



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Patrón filogeográfico del pulpo común *Octopus insularis* en el Caribe de Colombia

Paola Alejandra Puentes Sayo

Universidad Nacional de Colombia
Instituto de Estudios en Ciencias del Mar - CECIMAR
San Andrés (Isla), Colombia
2021

Patrón filogeográfico del pulpo común *Octopus insularis* en el Caribe de Colombia

Paola Alejandra Puentes Sayo

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ciencias – Biología

Director:

Dr. rer. nat Néstor Hernando Campos

Codirector (a):

Ph.D (c) Juan Carlos Narváez

Línea de Investigación:

Biología Marina

Grupo de Investigación Fauna Marina de Colombia; Biodiversidad y Usos

Universidad Nacional de Colombia

Instituto de Estudios en Ciencias del Mar - CECIMAR

San Andrés (Isla), Colombia

2021

Resumen

Patrón filogeográfico del pulpo común *Octopus insularis* en el Caribe de Colombia

Octopus insularis es una especie de pulpo de aguas someras explotada por las pesquerías artesanales y distribuida a lo largo del Atlántico occidental, el Golfo de México, el Caribe y una extensa región del Atlántico sur. Con el fin de evaluar su patrón filogeográfico se analizaron marcadores mitocondriales (16S rRNA y COIII) y marcadores nucleares (SNP's) a lo largo del genoma de individuos provenientes de la pesca artesanal, en diferentes localidades de la costa Caribe colombiana: Providencia, San Andrés, Cabo de la Vela, Santa Marta, isla Ceypén e isla Fuerte. Los análisis mitocondriales mostraron haplotipos nuevos ((16S = H2, H3 y H4) (COIII = H2 – H7)) y haplotipos compartidos con áreas geográficas distantes ((16S = H1) (COIII = H1)). La prueba de F_{ST} por pares no mostró diferenciación genética entre localidades con los genes mitocondriales evaluados. El análisis demográfico de COIII indicó que el tamaño efectivo poblacional de la especie se ha mantenido constante. Se hicieron inferencias a partir de datos genómicos de última generación con ADN asociado a sitios de restricción (ddRAD-seq) y se obtuvieron en total 6769 loci polimórficos, dichos datos mostraron, mediante la prueba de F_{ST} por pares, que existen diferencias bajas pero significativas entre localidades (Cabo de la Vela-Santa Marta; Cabo de la Vela-Isla Fuerte/Isla Ceypén; Santa Marta-Isla Fuerte/Isla Ceypén). No obstante, el análisis de varianza molecular (AMOVA) general y el análisis de coordenadas principales mostraron que no existe diferenciación genética entre las poblaciones geográficas analizadas. No se encontró correlación entre la distancia genética y la distancia geográfica mediante la prueba de Mantel y los análisis de estructura indicaron la presencia de un único stock genético distribuido homogéneamente a lo largo de todas las localidades. La información obtenida en este estudio permite evidenciar la falta de estructuración y conectividad genética poblacional de *O. insularis* debido a la ausencia de barreras biogeográficas putativas que afecten su flujo génico en el Caribe sur; a la alta capacidad de dispersión que posee por sus estrategias de historia de vida larval (paralarva planctónica) y a los factores oceanográficos que operan en el área de estudio.

Palabras clave: Filogeografía, flujo genético, diversidad genética.

Abstract

Phylogeographic pattern of the common octopus *Octopus insularis* in the Colombian Caribbean

Octopus insularis is a shallow-water octopus species exploited by artisanal fisheries and distributed throughout the western Atlantic, the Gulf of Mexico, the Caribbean, and an extensive region of the South Atlantic. In order to evaluate its phylogeographic pattern, mitochondrial markers (16S rRNA and COIII) and nuclear markers (SNP's) were analyzed along the genome of individuals from artisanal fishing, in different locations on the Colombian Caribbean coast: Providencia, San Andres, Cabo de la Vela, Santa Marta, Isla Ceycén and Isla Fuerte. Mitochondrial analyzes showed new haplotypes ((16S = H2, H3 and H4) (COIII = H2 - H7)) and haplotypes shared with distant geographic areas ((16S = H1) (COIII = H1)). The pair-wise F_{ST} test did not show genetic differentiation between localities with the evaluated mitochondrial genes. The COIII demographic analysis indicated that the effective population size of the species has remained constant. Inferences were made from the latest generation genomic data with DNA associated with restriction sites (ddRAD-seq) and a total of 6769 polymorphic loci were obtained; these data showed, by means of the pair-wise F_{ST} test, that there are low but significant differences between locations (Cabo de la Vela-Santa Marta; Cabo de la Vela-Isla Fuerte / Isla Ceycén; Santa Marta-Isla Fuerte / Isla Ceycén). However, the general molecular analysis of variance (AMOVA) and the principal coordinate analysis showed that there is no genetic differentiation between the geographic populations analyzed. No correlation was found between genetic distance and geographic distance using the Mantel test and the structure analyzes indicated the presence of a single genetic stock homogeneously distributed throughout all localities. The information obtained in this study shows the lack of structure and population genetic connectivity of *O. insularis* due to the absence of putative biogeographic barriers that affect its gene flow in the southern Caribbean; to the high dispersal capacity of its larval life history (planktonic paralarva) and to the oceanographic factors that operate in the study area.

Keywords: Phylogeography, RAD-seq, gene flow, genetic diversity.

Contenido

| | |
|--|--------------------------------------|
| Resumen..... | V |
| Abstract | VII |
| 1. Introducción | 9 |
| 2. Objetivos | 16 |
| 2.1 Objetivo general | 16 |
| 2.2 Objetivos específicos..... | 16 |
| 3. Materiales y métodos..... | 16 |
| 2.1 Área de estudio | ¡Error! Marcador no definido. |
| 2.2 Análisis mitocondriales | 18 |
| 2.2.1 <i>Extracción de DNA, amplificación y secuenciación</i> | 18 |
| 2.2.2 <i>Diversidad genética mitocondrial y análisis demográfico</i> | 18 |
| 2.3.1 <i>Extracción y secuenciación de ADN, preparación de librerías y ensamblaje de novo</i> 20 | |
| 2.3.2 <i>Diversidad genética nuclear y estructura poblacional</i> | 20 |
| 3. Resultados..... | 22 |
| 3.1 Diversidad mitocondrial..... | 22 |
| 3.2 Diversidad y estructura genética poblacional | 26 |
| 4. Discusión de resultados..... | 32 |
| 5. Conclusiones | 36 |
| 6. Recomendaciones | 37 |
| Bibliografía | 38 |

1. Introducción

El conocimiento filogeográfico de las especies explotadas comercialmente es fundamental para su conservación y manejo adecuado, y los enfoques moleculares son herramientas poderosas para investigar la dinámica poblacional en especies de cefalópodos ([Gao et al., 2016](#); [Judkins et al., 2016](#); [Domínguez-Contreras et al., 2018](#)). La filogeografía es la disciplina encargada de estudiar espacialmente los linajes genéticos y relacionarlos con los posibles factores (geológicos, climáticos, demográficos, terrestres y oceanográficos) que podrían ser responsables de las distribuciones geográficas actuales de las especies ([Freeland, 2020](#); [Wiley y Lieberman, 2011](#)). Los estudios desarrollados en esta disciplina han permitido determinar el impacto que han tenido los eventos históricos en la estructura genética de las poblaciones actuales y ha sido utilizada como herramienta para esclarecer patrones evolutivos entre poblaciones de una misma especie ([Avise et al., 1987](#)).

Los organismos marinos abarcan una inmensa diversidad de especies que exhiben diferentes patrones geográficos, allí, la historia de vida (estrategias de reproducción, habilidades dispersivas, especificidad al hábitat) e incluso otros factores ambientales, son determinantes importantes en su distribución filogeográfica y variabilidad genética, por lo cual deben ser estudiados en detalle ([Planes et al., 1998](#); [Rocha et al., 2002](#); [Banks et al., 2007](#); [Hickerson et al., 2010](#); [Ibáñez et al., 2016](#)).

En efecto, se esperaría que especies con historias de vida contrastantes y diferente potencial dispersivo, reflejen ser afectadas de forma segregativa, es decir, que especies que no poseen estadio larval difieran en su estructura genética y patrones de distribución de aquellas que poseen una larva pelágica, bien sea de corta o larga duración ([Riginos y Victor, 2001](#); [Hellberg et al., 2002](#); [Pelc et al., 2009](#); [Riginos et al., 2011](#); [Riginos y Liggins, 2013](#); [Haye et al., 2014](#)). Esto, puesto que se cree generalmente, que aquellos organismos marinos que tienen larvas pelágicas pueden interconectar poblaciones distantes mediante la dispersión a través de corrientes oceánicas ([Barber et al., 2002](#); [Cowen et al., 2002](#);

Morse *et al.*, 2018), mientras que organismos sin estadio larval se retienen cerca de sus poblaciones natales y tienen mayor oportunidad de diferenciación genética y adaptación local (Taylor y Hellberg, 2003; Selkoe y Toonen, 2011). A su vez, se esperaría que en regiones con fuertes corrientes oceánicas se vea facilitado el flujo entre localidades y se dé conectividad genética entre poblaciones; sin embargo, diferentes estudios han mostrado que las larvas no siempre logran plenamente su potencial de dispersión o que los patrones predictivos de conectividad genética en algunos casos no se cumplen (Barber *et al.*, 2002; Taylor y Hellberg, 2003, Doubleday *et al.*, 2009; Higgins *et al.*, 2013; Márquez *et al.*, 2013; Hays *et al.*, 2014).

Asimismo, diversos estudios genéticos llevados a cabo en el Caribe han permitido observar que el patrón filogeográfico que exhibe una especie es el resultado de la interacción de la misma y de sus características, con diferentes factores externos (Tabla 1), por lo que se hace imperativo definir cómo está siendo afectada la distribución de la diversidad del pulpo común en el Caribe de Colombia teniendo en cuenta sus estrategias de vida y otros factores que operan en la región.

Octopus insularis Leite y Haimovici, 2008, el pulpo común de aguas poco profundas que se pesca artesanalmente en el suroeste del Caribe (Puentes-Sayo *et al.*, 2021), se encuentra bajo constante presión pesquera y continúa siendo una especie poco estudiada en la región, por lo que se desconoce el estado de su diversidad genética. Esta especie de gran importancia ecológica, económica y social se alimenta de crustáceos, bivalvos, gasterópodos y peces, considerándose un depredador oportunista y generalista (Leite *et al.*, 2016). Vive asociada principalmente a fondos rocosos pero habita arrecifes coralinos, pastos marinos y fondos blandos; se encuentra a profundidades desde 1 hasta 30 m, por lo que es capaz de ocupar un nicho ecológico amplio (Leite *et al.*, 2009; Torrecilla y Leite, 2016; Lima *et al.*, 2017).

En general, los cefalópodos coleoides son organismos semélparos de vida corta, rápido crecimiento y enorme plasticidad (Boyle y Rodhouse, 2005), características que les permiten adaptarse a las condiciones ambientales cambiantes (Doubleday *et al.*, 2016). Dentro de las estrategias de vida de *O. insularis* se encuentra el cuidado parental durante la embriogénesis, la presencia de una paralarva planctónica que eclosiona sin presentar estadios intermedios o metamorfosis y es capaz de durar hasta tres meses en la columna de agua (Rocha *et al.*, 2001; Lima *et al.*, 2014); y dispersión limitada durante la adultez (Sales *et al.*, 2013; De Luca *et al.*, 2016; Melis *et al.*, 2018).

La cuenca del Caribe colombiano presenta masas de agua que son influidas por los vientos Alisios del este y que ingresan al Caribe por las Antillas Menores para llegar a Centroamérica (Ricaurte-Villota y Bastidas, 2017). De esta manera, la dinámica oceánica de la región se ve influenciada por tres corrientes principales que generan diferentes patrones de circulación oceánica y pueden afectar la distribución de la diversidad genética en las especies: la corriente Caribe (CC), que fluye al noroeste hacia las islas Caimán, el giro Panamá-Colombia (GPC), un giro ciclónico geográficamente restringido al golfo de Mosquitos en Panamá, y la contracorriente Panamá-Colombia (CCPC), ubicada al sur del Caribe, entre el golfo de Urabá y el río Magdalena y que actúa cuando se debilita la corriente Caribe, moviéndose adyacente a la costa en dirección noreste (Andrade, 2001; Bernal *et al.*, 2006; Lonin *et al.*, 2010; Ricaurte-Villota y Bastidas, 2017; Lopera *et al.*, 2020).

Tabla 1. Estudios filogeográficos llevados a cabo en el Caribe. SNSM: Sierra Nevada de Santa Marta; PNNT: Parque Nacional Natural Tayrona; RM: río Magdalena; CC: corriente Caribe; GPC: giro Panamá-Colombia; CCPC: contracorriente Panamá-Colombia; GM: golfo de Morrosquillo; BC: bahía de Cispatá; CCAI: ciénaga la Caimanera

| Especie | Historia de Vida | Patrón | Factor | Ref. |
|---|--|--|--|-------------|
| <i>Elacatinus evelynae</i> (pez) | Fase larval de 3 semanas | Diferenciación entre localidades del Caribe | Corrientes (retención de larvas) | 1 |
| <i>Lutjanus synagris</i> (pez) | Fase larval de 5 semanas | Diferenciación entre Santa Marta y Capurganá | Diferencias entre las plataformas continentales. Capurganá (ancha); Santa Marta (Talud continental). | 2 |
| <i>Cathorops mapale</i> (pez) | Incubación oral, sin larva pelágica | Diferenciación entre localidades al norte y al sur de la SNSM | Geológico (desplazamiento del macizo de la SNSM) | 3 |
| <i>Montastraea annularis</i> (coral) | Fase larval de 3-4 días Reproducción entre agosto y octubre | Diferenciación entre el este y oeste del Caribe sur | Descargas de aguas continentales y de baja salinidad por parte del RM. (Reducción en la sobrevivencia de larvas) | 4. |
| <i>Strombus gigas</i> (caracol) | Fase larval de 8 semanas | Diferenciación entre localidades continentales y oceánicas. Diferenciación entre atolones al norte y sur del Archipiélago de San Andrés y Providencia | Escenario oceanográfico: Patrón de circulación de la CC y GPC. (Retención de larvas y autoreclutamiento) | 5. |
| <i>Rhizoprionodon porosus</i> (pez) | Complejas interacciones con ambientes costeros (uso de áreas de crianza) | Diferenciación entre Guajira y localidades al sur | Temperatura (Relación con corrientes cálidas, Guajira: Surgencia) Interrupción plataforma costera en SNSM. | 6. |

| | | | | |
|--|--|---|--|-----|
| <i>Cittarium pica</i> (caracol) | Fase larval de 3 – 5 días | Diferenciación genética entre Guajira, Santa Marta y localidades al sur | Geológico (Discontinuidad en el hábitat específico: costa rocosa; ruptura biogeográfica en PNNT) Oceanográfico (CCPC; efecto de las descargas del RM) | 7. |
| <i>Caranx hippos</i> (pez) | Hábitos pelágicos toda su vida Múltiples desoves en dos periodos reproductivos | No diferenciación genética Población panmíctica | Especie pelágica y corrientes facilitan flujo de genes | 8. |
| <i>Mugil incilis</i> (pez) | Fase larval de 4 semanas Migración desde lagunas hasta el mar | Diferenciación genética entre (BC y CCAI) y localidades al norte | Oceanográfico (vientos, olas y corrientes dentro del GM influyen en el autoreclutamiento y limitan dispersión de larvas; dinámica de la CCPC y la CC | 9. |
| <i>Penaeus</i> (<i>Farfantepenaeus notialis</i>) (camarón) | Fase larval de 3 semanas Desova sobre la plataforma continental Estadios postlarvales viven en el estuario | Aislamiento por distancia Diferenciación genética entre Guajira y localidades al sur | Geológico (ruptura de la plataforma debido al levantamiento de la SNSM) Oceanográfico (CCPC) | 10. |

1. Taylor y Hellberg, 2003; 2. Landínez-García *et al.*, 2009; 3. Betancur *et al.*, 2010; 4. Foster *et al.*, 2012; 5. Márquez *et al.*, 2013; 6. Almanza-Bernal *et al.*, 2016; 7. Blanco, 2016; 8. Caiafa-Hernández *et al.*, 2018; 9. Mendoza-Ureche *et al.*, 2019; 10. Atencia-Galindo *et al.*, 2021

Por otra parte, la dinámica costera se ha visto afectada a lo largo de los años por diferentes procesos climáticos y geológicos que han actuado sobre la geografía a escala regional y local. De este modo, se hace de gran importancia evaluar dos sectores contrastantes del Caribe colombiano: (1) la zona adyacente a la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM), en donde el desplazamiento del macizo alteró la geomorfología del margen continental hace aproximadamente 0.78 Ma (Betancur *et al.*, 2010). Allí, la plataforma continental sufrió una ruptura haciendo que el talud se pronuncie muy cerca de la costa (isobata de -100 m se encuentra a solo 350 m de la costa) y causando posiblemente un quiebre en la conectividad costera (Rangel-Buitrago e Idárraga-García, 2010). A su vez, durante el Pleistoceno temprano pudo haber tenido lugar la formación de ensamblajes arrecifales en el Parque Nacional Natural Tayrona y la división de algunas especies marinas por la fragmentación de los fondos blandos naturales (Betancur *et al.*, 2010). (2) el delta del río Magdalena (RM), que representa un sistema turbio de gran espesor que se ha originado debido a la acumulación de sedimentos drenados, puede ser considerado como una barrera para algunos organismos al presentar cambios abruptos de salinidad, turbidez y temperatura, y al modificar rápidamente la morfología submarina debido al desarrollo de corrientes turbias y a la caída de material sedimentario hacia profundidades mayores (Flórez, 2003; Rangel-Buitrago e Idárraga-García, 2010).

Por lo anterior, el presente trabajo buscó analizar el patrón filogeográfico de *O. insularis* en el Caribe de Colombia y evaluar el efecto de dos posibles barreras biogeográficas (SNSM y RM) sobre su conectividad genética. Al generar esta información se podría esperar que exista un efecto generalizado en la organización genética de otros organismos que exhiben características similares, y por ende sería de gran utilidad para entender la forma en que diferentes especies responden a los eventos ocurridos en el Caribe colombiano. De igual forma, los resultados obtenidos permitirán hacer inferencias acerca de la capacidad que tiene la especie para responder frente a cambios en las condiciones ambientales y antropogénicas, tales como el cambio climático, contaminación, la degradación de sus hábitats y la explotación pesquera (FAO, 2020). Una aproximación genética haciendo uso de dos tipos de marcadores (mitocondriales y nucleares) permitirá obtener información sobre la especie a escalas diferentes, de manera que, las secuencias de ADNmt serán apropiadas para estudiar eventos evolutivos históricos ocurridos a escalas a menudo de miles a millones de años, mientras que un marcador nuclear (SNP's) proporcionará información a una escala reciente, casi contemporánea (decenas a cientos de generaciones) (Wagner *et al.*, 2013; Melis *et al.*, 2018). Así pues, teniendo en cuenta las características de los tipos de marcadores, su uso combinado permitirá dilucidar sobre los eventos pasados y más

recientes y, por lo tanto, recopilar información importante en una perspectiva evolutiva y de gestión, respectivamente.

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Evaluar el patrón filogeográfico de *Octopus insularis* considerando aspectos de su historia de vida y la existencia de posibles barreras biogeográficas en el Caribe de Colombia.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar la diversidad genética poblacional de *O. insularis* en el ámbito geográfico del Caribe de Colombia.
- Evaluar la diferenciación genética poblacional de *O. insularis* asumiendo como barreras geográficas el río Magdalena, el quiebre de la plataforma continental por la Sierra Nevada de Santa Marta y el efecto de las corrientes marinas asociadas al Caribe de Colombia

3. Materiales y métodos

Se recolectaron individuos provenientes de la pesca artesanal en siete localidades que abarcan el ámbito de distribución de *O. insularis* en el Caribe colombiano ([Tabla 2](#)). Para los análisis nucleares fueron agrupadas las localidades de estudio en cuatro poblaciones diferentes, de acuerdo con el nivel de aislamiento geográfico entre cada una de ellas ([Fig. 1](#)).

Tabla 2. Localidades de estudio, coordenadas geográficas con número de individuos por localidad para cada marcador.

| Localidad | Coordenada geográfica | Número de individuos | | |
|-------------------------|-----------------------|----------------------|-----------|---------------|
| | | Mitocondrial COIII | 16S | Nuclear SNP's |
| Providencia | 13.3813, - 81.3703 | 6 | 3 | 6 |
| San Andrés | 12.5221, - 81.7129 | 2 | 1 | 9 |
| Cabo de la Vela | 12.1653, - 72.1422 | - | - | 9 |
| Santa Marta | 11.2686, - 74.1932 | 5 | 12 | 9 |
| Isla Ceycén | 9.6937, - 75.8539 | - | - | 1 |
| Isla Fuerte | 9.3971, - 76.1846 | 23 | 24 | 11 |
| Total individuos | | 36 | 40 | 45 |

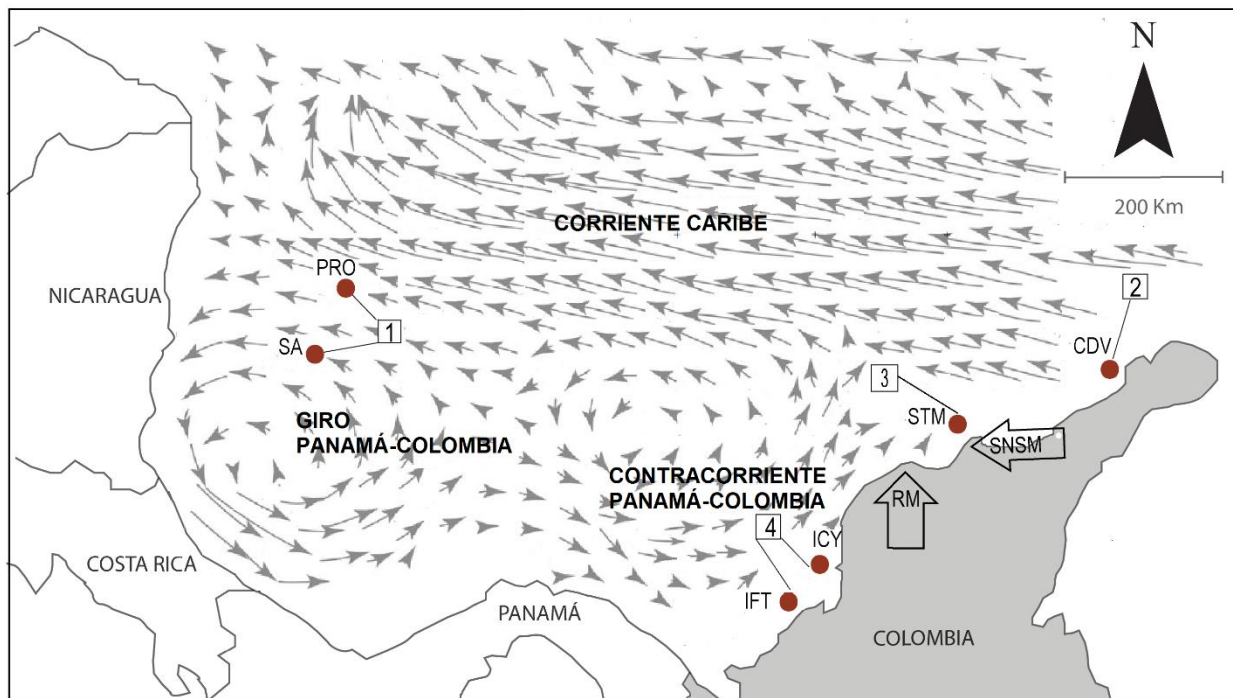


Figura 1. Mapa del Caribe colombiano con las localidades de estudio. Providencia (PRO), San Andrés (SA), Cabo de la Vela (CDV), Santa Marta (STM), Isla Ceycén (ICY), Isla Fuerte (IFT). Las flechas negras demarcan las posibles barreras geográficas: (RM) Río Magdalena, (SNSM) Sierra

Nevada de Santa Marta. Los números indican las cuatro poblaciones asumidas en los análisis nucleares.

3.1 Análisis mitocondriales

3.1.1 Extracción de DNA, amplificación y secuenciación

El material genético fue obtenido utilizando un protocolo estándar de extracción de sales (Miller *et al.*, 1988). Después de la adición del SDS y la proteinasa K, el tejido se incubó durante la noche a 65°C antes de que se completara el protocolo. Las amplificaciones por PCR para los genes mitocondriales COIII y 16S fueron llevadas a cabo utilizando los primers de Oosthuizen *et al.* (2004) y Palumbi *et al.* (2002), respectivamente.

Cada reacción de 25 mL contenía 1.0 µL de MgCl₂, 0.4 µL de dNTPs 10 mM, 16.5 µL de ddH₂O, 2.5 X de buffer de PCR, 0.5 µL de 10 mM de los primers, 0.2 µL de 5 U / mL Taq DNA polimerasa y 2 µL de ADN. La amplificación del gen COIII se basó en los siguientes parámetros cíclicos: un ciclo inicial de desnaturalización a 94°C durante 5 min, seguido de 30 ciclos a 95°C durante 30 s, alineamiento del primer a 52°C durante 30 s, una extensión inicial de 30 s a 72°C y una extensión final de 5 min a 72°C. Los ciclos térmicos de PCR para el gen 16S fueron: un ciclo inicial de desnaturalización a 95°C durante 10 min, seguido de 30 ciclos a 95°C durante 30 s, alineamiento del primer a 52°C durante 30 s, una extensión inicial de 30 s a 72°C y una extensión final de 10 min a 72°C.

El laboratorio de secuenciación de ADN de la Universidad de los Andes, llevó a cabo la secuenciación de los genes utilizando los mismos primers para las amplificaciones por PCR. Las secuencias de ambos genes que fueron generadas en este estudio, se depositaron en las bases de datos de GenBank con los números de acceso: (COIII: MT708937- MT708979; 16S: MF040831- MF040878).

3.2.2 Diversidad genética mitocondrial y análisis demográfico

Se analizaron 42 secuencias del gen 16S y 37 del gen COIII (Puentes, 2016). La calidad de las secuencias obtenidas fue inspeccionada en el software BioEdit (Hall, 1999), el alineamiento de estas y la verificación de codones de parada se llevó a cabo en el software MEGA 7.0 (Kumar *et*

al., 2015). Se determinó el número de haplotipos (h), la diversidad haplotípica (H_d), la diversidad nucleotídica (π) y el número de sitios variables (S) por medio del software DnaSP 5 (Librado y Rozas, 2009). Un mapa de haplotipos fue generado en el software PopART (Leigh y Bryant, 2015) con el fin de resumir la frecuencia y distribución de los haplotipos. Las secuencias obtenidas fueron contrastadas en las bases de datos con el fin de comprobar reportes anteriores de estos haplotipos en otras regiones geográficas. Dos secuencias adicionales de *O. insularis*, provenientes de las bases de datos de GenBank, fueron añadidas al análisis del gen COIII (norte de Brasil: AJ012123; México: KX219649) y tres secuencias al análisis del gen 16S (norte de Brasil: KF843964; México: MH550467 – KX219651) con el fin de ver relaciones con otras localidades.

Con el fin de observar diferencias entre las localidades, se calculó el índice de F_{ST} por pares de localidades en Arlequín 3.1.1 (Excoffier *et al.*, 2005) y la significancia estadística de las diferencias se estimó con base en 10,000 permutaciones. Se aplicó la corrección de Bonferroni para ajustar la significancia estadística en comparaciones múltiples (Rice, 1989). Se evaluó la historia demográfica de *O. insularis* haciendo uso del test de Tajima D (Tajima, 1989) y F_s de Fu (Fu, 1997) calculados en Arlequín 3.1.1. Estos índices detectan desviaciones del equilibrio de mutación-deriva de Wright-Fisher basadas en el exceso o déficit de haplotipos de baja frecuencia, generados por la expansión de la población, cuellos de botella o eventos de selección que han ocurrido en el pasado (Pardo-Garandillas *et al.*, 2017). Igualmente, con el fin de evaluar la historia demográfica de la especie se ejecutó el análisis BSP (Bayesian Skyline Plot) basado en coalescencia (Drummond *et al.*, 2005) con el programa BEAST v2.6.6 (Bouckaert *et al.*, 2019) utilizando 150 millones de generaciones y un burnin del 10%. El gráfico del cambio histórico del tamaño de poblacional se realizó con el software Tracer 1.5 (Rambaut y Drummond, 2009). Este análisis se realizó sólo para las secuencias mitocondriales del gen COIII y se eligió el modelo de sustitución nucleotídica GTR, utilizando el criterio de Información de Akaike en jModelTest 0.1.1 (Darriba *et al.*, 2012). La selección de los parámetros para dichos análisis incluyó una tasa de mutación generalmente utilizada para COI en cefalópodos de 2% de sustituciones por millón de años (Pardo-Garandillas *et al.*, 2017). Se utilizó la misma tasa de mutación para los análisis de COIII, ya que en los octópodos los genes codificantes de las mitocondrias han mostrado una variabilidad de nucleótidos similar (Pardo-Garandillas *et al.*, 2017).

3.3 Análisis nucleares

3.3.1 Extracción y secuenciación de ADN, preparación de librerías y ensamblaje de novo

La extracción y secuenciación de ADN genómico fue llevada a cabo por el centro de investigación “Australian Genome Research Facility”. Para la obtención de la librería genómica de la especie se estandarizó la técnica ddRAD-seq y se generaron fragmentos pequeños de ADN de aproximadamente 245 pb con las enzimas de restricción EcoRI y NlaIII. Diferentes combinaciones de enzimas fueron probadas y para la selección óptima se tuvo en cuenta la ausencia de regiones repetidas visibles dentro del área de selección de tamaño y el nivel más alto de amplificación. La calidad de las lecturas fue verificada en el software FastQC ([Andrews, 2010](#)) y se utilizó el software STACKS v2.4 para la detección de polimorfismos de nucleótidos (SNP's) ([Catchen et al., 2011](#); [Rochette et al., 2019](#)).

Las secuencias fueron filtradas en STACKS para obtener la mejor calidad de los datos usando el comando 'process_radtags'. En ausencia de un genoma de referencia los loci fueron ensamblados *de novo*, agrupando las lecturas de secuencia similares. Los parámetros óptimos para dicho ensamblaje fueron establecidos con el software RADProc (-M=3, -m=3, -n=2). En donde M es el número de discrepancias permitidas entre los loci de los individuos; m es la profundidad mínima de cobertura o número de lecturas idénticas requeridas para crear los agrupamientos; y n es el número de discrepancias permitidas entre loci dentro de una población ([Nadukkalam-Ravindran et al., 2018](#)). Durante el filtrado de datos se usó el comando (-R=0.6) para definir el porcentaje mínimo de individuos en poblaciones requeridas para procesar un locus, y el comando (-mif_maf=0.02) para especificar la frecuencia mínima de alelos menores requerida para procesar un sitio de nucleótidos en un locus ([Catchen et al., 2013](#)).

Para explorar las fuerzas evolutivas no neutrales que actúan sobre los loci y detectar loci putativos bajo selección se realizó un análisis utilizando el software BayeScan v2.1 ([Foll y Gaggiotti, 2008](#)); los parámetros para dicho análisis incluyeron 5.000 interacciones de MCMC y un pr_odd de 100 usando un FDR de 0.01 y 0.05. Con dicho análisis se pudo confirmar que los conjuntos de datos finales no incluían valores atípicos.

3.3.2 Diversidad genética nuclear y estructura poblacional

Se calculó la heterocigosidad observada (H_o), heterocigosidad esperada (H_e), diversidad nucleotídica (π), el coeficiente de endogamia (F_{is}) y los valores del índice de fijación por pares

(F_{ST}) en las poblaciones agrupadas haciendo uso del software STACKS (Catchen *et al.*, 2013; Rochette *et al.*, 2019).

La diferenciación genética entre grupos se evaluó mediante un análisis de varianza molecular (AMOVA) con la función `poppr.amova` en el paquete `poppr` (Kamvar *et al.*, 2014) en R (R Core Team, 2020) a través de un bootstrap de 1000 para cada modelo evaluado. Para determinar el número de agrupaciones genéticamente similares de individuos entre áreas se llevó a cabo un análisis bayesiano por medio del software Structure 2.3.3 (Pritchard *et al.*, 2000). El análisis inicial del conjunto de datos se llevó a cabo diez veces para cada valor de K, de 1 a 6, con 500.000 cadenas de Monte Carlo (MCMC) y un aumento de 30.000. El número de grupos genéticos más probable se determinó calculando el valor máximo del estadístico ΔK , según el método de Evanno *et al.* (2005) a partir del software Structure Harvester (Earl y VonHoldt, 2012) y con el fin de obtener una mejor estimación de los stocks genéticos (K) y comparar con otros enfoques se utilizó el software web STRUCTURESELECTOR (Li y Liu, 2018) para calcular los estimadores MEDMEANK, MAXMEANK, MEDMEDK y MAXMEDK (Puechmaille, 2016); las representaciones gráficas de los resultados se llevaron a cabo haciendo uso del software integrado Clumpak (Kopelman *et al.*, 2015). Sumado a esto, se realizó un análisis de coordenadas principales para explorar y visualizar diferencias entre las muestras (Zuur *et al.*, 2007).

Finalmente, se realizó la prueba de Mantel en el software GenAlEx 6.5 (Peakall y Smouse, 2012), con el fin de evaluar si *O. insularis* se ajusta al modelo poblacional de aislamiento por distancia (IBD). Las coordenadas geográficas para los grupos fueron calculadas como la latitud / longitud promedio de todos los puntos de muestreo relevantes y se utilizaron para calcular las distancias geográficas entre los puntos; y los valores de F_{ST} se utilizaron como distancias genéticas.

4. Resultados

4.1 Diversidad mitocondrial

Se obtuvo un fragmento de 457 pb para 36 individuos usando el gen COIII, el cual reveló en total siete haplotipos; y un fragmento de 436 pb para 40 individuos con el gen 16S, el cual reveló cuatro haplotipos. Los índices descriptivos de diversidad genética mostraron 12 y 7 sitios polimórficos (S) para los genes COIII y 16S respectivamente; diversidad de haplotipos Hd (COIII) = 0,659, Hd (16S) = 0,182; y diversidad nucleotídica baja para ambos genes π (COIII) = 0,0040, π (16S) = 0,0001 (Tabla 2).

Tabla 2. Diversidad genética mitocondrial de los genes 16S y COIII en la muestra total. Número de haplotipos (h), diversidad haplotípica (hd), diversidad nucleotídica (π), número de sitios variables (S), test de neutralidad de Tajima (D).

| | COIII | 16S |
|---|------------------|--------|
| Número de haplotipos (h) | 7 | 4 |
| Diversidad haplotípica (hd) | 0,659 | 0.182 |
| Diversidad nucleotídica por sitio (π) | 0,0040 | 0.0001 |
| Número de sitios variables (S) | 12 | 7 |
| Test de Tajima (D) | -1,1536 P > 0.10 | |
| Fu Test Fs | -0.437 P > 0.10 | |

La red de haplotipos del gen COIII mostró un haplotipo frecuente (H1) presente en Providencia, Santa Marta e Isla Fuerte y compartido con el norte de Brasil y México; un segundo haplotipo (H2), presente en Providencia, San Andrés e Isla Fuerte, un tercer haplotipo (H3) presente en Santa Marta, y Providencia, un cuarto haplotipo (H4) compartido entre San Andrés y Santa Marta, y haplotipos exclusivos de algunas localidades como Isla Fuerte (H5 y H6) y Santa Marta (H7) (Fig. 2).

En el caso del gen 16S la red haplotípica reflejó un haplotipo común y abundante (H1), compartido por todas las localidades, y haplotipos menos frecuentes encontrados en Santa Marta (H2 y H3) e Isla Fuerte (H4). Al contrastar las secuencias obtenidas con otras secuencias de *O. insularis* provenientes de otras localidades a nivel mundial fue posible encontrar que el haplotipo 1 se comparte con el norte de Brasil y con el sistema arrecifal veracruzano, pareciendo ser este el

haplotipo más basal, mientras que los haplotipos H2, H3 y H4 son haplotipos nuevos de este estudio (Fig. 2).

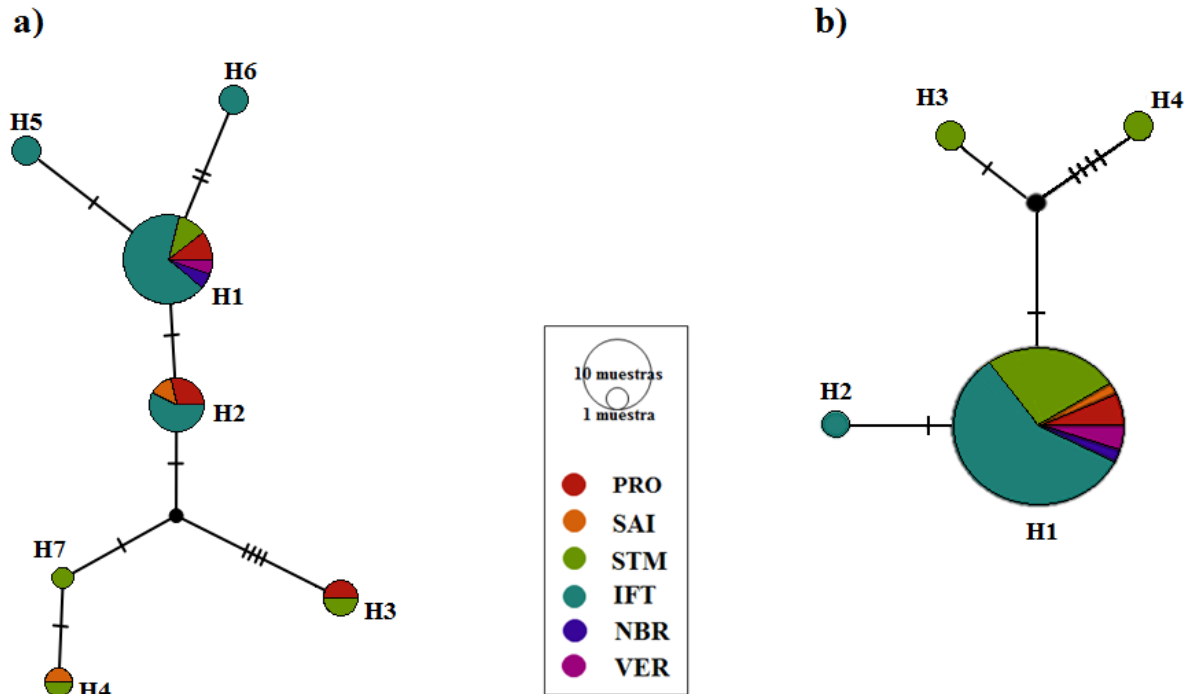


Figura 2. Redes haplotípicas de los genes a) COIII y b) 16S. Los haplotipos están denotados por círculos. El tamaño del círculo representa la abundancia del haplotipo. Los colores indican la localidad = PRO: Providencia; SAI: San Andrés; STM: Santa Marta; IFT: Isla Fuerte; NBR: Norte de Brasil; VER: Veracruz.

Los resultados permitieron encontrar haplotipos nuevos para la especie y observar la presencia de haplotipos únicos en ciertas áreas geográficas del Caribe de Colombia, en donde Santa Marta e Isla Fuerte son localidades con haplotipos propios y presentaron el mayor número de haplotipos (Fig. 3). Por su parte, el índice de fijación por pares (F_{ST}) indicó que no existe diferenciación genética entre las localidades analizadas con ambos genes mitocondriales (Tabla. 3).

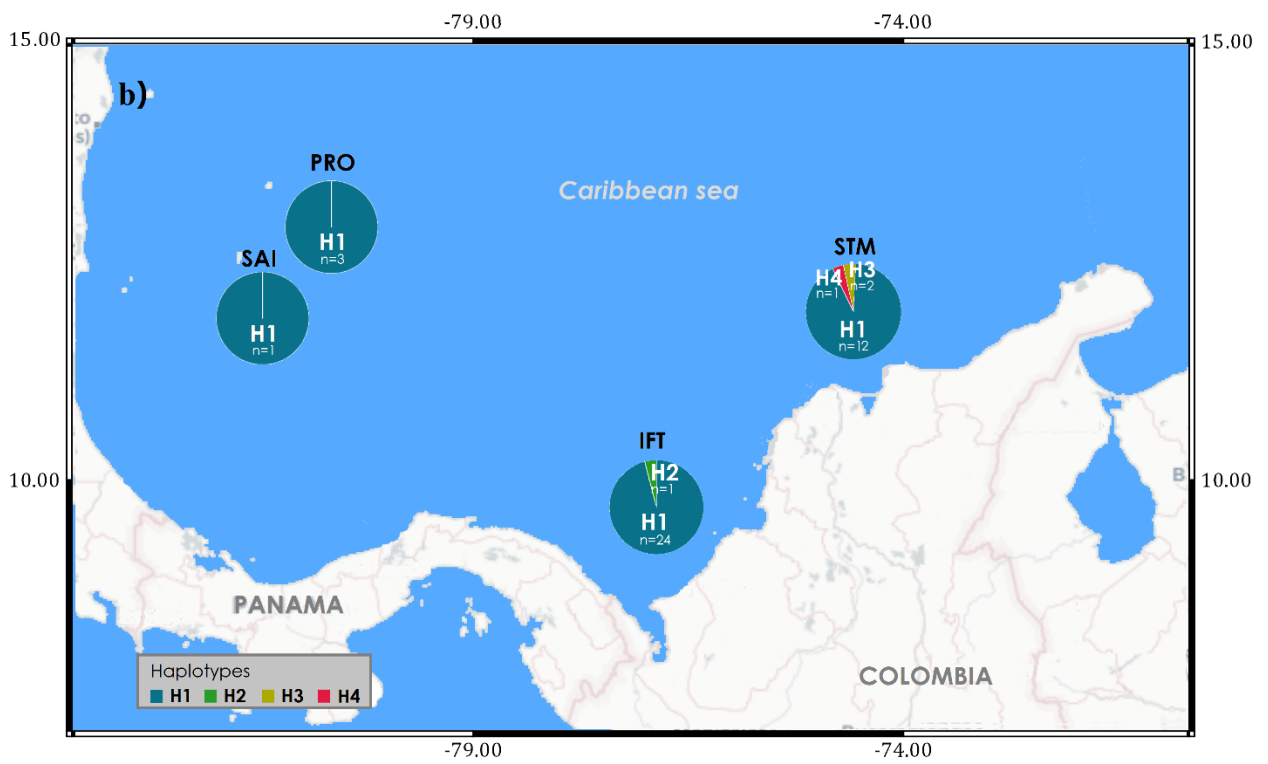
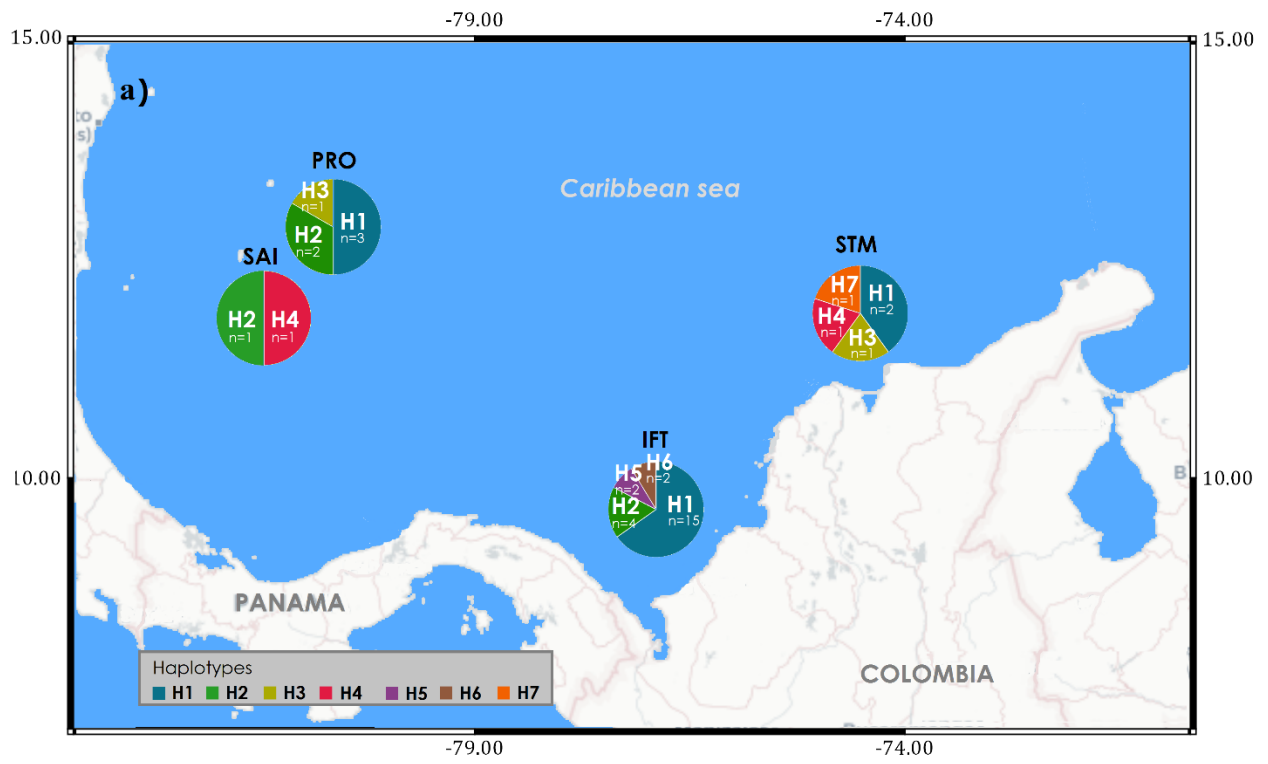


Figura 3. Distribución de los haplotipos de cada gen a) COIII y b) 16S por localidad. Cada localidad está representada por un círculo dividido en colores; cada color indica un haplotipo y el tamaño de cada color es proporcional al número de individuos que poseen el haplotipo en cada localidad.

Tabla 3. Valores del índice de fijación (F_{ST}) por pares a partir de secuencias mitocondriales de los genes COIII y 16S. Valores p arriba de la diagonal.

| GEN COIII | | | | |
|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | Providencia | San Andrés | Santa Marta | Isla Fuerte |
| Providencia | - | 0.6396 | 0.7837 | 0.5495 |
| San Andrés | 0.0232 | - | 0.7927 | 0.1441 |
| Santa Marta | -0.0616 | -0.0360 | - | 0.1441 |
| Isla Fuerte | -0.0278 | 0.2976 | 0.0627 | - |
| GEN 16S | | | | |
| | Providencia | Santa Marta | Isla Fuerte | |
| Providencia | - | 0.990 | 0.990 | |
| Santa Marta | -0.0841 | - | 0.045 | |
| Isla Fuerte | -0.1974 | 0.1217 | - | |

4.2 Demografía histórica

Los valores D del test de Tajima y F_s de Fu asumiendo todas las localidades como una población para el gen COIII, mostraron valores negativos que indican un exceso de mutaciones raras en las poblaciones en comparación con lo que se esperaría bajo un modelo neutral de evolución, pero el exceso no es estadísticamente significativo. Esto concuerda con el modelo de coalescencia Bayesiano (Bayesian Skyline Plot), el cual indica que no existe un cambio en el tamaño demográfico, es decir que el tamaño efectivo poblacional de las hembras se ha mantenido constante en el tiempo (Fig. 4).

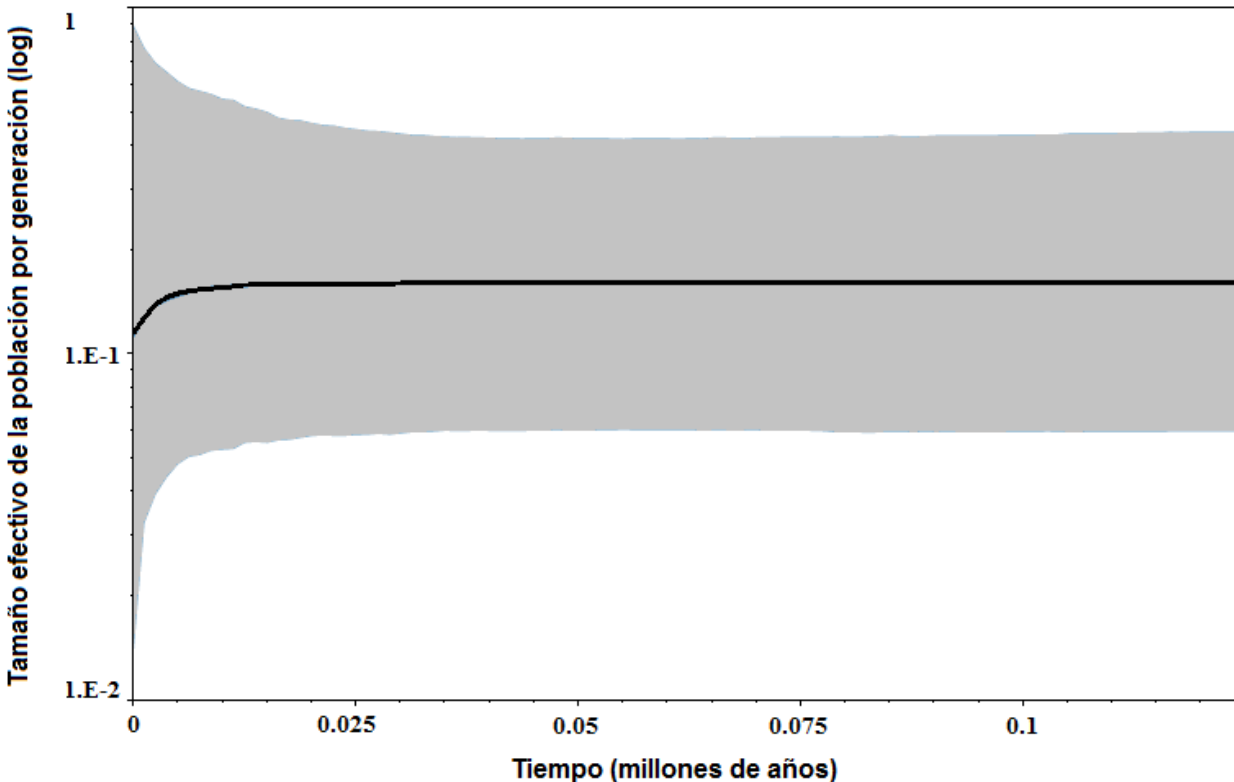


Figura 4. Tendencias demográficas históricas del tamaño efectivo de *Octopus insularis* (N_e) construidas utilizando un gráfico de Bayesian Skyline basado en el gen COIII. Las estimaciones de tiempo a lo largo del eje X se obtuvieron asumiendo una tasa de divergencia de secuencia por pares promedio de 2% por millón de años. El tamaño de la población en el eje Y se da en una escala logarítmica. La línea sólida gruesa representa la estimación media del tamaño de la población y los límites de densidad de probabilidad más alta (HPD) de 95% se muestran en gris.

4.3 Diversidad y estructura genética poblacional

Se estimaron los parámetros de variabilidad genética con el fin de determinar la diversidad y estructura del pulpo común *O. insularis* en el Caribe de Colombia analizando en total 45 individuos colectados a lo largo de su ámbito de distribución. Se recuperaron en total 8180 SNP's, 6769 de los cuales eran polimórficos. Los valores de heterocigosidad observada (H_o) y heterocigosidad esperada (H_e) por localidad de estudio fueron similares y los valores del coeficiente de endogamia (F_{is}) indicaron un bajo porcentaje de endocruzamiento (Tabla 4).

Tabla 4. Variabilidad genética por localidad. Número de individuos, número de SNP's, heterocigosidad esperada (He), heterocigosidad observada (Ho), diversidad nucleotídica (π) y coeficiente de endogamia (Fis)

| Localidad | No. individuos | No. SNP's | He | Ho | π | Fis |
|---------------------------|----------------|-----------|---------|---------|---------|---------|
| Providencia - San Andrés | 15 | 3832 | 0.08500 | 0.08175 | 0.08917 | 0.03666 |
| Cabo de la Vela | 9 | 2391 | 0.07686 | 0.07763 | 0.08461 | 0.02027 |
| Santa Marta | 9 | 2627 | 0.08083 | 0.07869 | 0.08816 | 0.02972 |
| Isla Ceycén – Isla Fuerte | 12 | 3052 | 0.08272 | 0.08272 | 0.08854 | 0.03895 |

Los índices de F_{ST} pareados mostraron niveles bajos de diferenciación entre algunas de las poblaciones evaluadas. Si bien estos valores menores a 0.05 indican baja estructuración genética entre las mismas, las diferencias entre el Cabo de la Vela y Santa Marta, entre Cabo de la Vela e Isla Ceycén-Isla Fuerte y entre Santa Marta e Isla Ceycén-Fuerte son significativas (Tabla 5).

Tabla 5. Valores del índice de fijación (F_{ST}) por pares. Valores p arriba de la diagonal. El asterisco indica valores de diferenciación significativos $P < 0.05$.

| | Providencia – San Andrés | Cabo de la Vela | Santa Marta | Isla Ceycén – Isla Fuerte |
|---------------------------|--------------------------|-----------------|--------------|---------------------------|
| Providencia – San Andrés | – | 0.07 | 0.27 | 0.23 |
| Cabo de la Vela | 0.003022 | – | <u>0.01*</u> | <u>0.00*</u> |
| Santa Marta | 0.001054 | 0.005722 | – | <u>0.00*</u> |
| Isla Ceycén – Isla Fuerte | 0.001770 | 0.010475 | 0.006337 | – |

El análisis de varianza molecular indicó que no existen diferencias significativas entre las localidades al ser asumidas como una población (F_{ST} : 0.002, $P=0.150$), lo cual concuerda con la estimación del número de poblaciones genéticamente homogéneas (K) y el análisis de coordenadas principales. Los AMOVAS llevados a cabo para comparar localidades al norte y al sur de cada barrera evaluada mostraron que existen diferencias entre individuos colectados al norte y al sur de la SNSM (F_{CT} : 0.099, $P=0.001$) y entre individuos al norte y al sur del delta del río Magdalena (F_{CT} : 0.099, $P=0.001$) (Tabla 6).

Tabla 6. Análisis de varianza molecular (AMOVA) para ver diferencias entre localidades de estudio. Valores p entre paréntesis y valores significativos < 0.05 demarcados con un asterisco.

| Para ver diferencias entre localidades | | | | | |
|--|-------------|-----------|----------|-----------|---------------------------------|
| Providencia-San Andrés; Cabo de la Vela; Santa Marta; Isla Ceycén-Isla Fuerte | | | | | |
| | d.f. | SS | V | %V | F(P) |
| Entre grupos (PRO-SAI) (CDV) (STM) (ICY-IFT) | 3 | 1944.742 | 1.411 | 0.248 | |
| Entre localidades dentro de los grupos | 41 | 25297.210 | 50.070 | 8.809 | |
| Dentro de las localidades | 45 | 23258.843 | 516.863 | 90.941 | |
| Total | 89 | 50500.795 | 568.345 | | |
| F _{ST} | | | | | 0.002(0.150) |
| Para ver el efecto de la ausencia de hábitats costeros rocosos (SNSM) | | | | | |
| Grupo 1. Cabo de la Vela Vs. Grupo 2. Santa Marta + Isla Ceycén -Isla Fuerte | | | | | |
| | d.f. | SS | V | %V | F(P) |
| Entre grupos | 1 | 688.579 | 2.998 | 0.532 | F _{CT} = 0.099(0.001)* |
| Entre localidades dentro de los grupos | 28 | 17164.364 | 52.918 | 9.397 | F _{SC} = 0.094(0.001)* |
| Dentro de localidades | 30 | 15215.290 | 507.176 | 90.069 | F _{ST} = 0.005(0.125) |
| Total | 59 | 33068.233 | 563.093 | | |
| Para ver el efecto del Rio Magdalena | | | | | |
| Grupo 1. Cabo de la Vela + Santa Marta Vs. Grupo 2. Isla Ceycén – Isla Fuerte | | | | | |
| | d.f. | SS | V | %V | F(P) |
| Entre grupos | 1 | 730.440 | 4.129 | 0.732 | F _{CT} =0.099(0.001)* |
| Entre localidades dentro de los grupos | 28 | 17122.502 | 52.170 | 9.258 | F _{SC} =0.093(0.001)* |
| Dentro de localidades | 30 | 15215.290 | 507.176 | 90.008 | F _{ST} =0.007(0.026) |
| Total | 59 | 33068.233 | 563.476 | | |

El número de poblaciones genéticamente homogéneas (K) según el método de [Evanno et al. \(2005\)](#) y la media de LnP (K) indicaron la presencia de dos clusters genéticos ($\Delta K = 2$), mientras que el análisis bayesiano según [Puechmaille \(2016\)](#) mostró la presencia de un único cluster genético (MEDMEDK = 1; MEDMEANK = 1; MAXMEDK = 1; MAXMEANK = 1) ([Fig. 4](#)). Ya que las métricas de [Puechmaille \(2016\)](#) están diseñadas para definir K cuando el número de muestras es desbalanceado (como ocurre en este estudio), se escogió este criterio para definir el número de grupos genéticos; es decir que los individuos comparten frecuencias alélicas similares y existe un único clúster genético. Finalmente, los patrones de agrupamiento examinados adicionalmente (K = 2–5; [Fig. 5](#)) mostraron la existencia de un stock genético (azul) distribuido homogéneamente entre las localidades y confirman la ausencia de estructura espacial.

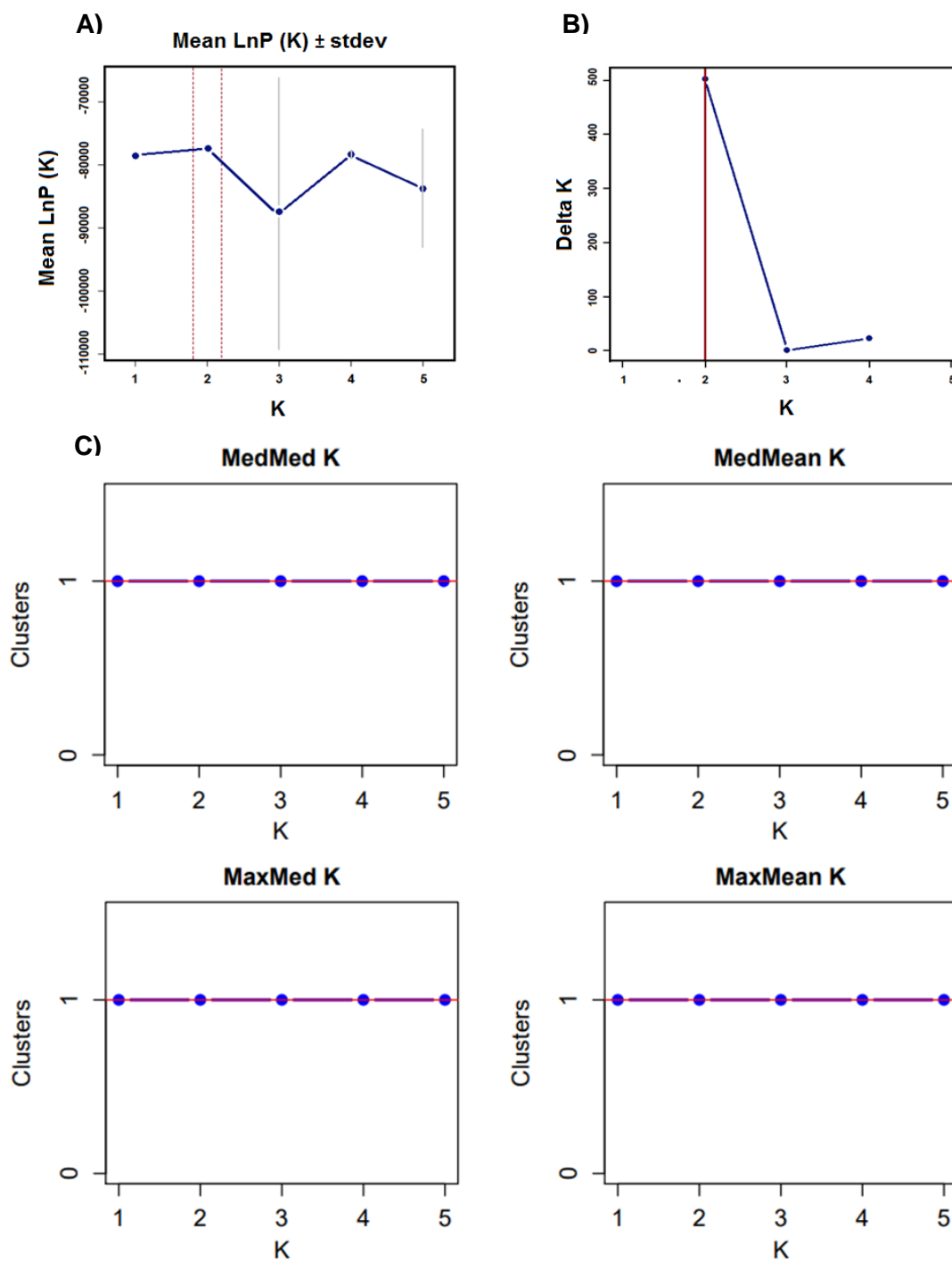


Figura 4. Agrupaciones genéticamente similares de *O. insularis*. A) Media de LnP (K), la línea punteada indica el valor de K=2. B) Método según [Evanno et al. \(2005\)](#), la línea roja indica el valor máximo de $\Delta K=2$. C) Métricas según [Puechmaille \(2016\)](#) indicando en todos los casos un único clúster genético.

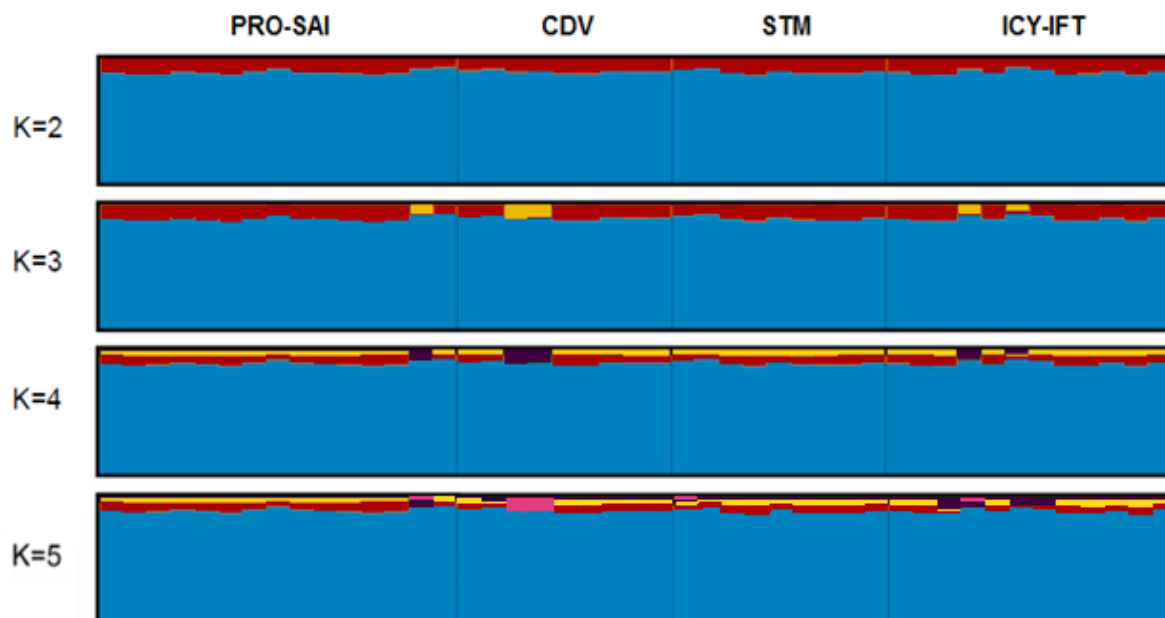


Figura 5. Gráficos de barras calculados por Structure (K= 2–5) indicando un único clúster genético (azul). Providencia y San Andrés (PRO-SAI), Cabo de la Vela (CDV), Santa Marta (STM), Isla Ceycén e Isla Fuerte (ICY-IFT).

Al visualizar el análisis de coordenadas principales y la dispersión de los individuos en el plano, no se encontró un patrón de diferenciación genética espacial (Fig. 6). Finalmente, al evaluar el aislamiento por distancia no se encontró correlación significativa entre la distancia genética y la distancia geográfica ($R_{xy} = 0.235$, $P = 0.330$) (Fig. 7).

En general los resultados obtenidos sugieren que las poblaciones de *O. insularis* del Caribe sur están conectadas genéticamente y presentan un cierto grado de diferenciación genética entre algunas de ellas, no obstante, no exhiben un patrón filogeográfico y están conformadas por un stock genético sin diferencias discernibles en las proporciones entre localidades.

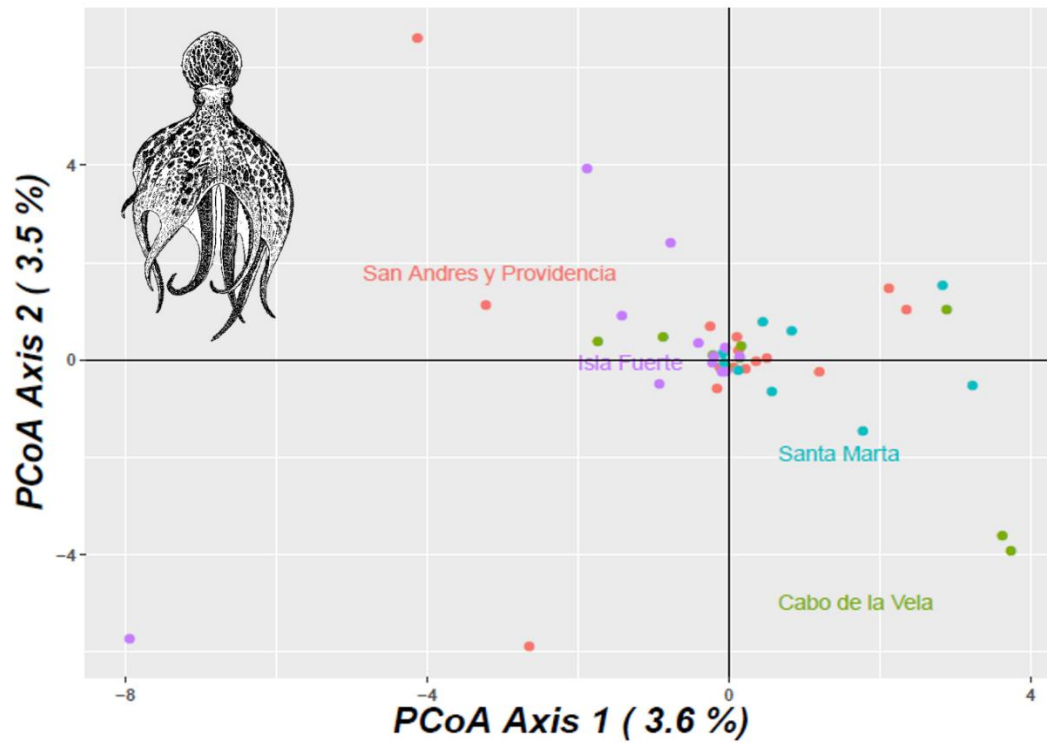


Figura 6. Análisis de coordenadas principales de *O. insularis*.

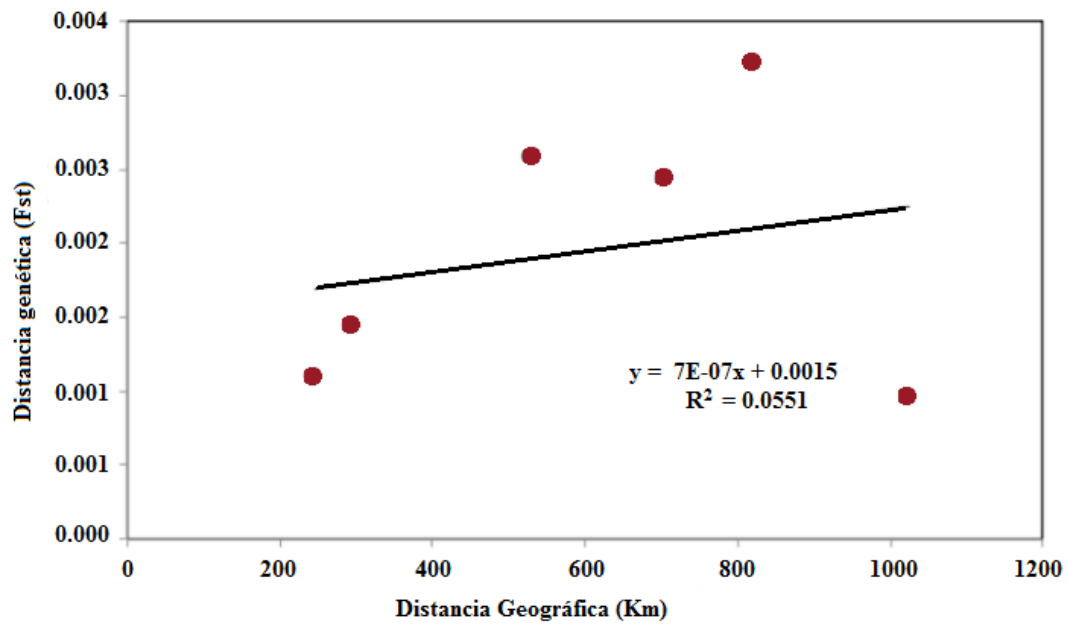


Figura 7. Correlación entre la distancia genética (F_{ST}) y la distancia geográfica (Km).

5. Discusión de resultados

La diversidad genética de *Octopus insularis*, determinada en este estudio utilizando los genes mitocondriales COIII y 16S, mostró ser reducida a lo largo de su rango de distribución en el Caribe de Colombia. Se han descrito patrones similares de diversidad nucleotídica y valores mayores de diversidad haplotípica en esta especie a lo largo de la costa de Brasil (Sales *et al.*, 2013), al igual que valores similares de diversidad en *Octopus mimus* Gould, 1852 en el sistema de la corriente de Humboldt (Pardo-Garandillas *et al.*, 2017) y valores similares de diversidad nucleotídica y mayores de diversidad haplotípica en *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 en el mar Mediterráneo (Melis *et al.*, 2018)

La visualización de las redes haplotípicas permitió observar que la diversidad mitocondrial no es alta en comparación con otras especies de pulpos (Strugnell *et al.*, 2012; Sales *et al.*, 2013; Melis *et al.*, 2018; Avendaño *et al.*, 2020). La mayoría de los pulpos muestreados se caracterizaron por un haplotipo dominante que se comparte con otras localidades pertenecientes al rango de distribución de la especie (norte de Brasil y México) y otros pocos haplotipos representados en algunas localidades. Ahora bien, no se detectaron rupturas genéticas significativas de acuerdo con la prueba de F_{ST} por pares con el gen COIII, por lo que no se observó un patrón filogeográfico. El análisis demográfico reveló que *O. insularis* presenta una población estable en cuanto a su tamaño efectivo poblacional; no obstante, este análisis presenta limitaciones al contar con un número reducido de muestras por localidad, de manera que aumentar el número efectivo de secuencias permitirá que el análisis sea más confiable y robusto.

Por otra parte, los resultados nucleares obtenidos mostraron valores de heterocigosidad observada y esperada similares, los cuales son cercanos a valores registrados en las especies de cefalópodos *Cranchia scabra*, *Pyroteuthis margaritifera* y *Vampyroteuthis infernalis* en el Golfo de México y el océano Atlántico noroccidental (Timm *et al.*, 2020); y son menores a los encontrados en el pulpo de anillos azules *Hapaloclaena maculosa* usando 17,523 SNP's (Morse *et al.*, 2018). Los valores de los coeficientes de endogamia indican bajos porcentajes de endocruzamiento en las localidades estudiadas y concuerdan con Addison y Hart (2005), quienes en una revisión de 124 especies de invertebrados encontraron que los rasgos reproductivos de las especies se relacionan con los valores de F_{IS} , de manera que invertebrados marinos con cópula interna o transferencia de

esperma como los cefalópodos presentan valores de $F_{IS} < 0.1$. Es posible que los valores relativamente bajos de F_{IS} observados en este estudio se deban al sistema de apareamiento de *O. insularis*, en el que ambos sexos copulan con múltiples parejas dentro de su única temporada de reproducción, se pueden encontrar machos maduros a lo largo del año y las hembras cuentan con la capacidad de almacenar espermatozoides durante periodos prolongados de tiempo (Lima *et al.*, 2014), de modo que, es posible que la especie evite la endogamia y reduzca la probabilidad de fertilizar gametos emparentados, copulando con varias parejas y almacenando espermatozoides de diferentes machos (Morse *et al.*, 2018).

El AMOVA sin agrupaciones coincidió con los resultados del PCoA, la prueba de Mantel y el análisis de estructura, indicando que no hay un patrón filogeográfico y que existe alto flujo de información entre las localidades de estudio, por lo que se encuentran relacionadas genéticamente. Estos resultados son evidencia de que *O. insularis* no presenta discontinuidades en su flujo génico a lo largo de la costa Caribe colombiana, muy probablemente debido a su capacidad de dispersión asociada a la presencia de una paralarva planctónica de mediana duración (Lima *et al.*, 2017) que le permite viajar largas distancias transportada por las corrientes oceánicas (Norman *et al.*, 2014; Amor *et al.*, 2017; Lima *et al.*, 2017).

La constante liberación de paralarvas a la columna de agua que viajan largas distancias y se mueven entre localidades permite justificar la falta de estructura genética observada en los resultados. Diferentes estudios han determinado que las historias de vida pueden ayudar a predecir los patrones de diversidad genética, dinámica poblacional, estructura y conectividad en diferentes especies de pulpos; Domínguez-Contreras *et al.* (2018) encontraron que en el Golfo de California *Octopus bimaculoides*, una especie con baja fecundidad y sin fase planctónica, tiene niveles de diversidad genética más bajos, y niveles más altos de parentesco y estructura poblacional que *Octopus bimaculatus* y *Octopus hubbsorum*, especies con mayor fecundidad y fase planctónica. A su vez, Higgins *et al.*, (2013) compararon en Tasmania la estructura poblacional de un pulpo holobentónico (con desarrollo directo), *Octopus pallidus*, con un pulpo merobentónico (con larvas planctónicas), *Macroctopus maorum* y hallaron mayor estructuración genética espacial en la especie holobentónica, consistente con el aislamiento por distancia, mientras que la especie merobentónica mostró dispersión mediada por las corrientes oceánicas.

Estas observaciones apoyaron niveles más altos de flujo genético y potencial de dispersión en especies que poseen una paralarva planctónica, e intervención del flujo genético, estructuración y

dispersión limitada en aquellas con desarrollo ontogenético directo. Los patrones de diferenciación genética de *O. insularis* pueden estar definidos, por lo tanto, por una interacción entre sus estrategias de historia de vida y las características oceanográficas que operan en la región (Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009). La paralarva planctónica que posee esta especie antes de entrar al estilo de vida bentónico adulto, le brinda un potencial dispersivo alto y oportunidades para el flujo de genes entre localidades del Caribe colombiano a escalas de aproximadamente 1000 km. Es decir que los mecanismos de dispersión son un componente importante de sus estrategias de historia de vida y dan como resultado el mantenimiento de la conectividad de las poblaciones a lo largo del rango geográfico de la especie (Gilg y Hilbish, 2003; Haye *et al.*, 2014; Morse *et al.*, 2018). Esto también permite explicar el que no se cumpla el escenario de aislamiento por distancia según la prueba de Mantel, puesto que podría resultar que la entrega de larvas que mantienen la conectividad genética esté correlacionada con las corrientes oceánicas en lugar de la distancia geográfica (White *et al.*, 2010),

Puesto que se ha registrado que *O. insularis* presenta períodos prolongados de actividad reproductiva (Lima *et al.*, 2014; González-Gómez *et al.*, 2020), esto puede considerarse una estrategia para superar los efectos impuestos por factores ambientales como la temperatura, disponibilidad de alimento y niveles de depredación (Boyle y Rodhouse, 2005; González-Gómez *et al.*, 2020), y como un factor influyente en la falta de estructura espacial de la especie. Asimismo, estas estrategias reproductivas aumentan la probabilidad de encuentros entre individuos de diferentes sitios para reproducirse, permitiendo el intercambio exitoso de migrantes entre poblaciones adyacentes y el flujo de genes a lo largo del rango de distribución de la especie (Hellberg *et al.*, 2002; Atencia-Galindo *et al.*, 2021).

Dado que la dispersión de los adultos parece estar limitada, se supone que las principales contribuciones al flujo de genes dependen entonces de los movimientos paralarvales impulsados por las corrientes y la dirección e intensidad de estas (De Luca *et al.*, 2016). El sistema de corrientes que domina en el Caribe sur podría estar ayudando por lo tanto a homogenizar las poblaciones analizadas. La Corriente Caribe (CC), cuya influencia es mayor de julio a agosto puede facilitar el arrastre de larvas del noreste de Colombia al territorio insular en la Reserva de la Biosfera Seaflower; una vez allí, choca contra Nicaragua y se divide en dos secciones, una, que fluye hacia el norte y otra que fluye hacia el Giro Panamá-Colombia (GPC) (Lopera *et al.*, 2020). El GPC que posee una velocidad media superior a 60 cm/s y más de 200 km de ancho (Bernal *et al.*, 2010), se

intensifica durante la época lluviosa (sept-nov) y de ella se desprende la Contra Corriente Panamá Colombia (CCPC), que también podría estar ayudando a homogenizar las localidades de estudio (Alegria-Ortega *et al.*, 2020), principalmente durante la misma época lluviosa, en la cual hace más pronunciada gracias a la menor influencia de los vientos alisios del noreste y puede extenderse hasta la península de la Guajira, mientras que durante la época seca el efecto de los vientos limita su influencia a la costa de Panamá y la parte sur de la costa colombiana hasta Cartagena (Donoso, 1990; Bernal *et al.*, 2006; Ricaurte-Villota y Bastidas, 2017). Lo mencionado anteriormente permite notar que las corrientes oceánicas que influyen en la región experimentan variaciones estacionales en su intensidad y área de influencia, lo cual a su vez podría causar que la conectividad entre ciertas localidades sea temporal.

Asimismo, las diferencias genéticas encontradas entre algunas localidades de estudio pueden deberse a variaciones en la temperatura durante ciertas épocas del año. Se ha encontrado que la temperatura tiene el potencial de aumentar o disminuir la duración de la fase planctónica en cefalópodos, haciendo que la fase planctónica en algunas especies se extienda a causa de temperaturas relativamente frías y se disminuya en aguas más cálidas (Villanueva *et al.*, 2016). Por lo tanto, es posible que *O. insularis* logre dispersarse con mayor éxito durante la época seca, en la que se dan afloramientos de aguas frías (Andrade, 2001) y la duración de su fase pelágica sería mayor, que durante la época lluviosa en la que las masas de agua al suroccidente del río Magdalena se hacen más cálidas (Lozano-Duque *et al.*, 2010; Álvarez y Ruiz, 2021) y pueden estar generando limitación en la dispersión de algunos genotipos y pequeñas diferencias genéticas entre localidades.

Los hallazgos encontrados en este estudio sugieren que los patrones filogeográficos de los organismos bentónicos marinos como el pulpo común de aguas someras del Caribe colombiano han sido influidos por su potencial de dispersión, lo cual se ajusta a las predicciones del paradigma de conectividad marina y muestra consistencia con patrones observados en otras especies (Riginos y Victor, 2001; Riginos *et al.*, 2011; Villanueva *et al.*, 2016). Estos resultados requieren precaución al ser interpretados, puesto que los patrones de circulación oceánica y otros factores ambientales propios de cada región de estudio definen en conjunto el patrón filogeográfico de cada especie, de manera que algunos de estos factores pueden permitir el intercambio ocasional de información entre los linajes genéticos, mientras que otros pueden bloquear todo el intercambio de genes durante períodos sustanciales de tiempo evolutivo (Avice, 2000; 2009).

Dado que el rango de distribución de esta especie abarca una mayor escala y está influido por otras corrientes oceánicas (corrientes en el Golfo de México, la corriente ecuatorial del sur, la contracorriente ecuatorial y corrientes de Brasil) (Sales *et al.*, 2013; Flores-Valle *et al.*, 2018; González-Gómez *et al.*, 2018), se hace imperativo ampliar la escala espacial del análisis con el fin de investigar el alcance de la conectividad genética encontrada. Se espera que los resultados mostrados aquí sean el punto de partida para futuras investigaciones sobre la estructura genética de *O. insularis* a lo largo de su área de distribución, con el fin de investigar el alcance de la conectividad genética encontrada y tomar decisiones más efectivas en el manejo de esta especie.

En el contexto de la ordenación pesquera, se generó nueva información sobre una especie de gran importancia (Leporati *et al.* 2009), que ha sido aprovechada comercialmente en la costa Caribe por las pesquerías locales. La conectividad encontrada en la región puede servir como indicador de la salud y resiliencia de la especie, y el conocimiento obtenido podrá ser aplicado para llevar a cabo la implementación de medidas de manejo y políticas para su desarrollo sostenible (Hickerson *et al.*, 2010). Obtener información adicional sobre la biología reproductiva de la especie en la región permitirá identificar sus temporadas de desove y plantear temporadas de veda en las cuales no esté permitido extraer individuos, con el fin de asegurar que el aporte de paralarvas al medio sea efectivo y se prolongue el mantenimiento de la conectividad genética.

5. Conclusiones

Este estudio proporciona la primera investigación molecular que analiza la dinámica genética poblacional de *O. insularis* en el Caribe de Colombia y en su ámbito de distribución mediante la aplicación de marcadores mitocondriales y nucleares.

Los resultados obtenidos con ambas aproximaciones indican que *O. insularis* no presenta patrón filogeográfico en el Caribe de Colombia y que sus poblaciones se encuentran conectadas genéticamente. Por lo cual no existe un efecto de las barreras biogeográficas planteadas y dicho

flujo génico puede ser relacionado a aspectos de la historia de vida larval de la especie y a factores oceanográficos y ambientales que rigen en la costa Caribe colombiana.

6. Recomendaciones

Comprender cómo se estructuran las poblaciones a nivel genético es esencial no solo para la comprensión biológica y ecológica de una especie, sino también para el desarrollo de prácticas de gestión sostenible que tengan como objetivo preservar la diversidad genética. La información generada aquí es de gran importancia ya que permite establecer una línea base sobre el estado de las poblaciones del pulpo común en el Caribe colombiano y debe ser desglosada a las instituciones de pesca y entidades gubernamentales con el fin de diseñar estrategias para el manejo adecuado de los recursos marinos. Sin embargo, en este estudio se evaluaron los procesos que dan forma a la conectividad genética de *O. insularis* a escala local, por lo que se hace necesario abarcar por completo su área de distribución geográfica para proporcionar una perspectiva más amplia sobre el estado y el flujo de la diversidad genética de la especie, y para que la implementación de dichas medidas sea realmente efectiva.

Los estudios sobre la estructura genética de los cefalópodos han incrementado a lo largo de los años, pero la información disponible en muchas regiones geográficas es aún escasa. *Octopus insularis*, una especie cuyo conocimiento es incipiente en el Caribe sur, requiere de estudios complementarios sobre su biología para entender mejor los procesos de dispersión larval que favorecen la homogeneidad genética observada. Analizar las temporadas de desove de la especie en la región y su relación con los patrones de corrientes locales permitirá entender de manera más adecuada los patrones encontrados.

Bibliografía

- Alegría-Ortega, A., Sanín-Pérez, M.J., Quan-Young, L.I. y Londoño-Mesa, M.H. 2020. Genetic structure of *Orbicella faveolata* population reveals high connectivity among marine protected area and Varadero Reef in the Colombian Caribbean. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 1–13. Doi: 10.1002/aqc.3489
- Almanza-Bernal, M., Márquez, E.J. y Chasqui, L. 2016. Evaluación de amplificación cruzada de microsatélites para estudios de genética poblacional del cazón antillano *Rhizoprionodon porosus* (Carcharhinidae) en el Caribe colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*. 45(1): 41–56.
- Álvarez, C.B. y Ruiz, J.S. 2021. *Variabilidad estacional e interanual de la temperatura superficial del mar en el golfo de Urabá*. Tesis para optar al título de Ingeniero Oceanográfico. Universidad de Antioquia. Turbo, Colombia. 1–46.
- Amor, M.D., Laptikhovsky, V, Norman, M.D. y Strugnell, J.M. 2017. Genetic evidence extends the known distribution of *Octopus insularis* to the mid-Atlantic islands Ascension and St Helena. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 97(4):753–758. DOI 10.1017/S0025315415000958.
- Andrade, C.A. 2001. Las corrientes superficiales en la cuenca de Colombia observadas con boyas de deriva. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, físicas y Naturales*, 25, 321–335.
- Andrews, S. 2010. FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data. <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
- Atencia-Galindo, M.A., Narváez, J.C., Ramírez, A., Paramo, J. y Aguirre-Pabón, J.C. 2021. Genetic structure of the pink shrimp *Penaeus (Farfantepenaeus) notialis* (Pérez-Farfante, 1967) (Decapoda: Penaeidae) in the Colombian Caribbean. *Fisheries Research*, 243: 106052.
- Avendaño, O., Roura, A., Cedillo-Robles, C.E., González, A.F., Rodríguez-Canul, R., Velázquez-Abunader, I. y Guerra, A. *Octopus americanus*: a cryptic species of the *O. vulgaris* species complex redescribed from the Caribbean. *Aquatic Ecology*, <https://doi.org/10.1007/s10452-020-09778-6>.
- Avise, J.C. 2009. Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, 36: 3-15. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2008.02032.x>.
- Avise, J.C. 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Avise, J.C., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J.E., Reeb, C.A. y Saunders N.C. 1987. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 18: 489-522.
- Banks, S.C., Piggott M.P., Williamson J.E et al. 2007. Oceanic variability and coastal topography shape genetic structure in a long-dispersing sea urchin. *Ecology*, 88, 3055–3064.
- Bernal, G., Ruiz-Ochoa, M. y Beier, E. 2010. Variabilidad estacional e interanual océano-atmósfera en la Cuenca Colombia. *Cuadernos del Caribe*, 14: 49-72.
- Bernal, G., Poveda, G., Roldán P. y Andrade C. 2006. Patrones de variabilidad de las temperaturas superficiales del mar en la costa Caribe Colombiana. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 3(115): 195–208.
- Betancur, R, Acero, A., Duque-Caro, H. y Santos, S. 2010. Phylogenetic and morphologic analyses of a coastal fish reveals a marine biogeographic break of terrestrial origin in the southern Caribbean. *PLoS ONE*, 5(7): e11566.

- Blanco, G. 2016. *Variación del ADN mitocondrial de *Cittarium pica* (Prosobranchia: Trochoidea) (Linné, 1758) en el Caribe de Colombia y sus implicaciones para la conservación*. Tesis para optar el título de Maestría en Acuicultura. Universidad del Magdalena, Santa Marta, p. 99.
- Bouckaert, R., Vaughan, T.G., Barido-Sottani, J., Duchêne, S., Fourment, M., Gavryushkina, A., et al. 2019. BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS computational biology*, 15(4): e1006650.
- Boyle, P. y Rodhouse, P.G. 2005. *Cephalopods: Ecology and Fisheries*. Blackwell Science, Oxford, UK.
- Caiafa-Hernández, I., Narváez-Barandica, J.C. y Acero-Pizarro, A. 2018. Genetic variation and genetic structure of *Caranx hippos* (Teleostei: Carangidae) in the Colombian Caribbean. *Revista de Biología tropical*, 66(1):122–135.
- Catchen, J., Hohenlohe, P.A., Bassham, S., Amores A. y Cresko W.A. 2013. Stacks: An analysis tool set for population genomics. *Molecular Ecology*, 22: 3124–3140.
- Catchen, J.M., Amores, A., Hohenlohe, P., Cresko, W., Postlethwait, J.H., De Koning, D.J. 2011. Stacks: Building and Genotyping Loci De Novo from Short-Read Sequences. *G3 Genes/Genomes/Genetics*, 1: 171–182.
- Cowen, R.K., Lwiza, K.M.M., Sponaugle, S., Paris, C.B. y Olson, D. 2002. Connectivity of marine populations: Open or Closed?. *Science*, 287: 857–859.
- Cuvier, G.L. 1798. *Tableau élémentaire de l'Histoire Naturelle des Animaux*. Paris, Baudouin. xvi + 710 pp. Available online at <http://www.biodiversitylibrary.org/item/42906>.
- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R. Y Posada, D. 2012. JModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9(8):772 Doi: 10.1038/nmeth.2109.
- De Luca, D., Catanese, G., Procaccini, G. y Fiorito, G. 2016. *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) in the Mediterranean Sea: Genetic diversity and population structure. *PLoS ONE*, 11(2): e0149496. DOI:10.1371/journal.pone.0149496.
- Domínguez-Contreras, J.F., Munguia-Vega, A., Ceballos-Vázquez, B.P., Arellano-Martínez, M., García-Rodríguez, F.J., Culver, M., Reyes-Bonilla, H., 2018. Life histories predict genetic diversity and population structure within three species of *Octopus* targeted by small- scale fisheries in Northwest Mexico. *PeerJ*, 6: e4295.
- Domínguez-Domínguez, O. y Vázquez-Domínguez, E. 2009. Filogeografía: Aplicaciones en taxonomía y conservación. *Animal Biodiversity and Conservation*, 32 (1): 59-70.
- Donoso, M.C. 1990. Circulación de las aguas en el mar Caribe. Trabajo presentado en el VII Seminario de Ciencias y Tecnologías del Mar, Cali, Colombia. Libro de Resúmenes: 345-356.
- Doubleday, Z.A., Prowse, T.A., Arkhipkin, A, Pierce, G.J., Semmens, J., Steer, M., Leporati, S.C., Lourenço, S., Quetglas, A., Sauer, W. y Gillanders, B.M. 2016. Global proliferation of cephalopods. *Current Biology*, 26 (10): 406–407.
- Doubleday, Z.A., Semmens, J.M., Smolenski, A.J. y Shaw, P.W. 2009. Microsatellite DNA markers and morphometrics reveal a complex population structure in a merobenthic octopus species (*Octopus maorum*) in south-east Australia and New Zealand. *Marine Biology*, 156: 1183–1192. Doi: 10.1007/s00227-009-1160-y.
- Drummond, A.J., Rambaut, A, Shapiro, B. y Pybus, O.G. 2005. Bayesian Coalescent Inference of past population dynamics from molecular sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 22(5): 1185–1192.
- Earl, D.A. y VonHoldt B.M. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4(2): 359–361 DOI: 10.1007/s12686-011-9548-7.
- Evanno, G., Regnaut, S. y Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*, 14 (8), 2611–2620.

- Excoffier, L., Laval, G. y Schneider, S. 2005. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics*, 1: 47–50.
- FAO. 2020. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020*. La sostenibilidad en acción. Roma. Doi: <https://doi.org/10.4060/ca9229es>.
- Flórez, A. 2003. *Colombia: evolución de sus relieves y modelados*. Universidad Nacional de Colombia. Red de Estudios de Espacio y Territorio, RET, Bogotá D.C.
- Flores-Valle, A., Pliego-Cárdenas, R., Jiménez-Badillo, M.D.L., Arredondo-Figueroa, J.L. y Barriga-Sosa, I.D.L.A. 2018. First record of *Octopus insularis* Leite and Haimovici, 2008 in the octopus fishery of a marine protected area in the Gulf of Mexico. *Journal of Shellfish Research*, 37(1):221–227. Doi: 10.2983/035.037.0120.
- Foll, M. y Gaggiotti, O. 2008. A genome-scan method to identify selected loci appropriate for both dominant and codominant markers: a Bayesian perspective. *Genetics*, 180(2):977–993.
- Foster, N.L., Paris, C.B., Kool, J.T., Baums, I.B., Stevens, J.R., Sánchez, J.A., Bastidas, C., Agudelo, C., Bush, P., Day, O., Ferrari, R., González, P., Gore, S., Guppy, R., McCartney, M.A., McCoy, C., Mendes, J., Srinivasan, A., Steiner, S., Vermeij, M.J.A., Weil, E. y Mumby, P.J. 2012. Connectivity of Caribbean coral populations: complementary insights from empirical and modelled gene flow. *Molecular Ecology*, 21: 1143–1157.
- Freeland J. 2020. *Molecular Ecology*. The Open University, Milton Keynes. Third Edition, John Wiley y Sons, Ltd. 402 pp.
- Fu, Y. X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147: 915–925.
- Gao, X., Zheng, X., Bo, Q., Li, Q., 2016. Population genetics of the common long-armed octopus *Octopus minor* (Sasaki 1920) (Cephalopoda: octopoda) in Chinese waters based on microsatellite analysis. *Biochemical Systematics and Ecology*, 66: 129–136.
- Gilg, M.R. y Hilbish, T.J. 2003. The geography of marine larval dispersal: Coupling genetics with fine-scale physical oceanography. *Ecology*, 84(11): 2989–2998. Doi: <https://doi.org/10.1890/02-0498>.
- González-Gómez, R., Barriga-Sosa, I.D.L.A., Pliego-Cárdenas, R., Jiménez-Badillo, I., Markaida, U., Meiners-Mandujano, C. y Morillo-Velarde, P.S. 2018. An integrative taxonomic approach reveals *Octopus insularis* as the dominant species in the Veracruz Reef System (southwestern Gulf of Mexico). *PeerJ*, 6:e6015 DOI 10.7717/peerj.6015.
- González-Gómez, R., Meiners-Mandujano, C., Morillo-Velarde, P.S., Jiménez-Badillo, L. y Markaida, U. 2020. Reproductive dynamics and population structure of *Octopus insularis* from the Veracruz reef system marine protected area, Mexico. *Fisheries Research*, 221: 105385.
- Gould, A.A. 1852. Mollusca and shells. In: *United States Exploring Expedition during the years 1838, 1839, 1840, 1841, 1842 under the command of Charles Wilkes*. Boston. 12: 1-510; atlas 1856: 1-16. Available online at <https://www.biodiversitylibrary.org/page/10991152>
- Hall T. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95–98.
- Haye, P.A., Segovia, N.I., Muñoz-Herrera, N.C., Gálvez, F.E., Martínez, A., Meynard, A., Pardo-Gandarillas, M.C., Poulin, E. y Faugeron, S. 2014. Phylogeographic structure in benthic marine invertebrates of the southeast Pacific coast of Chile with differing dispersal potential. *PLoS ONE*, 9(2): e88613. doi:10.1371/journal.pone.0088613.
- Hellberg, M.E., Burton, R.S., Neigel, J.E. y Palumbi, S.R. 2002. Genetic assessment of connectivity among marine populations. *Bulletin of Marine Science*, 70(1): 273–290.
- Hickerson, M.J., Carstens, B.C., Cavender-Bares, J., Crandall, K.A., Graham, C.H., Johnson, J.B., Rissler, L. y Victoriano, P.F., Yoder A.D. 2010. Phylogeography's past, present, and future: 10 years after Avise, 2000. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54: 291–301.

- Higgins, K.L., Semmens, J.M., Doubleday, Z.A. y Burrridge, C.P. 2013. Comparison of population structuring in sympatric octopus species with and without a pelagic larval stage. *Marine Ecology Progress Series*, 486: 203–212. Doi: <https://doi.org/10.3354/meps10330>.
- Ibáñez, C.M., Pardo-Gandarillas, M.C., Peña, F., Gleadall, I G., Poulin, E. y Sellanes, J. 2016. Phylogeny and biogeography of *Muusoctopus* (Cephalopoda: Enteroctopodidae). *Zoologica Scripta*, 45(5): 494–503. Doi:10.1111/zsc.12171.
- Judkins, H.L., Vecchione, M., Rosario, K., 2016. Morphological and molecular evidence of *Heteroteuthis dagamensis* in the Gulf of Mexico. *Bulletin of Marine Science*, 92 (1): 51–57.
- Kamvar, Z.N., Tabima, J.F. y Grünwald, N.J. 2014. Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ* 2:e281 <https://doi.org/10.7717/peerj.281>.
- Kopelman, N.M., Mayzel, J., Jakobsson, M., Rosenberg, N.A. y Mayrose, I. 2015. CLUMPAK: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources*, 15(5):1179–1191.
- Kumar, S., Stecher, G. y Koichiro, T. 2015. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7): 1870–1874.
- Landínez-García, R.M., Ospina-Guerrero, S.P., Rodríguez-Castro, D.J., Arango, R. y Márquez, E. 2009. Genetic analysis of *Lutjanus synagris* in populations in the Colombian Caribbean. *Ciencias Marinas*, 35(4): 321–331.
- Leigh, J.W. y Bryant, D. 2015. PopART: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6 (9), 1110–1116.
- Leite, T.S., Batista, A.T., Lima, F., Barbosa, J.C. y Mather, J. 2016. Geographic variability of *Octopus insularis* diet: from oceanic island to continental populations. *Aquatic Biology*, 25: 17–27.
- Leite, T.S., Haimovici, M., Mather, J. y Lins Oliveira, J.E. 2009. Habitat, distribution, and abundance of the commercial octopus (*Octopus insularis*) in a tropical oceanic island, Brazil: information for management of an artisanal fishery inside a marine protected area. *Fisheries Research*, 98: 85–91.
- Leite, T., Haimovici, M., Molina, W. y Warnke, K. 2008. Morphological and genetic description of *Octopus insularis*, a new cryptic species in the *Octopus vulgaris* complex (Cephalopoda: Octopodidae) from the tropical Southwestern Atlantic. *Journal of Molluscan Studies*, 74: 63-74.
- Leporati, S.C., Ziegler, P.E. y Semmens, J.M. 2009. Assessing the stock status of holobenthic octopus fisheries: Is catch per unit effort sufficient? *ICES Journal of Marine Science*, 66: 478–487.
- Li, Y.L. y Liu, J.X. 2018. STRUCTURESELECTOR: a web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. *Molecular Ecology Resources*, 18(1):176–177.
- Librado, P. y Rozas J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25, 1451–1452.
- Lima, F.D., Berbel-Filho, W.M., Leite, T.S., Rosas, C, Lima, S. 2017. Occurrence of *Octopus insularis* Leite and Haimovici, 2008 in the Tropical Northwestern Atlantic and implications of species misidentification of octopus fisheries management. *Marine Biodiversity*, 47: 723–734. Doi: <https://doi.org/10.1007/s12526-017-0638-y>.
- Lima, F.D., Leite, T.S., Haimovici, M., Lins, y Oliveira, J.E. 2014. Gonadal development and reproductive strategies of the tropical octopus (*Octopus insularis*) in northeast Brazil. *Hydrobiologia*, 725: 7–21.
- Lonin, S.C., Prada, M. y Erick, C. 2010. Simulación de dispersión de las larvas de caracol pala *Strombus gigas* en la Reserva de Biósfera Seaflower, Caribe occidental Colombiano. *Boletín Científico CIOH*, 28: 8–24. Doi: 10.26640/22159045.212.
- Lopera, L., Cardona, Y. y Zapata-Ramírez, A. 2020. Circulation in the Seaflower Reserve and its potential impact on biological connectivity. *Frontiers in Marine Science*, 7:385. Doi: 10.3389/fmars.2020.00385.

- Lozano-Duque, Y., Medellín-Mora, J. y Navas, G.R. 2010. *Contexto climatológico y oceanográfico del mar Caribe colombiano, en Biodiversidad del margen continental del Caribe colombiano*, INVEMAR, Serie de Publicaciones Especiales N°20. Santa Marta.
- Márquez, E., Landínez-García, R.M., Ospina-Guerrero, S.P., Segura, J.A., Prada, M, Castro, E., Correa, J.L., Borda, C. 2013. Genetic Analysis of queen conch *Strombus gigas* from the southwest Caribbean. *Proceedings of the 65th Gulf and Caribbean Fisheries Institute*. 410–416.
- Melis, R., Vacca, L., Cuccu, D., Mereu, M., Cau, A. y Follesa, M.C., Cannas R. 2018. Genetic population structure and phylogeny of the common octopus *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 in the western Mediterranean Sea through nuclear and mitochondrial markers. *Hydrobiologia*, 807: 277–296. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3399-5>.
- Mendoza-Ureche, R., Quintero-Galvis, J. y Narváez-Barandica, J.C. 2019. Baja variabilidad y diferenciación genética poblacional en la “lisa”, *Mugil incilis* (Teleostei: Mugilidae) del Caribe colombiano. *Revista de Biología Tropical*, 67(3): 501–517.
- Morse, P., Kjeldsen, S.R., Meekan, M.G., McCormick, M.I., Finn, J.K., Huffard, C.L. y Zenger, K.R. 2018. Genome-wide comparisons reveal a clinal species pattern within a holobenthic octopod-the Australian Southern blue-ringed octopus, *Hapalochlaena maculosa* (Cephalopoda: Octopodidae). *Ecology and Evolution*, 8:2253–2267. Doi: 10.1002/ece3.3845
- Nadukkalam-Ravindran, P., Bentzen, P., Bradbury, I.R. y Beiko, R.G. 2018. RADProc: A computationally efficient de novo locus assembler for population studies using RADseq data. *Molecular Ecology Resources*, Doi:10.1111/1755-0998.12954.
- Norman, M.D., Hochberg, F.G. y Finn, J.K. 2014. World octopod fisheries. In: Jereb P, Roper C.F.E., Norman M.D., Finn J.K (eds). *Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of cephalopod species known to Date. Octopods and vampire squids*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, pp 9–21.
- Pardo-Gandarillas, M.C., Ibáñez, C.M., Yamashiro, C., Méndez, M.A. y Poulin, E. 2017. Demographic inference and genetic diversity of *Octopus mimus* (Cephalopoda: Octopodidae) throughout the Humboldt Current System. *Hydrobiologia*, 808(1): 125–135. Doi: 10.1007/s10750-017-3339-4.
- Peakall R, Smouse P.E. 2012. GenA1Ex 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28: 2537–2539
- Planes, S., Parroni, M. y Chauvet, C. 1998. Evidence of limited gene flow in three species of coral reef fishes in the lagoon of New Caledonia. *Marine Biology*, 130: 361–368.
- Pritchard, J.K., Stephens, M. y Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945–959.
- Puechmaille, S.J. 2016. The program structure does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: subsampling and new estimators alleviate the problem. *Molecular Ecology Resources*, 16(3): 608–627.
- Puentes-Sayo, A., Torres-Rodríguez, J. y Lecompte, O.P. 2021. Solving the identity of the common shallow-water octopus of the Colombian Caribbean based on mitochondrial analysis. *Journal of Molluscan Studies*, IN PRESS.
- Puentes-Sayo, A. 2016. *Determinación de identidades genéticas de pulpos (Cephalopoda: Octopodidae) del Caribe colombiano a partir de marcadores mitocondriales: COIII y 16S*. Tesis para optar al título de Biólogo Marino. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Santa Marta, Colombia.
- R Core Team. 2020. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rambaut, A. y Drummond, A.J. 2009. Tracer v1.5 <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>.
- Rangel-Buitrago, N. y Dragax-García, J. 2010. Geología general, morfología submarina y facies sedimentarias en el margen continental y los fondos oceánicos del mar Caribe colombiano. (pp 31-51).

- En INVEMAR (Eds.). *Biodiversidad del margen continental del Caribe colombiano. Serie de Publicaciones Especiales*, Invemar No. 20 p. 4588.
- Rice, W.R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 43(1): 223–225.
- Riginos, C., Douglas, K.E., Jin, Y., Shanahan, D.F. y Tremblay, E.A. 2011. Effects of geography and life history traits on genetic differentiation in benthic marine fishes. *Ecography*, 34(4): 566–575. Doi:10.1111/j.1600-0587.2010.06511.x
- Riginos, C. y Liggins, L. 2013. Seascape genetics: populations, individuals, and genes marooned and adrift. *Geography, compass*, 7/3: 197–216. Doi: 10.1111/gec3.12032.
- Riginos, C. y Victor, B.C. 2001. Larval spatial distributions and other early life-history characteristics predict genetic differentiation in eastern Pacific blennioid fishes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 268(1479): 1931–1936. Doi:10.1098/rspb.2001.1748
- Rocha, F., Guerra, A., González, A.F. 2001. A review of reproductive strategies in cephalopods. *Biological Reviews*, 76: 291–304.
- Rochette, N.C., Rivera-Colón, A.G. y Catchen, J.M. 2019. Stacks 2: Analytical methods for paired-end sequencing improve RADseq-based population genomics. *Molecular Ecology*, 28: 4737–4754.
- Sales, J.B.D.L., Rego, P.S.D., Hilsdorf, A.W.S., Moreira, A.A., Haimovici, M., Tomás, A.R., Sampaio, I. 2013. Phylogeographical features of *Octopus vulgaris* and *Octopus insularis* in the southeastern Atlantic based on the analysis of mitochondrial markers. *Journal of Shellfish Research*, 32(2): 325–339. Doi:10.2983/035.032.0211.
- Selkoe, K.A. y Toonen, R.J. 2011. Marine connectivity: a new look at pelagic larval duration and genetic metrics of dispersal. *Marine Ecology Progress Series*, 436: 291–305.
- Strugnell, J. M., Watts, P.C., Smith, P.J. y Allcock, A.L. 2012. Persistent genetic signatures of historic climate events in an Antarctic octopus. *Molecular Ecology*, 21: 2775–2787.
- Tajima, F. 1989. Statistical methods to test for nucleotide mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 23: 585–595.
- Taylor, M.S. y Hellberg M.E. 2003. Genetic evidence for local retention of pelagic larvae in a Caribbean reef fish. *Science* 299:107-109.
- Timm, L.E., Bracken-Grissom, H.D., Sosnowski, A, Breitbart, A., Vecchione, M. y Judkins, H. 2020. Population genomics of three deep-sea cephalopod species reveals connectivity between the Gulf of Mexico and northwestern Atlantic Ocean. *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* (158): 103222. Doi: 10.1016/j.dsr.2020.103222.
- Torrecilla-Batista, A. y Leite, T.S. 2016. *Octopus insularis* (Cephalopoda: Octopodidae) on the tropical coast of Brazil: where it lives and what it eats. *Brazilian Journal of oceanography*, 64(4): 353–364.
- Vences, M., Meike, T., van der Meijden, A., Chiari, Y. y Vieites D. 2005. Comparative performance of the 16S rRNA gene in DNA barcoding of amphibians. *Frontiers in Zoology*, 2(5): 1–12. DOI: 10.1186/1742-9994-2-5.
- Villanueva, R., Vidal, E.A.G., Fernández-Álvarez, F.A.A., Nabhitabhata, J. 2016. Early Mode of Life and Hatchling Size in Cephalopod Molluscs: Influence on the Species Distributional Ranges. *PLoS ONE*, 11(11): e0165334. Doi:10.1371/journal.pone.0165334.
- Wagner, C.E., Keller, I., Wittwer, S., Selz, O.M., Mwaiko, S., Greuter, L., Sivasundar, A. y Seehausen, O. 2013. Genome-wide RAD sequence data provide unprecedented resolution of species boundaries and relationships in the Lake Victoria cichlid adaptive radiation. *Molecular Ecology*, 22:787-798.
- Wiley, E.O. y Lieberman, B.S. 2011. *Phylogenetics: Theory and Practice of Phylogenetic Systematics*, 2nd ed. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons.
- Zuur, A.F., Ieno, E.N., Smith, G.M. 2007. *Principal coordinate analysis and non-metric multidimensional scaling*. In: *Analysing Ecological Data. Statistics for Biology and Health*, Springer, New York, NY. Doi: <https://doi.org/10.1007/978-0-387>