

Etiquetado genético (DNA-barcoding) de especímenes de pulpo, *Octopus* spp., de la costa de Ecuador

Quinteiro J.¹, Melena J.², Santander R.², González-Henríquez N.^{3,4} & Rey-Méndez M.¹

¹Laboratorio de Sistemática Molecular, Departamento de Bioquímica e Biología Molecular, Universidade de Santiago de Compostela. CIBUS, Campus Vida, 15782-Santiago de Compostela, A Coruña, Spain.

²CIBPA, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Estatal Península de Santa Elena, Ecuador.

³INCYT, Investigadora Prometeo. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Estatal Península de Santa Elena, Ecuador

⁴Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Departamento de Biología, Campus de Tafira, Las Palmas de Gran Canaria, 35017 Las Palmas, Spain

RESUMEN

La utilización de códigos de barras de ADN, permite obtener marcadores universales útiles para la inferencia de la taxonomía molecular y los patrones filogenéticos de la biodiversidad. En el Pacífico Oriental de la costa de Ecuador hay varias especies de pulpo, Octopoda, no siempre bien caracterizadas. Una de las especies, similar a *Octopus vulgaris* y de relevancia para la pesca y la acuicultura, se denomina “pulpo sureño” (*Octopus mimus* Gould, 1852), pero los haplotipos detectados en muestras de la costa ecuatoriana son idénticos a los descritos para *Octopus hubbsorum* Berry, 1953, con una distribución norteña. En consecuencia, el estatus taxonómico de ambas especies se debe aclarar con datos moleculares adicionales. La otra especie, el denominado “pulpo tigre”, se asemeja a *Octopus chierchiaie* Jatta, 1889, pero que carece todavía de una descripción formal, ha sido identificado en la península de Santa Elena, proporcionando una nueva cita, más al sur, para esta rara especie.

PALABRAS CLAVE

Código de barras de ADN, COX1, Pacífico Oriental, Ecuador, *Octopus*

INTRODUCCIÓN

En la costa del Pacífico, incluyendo la costa ecuatoriana, existen varias especies de pulpos, Octopoda, no siempre bien caracterizadas y que presentan tanto una elevada abundancia como escasez, siendo alguna de ellas casi desconocidas (Roper et al., 1984). El pulpo *Octopus mimus* Gould, 1852, fue descrito como una especie de aguas poco profundas similar a *Octopus vulgaris*, con distribución a lo largo de la costa norte de Chile y Perú en el océano Pacífico sudoriental (Cortés et al., 1999). En la costa nororiental, el pulpo *Octopus hubbsorum* Berry, 1953, se encuentra en el Golfo de California y a lo largo de la costa del Pacífico de México (López-Uriarte et al., 2005). Sin embargo se ha sugerido, basándose en datos moleculares mitocondriales, que ambos taxones podrían pertenecer a la misma especie (Pliego-Cárdenas et al., 2014). En Ecuador, la especie similar a *Octopus vulgaris*, se cita como *Octopus mimus*, aunque está fuera de la zona de distribución previamente definida para esa especie.

Recientemente, el “pulpo tigre” ha sido redescubierto y únicamente se han descrito los patrones de comportamiento y color corporal en especímenes de acuario, pero sin una descripción formal. Esta rara especie, que se asemeja a *Octopus chierchiae* Jatta, 1889, se ha detectado en la Bahía de Panamá, la costa norte del Pacífico de Colombia, Guatemala y Magdalena Bay (Baja California Sur, México) (Caldwell et al., 2015).

La incertidumbre asociada con estas dos especies de pulpo que habitan en la costa de Ecuador, exige una evaluación preliminar y básica, pero informativa, de su posición taxonómica y filogenética. En el caso de *O. mimus*, es necesario confirmar la relación de estos especímenes geográficamente intermedios en relación con los linajes sur y norte descritos como *O. mimus* y *O. hubbsorum*, respectivamente. Cuando se considera el raro “pulpo tigre”, es obligado proporcionar el marcador universal COX1 como la primera información genética de este taxón sin describir formalmente, e inferir su relación respecto a las especies de Octopoda con datos disponibles en repositorios públicos genéticos.

No siempre existe una correlación entre la abundancia de una determinada especie en un área y la disponibilidad de marcadores genéticos para ella y su caracterización genética. En el presente trabajo se utiliza el marcador mitocondrial COX1, de uso en DNA-barcoding, para una especie común, de interés pesquero y acuícola, y para una especie poco frecuente, con el objetivo de validar molecularmente su posición taxonómica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras (Tabla I) analizadas de la costa ecuatoriana han sido morfológicamente identificadas como *Octopus mimus*, incluyendo individuos de dos localizaciones de la costa ecuatoriana (Fig. 1). La segunda especie es denominada comúnmente como “pulpo tigre”, pero se carece de información taxonómica sobre ella (Fig. 2).

Tabla I.- Listado de especímenes de pulpos (Octopoda) para análisis.

| Especie | Localización | Fecha | Muestreador | Código |
|----------------------|--------------|----------------|------------------------|----------|
| <i>Octopus mimus</i> | Ballenita | Diciembre 2014 | M. Rey/N. González | Omim B1 |
| | | | | Omim B2 |
| | | | | Omim B3 |
| | | | | Omim B4 |
| | | | | Omim B5 |
| <i>Octopus mimus</i> | Palmar | Enero 2015 | J. Melena/R. Santander | Omim M1 |
| | | | | Omim M2 |
| | | | | Omim M3 |
| | | | | Omim M4 |
| | | | | Omim M5 |
| “Pulpo tigre” | Palmar | Enero 2015 | J. Melena | OCTsp T1 |

A partir del tejido se ha procedido al aislamiento del ADN total, amplificación y secuenciación de un fragmento del gen mitocondrial COX1, mediante metodologías previamente descritas (Quinteiro *et al.*, 2012).

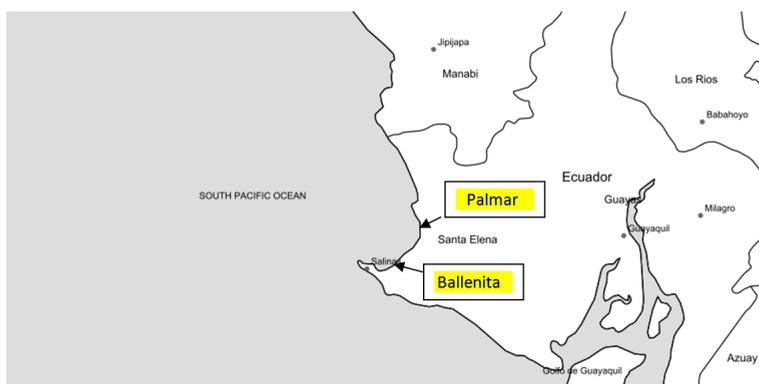


Figura 1.- Localización del área de muestreo en la provincia de Santa Elena (Ecuador).



Figura 2.- Imagen de “pulpo tigre” (Larger Pacific Striped Octopus), capturado en aguas de Ecuador.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las muestras clasificadas como *O. mimus*, las secuencias obtenidas a partir de la amplificación con los cebadores OvulCOX1F y Ovul COX1R (Quinteiro et al., en prep.) tienen una longitud de 638pb, habiéndose detectado únicamente dos haplotipos que difieren en una transición en una única posición. Estos haplotipos muestran un rango de similitud en BOLD (<http://www.boldsystems.org/>) entre 100% y 99,84%, respecto a *Octopus hubbsorum* de la costa nordeste del Pacífico (México y Colombia). Los haplotipos detectados se agrupan en el clado que contienen las secuencias de *O. hubbsorum*, con distribución al norte de Ecuador y que es el clado hermano y muy cercano de las muestras depositadas y disponibles en el GenBank, pertenecientes a *O. mimus* (Fig. 3). Las escasas secuencias COX1 analizadas, las únicas disponibles en las bases de datos públicas, son de individuos de Coloso (Chile) y Callao (Perú) (Acosta-Jofré et al. 2012). En consecuencia las muestras analizadas serían identificadas como *Octopus hubbsorum* Berry, 1953.

La identificación taxonómica de las muestras analizadas depende de la validez del taxa *Octopus hubbsorum*. En el caso de que se consideren a *O. hubbsorum* y *O. mimus* miembros del mismo linaje, representando probablemente la diversidad intra-específica dentro de un único taxón (Pliego-Cárdenas et al., 2014), las muestras analizadas estarían incluidas dentro de esa unidad taxonómica. Sin embargo, en la actualidad, *Octopus hubbsorum* Berry, 1953, es reconocido como un taxón válido.

La ausencia de datos nucleares, de estudios de diversidad intra-específica y de estructura poblacional, no permiten evaluar entre hipótesis alternativas: i) Un único taxa (*O. mimus*?) a lo largo de la costa este del Pacífico con una elevada diversidad intraespecífica y probable estructura genética, ii) La existencia de un taxa al sur del Ecuador (*O. mimus*) y un clado al norte (*O. hubbsorum*), al cual pertenecerían las muestras que se analizaron en este trabajo.

La secuencia obtenida de “pulpo tigre” (Larger Pacific Striped Octopus) no presenta homologías significativas (>90%) en BLAST con ninguna especie. Como especie más próxima filogenéticamente puede considerarse a *Octopus chierchiae* (Lesser Pacific Striped Octopus). Esta especie está pendiente de una formal descripción taxonómica.

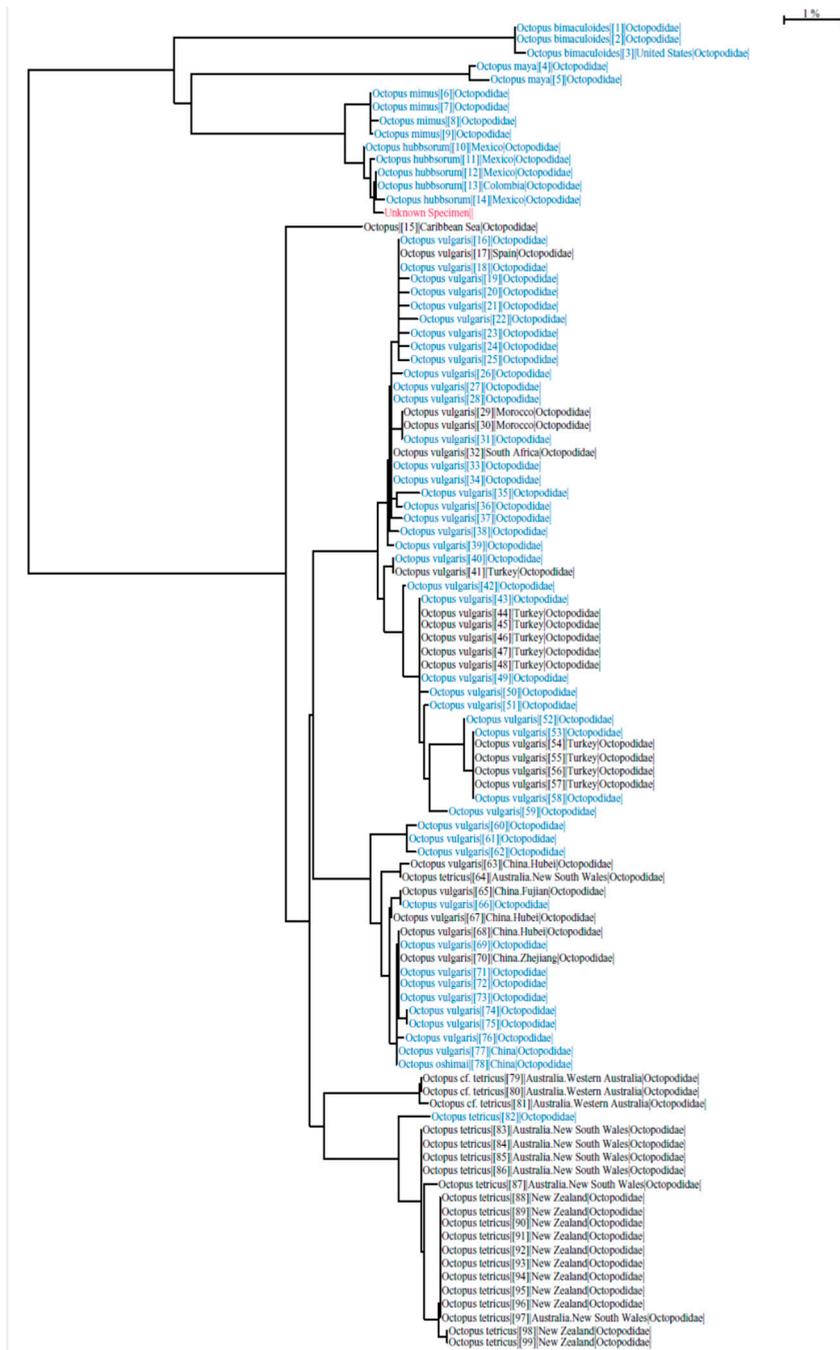


Figura 3.- Identificación basada en un árbol filogenético según el algoritmo BOLD y utilizando uno de los haplotipos detectados (En color rojo).

AGRADECIMIENTOS

Parte de este trabajo fue financiado por el Proyecto PROMETEO-SENESCYT (Ecuador).

REFERENCIAS

- Acosta-Jofré M.S., Sahade R., Laudien J., Chiappero M.B., 2012. A contribution to the understanding of phylogenetic relationships among species of the genus *Octopus* (Octopodidae: Cephalopoda). *Sci Mar* 76: 311-318.
- Caldwell R.L., Ross R., Rodaniche A., Huffard C.L., 2015. Behavior and Body Patterns of the Larger Pacific Striped Octopus. *PLoS ONE*, 10:e0134152.
- Cortés T., Guerra A., Rocha F., 1999. Redescrpción del pulpo de los Changos, *Octopus mimus* Gould, 1852, del litoral chileno-peruano (Mollusca, Cephalopoda). *Iberus* 17:37-57.
- López-Urriarte E., Ríos-Jara E., Pérez-Peña M., 2005. Range extension for *Octopus hubbsorum* (Mollusca: Octopodidae) in the Mexican Pacific. *Bull. Mar. Sci.* 77:171-176.
- Pliego-Cárdenas R., Hochberg F.G., León F.J.G.D., Barriga-Sosa I.D.L.A., 2014. Close Genetic Relationships between Two American Octopuses: *Octopus hubbsorum* Berry, 1953, and *Octopus mimus* Gould, 1852. *J Shellfish Res* 33: 293-303 doi 10.2983/035.033.0128
- Quinteiro J., Manent P., Assunção P., Medina C., Sarmiento R., 2015. Guía de procedimientos y protocolos genéticos de especies marinas. Edit. González N. & Rey-Méndez M. *BIOMOL Revisión* N° 1 (marzo 2015), 57 pp.
- Roper C.F.E., Sweeney M.J., Nauen C.E., 1984. *FAO species catalogue. Vol. 3. Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of species of interest to fisheries.*

Etiquetado genético (DNA-barcoding) de especímenes de pulpo, *Octopus spp.*, de la costa de Ecuador

Quintero J.¹, Melena J.², Santander R.³, González-Henríquez N.^{3,4} & Rey-Méndez M.¹



¹Laboratorio de Sistemática Molecular, Departamento de Bioquímica e Biotecnología Molecular, Universidad de Santiago de Compostela, CIBUS, Campus Vida, 15782-Santiago de Compostela, A Coruña, Spain.

²OBPA, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Estatal Península de Santa Elena, Ecuador.

³INCVI, Investigadora Promotora, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Estatal Península de Santa Elena, Ecuador.

⁴Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Departamento de Biología, Campus de Tafira, Las Palmas de Gran Canaria, 35017 Las Palmas, Spain.

Introducción

En la costa del Pacífico, incluyendo la costa ecuatoriana, existen varias especies de pulpos. Octopoda, no siempre bien caracterizadas y que presentan tanto una elevada abundancia como escasas, siendo alguna de ellas casi desconocidas (Roper, et al. 1989).

No siempre existe una correlación entre la abundancia de una determinada especie en un área y la disponibilidad de marcadores genéticos para ella y su caracterización genética.

En el presente trabajo se utiliza el marcador mitocondrial COX1, de uso en DNA-barcoding, para una especie común, de interés pesquero y acuícola, y para una especie poco frecuente, con el objetivo de validar molecularmente su posición taxonómica.

Materiales y Métodos

Las muestras (Tabla 1) analizadas de la costa ecuatoriana han sido morfológicamente identificadas como *Octopus mimus*, incluyendo individuos de 2 localizaciones de la costa ecuatoriana. La segunda especie es denominada comúnmente como pulpo tigre, pero se carece de información taxonómica sobre ella (Fig. 1).

Tabla 1. Lista de especímenes de pulpo (Octopoda) para análisis.

| Especie | Localización | Fecha | Mostrador | Código |
|----------------|-----------------------|----------------|---------------------|-----------|
| Chiquero menor | Bañetas | Diciembre 2014 | M. Rey, N. González | Octim B1 |
| | | | | Octim B2 |
| | | | | Octim B3 |
| | | | | Octim B4 |
| | | | | Octim B5 |
| Enano 2015 | J. Melena & Santander | Enero 2015 | M. Melena | Octim M1 |
| | | | | Octim M2 |
| | | | | Octim M3 |
| | | | | Octim M4 |
| | | | | Octim M5 |
| "Pulpo tigre" | Palmar | Enero 2015 | J. Melena | OC-Tig T1 |

A partir del tejido se ha procedido al aislamiento del ADN total, amplificación y secuenciación de un fragmento del gen mitocondrial COX1, mediante metodologías previamente descritas (Quintero et al. 2012).



Figura 1. Localización del área de muestreo en la costa ecuatoriana.

Referencias

Aeola-Johí M.S., Salazar K., Lindén L., Chapparo MB (2012) A contribution to the understanding of phylogenetic relationships among species of the genus *Octopus* (Cephalopoda: Octopoda). *Sci Mar* 76(1):76-87.

Phelps-Cáceres R., Hochberg FC, León PFD, Beraga-Soto OA (2015) Clave Clásica: Relaciones entre las especies de pulpos (Cephalopoda: Octopoda) de Ecuador. *Revista Científica de la Universidad de las Américas del Ecuador* 15(1):1-12.

Quintero J., Melena J., Santander R. (2012) DNA barcoding and genetic diversity of species of the genus *Octopus* (Cephalopoda: Octopoda) from the Pacific coast of Ecuador. *Revista Científica de la Universidad de las Américas del Ecuador* 12(1):1-12.

Roper C.F., Sauer G., Boman C. (1989) *Field guide to the octopods of the world: An annotated and illustrated catalogue of species of interest to fisheries*. IAGLR.



Figura 2. Imagen de pulpo tigre (Large Pacific Striped Octopus), capturado en aguas de Ecuador.



Figura 3. Localización de las muestras de *Octopus hubbsorum*, a partir de las cuales se han obtenido secuencias informativas de barcoding.

Resultados y Discusión

En las muestras clasificadas como *O. mimus*, la secuencia obtenida a partir de la amplificación con los cebadores OvuCOX1F y OvuCOX1R (Quintero et al., en prep.) tienen una longitud de 638pb, habiéndose detectado únicamente 2 haplotipos que difieren en una transición en una única posición.

Estos haplotipos muestran un rango de similitud en BOLD (<http://www.boldsystems.org>) entre 100% y 99.84%, respecto a *Octopus hubbsorum* de las costas noreste del Pacífico (México y Colombia). Los haplotipos detectados se agrupan en el clado que contienen las secuencias de *O. hubbsorum*, con distribución al norte de Ecuador (Fig. 2) y que es el clado hermano y muy cercano de las muestras depositadas y disponibles en el GenBank, pertenecientes a *O. mimus* (Fig. 3). Las escasas secuencias COX1 analizadas, las únicas disponibles en las bases de datos públicas, son de individuos de Colono (Chile) y Callao (Perú) (Gómez-Jedre et al. 2013).

En consecuencia las muestras analizadas serían identificadas como *Octopus hubbsorum* Berry, 1953. (Fig. 3)

La identificación taxonómica de las muestras analizadas depende de la validez del taxa *Octopus hubbsorum*. En el caso de que se consideren a *O. hubbsorum* y *O. mimus* miembros del mismo linaje, representando probablemente la diversidad intra-específica dentro de un único taxa (Cisneros-Carbón et al. 2014), las muestras analizadas estarían incluidas dentro de ese taxa. Sin embargo, en la actualidad, *Octopus hubbsorum* Berry, 1953 es reconocido como un taxa válido.

La ausencia de datos nucleares, de estudios de diversidad intra-específica y de estructura poblacional, no permiten evaluar entre hipótesis alternativas i) Un único taxa (*O. mimus*) a lo largo de la costa este del Pacífico con una diversidad intra-específica y probable estructura genética. ii) La existencia de un taxa al sur del Ecuador (*O. mimus*) y un clado al norte (*O. hubbsorum*), al cual pertenecerían las muestras que se analizaron en este trabajo.

La secuencia obtenida de "pulpo tigre" (Large Pacific Striped Octopus) no presenta homología significativa (>90%) en BLAST con ninguna especie. Como especie más próxima filogenéticamente puede considerarse a *Octopus chierchiae* (Lesser Pacific Striped Octopus). Esta especie está pendiente de una formal descripción taxonómica.

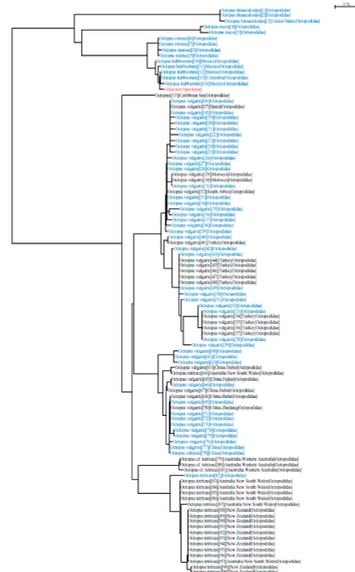


Figura 3. Identificación basada en un algoritmo filogenético según el algoritmo BLAST y utilizando uno de los haplotipos detectados (En color rojo).