



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



REVISIÓN TAXONÓMICA DE LA FAMILIA LOLIGINIDAE (SUBORDEN: MYOPSIDA) DE LA COSTA DE TAMAULIPAS, GOLFO DE MÉXICO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

PRESENTA

MARIANA DÍAZ SANTANA ITURRÍOS

LA PAZ, B. C. S., DICIEMBRE DE 2014



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 18 del mes de noviembre del 2014 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

“REVISIÓN TAXONÓMICA DE LA FAMILIA LOLIGINIDAE (SUBORDEN: MYOPSIDA) DE LA COSTA DE TAMAULIPAS, GOLFO DE MÉXICO”

Presentada por el alumno:

DÍAZ SANTANA
Apellido paterno

ITURRIOS
materno

MARIANA
nombre(s)

Con registro:

Table with 7 columns containing the numbers: B, 1, 2, 1, 2, 3, 3

Aspirante de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Directores de Tesis

DR. FRANCISCO JAVIER GARCÍA RODRÍGUEZ
Director de Tesis

DR. CÉSAR AUGUSTO SALINAS ZAVALA
2º. Director de Tesis

DR. FEDERICO ANDRÉS GARCÍA DOMÍNGUEZ

DR. JOSÉ DE LA CRUZ AGÜERO

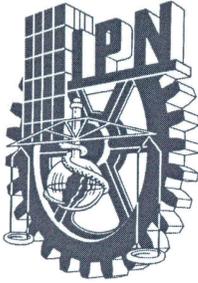
DRA. JASMIN GRANADOS AMORES



PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES IPN

CICIMAR
DIRECCION

DRA. MARÍA MARGARITA CASAS VALDEZ



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 25 del mes noviembre del año 2014
el (la) que suscribe BM. MARIANA DIAZ SANTANA ITURRIOS alumno(a) del
Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS
con número de registro B121233 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS
manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:
DR. FRANCISCO JAVIER GARCÍA RODRÍGUEZ y DR. CÉSAR AUGUSTO SALINAS ZAVALA
y cede los derechos del trabajo titulado:

"REVISIÓN TAXONÓMICA DE LA FAMILIA LOLIGINIDAE
(SUBORDEN: MYOPSIDA) DE LA COSTA DE TAMAULIPAS, GOLFO DE MÉXICO"

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: mariana_dsi86@hotmail.com - csalinas@cibnor.mx - figarcia@ipn.mx

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

BM. MARIANA DIAZ SANTANA ITURRIOS

nombre y firma

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por el apoyo en mi trayectoria académica.

A CONACyT, COSCyT y BEIFI por los fondos económicos durante el periodo de estudio de esta maestría.

Al comité tutorial, Dr. Francisco J. García-Rodríguez y Dr. José de la Cruz-Agüero, no existen palabras para describir lo agradecida que estoy con ustedes por lo mucho que me han enseñado de manera incondicional. Dr. César A. Salinas-Zavala y Dra. Jasmín Granados-Amores gracias por permitirme adentrarme en el conocimiento de los cefalópodos y por el gran impulso en el desempeño académico que ustedes me han otorgado. Dr. Federico A. García-Domínguez agradezco su orientación en el momento de la toma de decisiones en los imprevistos del estudio.

Al Dr. Michael Vecchione por permitirme el acceso a organismos de museo, su asesoría y aporte de información.

A mis amistades, Dra. Griselda M. Rodríguez-Figueroa, M.C. Viridiana Y. Zepeda-Benitez, M.C. Sonia S. Valencia-Agami, B.M. María Moreno-Alcántara, Ing.C.A. Elisa Robles-Rojas y A.A. Astrid Moncaleano-Rubio por acompañarme en la resolución de problemas o dudas durante este estudio.

Al laboratorio de cefalópodos del CIBNOR, a la Colección Ictiológica del IPN-CICIMAR y al laboratorio de genética y morfometría del IPN-CICIMAR por la disposición de espacio y material para realizar los análisis de esta tesis.

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes	3
1.2 Justificación	7
1.3 Objetivo general	9
1.4 Objetivos particulares	9
2. MATERIALES Y MÉTODOS	9
2.1 Área de estudio	9
2.2 Obtención del material biológico e identificación morfológica	10
2.3 Análisis genético	12
2.4 Análisis de morfometría tradicional	14
2.5 Análisis de morfometría geométrica de estatolitos	16
3. RESULTADOS	18
3.1 Identificación morfológica	18
3.2 Análisis genético	19
3.3 Análisis de morfometría tradicional	22
3.4 Análisis de morfometría geométrica de estatolitos	25
4. DISCUSIÓN	30
4.1 Identificación morfológica	30
4.2 Análisis genético	33
4.3 Análisis de morfometría tradicional	35
4.4 Análisis de morfometría geométrica de estatolitos	38
4.5 Integración de los hallazgos morfométricos y genéticos	39
4.6 Conclusiones	40
5. LITERATURA CITADA	41

RELACIÓN DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Costa de Tamaulipas localizada al noreste de México entre los 22°12'31" y 27°40'42" latitud norte y 97°08'38" y 100°08'51" longitud oeste.	10
Figura 2	Diagrama que muestra las características que se observan cuando las ventosas se modifican en el hectocotilo de un macho de la familia Loliginidae.	12
Figura 3	Diagrama de medidas morfométricas del cuerpo de los calamares (tomado de Granados-Amores <i>et al.</i> , 2014). Abreviaturas: A) HL , longitud de la cabeza, HW , ancho de la cabeza, ED , diámetro del ojo, MW , ancho del manto, ML , longitud del manto, FW , ancho de las aletas, LFL , longitud de la aleta izquierda, RFL , longitud de la aleta derecha; B) TCL , longitud del club tentacular, TL , longitud del tentáculo, IAL , longitud del brazo I, IIAL , longitud del brazo II, IIIAL , longitud del brazo III, IVAL , longitud del brazo IV, H , longitud del hectocotilo, FL , longitud del sifón, FuW , ancho del sifón.	15
Figura 4	A) diagrama generalizado de un estatolito de calamares (vista anterior) y sus términos básicos (modificado de Clarke, 1978). B) diagrama que muestra la ubicación de las marcas <i>landmarks</i> ● y <i>semilandmarks</i> □, asignadas para las comparaciones morfométricas.	17
Figura 5	Frecuencias de ocurrencia de concordancia y no concordancia del acomodo y modificaciones de las ventosas de los hectocotilos para cada especie con respecto a las descripciones de Brakoniecki (1986).	19

Figura 6	Cladograma construido utilizando el método de Neighbor-Joining y reconstruido de secuencias de un fragmento (600 pb) del gen mitocondrial COI. Dpl= <i>Doryteuthis pealeii</i> ; Dp= <i>Doryteuthis plei</i> ; Lb= <i>Lolliguncula brevis</i> .	21
Figura 7	Distribución de los valores morfométricos del cuerpo de los calamares a partir del CVA.	23
Figura 8	Dendrograma generado con base en las distancias cuadráticas de Mahalanobis de acuerdo con el análisis de morfometría tradicional.	24
Figura 9	Distribución de los valores de deformaciones parciales a partir del CVA de las especies mediante morfometría geométrica de estatolitos.	26
Figura 10	Gradillas de deformación representando la forma promedio característica de cada especie. a) <i>Lolliguncula brevis</i> ; b) <i>Doryteuthis pealeii</i> ; c) <i>Doryteuthis plei</i> .	28
Figura 11	Dendrograma generado con base en las distancias cuadráticas de Mahalanobis de acuerdo al análisis de morfometría geométrica de estatolitos.	29

LISTA DE TABLAS

		Página
Tabla I	Tamaño de muestra y fechas de recolecta de los calamares revisados por estrategia de análisis.	11
Tabla II	Número de calamares macho y de hectocotilos descritos por especie.	12
Tabla III	Matriz de porcentajes de divergencia entre secuencias de las especies calculada con el modelo Kimura 2-parámetros.	22
Tabla IV	Matriz de clasificación de las especies de la familia Loliginidae de acuerdo al análisis de morfometría tradicional.	23
Tabla V	Matriz de correlación de variables y factores del CVA de loliginidos de la costa de Tamaulipas. Las variables con mayor contribución resaltadas en negrita.	24
Tabla VI	Matriz de distancias cuadráticas de Mahalanobis de acuerdo con el análisis de morfometría tradicional.	25
Tabla VII	Valores morfométricos del cuerpo de los calamares evaluados mediante el MANOVA.	25
Tabla VIII	Matriz de clasificación de las especies de la familia Loliginidae de acuerdo al análisis de morfometría geométrica de estatolitos.	26
Tabla XIX	Matriz de distancias cuadráticas de Mahalanobis de acuerdo al análisis de morfometría geométrica de estatolitos.	29

GLOSARIO

A

ADN: Ácido desoxirribonucleico, es una molécula que codifica las instrucciones genéticas usadas en el desarrollo y funcionamiento de los organismos.

Advección: Transporte (generalmente horizontal) de una propiedad (e.g., calor) por efecto del movimiento de un fluido.

Alineación: Unión del iniciador a la cadena de ADN para el inicio de la replicación.

Amplificación: Replicación sucesiva de un mismo fragmento de ADN.

C

Cephalopoda: Clase dentro de los moluscos que se caracteriza por tener simetría bilateral, una "concha interna" o ausencia de la misma (exceptuando los nautilus), cabeza anterior, apéndices y sifón, manto posterior, cavidad del manto con órganos y aletas cuando están presentes.

Cladograma: Diagrama que esquematiza a filogenia o historia evolutiva más probable de un grupo de taxones.

Coleoidea: Subclase de la clase Cephalopoda, que incluye a los organismos de concha interna modificada, reducida o ausente y que presentan un par de branquias y de 8 a 10 apéndices circunmorales.

D

Dendrograma: Representación gráfica de las agrupaciones derivadas de la aplicación de un algoritmo de agrupación.

Distancia genética: Medida de la diferencia del material genético entre distintas especies.

Divergencia: Separación de una reserva genética de las especies de los bancos de genes de otras especies por mutación, deriva genética y selección.

E

Estatolito: Estructura dura calcárea en el estatocisto (órgano sensorial pareado en el cartílago cefálico) que detecta la

aceleración lineal y angular y orientación.

Especie: Existe gran debate en la definición general de especie y como este concepto debe ser utilizado en la práctica; sin embargo, las especies de cefalópodos generalmente se definen por presentar distintos rasgos morfológicos que no se exhiben en ninguna de las otras especies.

Espermatóforo: Estructura tubular manufacturada por los cefalópodos machos para empacar el esperma.

Extracción: Aislamiento de ADN, que es un proceso de purificación de ADN de una muestra usando una combinación de métodos físicos y químicos.

F

Fotáctico positivo: Individuo que tiene atracción por la luz.

G

Gladio: Estructura de soporte quitinosa en forma de pluma o vara que se encuentra en la línea media dorsal de los calamares; es la homología de la concha de las formas ancestrales.

Glándula nidamental: Estructuras glandulares grandes en hembras que se encuentran y se abren directamente en la cavidad del manto. Las glándulas están compuestas de numerosas lamelas que están involucradas en la secreción de paquetes de huevos o la gelatina de las masas de huevos.

H

Hectocotilo: Brazo modificado de los calamares machos utilizado para transferir los espermatóforos a las hembras; las modificaciones de los loliginidos ocurren en las ventosas.

I

Iniciadores: Son pequeñas cadenas de nucleótidos que marcan la zona en donde va a dar inicio la replicación, también se les conoce como primers.

L

Loliginidae: Familia dentro del suborden Myopsida, que presenta en la membrana córnea transparente un poro acuífero, ventosas nunca con ganchos, membrana bucal con siete costillas que contienen ventosas en muchas especies, hembras con un solo oviducto y con glándulas nidamentales accesorias.

Longitud del manto (LM): Medida estándar de longitud en calamares, la LM se mide a lo largo de la línea media dorsal del margen anterior del manto hasta la punta posterior del cuerpo.

M

Manto: El cuerpo tipo saco o tubular carnoso (musculo) de los cefalópodos, contiene las vísceras *sensu lato*.

Morfología: Rama de la biología que se encarga del estudio de la forma y estructura de los organismos, además de sus formas estructurales específicas.

Morfometría: Estudio de la forma y estructura de los organismos.

Morfometría Geométrica: Es el análisis de la forma que utiliza las coordenadas geométricas cartesianas en lugar de variables lineales, de área o volumétricas.

Myopsida: Calamares con cada ojo cubierto por una membrana córnea transparente.

P

Paralarva: estadio de cefalópodo planctónico joven previo al de juvenil que reúne ciertos criterios ecológicos y en ocasiones morfológicos.

PCR: por sus siglas en inglés, reacción en cadena de la polimerasa, es una técnica desarrollada con la finalidad de generar una gran cantidad de copias de ADN partiendo de una copia del fragmento original.

Procedimiento Procrustes: consiste en la superimposición de los objetos a evaluar al trasladarlos óptimamente, rotarlos y escalarlos uniformemente. Es decir ajusta libremente en tamaño y

localización los objetos de tal manera que puedan ser comparables.

R

Raquis: Es el eje central engrosado que usualmente se extiende en toda la longitud del gladio.

S

Secuenciación: Conjunto de métodos y técnicas bioquímicas que tienen la finalidad de determinar el orden de los nucleótidos (A, C, G y T) en una secuencia del ADN.

Simpatria: Cuando dos especies viven en la misma área geográfica o áreas que se solapan y pueden co-ocurrir.

Surgencias: Fenómenos oceanográficos que consisten en el movimiento vertical de las masas de agua, desde niveles profundos hacia la superficie.

V

Ventosa: Estructura cónica muscular de succión en los brazos, tentáculos y membrana bucal de los calamares loliginidos, tienen un tallo, están localizadas en los bastones musculares que se contraen. Se cuentan longitudinalmente.

Referencias de términos incluidos en el glosario:

- Jereb P., M. Vecchione & C.F.E. Roper. 2010. Family Loliginidae, 38-117. En: Jereb P. & C.F.E. Roper (Eds). Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of species known to date. Vol. 2. Myopsid and Oegopsid squids. FAO Species Catalog for Fishery Purposes, No. 4, Roma, 605 p.
- Ridley, M. 2003. Evolución. Wiley-Blackwell, EUA, 792 p.
- Zelditch, M.L., D.L. Swiderski, H.D. Sheets & W.L. Fink. 2004. Geometric morphometrics for biologists: a primer. Elsevier Academic Press, Reino Unido, 443 p.

RESUMEN

Las especies de la familia Loliginidae presentan incertidumbre taxonómica debido a sus diagnósicos inconsistentes. En este estudio se realizó una revisión taxonómica empleando datos merísticos, morfológicos, genéticos y morfométricos (morfometría tradicional de medidas corporales y geométrica de estatolitos) de loliginidos de la costa del estado de Tamaulipas, en el Golfo de México. Tomando en cuenta las descripciones morfológicas originales, se revisaron 150 organismos provenientes de cuatro cruceros oceanográficos. De éstos, 118 pudieron ser identificados como pertenecientes a tres (*Lolliguncula brevis* (Blainville, 1823), *Doryteuthis plei* (Blainville, 1823) y *Doryteuthis pealeii* (LeSueur, 1821)) de las cuatro especies reportadas para el área de estudio. Para los 32 individuos restantes (todas hembras) no se pudo determinar su identidad ya que morfológicamente presentan características tanto de *Doryteuthis roperi* (Cohen, 1976) como de *D. plei*. Con la finalidad de determinar la identidad de estos ejemplares se revisaron 50 organismos de *D. roperi* incluyendo materiales tipo, depositados en el Museo de Historia Natural del Instituto Smithsonian. Sin embargo, no se logró identificar si las hembras bajo estudio pertenecían a *Doryteuthis roperi* o *D. plei* y la mayoría de los hectocotilos de los machos presentaron características no concordantes con su descripción original tal como ocurrió con las otras especies. El análisis molecular basado en secuencias de la Subunidad I del Citocromo Oxidasa de ADNmt de 52 organismos reveló la presencia de tres clados correspondientes a *L. brevis*, *D. pealeii* y *L. plei*. Las 32 hembras que no habían sido confirmadas morfológicamente se identificaron como *D. plei*. Tanto el análisis de morfometría tradicional ($n=150$) como el de morfometría geométrica de estatolitos ($n=110$) soportaron la presencia de tres grupos distintos. Adicionalmente, un Análisis Multifactorial de Varianza (MANOVA por sus siglas en inglés) aplicado en la morfometría tradicional para los organismos de *D. plei* ($n=50$) y *D. roperi* ($n=50$) indicó diferencias significativas; sin embargo, la similitud morfológica no permitió confirmar si *D. roperi* es o no una sinonimia de *D. plei*.

ABSTRACT

Species in the family Loliginidae present taxonomic uncertainty given its inconsistent diagnoses. A taxonomic revision was made in this study using meristic, morphologic, genetic, and morphometric (traditional morphometry of body measurements and statolith geometric morphometrics) data of loliginids from the coast of the State of Tamaulipas, in the Gulf of Mexico. Considering the original morphological descriptions, 150 organisms from four oceanographic cruises were revised. From these, 118 were identified as belonging to three (*Lolliguncula brevis* (Blainville, 1823), *Doryteuthis plei* (Blainville, 1823), and *Doryteuthis pealeii* (LeSueur, 1821)) of the four species reported for the study area. The identity of the remaining 32 individuals (all females) was not able to be determined given that these present morphological characteristics of both *Doryteuthis roperi* (Cohen, 1976) and *D. plei*. In order to determine the identity of these specimens, 50 organisms of *D. roperi* including type materials, which were deposited at the Smithsonian National Museum of Natural History were revised. Nevertheless, it was not possible to identify whether the females under study belonged to *Doryteuthis roperi* or *D. plei* and most of the hectocotylus of males presented characteristics that did not match with its original descriptions, as occurred for the rest of the species. The molecular analysis based in sequences of Cytochrome Oxidase Subunit I from mtDNA of 52 specimens revealed the presence of three clades corresponding to *L. brevis*, *D. pealeii*, and *L. plei*. The 32 females that were not confirmed morphologically were identified as *D. plei*. Both the traditional morphometric analysis ($n=150$) and statolith geometric morphometrics ($n=110$) supported the presence of three different groups. Additionally, a Multifactorial Analysis of Variance (MANOVA) test applied in traditional morphometrics for organisms of *D. plei* ($n=50$) and *D. roperi* ($n=50$) indicated significant differences; however, the morphological similarity did not allow to confirm whether *D. roperi* is a synonym of *D. plei*.

1. INTRODUCCIÓN

Al realizar la experimentación e investigación en algún aspecto de la biología de las especies de calamares, ya sea involucrando axones, músculos, células o manipulación embriológica, es importante tener certeza de la identidad de la especie con la que se pretende trabajar y su procedencia; ya que los resultados que se obtienen cuando se analizan organismos pertenecientes a varias especies como si pertenecieran sólo a una, no son comparables ni compatibles con otros estudios y conducen a una apreciación confusa de los hechos produciendo esfuerzos injustificados (Aldrich, 1990).

Desde hace más de un siglo, Lord-Britton (1908) comentaba que una especie se integra por dos elementos, uno que tiene que ver con el hecho de que los organismos que la componen tienen un ancestro común y otro relacionado con la observación de que dichos organismos presentan similitudes entre sí. Sin embargo, consideraba también que el grado de similitud entre los individuos es variable dependiendo de la característica que se evalúa. Estas consideraciones están aún presentes en las revisiones taxonómicas y en la construcción de hipótesis filogenéticas. Sin embargo, debido a su cercanía filogenética o a procesos de convergencias evolutivas, existen especies que comparten caracteres morfológicos externos muy similares y su sobreposición hace difícil su identificación. De esta manera, la detección de caracteres diagnósticos para la identificación específica es una tarea importante en este tipo de organismos cuyas características distintivas no son conspicuas. Tal es el caso de varias especies pertenecientes a la familia Loliginidae, compuesta por alrededor de 50 especies agrupadas en diez géneros (Jereb *et al.*, 2010).

La taxonomía y sistemática de la familia Loliginidae ha sido muy complicada, principalmente por la falta de descriptores detallados que garanticen la identificación adecuada de las especies (Vecchione *et al.*, 2005; Jereb *et al.*, 2010). Los estudios sobre loliginidos en México, incluyendo adultos y paralarvas, se remiten principalmente a descripciones básicas y mapas de distribución (Okutani & McGowan, 1969; Roper *et al.*, 1984; Sánchez, 2003) y a la fecha, aún existe

confusión en el reconocimiento de las especies e incertidumbre en el número de aquellas que habitan los mares mexicanos.

Los loliginidos se distribuyen globalmente en aguas costeras tropicales, templadas y subpolares (Jereb *et al.*, 2010). Son habitantes demersales semi-pelágicos y se encuentran tanto en aguas costeras como sobre la plataforma continental y la parte superior del talud, hasta unos 400 m de profundidad (Roper *et al.*, 1995). Normalmente, las especies de esta familia realizan migraciones verticales diurnas, agrupándose cerca del fondo durante el día y dispersándose en la noche en la columna de agua. Muchas son fototácticas positivas, y a menudo son capturadas con técnicas pesqueras que utilizan fuentes luminosas (Roper *et al.*, 1995). Son calamares generalmente de color rojizo-marrón, más oscuros en la parte dorsal, aunque presentan variaciones dependiendo del comportamiento. Se caracterizan por presentar una membrana cornea transparente que cubre los ojos. Los brazos y tentáculos presentan dos filas de ventosas y nunca tienen ganchos (Jereb *et al.*, 2010). Muchas especies presentan siete costillas en la membrana bucal con pequeñas ventosas y las hembras poseen un solo oviducto con glándulas nidamentales accesorias (Jereb *et al.*, 2010).

Los loliginidos tienen importancia en la red trófica ya que forman parte de la alimentación de un amplio espectro de depredadores, incluyendo especies de importancia comercial y especies con algún estatus de protección (Pineda *et al.*, 1996; García-Rodríguez & Aurióles-Gamboa, 2004; Aurióles-Gamboa & Camacho-Ríos, 2007), tales como: *Merluccius hubbsi* y *Zalophus californianus* respectivamente.

Estos calamares loliginidos representan aproximadamente el 10% de la captura mundial de cefalópodos (Roper *et al.*, 1995). Sus pesquerías se encuentran principalmente en Asia suroriental y en países mediterráneos, pero también se capturan en otras áreas geográficas como fauna acompañante en pesquerías costeras de arrastre dirigidas a camarones y peces demersales (Roper *et al.*, 1995). Tal es el caso de México, en donde no hay una pesquería establecida para las especies, pero se capturan como fauna acompañante en la pesca del camarón (Alejo-Plata *et al.*, 2001).

En el Golfo de México, particularmente en la costa del estado de Tamaulipas, se ha reportado la presencia de *Doryteuthis pealeii* (LeSueur, 1821), *Doryteuthis plei* (Blainville, 1823), *Doryteuthis roperi* (Cohen, 1976) y *Lolliguncula brevis* (Blainville, 1823) (Jereb *et al.*, 2010). De estas, la primera y la segunda son consideradas como especies de importancia comercial (Judkins *et al.*, 2009). Debido a la gran similitud morfológica entre las especies del género *Doryteuthis*, la identificación y validez taxonómica deberían basarse en criterios robustos, ya que *D. roperi* se puede confundir con *D. plei* y a su vez, esta última se puede confundir con *D. pealeii* (Jereb *et al.*, 2010).

Considerando la importancia de profundizar en la revisión taxonómica y en consecuencia en el aporte de información sobre la diversidad biológica de este grupo que integra un recurso económico importante (315,690 toneladas de peso vivo durante el periodo 2006-2012 en el Golfo de México) (www.conapesca.gob.mx), en el presente estudio se aborda una revisión sistemática de las especies de loliginidos capturadas en la costa de Tamaulipas, Golfo de México, en el periodo de 2012 a 2014.

1.1 Antecedentes

Los registros de calamares reportados en el trabajo de Jereb *et al.* (2010), el cual conforma la compilación más actualizada de cefalópodos del mundo, indican que en la costa de Tamaulipas se distribuyen *Doryteuthis pealeii* (LeSueur, 1821), *Doryteuthis plei* (Blainville, 1823), *Doryteuthis roperi* (Cohen, 1976) y *Lolliguncula brevis* (Blainville, 1823). Los estudios de estos calamares en la región de la costa de Tamaulipas son escasos. De éstos se pueden citar: el estudio basado en comparaciones morfométricas de Sánchez *et al.* (1996), el listado taxonómico de Judkins *et al.* (2009) y el reporte pesquero de Arreguín-Sánchez & Arcos-Huitrón (2011). Se conocen algunos aspectos biológicos de estas especies a partir de estudios realizados en otras regiones de su rango de distribución (Jereb *et al.*, 2010). Sin embargo, las conclusiones sobre la biología de las especies del género *Doryteuthis* deben ser tomadas con precaución ya que pudieran encontrarse

organismos de especies mezcladas por la gran similitud morfológica que presentan (DeBose & Vecchione, 2005).

En las descripciones originales de calamares de la familia Loliginidae la circunscripción de los organismos se ha realizado sobre la base de rasgos fenotípicos. LeSueur (1821) describió a *Doryteuthis pealeii* tomando en cuenta la forma del manto, aletas, cabeza y el número de brazos y tentáculos. *Lolliguncula brevis* y *D. plei* fueron descritos por Blainville (1823), quien se basó principalmente en caracteres cualitativos como la forma del cuerpo y aletas, aunque también consideró medidas de longitud de los brazos. Más recientemente, en comparación con las descripciones anteriores, *D. roperi* fue descrito por Cohen (1976) con base en la forma del manto y de las aletas, número de brazos y tentáculos, y el número de ventosas y dientes en los anillos de las ventosas, respectivamente.

Roper y Voss (1983) establecieron las pautas para realizar descripciones taxonómicas de nuevas especies de cefalópodos o en especies ya descritas, que cumplieran con ciertos lineamientos, con la intención de que las descripciones estuvieran basadas en criterios estandarizados. En su propuesta consideran el número de organismos que se debe analizar y las características y mediciones que deben ser incluidas dentro de los distintos órdenes incluyendo las especies del orden Teuthoidea.

Natsukari (1983) realizó estudios enfocados a esclarecer los problemas taxonómicos de la familia Loliginidae principalmente con base en caracteres morfológicos.

Brakoniecki (1986) describió los hectocotilos de las especies de la familia Loliginidae y consideró que su morfología, según el acomodo de las modificaciones en las ventosas, es un carácter discriminante de nivel especie. Clasificó a los hectocotilos en seis tipos, que en un esquema generalizado su descripción consiste en lo siguiente: tipo I, ambas hileras de ventosas se convierten en papilas extendiéndose hasta la punta; tipo II, ambas hileras de ventosas se modifican, en la hilera dorsal las ventosas se reducen en tamaño y se convierten en pequeñas papilas, en la hilera ventral se fusionan con la membrana ventral formando placas anchas y gruesas; tipo III, las ventosas de la hilera dorsal se convierten en papilas

largas y carnosas desde algún punto del brazo hasta la punta, el brazo hectocotilizado presenta cierto alargamiento; tipo IV, las ventosas de la hilera dorsal se reducen enormemente en tamaño desde la parte media, cambiando de ventosas en el comienzo de la modificación hasta pedúnculos triangulares hacia la punta; tipo V, en el área modificada, las ventosas de la hilera dorsal se reducen en tamaño y se convierten en pedúnculos alargados con bases triangulares, y después las ventosas retoman su apariencia normal hacia la punta, las ventosas de la hilera ventral también se reducen en tamaño en la modificación, pero no se convierten en pedúnculos; tipo VI, las modificaciones ocurren en la porción media del brazo con ventosas normales antes y después de la sección modificada, las ventosas de la hilera dorsal se reducen enormemente en tamaño, las ventosas de la hilera ventral se reducen ligeramente en tamaño, empieza una región hinchada que rodea la membrana protectora y las ventosas a menudo se insertan en esta sección, el brazo hectocotilizado se encuentra enroscado. Estas descripciones morfológicas del hectocotilo son a la fecha consideradas en la discriminación de especies y subgéneros de la familia Loliginidae como parte de los caracteres principales y en ocasiones determinantes en la identificación de este grupo de calamares.

Young & Vecchione (1996), realizando revisiones taxonómicas basadas en caracteres morfológicos y morfométricos, establecieron clasificaciones sistemáticas y relaciones filogenéticas en cefalópodos.

Vecchione *et al.* (1998) proponen una clasificación provisional a nivel genérico de la familia Loliginidae, en respuesta a que había cinco sistemas de clasificación distintos que se contraponían. Ellos tomaron en cuenta 42 especies y las agruparon en cinco géneros con base en características fenéticas como la forma del hectocotilo y espermatóforo, la estructura de los anillos de las ventosas de los brazos, la longitud relativa de las aletas, la elongación del manto posterior hasta formar una estructura tipo cola y el tamaño de los huevos.

Las revisiones a nivel de especie se han abordado utilizando distintas herramientas como la morfometría tradicional, la cual ha sido utilizada en algunos estudios. Sánchez *et al.* (1996) efectuaron análisis morfométricos para diferenciar juveniles y subadultos de *D. pealeii* y *D. plei*. Ellos propusieron que la mejor

discriminación entre las dos especies se logró por medio de la combinación de medidas e índices asociados a estructuras cartilaginosas y al gladio, particularmente a partir del índice de la relación ancho del gladio/raquis. Barón & Ré (2002) también utilizaron medidas morfométricas para la discriminación de especies de loliginidos simpátridos. Sus resultados representaron un esfuerzo relevante debido a que fueron aplicados en la identificación de calamares obtenidos en el contenido estomacal de depredadores.

Los estatolitos son estructuras calcáreas contenidas en unas cámaras llamadas estatocistos y se encargan de detectar la aceleración lineal y angular y la orientación (Jereb *et al.*, 2010). La importancia práctica de los estatolitos surge a partir de Clarke (1978), quien reconoce que éstos son estructuras duras que tienen valor taxonómico. Dommergues *et al.* (2000) utilizaron análisis de morfometría geométrica en estatolitos de sepias y calamares del mediterráneo tomando como referencia 18 puntos homólogos (*landmarks*), sus resultados indican que los estatolitos de los especímenes incluidos en el análisis diferían en forma dependiendo de los distintos subórdenes a los cuales pertenecen. Flores & Garland (2002) describieron los estatolitos de una especie de loliginido y determinaron sus relaciones morfométricas y gravimétricas.

Por otro lado, los análisis genéticos también han sido aplicados como herramienta taxonómica en cefalópodos. Bonnaud *et al.* (1994), considerando que la sistemática de cefalópodos estaba basada principalmente en criterios morfológicos y en algunos registros fósiles, utilizaron técnicas moleculares basadas específicamente en secuencias nucleotídicas parciales del gen 16SrRNA en un intento por reorganizar taxonómicamente con mayor soporte a los cefalópodos decápodos. Strugnell *et al.* (2005) utilizaron distintos genes nucleares y mitocondriales para resolver problemas en las relaciones a nivel familia de cefalópodos coleoideos. Para la identificación a nivel específico, Anderson (2000B) aplicó técnicas moleculares como herramienta complementaria que permitieron el reconocimiento de especímenes no identificados con características morfológicas. Este autor utilizó secuencias de dos genes, el ADN mitocondrial, COI y 16SrRNA de 19 especies de loliginidos, a partir de las cuales soportó la filogenia de la familia Loliginidae. Sin embargo, sugiere que además de la

información molecular, es conveniente soportar los estudios taxonómicos con estudios morfológicos, conductuales y de desarrollo para aclarar relaciones entre las especies de loliginidos, y entre estos y otros taxones.

Con respecto al empleo de la morfometría geométrica, Lombarte *et al.* (2006) realizaron un estudio de morfometría geométrica de estatolitos de cinco familias de cefalópodos incluyendo a Loliginidae, y a partir de este trabajo pudieron identificar completamente las especies de todas las familias. Recientemente, Granados-Amores (2013) realizó una revisión taxonómica de las especies de la familia Loliginidae del Pacífico mexicano basada en taxonomía tradicional, morfometría geométrica de estatolitos y análisis de ADN mitocondrial, permitiendo una mejor comprensión de las entidades taxonómicas descritas.

1.2 Justificación

Actualmente, de alrededor de 20 especies de loliginidos de importancia comercial sólo cuatro (*Doryteuthis gahi* (d'Orbigny, 1835), *D. pealeii* (LeSueur, 1821), *D. opalescens* (Berry, 1911) y *Loligo reynaudii* (Orbigny, 1839), se identifican a nivel de especie en las estadísticas pesqueras, el resto de las especies tienden a ser englobadas en el género *Loligo* en notificaciones de arribo y estadísticas mundiales (FAO, 1998; Vecchione *et al.*, 1998). Esta estrategia de análisis de la producción pesquera es similar a la adoptada en la pesquería de otros grupos taxonómicos, incluyendo aquellos que integran la pesca artesanal. Profundizar en la obtención de datos más precisos y específicos conduce a un mejor análisis pesquero y a una mejor comprensión de la dinámica de las especies como recursos económicos. Sin embargo, la implementación de lo anterior, requiere la aplicación de un mayor esfuerzo asociado a los problemas inherentes al reconocimiento e identificación de las entidades taxonómicas. Particularmente, la taxonomía y sistemática de la familia Loliginidae ha sido muy complicada, principalmente por la falta de características diagnósticas que soporten una mejor identificación específica (Vecchione *et al.* 2005; Jereb *et al.* 2010). Las guías de identificación han sido complementadas con descripciones de los hectocófilos y en consecuencia, éstas descripciones sólo

pueden ser aplicadas para machos maduros (Brakoniecki, 1986), pero no para hembras o subadultos. Muchos aspectos de la historia de vida y características estructurales de los calamares del Golfo de México son poco conocidos (Sánchez *et al.*, 1996). Arreguín-Sánchez & Arcos-Huitrón (2011), escriben sobre el estado de las pesquerías en el litoral mexicano, en donde particularmente para la costa de Tamaulipas, comentan que los calamares de la familia Loliginidae se encuentran en la categoría de sobre-explotadas, aunque no precisan cuales son las especies implicadas.

Considerando lo anterior, los esfuerzos asociados al sector pesquero deben tomar en cuenta la validación taxonómica de los recursos explotados y posteriormente y en la medida de lo posible, el empleo de elementos biológicos prácticos que permitan la diferenciación de especies y la conducción de una evaluación a nivel específicas.

En las costas de Tamaulipas, se distribuyen tres especies del género *Doryteuthis* que presentan caracteres morfológicos muy similares entre sí, que no permiten ser fácilmente identificadas con base en las descripciones originales (e.g. LeSeur, 1821; Blainville, 1823; Cohen, 1976). También en esta zona se distribuye una especie del género *Lolliguncula*, que es morfológicamente similar a otra especie del mismo género que se distribuye en el Pacífico (Brakoniecki, 1980). Considerando lo anterior, el recurso pesquero de calamares en esta región aun presenta incertidumbres taxonómicas.

Una manera robusta de soportar la determinación de una especie es mediante la aplicación de múltiples fuentes de información, tales como fenotípicas, genéticas y de variación ecológica (Cadena & Cuervo, 2010). En el presente estudio se aborda la problemática taxonómica de las especies distribuidas en la costa de Tamaulipas a partir de individuos recolectados durante cuatro cruceros oceanográficos realizados entre 2012 y 2014.

1.3 Objetivo general

Revisar el estatus taxonómico con base en comparaciones morfológicas y genéticas, de las especies de calamares loliginidos capturados en la costa de Tamaulipas, Golfo de México.

1.4 Objetivos particulares

- A) Identificar las especies de calamares loliginidos con base en caracteres morfológicos.
- B) Identificar la riqueza específica a partir de las distancias genéticas estimadas de secuencias del ADN mitocondrial.
- C) Identificar la existencia de grupos morfológicos a partir del análisis multifactorial de distancias corporales.
- D) Estimar el grado de diferenciación específica mediante análisis de morfometría geométrica de los estatolitos.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Área de estudio

La costa del estado de Tamaulipas (Fig. 1) tiene una extensión de 439 km y se localiza entre los paralelos 22°12'31" y 27°40'42" N, y entre los meridianos 97°08'38" y 100°08'51" W (www.inafed.gob.mx). La circulación de vientos durante otoño-invierno ocurre de norte a sur, provocando una intrusión de una corriente costera de agua fría y rica en nutrientes (Zavala-Hidalgo *et al.*, 2003; Zavala-Hidalgo *et al.*, 2006). En particular, durante el invierno llega un frente frío producido por la advección de agua fría de la plataforma de Texas-Luisiana y no por surgencias. Durante el verano, la temperatura más alta en la superficie del mar se alcanza en septiembre, después de cuando se registra el pico más alto en el resto del Golfo de México debido a la surgencia de verano (Zavala-Hidalgo *et al.*, 2006).

De manera general, las temperaturas promedio anuales varían de 25,5°C a 27,5°C y las salinidades de 30 a 35.2 UPS (De La Lanza *et al.*, 2004).

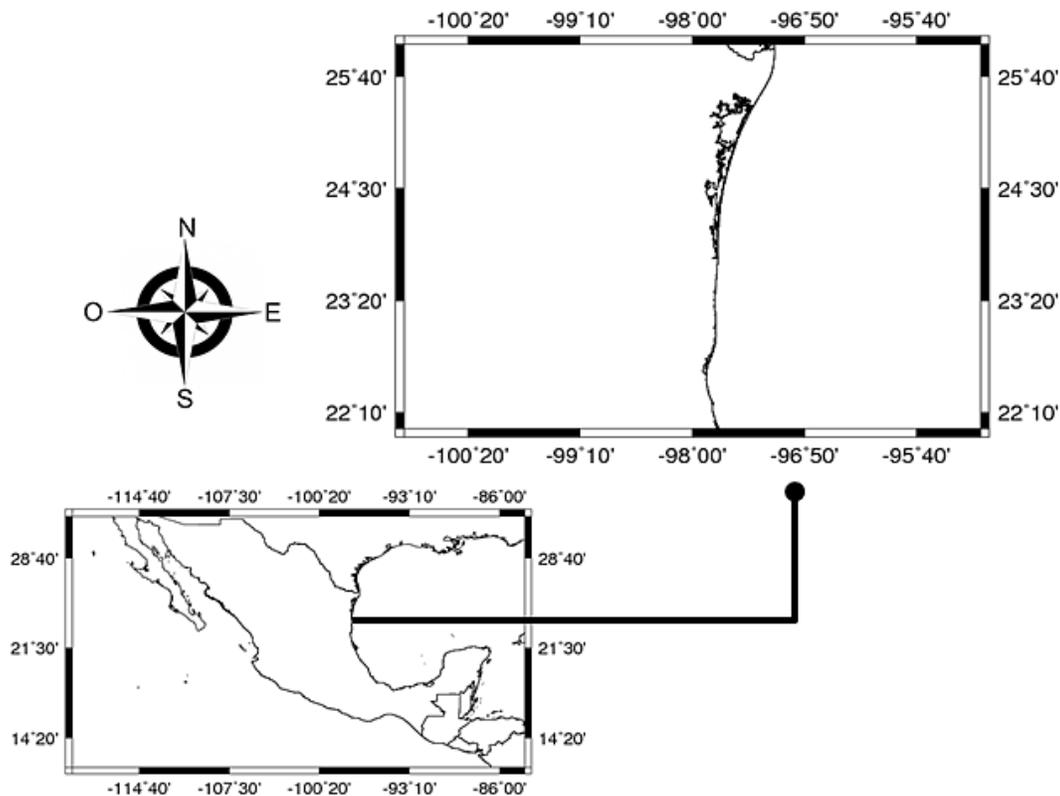


Figura 1. Costa de Tamaulipas localizada al noreste de México entre los 22°12'31" y 27°40'42" latitud norte y 97°08'38" y 100°08'51" longitud oeste.

2.2 Obtención del material biológico e identificación morfológica

Los organismos revisados en el presente estudio provienen de recolectas realizadas en cuatro cruceros llevados a cabo en la costa del estado de Tamaulipas durante octubre de 2012 ($n=68$), enero de 2013 ($n=23$), abril de 2013 ($n=20$) y febrero de 2014 ($n=39$) (Tabla I). Debido a que en ninguno de los cruceros se recolectó a la especie *D. roperi*, una de las reportadas para la región (Jereb *et al.*, 2010), durante mayo del presente año se visitó el Museo Nacional de Historia Natural Smithsonian, ubicado en la Ciudad de Washington D.C., E.U.A., con la intención de revisar los materiales tipo ($n=50$). El interés por realizar esta revisión fue debido a

que los organismos de esta especie son morfológicamente similares a *D. plei*, de tal manera que era relevante confirmar su validez.

Tabla I. Tamaño de muestra y fechas de recolecta de los calamares revisados por estrategia de análisis.

Análisis	Fecha de muestreo	Número de organismos
<i>Identificación morfológica</i>		
	Octubre/2012	68
	Enero/2013	23
	Abril/2013	20
	Febrero/2014	39
	Museo	50
	<i>Total</i>	200
<i>Genético</i>		
	Octubre/2012	41
	Enero/2013	8
	Abril/2013	3
	<i>Total</i>	52
<i>Morfometría tradicional</i>		
	Octubre/2012	68
	Enero/2013	23
	Abril/2013	20
	Febrero/2014	39
	Museo	50
	<i>Total</i>	200
<i>Morfometría geométrica</i>		
	Octubre/2012	68
	Enero/2013	22
	Abril/2013	20
	<i>Total</i>	110

En el laboratorio, los calamares recolectados se identificaron a nivel de especie empleando las descripciones originales (LeSeur, 1821; Blainville, 1823; Cohen, 1976).

También se utilizó la descripción basada en las diferencias de los hectocotilos entre especies sugerida por Brakoniecki (1986). De manera complementaria, se describieron los hectocotilos de los organismos de cada una de las especies con la finalidad de determinar si dichas características coincidían con las descripciones de Brakoniecki (1986). El criterio que se utilizó para la descripción de los hectocotilos fue que la modificación (Fig. 2) ocurriera en \pm dos ventosas de diferencia respecto a lo que toma en cuenta la descripción de Brakoniecki (1986), para ser considerada o no, concordante con la misma. No se describieron los hectocotilos de aquellos organismos machos en donde no fue posible identificar de manera clara las

modificaciones en las ventosas debido a que la estructura se encontraba dañada (Tabla II).

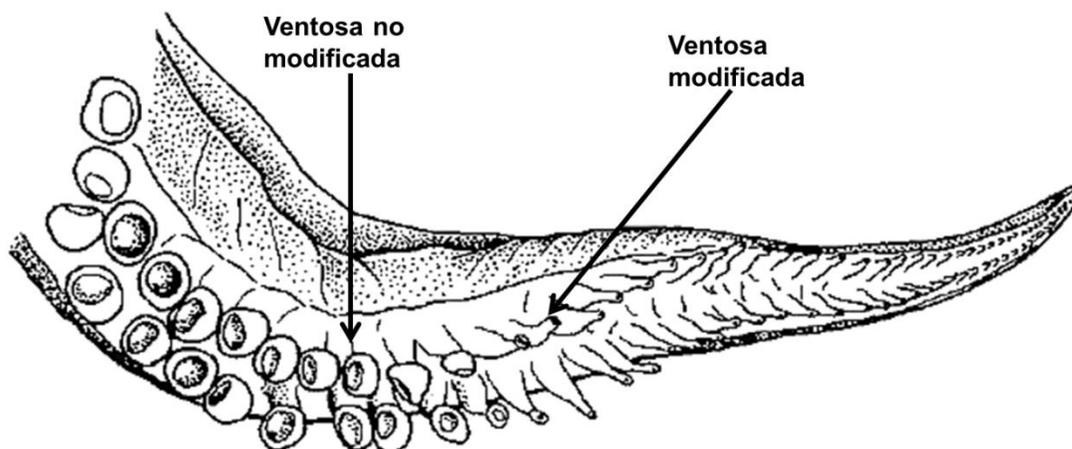


Figura 2. Diagrama que muestra las características que se observan cuando las ventosas se modifican en el hectocotilo de un macho de la familia Loliginidae.

Tabla II. Número de calamares macho y de hectocotilos descritos por especie.

Especies	No. de machos totales	No. de machos con hectocotilos revisados
<i>Lolliguncula brevis</i>	12	9
<i>Doryteuthis pealeii</i>	20	20
<i>Doryteuthis plei</i>	18	18
<i>Doryteuthis roperi</i>	14	13

2.3 Análisis genético

Para realizar este análisis, se obtuvo un fragmento de tejido del tercer brazo izquierdo de cada organismo proveniente de los cruceros. Estos fragmentos fueron almacenados de manera individual en alcohol al 96%. Se eligió un total de 52 muestras que incluyeron a organismos representativos de cada una de las especies detectadas con base en las descripciones originales y a todos aquellos organismos en donde no fue posible realizar la identificación utilizando estas guías. El ADN se purificó empleando un Kit de extracción (QIAGEN®) siguiendo los pasos incluidos en el manual elaborado por el fabricante. Posteriormente, se realizó la amplificación vía PCR de un fragmento de la Subunidad I del Citocromo Oxidasa (COI) del ADN

mitocondrial (ADNmt) empleando los indiciadores (LCO1490 y HCO2198) propuestos por Folmer *et al.* (1994). Debido a que éstos indiciadores no son específicos para los calamares, se realizó un PCR de gradiente utilizando una muestra de cada especie y probando las temperaturas 46, 46.8, 47.6, 49.2 y 50 °C, para detectar cuál de éstas era la más óptima. Una vez detectada la temperatura de alineamiento óptima (50°C), se procedió a amplificar el resto de las muestras. Todas las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen final de 35 µl por muestra conteniendo una mezcla de 3.5 µl de Buffer *Taq* (10X -mg), 0.7 µl de dNTPs (10mM), 1.68 µl de cada iniciador (10 µM), 23.59 µl de H₂O milli-Q, 2.8 µl de MgCl₂ (50 mM), 0.35 µl de *Taq* polimerasa (5 U/µl) y 0.7 µl de la muestra de ADN extraído. En el termociclador se utilizaron los siguientes parámetros: 4 min a 94 °C para la desnaturalización, seguido de 35 ciclos, cada uno de los cuales integrado por 30 s a 94 °C, 30 s a 50 °C para el alineamiento y 1 min a 72 °C para la extensión. Después de concluir los 35 ciclos, se utilizaron 5 min a 72 °C para realizar una extensión final. Los productos amplificados fueron confirmados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%. Los geles fueron teñidos empleando 2 µl de GelGreen™[®] por cada 50 ml de gel. La visualización se realizó utilizando un transiluminador UV Labnet[®].

Todos los productos amplificados de manera exitosa fueron secuenciados (MACROGEN INC., Corea del Sur) en ambos sentidos, empleando los mismos iniciadores utilizados en la amplificación.

Las secuencias obtenidas fueron editadas empleando el programa Sequencher Ver 5.2.3 (Sequencher[®]) y Chromas Pro 1.7.4. Posteriormente se alinearon empleando el algoritmo de Clustal W (Thompson *et al.*, 1994), implementado en el programa Mega Ver 5.1 (Tamura *et al.*, 2011). En este programa también se construyó un cladograma utilizando el modelo de sustitución de Kimura-2 parámetros (K2P) (Kimura, 1980) y el método de *Neighbor-Joining* (Saitou & Nei, 1987). El modelo K2P, considera tasas de sustitución nucleotídica distinta entre transiciones y transversiones. El método de *Neighbor-Joining*, mediante una matriz de distancias entre secuencias a partir de un cladograma sin resolver, determina la pareja de secuencias más cercana y la une por medio de un nodo interno; este proceso se repite para todas las secuencias hasta que quedan todas unidas por

nodos internos. Finalmente, estima que el mejor cladograma es aquel que minimiza la longitud de las ramas internas.

Se estimaron los niveles de divergencia molecular entre las especies utilizando también el modelo de sustitución de Kimura-2 parámetros (Kimura, 1980).

2.4 Análisis de morfometría tradicional

Debido a que el cuerpo de los calamares no cuenta con una estructura rígida, su análisis morfométrico se abordó empleando medidas de distancia para realizar análisis de morfometría tradicional. Para tal fin, se tomaron 17 medidas básicas de cada uno de los individuos (Fig. 3) empleando un vernier (0.01 mm). Para remover el efecto del componente talla sobre las mediciones de forma, todas las mediciones individuales de carácter morfométrico fueron estandarizadas en cada uno de los grupos por separado, empleando la ecuación utilizada por Elliot *et al.* (1995), incluida en el paquete del software Past versión 2.12 (Hammer *et al.*, 2001).

Una vez obtenida la matriz de datos estandarizados, se llevó a cabo un Análisis de Variables Canónicas (CVA, por sus siglas en inglés), para cuantificar las diferencias entre los grupos identificados *a priori* con base en las descripciones originales y los análisis genéticos. Estos análisis fueron realizados en el programa XLSTAT versión 2014 (Addinsoft, 2014).

Las Distancias cuadráticas de Mahalanobis (D_2) fueron empleadas para asignar cada individuo a un grupo determinado en función de su menor distancia respecto a la media del grupo. A partir de las D_2 entre las medias de los grupos, se generó un dendrograma empleando el algoritmo de clasificación jerárquica ascendente (CJA) (Gower, 1967) que representara las relaciones de agrupación entre las especies con base en la similitud morfológica de las mediciones corporales. Estos análisis fueron realizados en el programa XLSTAT (Addinsoft, 2014).

Debido a la incertidumbre en las diferencias de *D. plei* y *D. roperi* (esta última especie revisada a partir de organismos de museo), no se generaron grupos *a priori*, si no que se realizó un Análisis Multifactorial de Varianza (MANOVA, por sus siglas en inglés) utilizando el programa STATISTICA[®] 7 (Stat Soft, 2004) para determinar si

había diferencias entre ambas agrupaciones. Previo al MANOVA, al igual que en el análisis anterior, todas las mediciones individuales de carácter morfométrico (Fig.3) para hembras y machos fueron estandarizadas en cada uno de los grupos por separado, con base en la longitud de manto, utilizando la ecuación empleada por Elliot *et al.*, (1995), incluida en el paquete del software Past versión 2.12 (Hammer *et al.*, 2001).

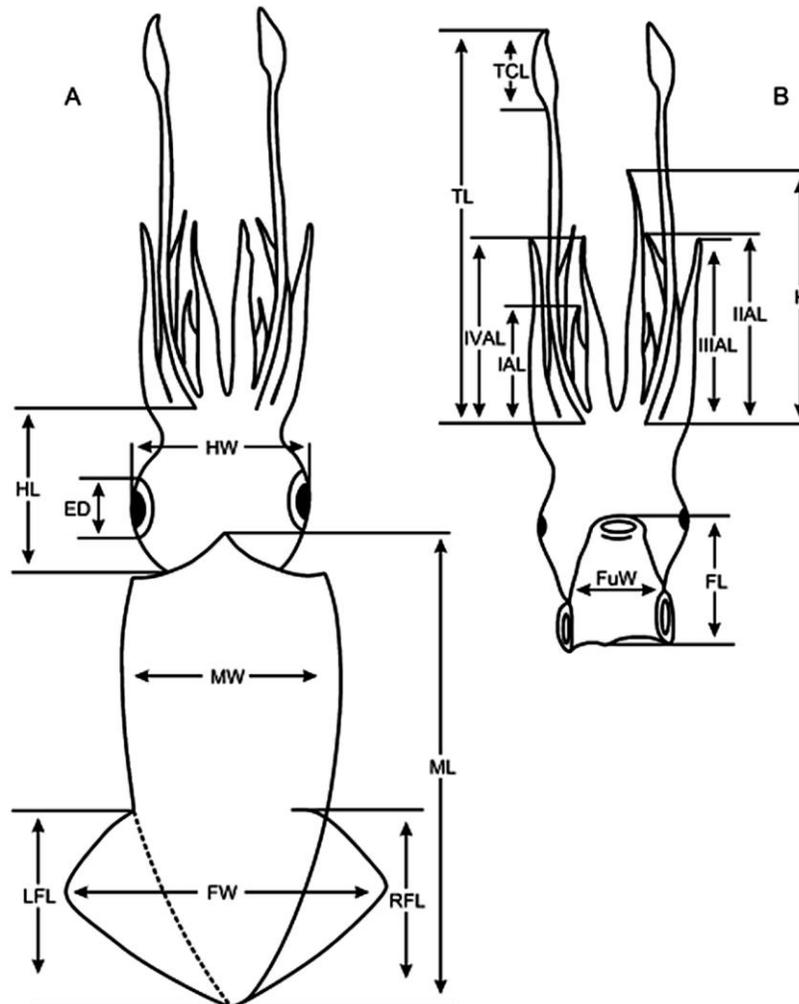


Figura 3. Diagrama de medidas morfométricas del cuerpo de los calamares (tomado de Granados-Amores *et al.*, 2014). Abreviaturas: **A)** HL, longitud de la cabeza, HW, ancho de la cabeza, ED, diámetro del ojo, MW, ancho del manto, ML, longitud del manto, FW, ancho de las aletas, LFL, longitud de la aleta izquierda, RFL, longitud de la aleta derecha; **B)** TCL, longitud del club tentacular, TL, longitud del tentáculo, IAL, longitud del brazo I, IIAL, longitud del brazo II, IIIAL, longitud del brazo III, IVAL, longitud del brazo IV, H, longitud del hectocotilo, FL, longitud del sifón, FuW, ancho del sifón.

2.5 Análisis de morfometría geométrica de estatolitos

Para este análisis se extrajeron los estatolitos de cada organismo recolectado en los cruceros oceanográficos realizados en la costa de Tamaulipas utilizando un equipo de disección y un microscopio estereoscópico Zeiss Stemi DV4[®], y se limpiaron con ayuda de un pincel y jabón Extran[®] neutro. Se preservaron en alcohol al 96% y se obtuvieron registros fotográficos de la vista anterior de los estatolitos derechos. Para esta actividad, se utilizó un microscopio digital Olympus MIC-D[®] con una interface conectada a una computadora. Las imágenes se catalogaron de acuerdo con la clave asignada a cada espécimen.

Una vez que se obtuvieron las imágenes se procedió a su digitalización empleando el programa TPSDig (Rohlf, 2004). Se utilizaron tres marcas naturales (*landmarks*), las cuales se pudieron reconocer en todos los estatolitos. Éstas corresponden a la parte media del domo dorsal, al ángulo rostral y a la punta del lóbulo rostral anterior. Las marcas naturales fueron empleadas para generar una rejilla de referencia y ubicar una mayor cantidad de marcas (*semilandmarks* o semimarcas) para representar de mejor manera la forma del estatolito y describirla de acuerdo con los términos básicos (Fig. 4). Posteriormente, las coordenadas (X, Y) obtenidas a partir de la digitalización de todas las marcas y semimarcas fueron transformadas a nuevas coordenadas mediante el método de Procrustes (Gower, 1975) para eliminar el efecto de la escala, posición y rotación de las configuraciones; de tal manera que las diferencias remanentes que se fueran a analizar correspondieran exclusivamente a las diferencias en la forma de los estatolitos.

Se obtuvo un nuevo conjunto de coordenadas, correspondientes a los valores de las deformaciones parciales, las cuales representan la interpolación entre los puntos de referencia. Con estos valores se llevó a cabo un CVA, para observar la magnitud de las diferencias en la forma de los estatolitos entre los grupos. Las diferencias estadísticas de los grupos fueron comparadas mediante el valor de Lambda de Wilks (λ), cuyo valor cercano o igual a 0 es indicativo de un buen modelo de discriminación y cercano a 1.0 representa un modelo no predecible.

Se utilizaron gradillas finas de deformación para solucionar la interpolación de superficie y poder representar gráficamente las deformaciones morfométricas generadas a partir de las variaciones entre los estatolitos de las especies (Bookstein, 1987). Se consideraron las gradillas promedio para cada especie, respecto a la forma promedio global.

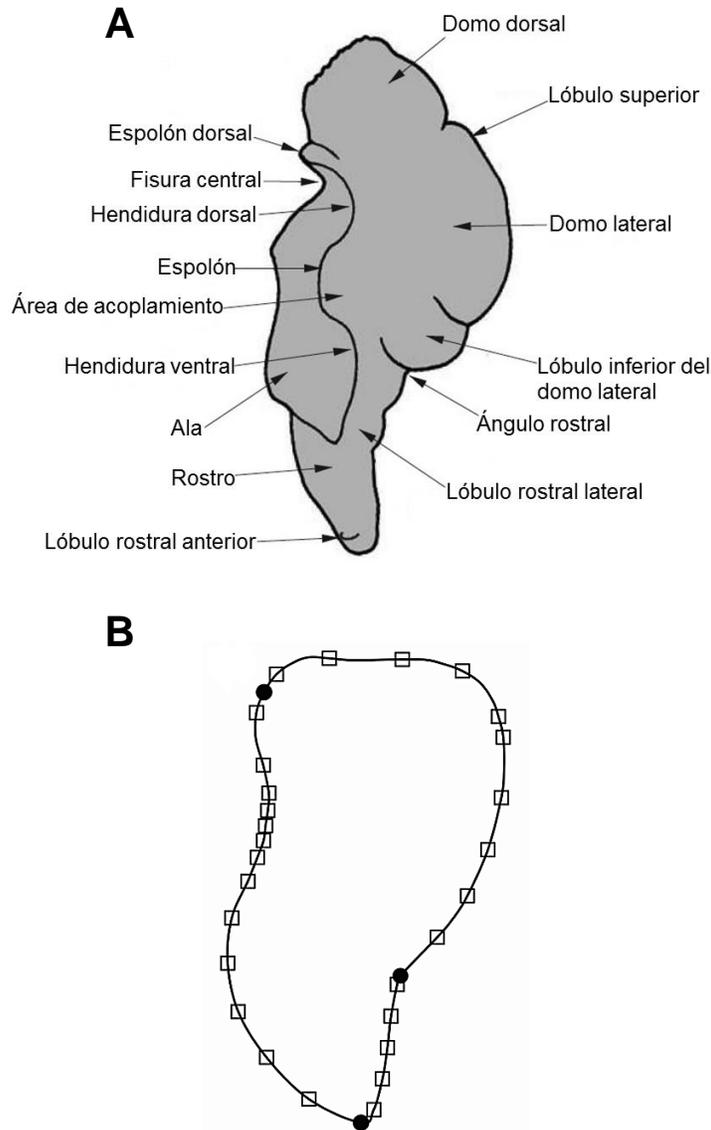


Figura 4. A) diagrama generalizado de un estatolito de calamares (vista anterior) y sus términos básicos (modificado de Clarke, 1978). B) diagrama que muestra la ubicación de las marcas ● y semimarcas □, asignadas para las comparaciones morfométricas.

Las *D2* fueron empleadas para asignar cada individuo a un grupo determinado en función de su menor distancia respecto a la media del grupo. A partir de las *D2* se generó un dendrograma empleando el algoritmo de CJA (Gower, 1967) que representara las relaciones de agrupación entre las especies con base en la similitud morfológica del estatolito. Estos análisis fueron realizados en el programa XLSTAT (Addinsoft, 2014).

3. RESULTADOS

3.1 Identificación morfológica

Con base en las descripciones morfológicas originales se identificaron tres especies a partir de todos los organismos recolectados en los cuatro cruceros oceanográficos: *Lolliguncula brevis* ($n=50$) que se diferenció del resto principalmente por presentar los dientes cuadrados en los anillos de las ventosas y las aletas redondeadas más anchas que largas; *Doryteuthis pealeii* ($n=50$) fue identificada por presentar aletas con una longitud que supera la mitad de la longitud del manto y *D. plei* ($n=18$) que fue determinada por el acomodo de las ventosas en el hectocotilo. Cabe mencionar que hubo inconsistencias en el número de ventosas mencionadas en la descripción original (Brakoniecki, 1986), a partir del cual éstas se modifican para *D. plei* y en los machos del resto de las especies (Fig. 5). Sin embargo, la identificación se logró por considerar la especie a la cual la descripción encontrada en la literatura del hectocotilo tenía mayor similitud. Treinta y dos hembras no pudieron ser determinadas si pertenecían a *D. roperi* ó *D. plei* utilizando estos criterios.

En el museo Smithsonian se revisaron 14 machos y 36 hembras, catalogadas como *Doryteuthis roperi*, sin embargo, para el caso de las hembras no fue posible determinar si eran *D. roperi* ó *D. plei*. En el caso de los machos, hubo organismos que presentaron hectocotilos con características distintas a las descritas por Brakoniecki (1986). En la figura 5 se observa la frecuencia de individuos cuyas características (relacionadas con la distribución de las modificaciones de las

ventosas) fueron concordantes o no con las descritas por Brakonieccki (1986). En particular la mayoría de los organismos de las especies del género *Doryteuthis* presentaron hectocotilos que no concordaron con su descripción, principalmente en la especie *Doryteuthis pealeii*, en la cual casi todos los individuos presentaron hectocotilos que no concordaron con el acomodo de las ventosas de la guía mencionada.

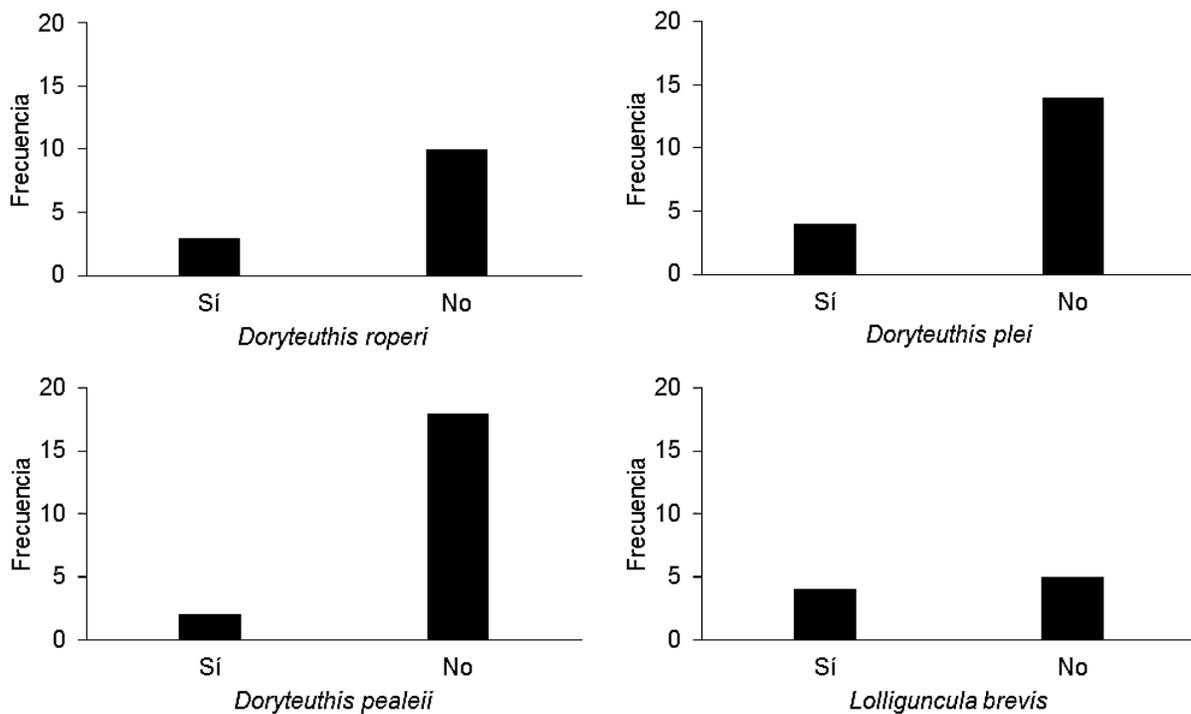


Figura 5. Frecuencias de ocurrencia de concordancia y no concordancia del acomodo y modificaciones de las ventosas de los hectocotilos para cada especie con respecto a las descripciones de Brakonieccki (1986).

3.2 Análisis genético

Una vez realizada la amplificación, el fragmento obtenido varió ligeramente; así que todas las secuencias fueron ajustadas para tener un mismo tamaño (600 pb).

Con base en el cladograma construido con el método de *Neighbor-Joining* y empleando el modelo K2P, se detectaron tres clados genéticos, correspondientes a los organismos analizados pertenecientes a *Doryteuthis plei*, *D. pealeii* y *Lolliguncula brevis* (Fig. 6).

Las hembras provenientes de los cruceros que no pudieron ser identificados con base en las descripciones morfológicas originales, (ni por el uso de hectocotilos por tratarse de hembras) fueron genéticamente reconocidas como *Doryteuthis plei*. Todos los machos de *Doryteuthis pealeii* y algunos ($n=3$) de *D. plei* identificados molecularmente presentaron hectocotilos con características que no concordaron con la descripción Brakoniecki (1986).

La distancia genética neta que se estimó para dos especies de géneros distintos (*Lolliguncula brevis* y *Doryteuthis pealeii*) fue un poco menor que la que presentan las dos especies del mismo género (*D. pealeii* y *D. plei*) (Tabla III y Fig. 6). Estas divergencias fluctuaron entre el 15.4% y el 17.8%. Mientras que las distancias genéticas al interior de cada clado fueron para *Lolliguncula brevis* 0.2%, *Doryteuthis pealeii* 0.5% y *D. plei* 0.3%.

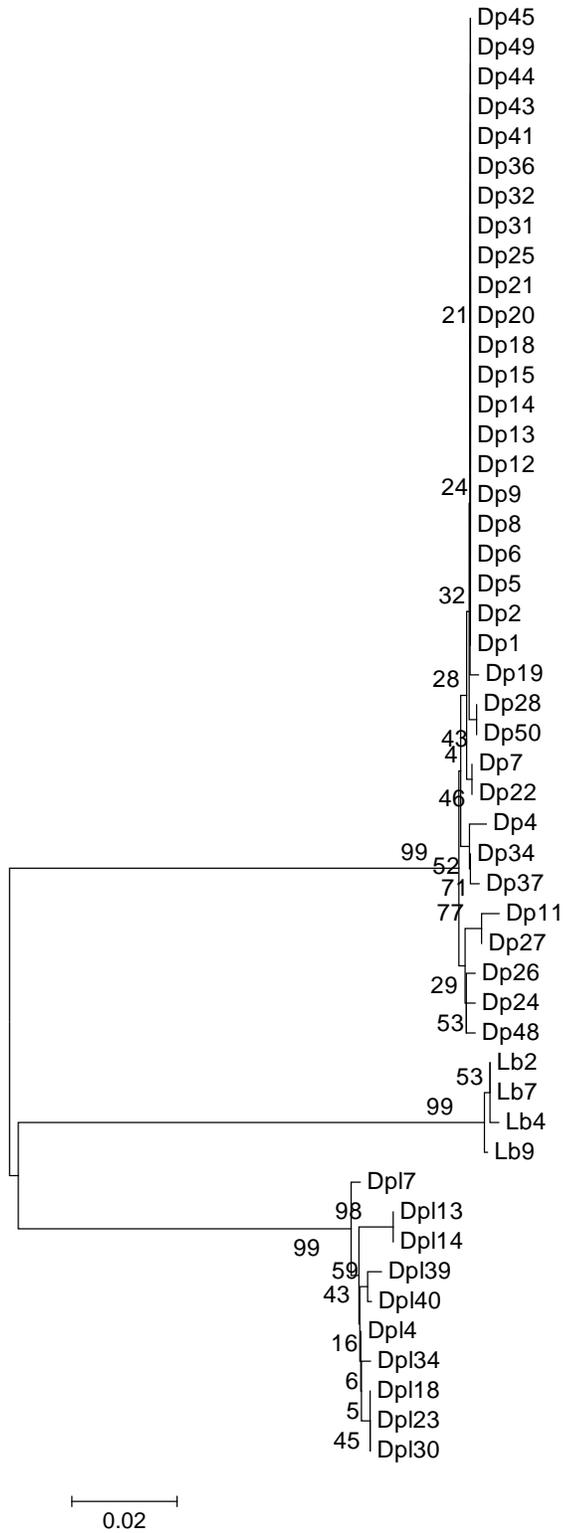


Figura 6. Cladograma construido utilizando el método de Neighbor-Joining y reconstruido de secuencias de un fragmento (600 pb) del gen mitocondrial COI. Dpl= *Doryteuthis pealeii*; Dp= *Doryteuthis plei*; Lb= *Lolliguncula brevis*.

Tabla III. Matriz de porcentajes de divergencia entre secuencias de las especies calculada con el modelo Kimura 2-parámetros.

Especies	<i>L. brevis</i>	<i>D. pealeii</i>	<i>D. plei</i>
<i>L. brevis</i>	0		
<i>D. pealeii</i>	15.3%	0	
<i>D. plei</i>	17.8%	15.4%	0

3.3 Análisis de morfometría tradicional

Los resultados obtenidos a partir del CVA realizado basado en mediciones corporales indican fuertes diferencias entre los tres grupos. Ninguno de los valores encontrados presentaron sobre-posición en las dos variables canónicas, las cuales representaron el 99.05 (CV1) y 0.95% (CV2) de la varianza total (Fig. 7). Estas diferencias fueron estadísticamente significativas (CV1 lambda de Wilks= 0.001263, $p < 0.05$; CV2 lambda de Wilks= 0.001305, $p < 0.05$). Las mayores diferencias ocurrieron en *Doryteuthis pealeii* y fueron explicadas principalmente por el CV1. La divergencia entre los grupos se soporta claramente en la matriz de clasificación en donde la asignación correcta fue del 100% para las tres entidades (Tabla IV). La variable con mayor contribución fue la longitud de la aleta izquierda para la CV1, mientras que en la CV2 el ancho del manto fue la medida que más contribuyó (Tabla V).

De acuerdo con las *D2* cada individuo identificado como una especie determinada fue más parecido a esa especie que a otra (Tabla VI). Con base en estas distancias *Doryteuthis pealeii* presentó mayores diferencias en su morfología corporal en comparación con las otras especies (Fig. 8).

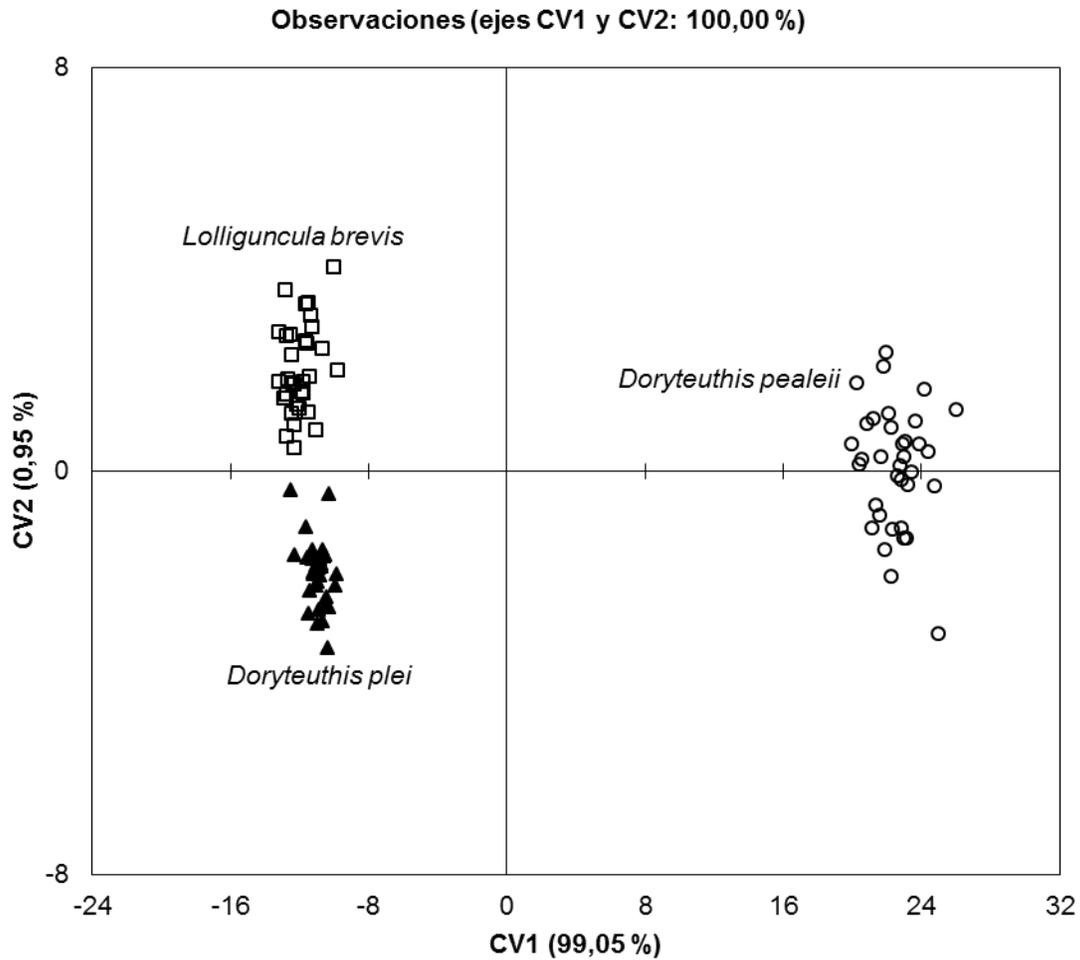


Figura 7. Distribución de los valores morfométricos del cuerpo de los calamares a partir del CVA.

Tabla IV. Matriz de clasificación de las especies de la familia Loliginidae de acuerdo al análisis de morfometría tradicional.

Especies	% correcto	No. de especímenes clasificados			Total
		<i>L. brevis</i>	<i>D. pealeii</i>	<i>D. plei</i>	
<i>L. brevis</i>	100	50	0	0	50
<i>D. pealeii</i>	100	0	50	0	50
<i>D. plei</i>	100	0	0	50	50

Tabla V. Matriz de correlación de variables y factores del CVA de loliginidos de la costa de Tamaulipas. Las variables con mayor contribución resaltadas en negrita.

Medida	CV1	CV2
Ancho del manto	0.875	0.392
Longitud de la aleta derecha	0.997	0.015
Longitud de la aleta izquierda	0.998	0.016
Ancho de las aletas	0.969	0.191
Longitud de la cabeza	0.930	0.172
Ancho de la cabeza	0.959	0.240
Diámetro del ojo	0.952	0.043
Longitud del brazo I	0.984	-0.026
Longitud del brazo II	0.981	0.065
Longitud del brazo III	0.978	0.152
Longitud del brazo IV	0.970	0.162
Longitud del hectocotilo (brazo IV izquierdo)	0.970	0.168
Longitud del tentáculo	0.894	0.223
Longitud del club tentacular	0.966	0.175
Longitud del sifón	0.971	0.011
Ancho del sifón	0.933	0.218

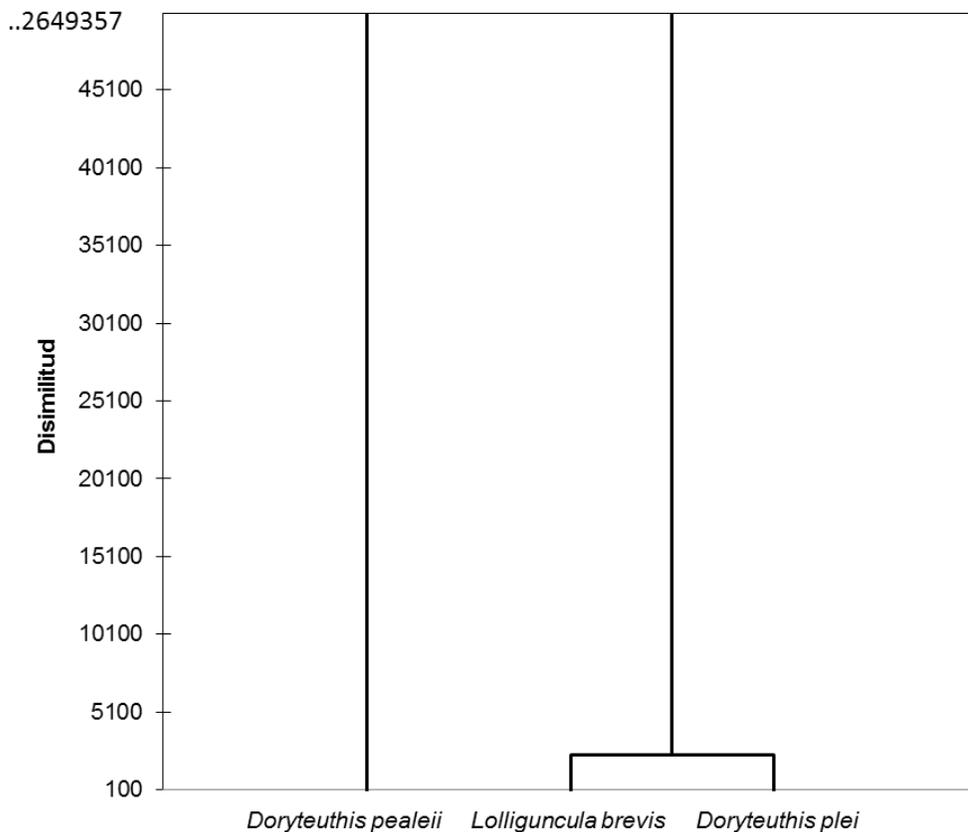


Figura 8. Dendrograma generado con base en las distancias cuadráticas de Mahalanobis de acuerdo con el análisis de morfometría tradicional.

Tabla VI. Matriz de distancias cuadráticas de Mahalanobis de acuerdo con el análisis de morfometría tradicional.

Especies	<i>L. brevis</i>	<i>D. pealeii</i>	<i>D. plei</i>
<i>L. brevis</i>	0	1188.350	15.623
<i>D. pealeii</i>	1188.350	0	1123.335
<i>D. plei</i>	15.623	1123.335	0

El MANOVA realizado para los datos generados a partir de mediciones corporales entre *Doryteuthis plei* y los organismos identificados como *Doryteuthis roperi* (del museo Smithsonian) indica que existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (tabla VII).

Tabla VII. Valores morfométricos del cuerpo de los calamares evaluados mediante el MANOVA.

Especies	Lambda de Wilks	F	P
<i>Doryteuthis plei-D. roperi</i>	0.222038	18.176	0.00

3.4 Análisis de morfometría geométrica de estatolitos

Los resultados obtenidos del CVA aplicados en los estatolitos soportaron la existencia de tres grupos (Fig. 9). Los valores obtenidos en este análisis no mostraron ninguna sobre-posición sobre la Variable Canónica 1 (CV1) y 2 (CV2), las cuales representaron el 68.37 y 31.63%, respectivamente de la varianza total. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las especies identificadas (CV1 lambda de Wilks= 0.000973, $p < 0.05$; CV2 lambda de Wilks= 0.001112, $p < 0.05$). Las diferencias entre los individuos de los tres grupos también pueden ser observadas a partir de la matriz de clasificación en la cual muestra que la asignación correcta fue del 100% (Tabla VIII).

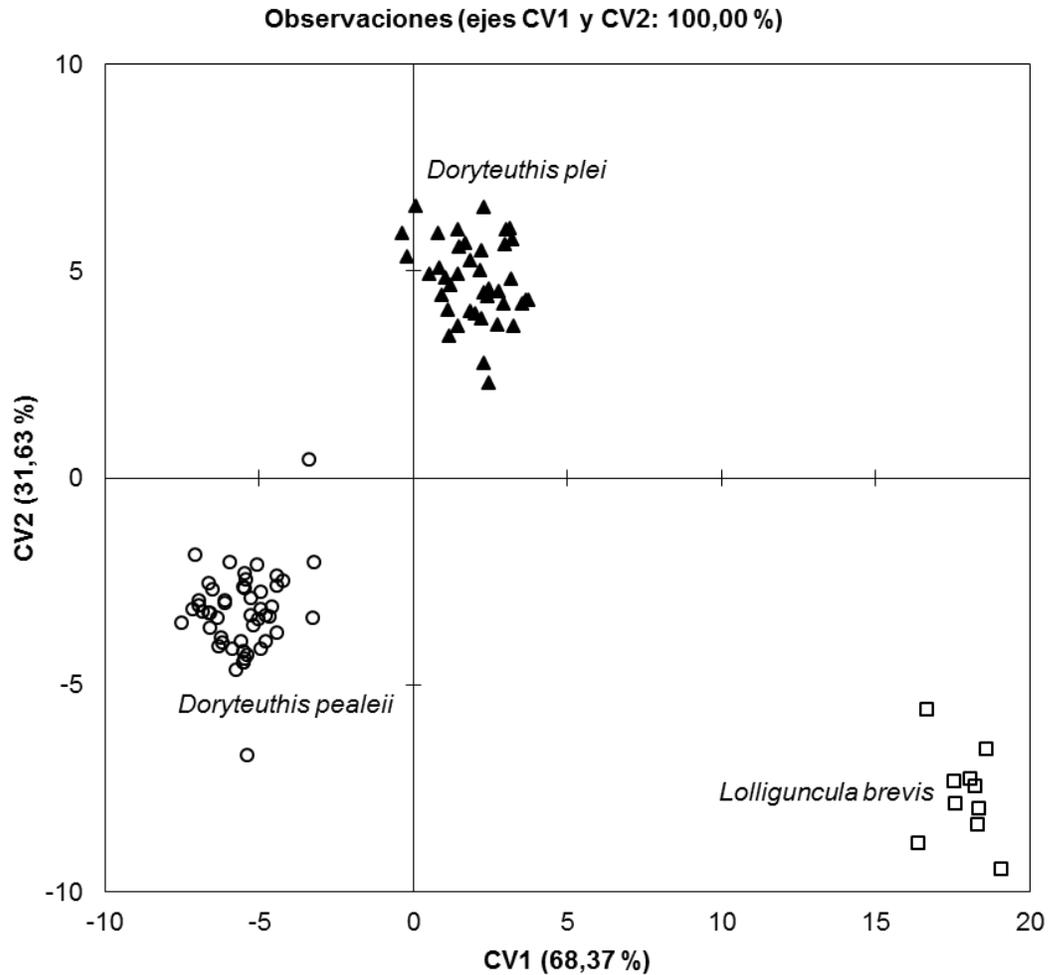


Figura 9. Distribución de los valores de deformaciones parciales a partir del CVA de las especies mediante morfometría geométrica de estatolitos.

Tabla VIII. Matriz de clasificación de las especies de la familia Loliginidae de acuerdo al análisis de morfometría geométrica de estatolitos.

Especies	% correcto	No. de especímenes clasificados			Total
		<i>L. brevis</i>	<i>D. pealeii</i>	<i>D. plei</i>	
<i>L. brevis</i>	100	10	0	0	10
<i>D. pealeii</i>	100	0	50	0	50
<i>D. plei</i>	100	0	0	50	50

En las gradillas de deformación que muestran la variabilidad morfológica de la forma promedio de los estatolitos de cada especie (Fig. 10), se distingue que la variabilidad de los estatolitos de *Lolliguncula brevis* se encuentra representada en el lóbulo superior, en el domo dorsal, en el ala y en el lóbulo rostral anterior. En

estatolitos de *Doryteuthis pealeii* la variabilidad se encuentra principalmente en el domo dorsal y el ala, y en menor grado en el domo lateral. La variabilidad morfológica en estatolitos de *Doryteuthis plei* se presenta en el domo dorsal y en el domo lateral. La forma de los estatolitos de todas las especies coincide en presentar alta magnitud de variabilidad en el domo dorsal, sin embargo, difieren en sentido y dirección.

De acuerdo con las *D2* cada individuo identificado como una especie determinada fue más parecido a esa especie que a la otra (Tabla XIX). Con base en estas distancias *Lolliguncula brevis* presentó mayores diferencias morfológicas en su estatolito en comparación con las otras especies (Fig. 11).

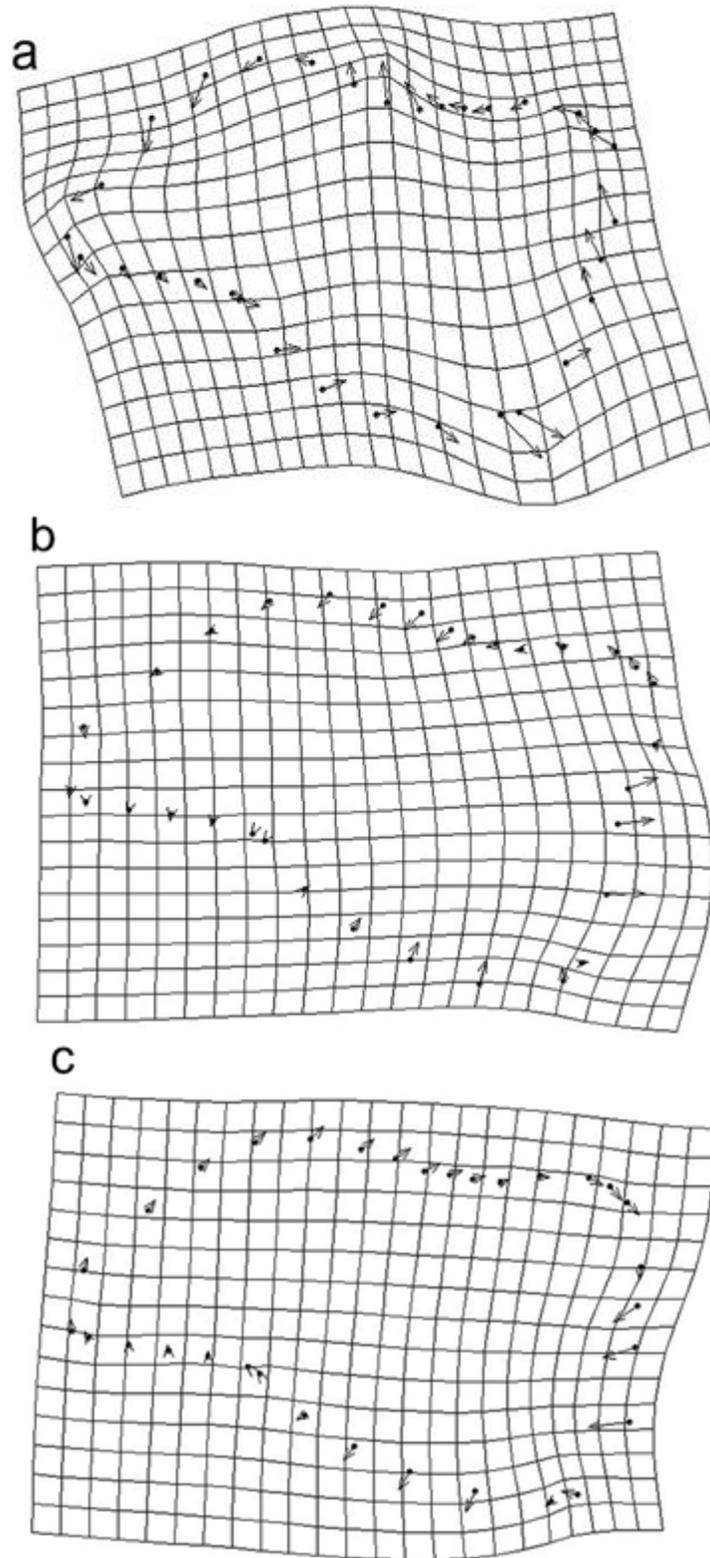


Figura 10. Gradillas de deformación representando la forma promedio característica de cada especie. a) *Lolliguncula brevis*; b) *Doryteuthis pealeii*; c) *Doryteuthis plei*

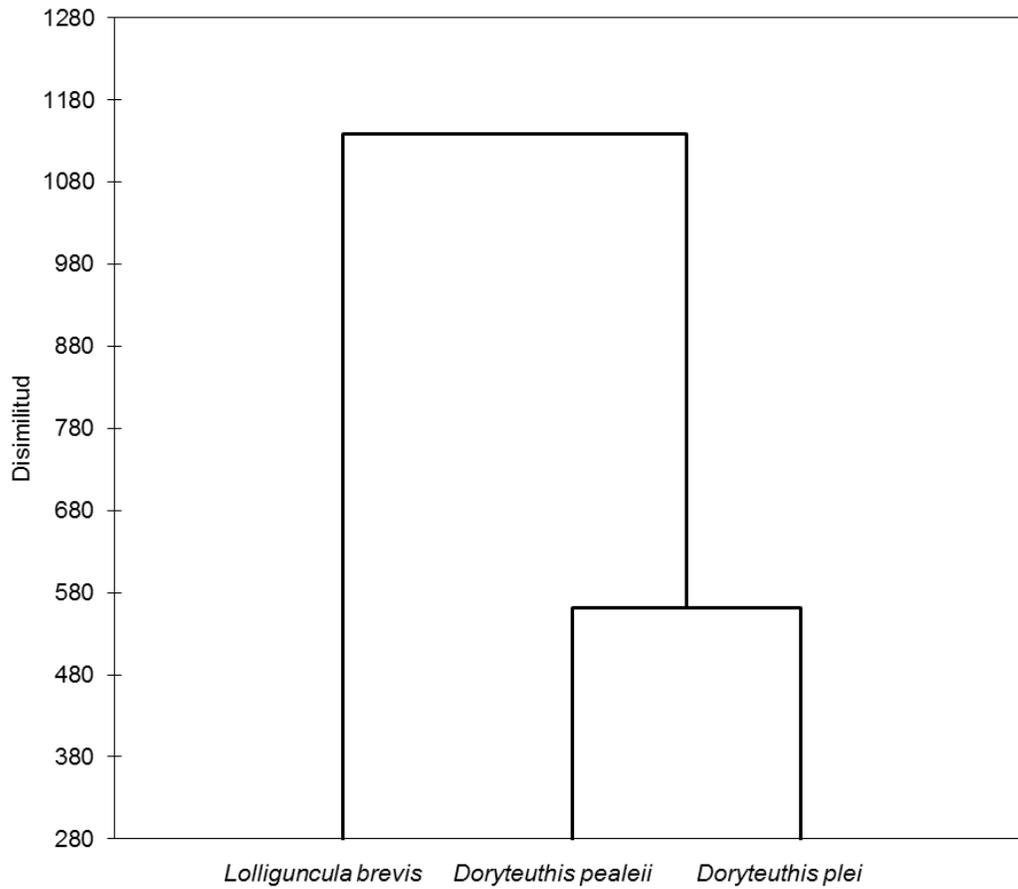


Figura 11. Dendrograma generado con base en las distancias cuadráticas de Mahalanobis de acuerdo al análisis de morfometría geométrica de estatolitos.

Tabla XIX. Matriz de distancias cuadráticas de Mahalanobis de acuerdo al análisis de morfometría geométrica de estatolitos.

Especies	<i>L. brevis</i>	<i>D. pealeii</i>	<i>D. plei</i>
<i>L. brevis</i>	0	567.881	409.645
<i>D. pealeii</i>	567.881	0	121.156
<i>D. plei</i>	409.645	121.156	0

4. DISCUSIÓN

4.1 Identificación morfológica

Todos los organismos recolectados en los cuatro cruceros que fueron identificados y diferenciados morfológicamente correspondieron a tres entidades taxonómicas de las cuatro reportadas para la zona por Jereb *et al.* (2010) en los mapas de distribución de las especies. En estos, según mencionan los autores, se considera todo el rango geográfico de distribución conocido de las especies, incluyendo áreas de ocurrencia estacional. En casos en donde sólo se cuenta con registros dispersos de ocurrencia, los autores utilizaron signos de interrogación para indicar áreas en donde se sospecha la distribución o no ha sido confirmada.

Doryteuthis roperi (Cohen, 1976) es una especie cuya distribución incluye la costa de Tamaulipas según el mapa de Jereb *et al.* (2010). Si bien esta representación gráfica de su distribución cuenta con signos de interrogación, éstos se encuentran en la región del Atlántico, cercano a las Bahamas y República Dominicana, por lo que su distribución en *loc. cit.* no entraría en una de las sospechas atribuibles al hecho de que no se encontró en las muestras recolectadas en los cruceros realizados para este estudio. La ausencia de esta especie en las recolectas pudo deberse a la selectividad en el arte de pesca, a una posible distribución estacional en el área de muestreo que no haya coincidido la fecha de los muestreos realizados en esas estaciones del año, a un escaso tamaño poblacional o que en realidad la especie no exista y se trate más bien de una sinonimia de *D. plei* (Blainville, 1823) como se discute más adelante.

En lo concerniente a la identificación, *Lolliguncula brevis* (Blainville, 1823) no presentó complicaciones debido a que sus características morfológicas coincidieron con su descripción original y debido a que sus caracteres externos no se traslaparon con las características encontradas en el resto de las especies.

Los ejemplares de *Doryteuthis pealeii* (LeSueur, 1821) se identificaron considerando que sus aletas miden más de la mitad de la longitud del cuerpo, concordando con quien describió a la especie. Se ha mencionado que esta especie y

D. plei son similares cuando se encuentran en simpatria, en donde, con excepción de la forma del gladio y del hectocotilo, todos sus caracteres se sobreponen (Cohen, 1976) y según Sánchez *et al.* (1996) esta similitud se hace más aguda en la región norte del Golfo de México. Lo anterior, contrasta con lo encontrado en el presente estudio, debido a que los organismos se recolectaron en el norte del Golfo de México y mostraron plasticidad intra-específica en la morfología del hectocotilo y diferencias inter-específicas en sus características diagnósticas independientes de la zona de co-ocurrencia y latitud.

La revisión de *D. roperi* empleando organismos de Museo y considerando las descripciones originales, permitió corroborar la problemática taxonómica de la familia Loliginidae (Vecchione *et al.*, 1998; Jereb *et al.*, 2010). Las características morfológicas de los organismos fueron muy similares a las encontradas en *D. plei*, lo que soporta la duda de que si ambas especies deben conformar una sola entidad taxonómica. En este caso, no fue posible identificar si las hembras examinadas pertenecían a una o a otra especie, debido al traslape de características considerado las guías originales (Blainville, 1823; Cohen, 1976). Los machos fueron identificados con base en la descripción de los hectocotilos (Brakoniecki, 1986). Sin embargo, se encontraron varias inconsistencias como se discute posteriormente en este trabajo. Por esta razón, los organismos machos fueron asignados a nivel especie con base en la morfología del hectocotilo que fuera más similar a una u otra especie respecto a las descripciones.

DeBose & Vecchione (2005) publicaron el primer registro de *D. roperi* en el Golfo de México, representado por siete organismos (dos machos y cinco hembras). En el Museo Smithsoniano se encuentran depositados los organismos que se reportan en su estudio, los cuales están contenidos en frascos en donde hay más organismos catalogados como *D. roperi* que no fueron incluidos como parte del elenco de los organismos reportados en su publicación. Estos individuos fueron revisados e incluidos en el presente trabajo, así como los otros siete ejemplares de la publicación de DeBose & Vecchione (2005). De estos ejemplares se encontraron machos en los que el acomodo de las ventosas del hectocotilo no concordó con la

descripción de Brakoniecki (1986); probablemente ésta haya sido la razón por la cual no fueron incluidos en el estudio de DeBose & Vecchione (2005).

Con respecto a las características del hectocotilo, más de la mitad de los machos de cada especie presentaron un acomodo diferente en el comienzo de las modificaciones de las ventosas en comparación con las descritas por Brakoniecki (1986). El autor menciona que las modificaciones empiezan “cerca” de cierto número de ventosa, lo cual es relativo pues sugiere que puede haber flexibilidad. En este estudio el criterio que se tomó para la descripción de los hectocotilos fue que la modificación (Fig. 2) ocurriera en \pm dos ventosas de diferencia respecto a lo que toma en cuenta la descripción de Brakoniecki (1986), para ser considerada o no concordante con la misma; sin embargo, cabe destacar que en algunos hectocotilos las modificaciones comenzaron hasta con 10 ventosas de diferencia con respecto a lo que comenta la literatura empleada. Lo anterior sugiere que pueden existir variaciones intraespecíficas en la forma del hectocotilo en función de la procedencia de los organismos; ya que la recolecta realizada en el presente estudio difiere de la zona de la cual proceden los organismos analizados por Brakoniecki (1986). Adicionalmente, indica que hay diferencias en los hectocotilos de organismos recolectados en una misma zona. Por lo tanto, la morfología del hectocotilo no debe ser utilizada como carácter diagnóstico pues varía dentro de una misma localidad y entre localidades. Por otro lado, el tamaño de la muestra puede también ser un factor importante ya que el número de individuos de *Lolliguncula brevis* revisados por Brakoniecki (1986) fue menor que el analizado en el presente trabajo.

Con respecto a *Doryteuthis plei* y *D. roperi*, que son las que tuvieron mayor similitud morfológica corporal y comparten el mismo tipo de hectocotilo. Se analizaron los mismos tres organismos (un macho USNM727777 y dos machos USNM727776) de *D. roperi* de la colección del Museo de Historia Natural Smithsoniano que utilizó Brakoniecki (1986) y concordaron con el acomodo de las ventosas de su descripción, sin embargo, no fue así en el resto de los hectocotilos de los paratipos (tres machos USNM727773, tres machos USNM72775, dos machos USNM1149434, un macho USNM1074408 y un macho USNM1074405); excepto uno de ellos que si concordó (USNM00575874). En el caso de *D. plei* la mayoría de los

hectocotilos de los organismos tampoco concordó con la descripción mencionada y aunque no hay traslape en el comienzo de las modificaciones de las ventosas de ambas especies, estas modificaciones comienzan por una ventosa de diferencia en algunos organismos, lo que pareciera indicar que hay continuidad y por la similitud de los pedúnculos con bases triangulares, podría tratarse más bien de variaciones intra-específicas en la forma del hectocotilo, es decir que todo indica que *D. roperi* es sinónimo de *D. plei* en lugar de ser dos entidades distintas con base tanto en su morfología corporal como del hectocotilo.

En cualquiera de los casos, en este estudio se sugiere que el acomodo de las modificaciones en las ventosas de los hectocotilos no es un carácter diagnóstico apropiado para la identificación de todas las especies de la familia Loliginidae, ya que algunas especies como *Loliguncula argus* (Brakoniecki & Roper, 1985) se pueden diferenciar por su hectocotilo fácilmente (Granados-Amores, 2014, com. pers.). En particular, en los loliginidos que se distribuyen en la costa de Tamaulipas, la morfología del hectocotilo no es un carácter que pueda ser utilizado para la identificación específica; lo que se puede acreditar a Brakoniecki (1986) para los organismos que se encuentran en *loc. cit.* son los distintos tipos de hectocotilos que presentan (tipo III, tipo IV y tipo V) y que son relevantes a nivel subgénero (Jereb *et al.*, 2010). Sin embargo, lo anterior no es aplicable para todas las especies de la familia Loliginidae. Granados-Amores (2013) encontró inconsistencias concernientes a este respecto demeritando la validez de la morfología del hectocotilo como un carácter que deba ser utilizado para la discriminación a nivel subgénero, por lo que se propone realizar análisis sistemáticos más extensos para los loliginidos de la costa de Tamaulipas (*e.g.*, incluir un mayor número de organismos al análisis) y para el resto de las especies de la familia Loliginidae.

4.2 Análisis genético

Se encontraron tres clados genéticos en la muestra de calamares obtenida de la costa de Tamaulipas durante los cuatro cruceros realizados. Estos

correspondieron a las tres especies identificadas a partir de las descripciones originales: *L. brevis*, *D. pealeii* y *D. plei*.

Las diferencias genéticas estimadas indicaron también que la divergencia entre especies de géneros distintos fue similar o ligeramente mayor que aquella encontrada entre especies del mismo género. Lo anterior ha sido notado en otros estudios, basados en marcadores moleculares que han incluido al gen COI (Anderson, 2000A; Anderson, 2000B). Las topologías mostradas en estos trabajos indican que las distintas especies del género *Lolliguncula* Steenstrup, 1881, a menudo presentan una mayor relación con especies de otros géneros que con aquellas del mismo (e.g. 14.9% de divergencia genética entre *Loligo forbesii* (Steenstrup, 1856) y *Lolliguncula brevis* y 15.1% entre *Lolliguncula diomedae* (Hoyle, 1904) y *L. panamensis* (Berry, 1911) (Anderson, 2000A; Anderson, 2000B; Granados-Amores, 2013; Sales *et al.*, 2014), por lo que Granados-Amores (2013) sugiere que el género *Doryteuthis* Naef, 1912 sea integrado al género *Lolliguncula*, en el contexto de este trabajo se concuerda con esta propuesta.

Recientemente fueron publicados dos estudios sobre filogenia de la familia Loliginidae. En el trabajo de Sales *et al.* (2013) se encuentran relaciones filogenéticas similares a las que se mencionó previamente, en donde las especies del género *Doryteuthis* se encuentran muy cercanas a las de *Lolliguncula* con lo que se puede incrementar el soporte de lo propuesto por Granados-Amores (2013). Sales *et al.* (2014) se enfocan solamente en especies del género *Lolliguncula* y encuentran una reestructuración e incremento en el número de especies. Reiteran que seguramente debe haber más especies crípticas dentro del género, con lo que se confirma que este género debe ser analizado. Cabe mencionar que ninguno de estos dos trabajos ha incluido datos que no sean moleculares (e.g. morfométricos) y que varias de las secuencias con las que realizan sus análisis fueron obtenidas del GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov). De esta manera, el control y rigor de los datos analizados no depende completamente de los autores. Considerando lo anterior es importante incrementar esfuerzos para analizar sistemáticamente estas especies, empleando una mayor variedad de herramientas y estrategias de análisis.

Los especímenes de *Doryteuthis roperi* encontrados en el Museo Smithsonian no fueron sometidos a análisis genéticos debido a que fueron fijados en formol desde su recolecta, y en ese estado el ADN sufre degradación, lo que dificulta la obtención de fragmentos mediante PCR. Por esta razón, se llevó a cabo una búsqueda exhaustiva de secuencias de esta especie en GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) con la intención de hacer una comparación de la información, sin embargo, no se encontró ninguna secuencia del COI ni de cualquier otro gen. De los pocos trabajos que existen de esta especie (Cohen, 1976; Brakoniecki, 1986; DeBose & Nevitt, 2004, datos no publ.; DeBose & Vecchione, 2005), sin considerar las compilaciones de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y Tree of Life (ToL), los muestreos de los últimos dos trabajos se realizaron en periodo de 2001-2004, en donde desafortunadamente ningún fragmento de tejido fue canalizado a estudios moleculares y todos los organismos se fijaron en formol. En los trabajos de investigación mencionados en este párrafo, se ha señalado la incipiente problemática taxonómica y poca información de esta especie.

4.2 Análisis de morfometría tradicional

Distintos procesos biológicos producen diferencias entre individuos y sus partes, y dentro de estos procesos se encuentra la diversificación evolutiva de largo plazo (Zelditch *et al.*, 2004). Las diferencias en la forma corporal de diversos organismos pueden ser el resultado de distintos papeles ecológicos, tipos de respuesta a las mismas presiones de selección y procesos de crecimiento y morfogénesis (Zelditch *et al.*, 2004). Es por esto que el análisis de la forma juega un papel importante en muchos estudios biológicos, ya que es una aproximación al entendimiento de esas causas de variación y transformación morfológica (Zelditch *et al.*, 2004).

Es importante tener en cuenta que cuerpo de los cefalópodos coleoideos no está sostenido por una concha o una estructura tan dura y amplia que de estructura a su cuerpo (Jereb *et al.*, 2013) de una manera tal que evite que el tejido se contraiga o

expanda con la manipulación, arte de muestreo y los métodos fijación y preservación (e.g. formol, alcohol, congelación). Por lo tanto, es recomendable tener en cuenta que al realizar análisis morfométricos de partes corporales de este tipo de organismos, podría ocurrir desviación de datos tanto por su naturaleza como por error de medida (*i.e.*, número de personas que participan en las observaciones) (Zelditch *et al.*, 2004). En este estudio los especímenes se encontraban fijados y preservados con el mismo método (alcohol), excepto los individuos de *D. roperi* que habían sido fijados primeramente en formol y preservados en alcohol; las mediciones fueron realizadas por una sola persona mezclando individuos de las distintas especies identificadas previamente, sin embargo, los individuos de *D. roperi* fueron medidos por separado ya que las instalaciones en donde están depositados son distintas a donde se encuentran el resto de los individuos analizados.

Las medidas corporales revisadas en el presente estudio indicaron diferencias considerables entre los tres grupos (100% de asignación correcta); consistente con las identificaciones previas de este trabajo y con el análisis de realizado por Granados-Amores *et al.* (2014) con un promedio de 77.6% de asignación correcta en calamares loliginidos del Pacífico mexicano, considerando que el tamaño de muestra (*n*) total fue mayor (530 especímenes) al de este estudio, y que incluyeron 6 especies en donde el *n* varió por especie. Tomando en cuenta que la mayor limitación del análisis de los caracteres morfológicos a nivel intraespecífico es la variación fenotípica que no se encuentra directamente bajo el control genético, si no limitada a la modificación ambiental (Clayton, 1981); en el análisis morfométrico realizado en este estudio lo anterior no fue una limitante. Las características de las mediciones corporales de los organismos objetivos no tuvieron una variación intraespecífica tal que reflejara agrupaciones dispersas y traslapadas sobre las variables canónicas del análisis, lo que podría indicar que los organismos se distribuyen dentro de condiciones ambientales sin modificaciones considerables o que la variabilidad fenotípica característica para cada especie es reducida.

A pesar de considerar que el uso de los caracteres morfométricos en cefalópodos es problemático debido a la plasticidad de la forma corporal y crecimiento, haciendo difícil un estudio adecuado y consistente (Shaw *et al.*, 1999),

de acuerdo con el análisis realizado en este estudio se logró soportar de manera general que la forma corporal de los organismos analizados pertenecen a especies distintas, corroborado con el máximo porcentaje de asignación correcta y tomando en cuenta que se consideraron mediciones morfométricas propuestas por Roper & Voss (1983) con los que se ha llegado a la identificación específica y conclusiones filogenéticas (Anderson, 2000A; Granados-Amores *et al.*, 2014). Si bien estos resultados no aportan conclusiones contundentes respecto a relaciones filogenéticas, ya que deben ser requeridos análisis más profundos (*e.g.*, análisis que determinen qué medidas son las que presentan mayor variabilidad interespecífica) en donde se incluyan más mediciones (*e.g.*, longitud y ancho de estructuras duras como el gladio), es importante considerar que también a partir de estos análisis las diferencias fueron menores entre *Doryteuthis plei* y *Lolliguncula brevis* que entre las especies congéneres: *D. plei* y *D. pealeii*.

El análisis realizado para comparar *D. plei* y *D. roperi* indicó diferencias significativas entre ambas especies. Sin embargo, la revisión morfológica no mostró diferencias. A partir de estos hallazgos se plantean dos hipótesis: 1) Los criterios morfológicos descritos en la literatura y empleados en este estudio no son útiles para distinguir una especie de otra; pero las diferencias encontradas en las medidas corporales soportan la existencia de dos entidades taxonómicas. 2) Considerando que los criterios morfológicos no soportan la existencia de dos entidades; las diferencias morfométricas encontradas en el presente estudio son el resultado de una variabilidad intraespecífica; es decir, que se trata de una sola especie; que mantiene diferencias morfométricas entre dos grupos debido a que proceden de zonas de muestreo distintas, que se encuentran expuestas a condiciones ambientales diferentes (Clayton, 1981) y se refleja en sus mediciones corporales. Esta última hipótesis podría verse soportada porque en ninguna recolecta fue registrado un cuarto clado genético, que pudiera ser asociado a *D. roperi*. Desafortunadamente, los organismos del museo han sido fijados en formol, y la confirmación de una entidad taxonómica distinta a *D. plei*, mediante análisis genéticos, debido a su imposibilidad metodológica, no fue abordada en este estudio.

4.4 Análisis de morfometría geométrica de estatolitos

Para cumplir los propósitos de este análisis se tomaron en cuenta tres *landmarks*, que fueron los puntos homólogos que se encontraron en todos los estatolitos de todos los organismos aquí considerados, al igual que en el estudio de Granados-Amores (2013), contrastando con la sugerencia de utilizar las 18 cotas anatómicas que se tomaron en cuenta en el estudio de Dommergues *et al.* (2000) en donde los resultados del análisis alcanzaron el 100% de asignación correcta.

El porcentaje de asignación correcta de los estatolitos (100%) en cada una de las tres especies tratadas en este estudio soporta el importante valor taxonómico de estas estructuras (Clarke, 1978). Esto es concordante con lo encontrado por Lombarte *et al.* (2006) y Granados-Amores (2013) quienes lograron mediante los estatolitos la identificación específica de los organismos que analizaron.

Las principales variaciones morfológicas en la descripción del estatolito con base en los diagramas formulados en las gradillas de deformación no parecen ser un carácter de nivel genérico pues hubo más diferencias en especies del mismo género que en especies de géneros distintos, tal como se percibe en las descripciones de Granados-Amores (2013). Sin embargo, el Análisis de Variables Canónicas indicó que el conjunto de valores de las dos especies del mismo género se encuentran distribuidos en un espacio canónico más cercanos que el que presentan los valores de especies pertenecientes a géneros distintos tal como se refleja en el dendrograma, y tiene congruencia con lo encontrado por Granados-Amores (2013). La variación en la forma de una estructura dada podría representar localidades geográficas y efectos ambientales (Rohlf & Marcus, 1993). *Lolliguncula brevis* es una especie que soporta un amplio rango de variaciones ambientales en cuanto a salinidad y temperatura (Vecchione, 1991), lo anterior podría explicar la diferencias en los estatolitos de esta especie con respecto a los de las otras dos especies incluidas en el análisis desde un punto de vista ambiental y no directamente filogenético. Sería importante realizar una caracterización específica en cuanto a su migración vertical para robustecer la opinión anterior.

4.5 Integración de los hallazgos morfométricos y genéticos

Los resultados del presente trabajo soportaron la existencia de tres especies en la costa de Tamaulipas mediante la información morfológica, morfométrica (medidas corporales y geometría del estatolito) y genética. Se documentaron las inconsistencias en cuanto a la identificación morfológica de hembras de *Doryteuthis plei*, como se discute previamente, pues el uso de caracteres merísticos en cefalópodos es problemático debido a la plasticidad de la forma corporal de estos organismos (Shaw, 1999). Por otro lado, la circunscripción de la especie *D. roperi* permanece incierta, pues existieron estas mismas inconsistencias morfológicas tanto en machos como en hembras, considerando los criterios morfológicos publicados para su reconocimiento, esta especie puede considerarse una sinonimia de *D. plei*, sin embargo, a partir del análisis morfométrico se soportan diferencias estadísticas, aunque este hecho no garantice con certeza que la magnitud de las diferencias con *D. plei*, soporte la existencia de dos entidades que justifiquen la asignación de especies distintas. Resultados más robustos deben ser obtenidos de registros adicionales y estudios alternos (e.g., moleculares).

La importancia de la utilización de distintas herramientas taxonómicas de manera integral se ha sugerido en distintos trabajos que no han sido necesariamente integrativos (Bonnaud *et al.*, 1994). En este estudio se utilizaron distintas herramientas que en conjunto permitieron una determinación robusta de las especies, tal como lo desarrollado por Granados-Amores (2013) para loliginidos del Pacífico mexicano y Anderson *et al.* (2008) para el género *Alloteuthis*, aunque estos últimos sólo utilizaron mediciones corporales y datos moleculares. Es importante tomar en cuenta que combinar distintos conjuntos de taxa y datos filogenéticamente informativos en un análisis simultáneo puede afectar fuertemente a las estimaciones de las relaciones (Wiens & Reeder, 1995) por lo que se propone que los análisis taxonómicos en donde se utilicen distintas herramientas sean evaluados por separado y discutidos de manera integrativa.

El cladograma generado a partir de secuencias genéticas y los dendrogramas resultantes de los análisis de morfometría tradicional de partes corporales de los

especímenes y de morfometría geométrica de estatolitos, son todos contrastantes entre sí en el acomodo de los grupos. Si bien se han establecido conclusiones filogenéticas a partir de análisis moleculares (Anderson, 2000A; Strugnell *et al.*, 2005) y se ha argumentado que una de las causas de la forma corporal de los organismos es la evolución (Zelditch *et al.*, 2004) y que la forma de los estatolitos depende enormemente de la filogenia (Clarke & Maddock, 1988); los resultados de este estudio indican que la expresión de los distintos caracteres (forma corporal y de estructuras duras y acomodo de las pares de bases nucleotídicas) se encuentra a distintas tasas de su historia evolutiva pues son de distinta naturaleza. Sin embargo, se logró detectar la separación bien definida de los taxa a partir de estos análisis.

4.6 Conclusiones

- Las especies de loliginidos que se distribuyen en la costa de Tamaulipas fueron morfológica, morfométrica y genéticamente identificadas como: *Lolliguncula brevis*, *Doryteuthis pealeii* y *Doryteuthis plei*.
- *Doryteuthis pealeii* y *D. plei* presentan diferencias morfológicas en zonas de simpatria.
- No se confirmó la presencia de *Doryteuthis roperi* en las costas de Tamaulipas.
- La revisión taxonómica de *D. roperi* a partir de individuos depositados en el Museo Nacional de Historia Natural Smithsoniano, Washington D.C., E.U.A, no indicó la presencia de rasgos morfológicos distintos a los de *Doryteuthis plei*. Sin embargo, con el MANOVA se observaron diferencias significativas. Considerando, lo anterior, y la ausencia de datos genéticos de *D. roperi*, en el presente estudio no se encontraron elementos suficientes para confirmar o no, si *Doryteuthis plei* y *D. roperi* conforman una misma especie.
- El uso de la morfología del hectocotilo no es un carácter adecuado para la identificación específica en la familia Loliginidae.
- Las revisiones taxonómicas de los cefalópodos loliginidos deben considerar el uso de varias herramientas para la obtención de caracteres de distintos tipos.

5. LITERATURA CITADA

- Addinosoft. 2014. XLSTAT Software. Versión 2014. 3.01. Copyright Addinosoft 1995-2014. <http://www.xlstat.com/es/>
- Aldrich, F. A. 1990. Loligo and far away: a consideration of the establishment of the species designation *Loligo pealei*, 27-34. En: Gilbert, D.L., W. J. Adelman Jr. & J. M. Arnold (Eds.) Squid as experimental animals. Springer-Verlag GmbH, EUA. 516 p.
- Alejo-Plata M.C., G. Cárdenas-Ladrón de Guevara & J.E. Herrera-Galindo. 2001. Cefalópodos loliginidos en la fauna y acompañamiento del camarón. Ciencia y Mar. 14: 41–46.
- Anderson, FE. 2000A. Phylogeny and historical biogeography of the loliginid squids (Mollusca: Cephalopoda) based on mitochondrial DNA sequence data. Mol. Phylogenet. Evol. 15(2): 191-214.
- Anderson, F.E. 2000B. Phylogenetic relationships among loliginid squids (Cephalopoda: Myopsida) based on analyses of multiple data sets. Zool. J. Linn. Soc.-Lond. 130: 603-633.
- Anderson, F.E., A. Pilsits, S. Clutts, V. Laptikhovski, G. Bello, E. Balguerías, M. Lipinski, C. Nigmatullin, J.M.F. Pereira, U. Piatkowski, J.P. Robin, A. Salman & M.G. Tasende. 2008. Systematics of Alloteuthis (Cephalopoda: Loliginidae) based on molecular and morphometric data. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 364: 99-109.
- Arreguín-Sánchez, F. & E. Arcos-Huitrón. 2011. La pesca en México: estado de explotación y uso de los ecosistemas. Hidrobiológica. 21(3): 431-462.
- Aurioles-Gamboa, D. & F.J. Camacho-Ríos. 2007. Diet and feeding overlap of two otariids, *Zalophus californianus* and *Arctocephalus townsendi*: Implications to survive environmental uncertainty. Aquat. Mamm. 33(3): 315-326.
- Barón, P.J. y M.E. Ré. 2002. Morphometry of the northern Patagonian sympatric populations of *Loligo sanpaulensis* and *Loligo gahi*. J. Mar. Biol. Ass. U. K. 82: 269-278.

- Blainville, H.D. 1823. Memoire sur les especes du genre Calmar (Loligo, Lamarck). J. Phys. Chim. Hist. Nat. Arts. 96: 116-135.
- Bonnaud, L., R. Boucher-Rodoni & M. Monnerot. 1994. Phylogeny of decapod cephalopods based on partial 16S rDNA nucleotide sequences. C.R. Acad. Sci. 317: 581-588.
- Bookstein, F.L. Morphometric tools for landmark data. Cambridge University press, Reino Unido, 456 p.
- Brakoniecki, T.F. 1980. *Lolliguncula tydeus*, a new species of squid (Cephalopoda: Myopsida) from the Pacific Coast of Central America. B. Mar. Sci. 30(2): 424-430.
- Brakoniecki, T.F. 1986. A Generic Revision of the Family Loliginidae (Cephalopoda: Myopsida) based primarily on the comparative morphology of the hectocotylus. Tesis de doctorado. University of Miami. Miami, EUA, 163 p.
- Cadena, C.D. & A.M. Cuervo. 2010. Molecules, ecology, morphology, and songs in concert: how many species is *Arremon torquatus* (Aves: Emberizidae)? Biol. J. Linn. Soc. 99: 152-176.
- Clarke, M. 1978. The cephalopod statolith-an introduction to its form. J. Mar. Biol. Ass. U. K. 58: 701-712.
- Clarke, M. & L. Maddock. 1988. Statoliths from living species of cephalopods and evolution, 169-184. En: Wilbur, K.M. (Ed.). The Mollusca: Paleontology and Neontology of Cephalopods. Academic Press London, Reino Unido, Vol. 12, 355 p.
- Clayton, J.W. 1981. The stock concept and the uncoupling of organismal and molecular evolution. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 38(12): 1515-1522.
- Cohen, A.C. 1976. The systematics and distribution of *Loligo* (Cephalopoda: Myopsida) in the western North Atlantic with description of two new species. Malacologia. 15: 229-367.
- DeBose, J.L. M. Vecchione. 2005. First documentation of the Roper inshore squid, *Loligo roperi* (Cohen 1976), in the Gulf of Mexico. Gulf Mex. Sci. 23(1): 132-135.

- De La Lanza-Espino, G. & J. C. Gómez-Rojas. 2004. Características físicas y químicas del Golfo de México, 103-132. En: Caso M., I. Pisanty & E. Ezcurra (Eds.) Diagnóstico ambiental del Golfo de México. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, Instituto de Ecología, A. C., Harte Research Institute for Gulf of Mexico Studies, México, 626 p.
- Dommergues, J.L., P. Neige & S.v. Boletzky. 2000. Exploration of morphospace using Procrustes analysis in statoliths of cuttlefish and squid (Cephalopoda: Dechabrachia) – a discussion of evolutionary aspects of form disparity. The Veliger. 43(3): 265-276.
- Elliot, N.G., K. Haskard & J.A. Koslow. 1995. Morphometric analysis of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) off the continental slope of Southern Australia. J. Fish Biol. 46: 202-220.
- FAO. 1998. FAO anuario de estadísticas de Pesca. Capturas 1996, 305-353. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Vol. 82.
- Flores, L.A. & D.E. Garland. 2002. Descripción de los estatolitos y relaciones morfométricas y gravimétricas en el calamar patagónico (*Loligo gahi*) (Cephalopoda: Loliginidae). Rev. Biol. Mar. Oceanogr. 37 (1): 15 – 24.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz & R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase Subunit I from diverse metazoan invertebrates. Mol. Mar. Biol. Biotech. 3(5): 294-299.
- García-Rodríguez, F.J. y D. Aurióles-Gamboa. 2004. Spatial and temporal variation in the diet of the California sea lion (*Zalophus californianus*) in the Gulf of California, México. Fish. B-NOAA. 102: 47-62.
- Gower, J.C. 1967. A comparison of some methods of cluster analysis. Biometrics. 23: 623-628.
- Gower, J.C. 1975. Generalized Procrustes analysis. Psychometrika. 40(1): 33-51.
- Granados-Amores, J. 2013. Taxonomía de calamares de la familia Loliginidae en el Pacífico Mexicano. Tesis de Doctorado. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, 84 p.

- Granados-Amores, J., F.J. García-Rodríguez, F.G. Hochberg & C.A. Salinas-Zavala. 2014. The taxonomy and morphometry of squids in the family Loliginidae (Cephalopoda: Myopsida) from the Pacific coast of Mexico. Am. Malacol. Bull. 32(2): 1-11.
- Hammer, Ø., D.A.T. Harper & P.D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education data analysis. *Paleontologia Electronica*, 4(1), 9 p. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm
- Jereb, P., M. Vecchione & C.F.E. Roper. 2010. Family Loliginidae, 38-117. En: Jereb P. & C.F.E. Roper (Eds.) Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of species known to date. Myopsid and oegopsid squids. FAO Species Catalog for Fishery Purposes, Roma, Vol. 2, No. 4, 605 p.
- Jereb, P., C.F.E. Roper, M. D. Norman & J.K. Finn. 2013. Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of species known to date. Octopods and Vampire squids. FAO Species Catalog for Fishery Purposes, Roma, Vol. 3, No. 4, 352 p.
- Judkins, H.L., M. Vecchione & C.F.E. Roper. 2009. Cephalopoda (Mollusca) of the Gulf of Mexico 701-709. En: Felder, D.L. & D.K. Camp (Eds). Gulf of Mexico, origin, waters, and biota. Texas A & M University Press, EUA, Vol 1, 1312 p.
- Kimura, M. 1980. A simple model for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. J. Mol. Evol. 16: 111-120.
- LeSueur, C. A. 1821. Descriptions of several new species of cuttlefish. J. Acad. Nat. Sci. Phila. 2:86-101.
- Lombarte, P., Rufino M.M. & Sánchez P. 2006. Statolith identification of Mediterranean Octopodidae, Sepiidae, Loliginidae, Ommastrephidae and Enoploteuthidae based on warp analyses. J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 86: 767-771.
- Lord-Britton, N. 1908. The taxonomic aspect of the species question. Amer. Naturalist. 42(496): 225-242.

- Natsukari, Y. 1983. Taxonomical and morphological studies on the loliginid squids-III. Nipponloligo, a new subgenus of the genus Loligo. Venus: Jap. J. Malacol. 42(4):313-318.
- Okutani, T. & J. McGowan. 1969. Systematic, distribution, and abundance of the epiplanktonic squid (Cephalopoda, Decapoda) larvae of the California Current, April, 1954- March, 1957. Bull. Scripps Inst. Oceanogr. Univ. Calif. 14:1-90.
- Pineda, S.E., A. Aubone & N.E. Brunetti. 1996. Identificación y morfometría comparada de las mandíbulas de Loligo gahi y Loligo sanpaulensis (Cephalopoda, Loliginidae) del atlántico sudoccidental. Rev. Invest. Des. Pesq. 10: 85-99.
- Rohlf, F.J. 2004. tpsDig. <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>
- Rohlf, F. J. & L. F. Marcus. 1993. A revolution in morphometrics. Trends Ecol. Evol. 8(4): 129-132.
- Roper, C.F.E. & G.L. Voss. 1983. Guidelines for taxonomic descriptions of cephalopod species. Mem. Nat. Mus. Vic. 44: 49-63.
- Roper, C.F.E., M.J. Sweeney & C.E. Nauen. 1984. Species catalogue. Vol. 3. Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of species of interest fisheries. FAO Fish. Synop. 125(3):1-277.
- Roper C.F.E., M.J. Sweeney & F.G. Hochberg. 1995. Cefalópodos. En: Fisher W., Krupp F., W. Schneider, C. Sommer, K.E. Carpenter & V.H. Niem (Eds.) Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico centro-oriental. Plantas e invertebrados. FAO, Roma, Vol. 1, 646 p.
- Saitou, N. & M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. 4(4): 406-425.
- Sales, J.B.L, P.W. Shaw, M. Haimovici, U. Markaida, D.B. Cunha, J. Ready, W.M.B. Figueiredo-Ready, H. Schneider & I. Sampaio. 2013. New molecular phylogeny of the squids of the family Loliginidae with emphasis on the genus Doryteuthis Naef, 1912: Mitochondrial and nuclear sequences indicate the presence of cryptic species in the southern Atlantic Ocean. Mol. Phylogenet. Evol. 68: 293-299.

- Sales, J.B.L., U. Markaida, P.W. Shaw, M. Haimovici, J.S. Ready, W.M.B. Figueredo-Ready, F. Angioletti, M.A. Carneiro, H. Schneider & I. Sampaio. 2014. Molecular phylogeny of the genus *Lolliguncula* Steenstrup, 1881 based on nuclear and mitochondrial DNA sequences indicates genetic isolation of populations from north and south Atlantic, and the possible presence of further cryptic species. PLOS ONE. 9(2): 1-6.
- Sánchez, G., H.M. Perry, C.B. Trigg, M. Vecchione, C. Roper & P.M. Biesiot. 1996. Morphometry of juvenile and subadult *Loligo pealei* and *L. Plei* from the northern Gulf of Mexico. Fish. Bulletin. 94: 535-550.
- Sánchez, P. 2003. Cephalopods from off the Pacific coast of México: biological aspects of the most abundant species. Sci. Mar. 67:81-90.
- Shaw, P.W., G.J. Pierce & P.R. Boyle. 1999. Subtle population structuring within a highly vagile marine invertebrate, the veined squid *Loligo forbesi*, demonstrated with microsatellite DNA markers. Mol. Ecol. 8: 407-417.
- Stat Soft, Inc. 2004. STATISTICA (data analysis software system). Versión 7. www.statsoft.com
- Strugnell, J., M. Norman, J. Jackson, A. J. Drummond & A. Cooper. 2005. Molecular phylogeny of coleoid cephalopods (Mollusca: Cephalopoda) using a multigene approach; the effect of data partitioning on resolving phylogenies in a Bayesian framework. Mol. Phylogenet. Evol. 37(2): 426-441.
- Sequencher® version 5.2. Sequence analysis software. Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI, EUA. <http://www.genecodes.com>
- Tamura, K.D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei & S. Kumar. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. Mol. Biol. Evol. 28(10): 2731-2739.
- Thompson, J.D., D.G. Higgins & T.J. Gibson. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res. 22: 4673-4380.

- Vecchione, M. 1991. Dissolved oxygen and the distribution of euryhaline squid *Loliguncula brevis*. B. Mar. Sci. 49: 668–669.
- Vecchione M., T.F. Brakoniecki, Y. Natsukari & R.T. Hanlon. 1998. A provisional generic classification of the family Loliginidae. En: Voss N.A., Vecchione M. Toll R.B. and Sweeney M.J. (eds). *Systematic and Biogeography of Cephalopods*, Vol. II. Smithson. Contr. Zool. 586: 215–222.
- Vecchione, M., E. Shea, S. Bussarawit, F. Anderson, D. Alexeyev, C.C. Lu, T. Okutani, M. Roeleveld, C. Chotiyaputta, C. Roper, E. Jorgensen & N. Sukramongkol. 2005. Systematics of Indo-West Pacific loliginids. Res. Bull. Phuket Mar. Biol. Cent. 66:23-26.
- Wiens J.J. & T. Reeder. 1995. Combining data sets with different numbers of taxa for phylogenetic analysis. Syst. Biol. 44: 548–558.
- Young, R.E. & M. Vecchione, 1996. Analysis of morphology to determine primary sister-taxon relationships within coleoid cephalopods. Am. Malacol. Bull. 12(1/2): 91-112.
- Zavala-Hidalgo, J., S. Morey & J. O'Brien. 2003. Seasonal circulation on the western shelf of the Gulf of México using a high resolution numerical model. *Journal of Geophysical Research*. 108(12):1-19.
- Zavala-Hidalgo, J., B. Martínez-López , A. Gallegos-García, S.L. Morey & J.J. O'Brien. 2006. Seasonal upwelling on the western and southern shelves of the Gulf of Mexico. *Ocean Dynamics*. 56: 333-338.
- Zelditch, M.L., D.L. Swiderski, H.D. Sheets & W.L. Fink. 2004 .Geometric morphometrics for biologists: a primer. Elsevier Academic Press, Reino Unido, 443 p.

Sitios Web

www.conapesca.gob.mx

16/7/2013 17:00 hrs.

<http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM28tamaulipas/mediofisico.html>

14/07/2014 9:40 hrs.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>

05/08/2014 13:30 hrs.