. *Ciencias marinas*, 37(4a), 471-492. Recuperado en 24 de abril de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-38802011000400008&lng=es&tlng=es
- Avendaño, O; Hernández Flores, Á; Velázquez Abunader, I; Fernández Jardón, C; Cuevas-Jiménez, A. y Guerra, Á. (2020). Biomasa potencial y distribución del pulpo en la parte oriental del Banco de Campeche (Yucatán, México). *Ciencias Marinas* 84 (2). Recuperado de: <https://digital.csic.es/handle/10261/214189>
- Avendaño, O; Roura, Á; Cedillo Robles, C; González, Á; Rodríguez Canul, R; Velázquez Abunader, I. y Guerra, A. (2020). *Octopus americanus*: una especie críptica del complejo de especies de *O. vulgaris* redescrita del Caribe. *Aquat Ecol* 54, 909–925. Recuperado de: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10452-020-09778-6>
- Avendaño, O; Velázquez Abunader, I; Fernández, C; Ángeles González, L; Hernández Flores, Á. y Guerra, A. (2019). Biomasa y distribución del pulpo (*Octopus maya*) en el noreste del Banco de Campeche. *Revista de la Asociación de Biología Marina del Reino Unido*. Volumen 99, Número 6. 10.1017/S0025315419000419
- Bandelt H.J, Forster P, Röhl A (1999). Median joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol* 16:37-48

- Blancas, R; López-Rocha, J; Castilla-Ventura, M. (2012). Análisis de la pesquería del pulpo rojo (*Octopus maya*) frente a la costa de Sisal, Yucatán. Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación Sisal. UNAM. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/264310502_Analisis_de_la_pesqueria_del_pulpo_rojo_Octopus_maya_frente_a_la_costa_de_Sisal_Yucatan
- Britannica. (2007). Corriente del Caribe. Enciclopedia británica. Recuperado de: <https://www.britannica.com/place/Caribbean-Current>
- Cabrera M., Ramos Miranda, J., Salas, S., Flores Hernández, D., Sosa López, A. (2012). Análisis de la Estructura Poblacional del Pulpo Rojo (*Octopus maya*) en la Península de Yucatán, México. https://www.researchgate.net/publication/235232360_Analisis_de_la_Estructura_Poblacional_d_el_Pulpo_Rojo_Octopus_maya_en_la_Peninsula_de_Yucatan_Mexico
- Castillo Estrada G; De Silva Dávila R; Carrillo L; Vásquez Yeomans L; Silva Segundo CA; Avilés Díaz L y Markaida U. (2020). Horizontal and vertical distribution of cephalopod paralarvae in the Mesoamerican Barrier Reef System. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 1–11. <https://doi.org/10.1017/S0025315420000648>
- Carballo Parra, R. (2016). Identificación del flujo subterráneo como consecuencia de la incidencia de plaguicidas y de cargas hidráulicas en una zona de campo de golf de la Riviera Maya [Tesis]. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/367/1/PCA_M_Tesis_2016_Carballo_Rocio.pdf
- Carvajal Ibáñez, Ch; Ordenes Carrasco, S; Henríquez Morales, P; Cabañas Oyarzún, P. y Gandarillas Pardo, M. (2022). Universidad Andrés Bello Facultad de Ciencias de la Vida. Informe Final. Pp. 29. Universidad Andrés Bello. Recuperado de: https://www.subpesca.cl/fipa/613/articles-108413_informe_final.pdf
- Carrillo L; Johns M; Smith R; Lamkin J y Largier J. (2015). Pathways and Hydrography in the Mesoamerican Barrier Reef System Part 1: Circulation. Continental Shelf Research 109 (2015) 164–176
- Carrillo L; Johns E.M; Smith R.H; Lamkin J.T. y Largier J.L. (2016). Pathways and hydrography in the Mesoamerican Barrier Reef System Part 2: Water masses and thermohaline structure. Continental Shelf Research 120 (2016) 41–58. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.csr.2015.09.014>
- Data Analytics Core Group. (2020). ANOVA: What is Analysis of Variance, Examples, Types and Assumptions. Recuperado de: <https://dacg.in/2020/03/27/anova-analysis-variance-examples-types-assumptions/>

- Daza, L y Montenegro, S. (2018). Uso del gen Citocromo Oxidasa I (COI) y código de barras en estudios de genética y biología molecular para la identificación de especies animales. Escuela de ciencias agrícolas, pecuarias y del medio ambiente. Fusagasugá. Recuperado de: <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/21038/1049620140.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Dirección General Adjunta de Oceanografía, Hidrografía y Meteorología. (s.f.). Champotón, Campeche. Recuperado de: <https://digaohm.semar.gob.mx/derrotero/cuestionarios/cnarioChampoton.pdf>
- Dirección General Adjunta de Oceanografía, Hidrografía y Meteorología. (s.f.). Celestún, Yucatán. Recuperado de: <https://digaohm.semar.gob.mx/derrotero/cuestionarios/cnarioCelestun.pdf>
- Dirección General Adjunta de Oceanografía, Hidrografía y Meteorología. (s.f.). Isla Holbox, Quintana Roo. Recuperado de: <https://digaohm.semar.gob.mx/cuestionarios/cnarioholbox.pdf>
- Domínguez Contreras, J.; Ceballos Vázquez, B y Munguía Vega, A. (2015). Distribución actual y conectividad genética de poblaciones de pulpo en el noroeste de México. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias marinas (CICIMAR-IPN). La Paz, B. C. S., México. Recuperado de: https://delfin.cicimar.ipn.mx/Biblioteca/Busqueda/Tesis/755?Origen=coleccion_tesis
- Eguiarte L., Souza V. y Aguirre X. (2007). Ecología Molecular. Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT. ISBN 978-968-817-839-3
- Expósito Díaz, G; Salas de León, D; Monreal Gómez, M; Salas Monreal, D. y Vázquez Gutiérrez, F. (2009). Corrientes inerciales en el sur del Golfo de México. Ciencias marinas, 35(3), 287-296. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-38802009000300004&lng=es&tlng=es.
- Flores Valle, A; Pliego Cárdenas, R; Jiménez Badillo, M; Arredondo Figueroa, J. y Barriga Sosa, I. (2018). Primer registro de *Octopus insularis* Leite y Haimovici, 2008 en la pesquería de pulpo de un marino área protegida en el Golfo de México. Journal of Shellfish Research 37(1), 221-227. Recuperado de: <https://doi.org/10.2983/035.037.0120>
- Fourdrilis, S., Frias Martins, A. y Backeljau T. (2018). Relation between mitochondrial DNA hyperdiversity, mutation rate and mitochondrial genome evolution in Melarhaphe neritoides (Gastropoda: Littorinidae) and other Caenogastropoda. Scientific Reports. DOI:10.1038/s41598-018-36428-7
- Forster, J. W., E. S. Jones, R. Kolliker, M. C. Drayton, J. L. Dumsday, M. P. Dupal, K. M. Guthridge, N. L. Mahoney, E. Van Zijll de Jong y K. F. Smith. (2001). Development and

- implementation of molecular markers for forage crop improvement. In: G. Spangenberg (ed.), Molecular breeding of forage crops, pp. 101-133. Springer Netherlands, Dordrecht.
- González Gómez, R. (2021). Aspectos morfológicos, biológicos y ecológicos del pulpo común del Sistema Arrecifal Veracruzano. Universidad Veracruzana. Instituto de Ciencias Marinas y Pesquerías. Región Veracruz. Recuperado de: <https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/1944/52653/GonzalezGomezRoberto.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Hickman, C. P. (Ed.). (2008). Integrated principles of zoology (14th ed). McGraw-Hill/Higher Education. ISBN 978-0-07-297004-3
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), (2010). Compendio de información geográfica municipal 2010 Champotón, Campeche. Recuperado de: https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/04/04004.pdf
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), (2010). Compendio de información geográfica municipal 2010 Celestún, Yucatán. https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/31/31011.pdf
- Instituto Nacional de Pesca. (2014). Plan de Manejo Pesquero de Pulpo en el Golfo de México y Mar Caribe. Gobierno de México. Recuperado de: <https://www.inapesca.gob.mx/portal/documentos/Planes-de-Manejo-Pesquero/Golfo/Plan-de-Manejo-Pesquero-de-Pulpo.pdf>
- Juárez, O; Rosas, C y Arena Ortiz, M. (2012). Relaciones filogenéticas de *Octopus maya* inferidas a partir de secuencias de ADNmt. Ciencias marinas, 38(3), 563-575. Recuperado de: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-38802012000400008
- Juárez Valdez, O. (2011). Identificación de la unidad de *Octopus maya* utilizando microsatélites. Ensenada, Baja California. Universidad autónoma de Baja California Facultad de Ciencias Marinas. En Ecología Molecular y Biotecnología. Recuperado de: <https://repositorioinstitucional.uabc.mx/server/api/core/bitstreams/98f1b6ff-184f-4a50-abd6-7a86ccf35e4c/content>
- Kastner, S. E; Pawlak, G; Giddings, S.N; Adelson, A.N; Collin, R y Davis, K.A. (2024). The Influence of Caribbean Current Eddies on Coastal Circulation in the Southwest Caribbean Sea. © 2024 American Meteorological Society. Recuperado de: <https://journals.ametsoc.org/view/journals/phoc/54/10/JPO-D-24-0049.1.xml>
- Kit de extracción:
- <https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/technical-documents/protocol/genomics/dna-and-rna-purification/genelute-mammalian-genomic-dna-miniprep-kit>

- Librado, P., y Rozas, J. (2009). DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452
- León Pech, M. (2015). Análisis comparativo de los patrones de conectividad genética de especies arrecifales del Pacífico mexicano. (Inventario:29793) [Tesis doctoral Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. CICESE]. Biblioteca CICESE.
- López, A. (2009). Conectividad demográfica de *Pocillopora verrucosa* (Anthozoa: Scleractinia) en el Pacífico Mexicano. [Tesis]. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE). pp. 1,2.
- Miralles, Puigserver, P. (2022). COI Como indicador de la diversidad genética para evaluar la eficacia de zonas marinas protegidas: *Octopus vulgaris* como especie modelo. Trabajo de fin de grado.pp.12 Universitat de les Illes Balears.
- Moritz, C.1994. Defining evolutionary significant units for conservation. *Trends Ecol. Evol.* 9: 373-375.
- Ontiveros, M. (2014). Preferencia térmica del pulpo *Octopus bimaculoides*. CICESE. Recuperado de: <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/118/1/234561.pdf>
- Puentes, S. (2021). Patrón filogeográfico del pulpo común *Octopus insulares* en el Caribe de Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Instituto de Estudio en Ciencias del mar (CECIMAR). San Andrés (Isla), Colombia. Recuperado de: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/81142/1018467742.2021%20%282%29.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Prosser, S., Martínez Arce, A., y Elías Gutiérrez, M. (2013). A new set of primers for COI amplification from freshwater microcrustaceans *Molecular Ecology Resources*. Doi: 10.1111/1755-0998.12132
- Quinteiro, J., Rey Méndez, M., Rodríguez Castro, J y González Henríquez, N. (2020). Filogeografía de las poblaciones insulares de pulpo común, *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797, en la Macaronesia atlántica.<https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0230294&type=printable>
- Rosas Vázquez, C. (2024). El calentamiento global y el pulpo *Octopus maya* de Yucatán. Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación (Sisal, Yucatán), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) Recuperado de: <https://conahcyt.mx/el-calentamiento-global-y-el-pulpo-octopus-maya-de-yucatan/#:~:text=Durante%20este%20tiempo%20hemos%20descubierto,el%20desarrollo%20de%20los%20embriones.>

- Rozas, J., Ferrer Mata. A., Sánchez Del Barrio, J.C., Guirao-Rico. S., Librado, P., Ramos-Onsins S.E., Sánchez Gracia, A. (2017). DnaSP v6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Mol. Biol. Evol.* 34: 3299-3302 (2017).
- Secretaría de Manejo Reserva de la Biosfera Caribe Mexicano. (2019). Programa de manejo. Reserva de la Biosfera Caribe Mexicano. Primera edición. Recuperado de: <https://www.conanp.gob.mx/programademanejo/PMCaribeMexicano.pdf>
- Stefenon V.M; Klabunde G; Matielo R. P; Rogalski M. y Onofre R. (2019). Phylogeography of plastid DNA sequences suggests post-glacial southward demographic expansion and the existence of several glacial refugia for *Araucaria angustifolia*. *Scientific Reports*. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/331350417_Phylogeography_of_plastid_DNA_sequences_suggests_post-glacial_southward_demographic_expansion_and_the_existence_of_several_glacial_refugia_for_Araucaria_angustifolia
- Sustainable fisheries. (2019). ES - Fishery Science—Sustainable Fisheries UW. Recuperado de: <https://sustainablefisheries-uw.org/seafood-101-es/ciencia-pesquera/>
- Tello Cetina, J; Garrido Balam, M; Cruz Pérez, F; Jiménez Suaste, N; Mota Pino, L y Arencibia Carballo, G. (2021). Genetic Structure and Gene Flow of *Octopus maya* (Mollusca: Cephalopoda) in the States of Yucatan and Campeche, Mexico. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*. DOI: 10.34188/bjaerv4n3-044
- Tripp Valdez, M. Á. (2009). Análisis de la estructura genética poblacional del Dorado (*Coryphaena hippurus*; Linnaeus, 1758) en el noroeste del Pacífico mexicano y Golfo de California mediante el uso de microsatélite. Centro de investigaciones biológicas del noroeste, S.C. La Paz, B.C.S.
- Universidad Tecnológica de Pereira. (2015). Marcadores genéticos. Recuperado de: <https://blog.utp.edu.co/genetica/files/2015/09/MARCADORES-GENETICOS-Y-APLICACIONES.pdf>
- Varela Vantón, A. (2016). Desarrollo, evaluación y aplicación de marcadores moleculares para el análisis genético de la coquina *Donax trunculus* [Tesis doctoral]. Universidade da Coruña. Departamento de Biología Celular e Molecular. pp: 39,109, 139. Recuperado de: <https://ruc.udc.es/dspace/handle/2183/16185>
- Villanueva, N., Rocío, M. y Defeo, O. (2001). Crecimiento del pulpo *Octopus maya* (Mollusca: Cephalopoda) de la costa de Yucatán, México: un análisis de largo plazo. *Revista de Biología Tropical*, 49 (1), 93-101. Recuperado de

http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442001000100010&lng=en&tlng=es.

Yucatan.gob.mx. (s.f). Celestún. Recuperado de: <https://www.yucatan.gob.mx/?p=celestun>

Zamora R., Rodríguez R., García de León FJ., y Tello J. (2011). Diversidad genética de dos poblaciones del caracol *Strombus gigas* (Gastropoda: Strombidae) en Yucatán, México, con microsatélite [Genetic diversity in two populations of the snail *Strombus gigas* (Gastropoda: Strombidae) from Yucatan, Mexico, using microsatellite]. *Rev Biol Trop*. 2011 Sep;59(3):1127-34. Spanish. PMID: 22017119.