



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S. C.

Programa de Estudios de Posgrado

**ANÁLISIS MORFOLÓGICO Y GENÉTICO DE LAS
PARALARVAS RHYNCHOTEUTHION DEL CALAMAR
GIGANTE *Dosidicus gigas* (D'ORBIGNY, 1835) Y DEL CALAMAR
PÚRPURA *Sthenoteuthis oualaniensis* (LESSON, 1830)**

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Biología Marina)

Presenta

Jorge Eduardo Ramos Castillejos

La Paz, Baja California Sur, diciembre, 2007

ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 10 horas del día 10 del Mes de Diciembre del 2007, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"Análisis morfológico y genético de las paralarvas Rhynchoteuthion del calamar gigante *Dosidicus gigas* (D'Orbigny, 1835) y del calamar púrpura *Sthenoteuthis oualaniensis* (Lesson, 1830)"

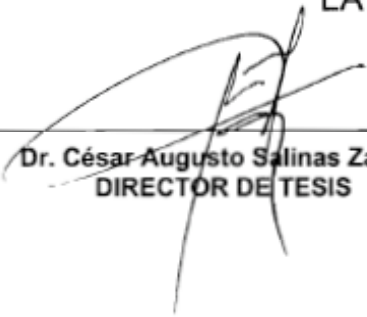
Presentada por el alumno:

Jorge Eduardo Ramos Castillejos

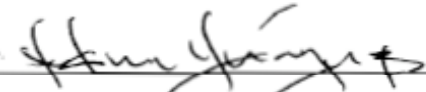
Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN Biología Marina

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


LA COMISION REVISORA




Dr. César Augusto Salinas Zavala
DIRECTOR DE TESIS



Dr. Luis Manuel Enriquez Paredes
CO-TUTOR



M. en C. Susana Camarillo Coop
CO-TUTOR



DRA. THELMA ROSA CASTELLANOS CERVANTES
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

COMITÉ TUTORIAL Y REVISOR

Dr. César Augusto Salinas Zavala
Director de tesis
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., La Paz, B.C.S.

Dr. Luis Manuel Enríquez Paredes
Co-Tutor
Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, B.C.

M. en C. Susana Camarillo Coop
Co-Tutor
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., La Paz, B.C.S.

MIEMBROS DEL JURADO DE LA DEFENSA DE TESIS

Dr. César Augusto Salinas Zavala
Dr. Luis Manuel Enríquez Paredes
M. en C. Susana Camarillo Coop
Dr. Eduardo Francisco Balart Páez (Suplente)

Este trabajo se realizó gracias al Proyecto EP5.5 “Calamar gigante” y al Programa IMECOCAL, a partir de los cuales se obtuvieron las muestras para el desarrollo de esta tesis. El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) brindó apoyo a través de la beca 200972.

Dedicatoria**A mis padres: Rosalía y Jorge**

Por todo lo que representan para mí. Mi bendición más grande es ser su hijo.

A Mamá Zoila, Mamá Neta[†], Papá Necho[†], abuelita Juanita y abuelito Rubén[†]

Por toda su sabiduría, su amor, su calidez y calidad humana. Porque ustedes son mis orígenes y me siento más que honrado y orgulloso de llevar su sangre.

A Dany

Manita, te quiero mucho y estoy siempre contigo. Gracias por ser tal y como eres.

Agradecimientos

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., muchas gracias a María del Carmen Rodríguez Jaramillo del laboratorio de histología e histoquímica, a Ariel Arturo Cruz Villacorta del laboratorio de microscopía electrónica y a la Dra. Thelma Castellanos, Lic. Osvelia Ibarra, Lic. Lety González, Lic. Guadalupe Sánchez, Lic. Claudia Olachea y Lic. Bety Gálvez del departamento de Posgrado por todas las atenciones y facilidades otorgadas para el desarrollo de esta tesis.

Al Dr. Richard Young de la Universidad de Hawaii y al Dr. David Carlini de la Universidad Americana por la donación de muestras. A la Dra. Sharon Herzka del laboratorio de Ecología Pesquera, a la Dra. Bertha Lavaniegos del laboratorio de Zooplancton y al Dr. Eugenio Díaz Iglesias del laboratorio de Ecofisiología de Organismos Acuáticos del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), así como al Dr. Jorge de la Rosa[†] del laboratorio de Ecología Molecular de la Universidad Autónoma de Baja California campus Ensenada por las facilidades otorgadas para el procesamiento de las muestras y análisis de datos.

A mi comité tutorial: Jefe, Susy y Luis, muchas gracias por su tiempo, experiencia, apoyo y orientación durante todo el proceso de la tesis, pero sobre todo por su amistad.

Al grupo de cefalópodos del CIBNOR: Susy, Minda, Verito, Alexa, Anita, Dana, Oswaldo, Rigo, Gastón y al jefe por todo el apoyo, la amistad y la paciencia que me tuvieron por estos casi 3 años.

A mis amigos de generación de la maestría: Cris, Oscar, Hugo, Fercho, Pedro, Luzali, Erika, Ricardo, Mario, Ana Belia, Rigo, Jorge Iván, Cristy, Mara, Christian, Vero, Perla, Laura, Mauricio, Eliana, José Pablo, Lucía y Yossef, pero en especial a Keni, mi gran amigo del alma, gracias a todos por los momentos compartidos, las buenas y malas enseñanzas, dicen que de todo se aprende y estoy muy agradecido de haber aprendido con ustedes y de ustedes.

A mis cuates que están en el doctorado: Noé, Alex, Claudia, Eve, Poncho, Horacio, Gaby y Miguel por todos los momentos divertidos y por las charlas tan interesantes; así como a Horacio Sandoval y a Manuel Melero por su amistad y estar siempre dispuestos a ayudarme.

A todos mis profes de la maestría, cada uno dejó muchas enseñanzas y muy buenos recuerdos para mí, especialmente a la Dra. Martha Haro y al Dr. Leonardo Huato por ayudarme en todo momento dentro y fuera de la tesis, por sus palabras de aliento y por invitarme a esas ricas reuniones. Al Dr. Félix Moncada, quien no fue mi profe en el aula de clases, pero sí un gran maestro y amigo de lecciones de vida.

A mis amigos de la UABCS, a todos ellos porque a pesar de haberme distanciado un poco siempre me han recibido con los brazos abiertos y con mucho afecto.

A mis amigos de Minatitlán, Ver. (a mucha honra!!!): Felipe, José Miguel, Paco y Victor, quienes estuvieron en contacto y de alguna u otra manera me motivaron a seguir

siempre adelante.

A Jairo y Tania, por hacerme reír tanto y por ese carisma tan especial que los caracteriza.

A las familias Ramos Castillejos, Majtan Ramos, Ramos Ríos, Figueroa Rodríguez y a los García Castillejos. Con mucho cariño a Andris por toda la felicidad que has traído a nuestras vidas. Esto siempre lo hice pensando en ustedes.

A todos ellos y a los que seguramente se me olvidó mencionar, de todo corazón les deseo mucho bienestar y éxito en la vida. Ha sido un honor haberlos encontrado en el camino.

Por último, pero muy importante para mí, gracias a Dios por todas sus bendiciones y momentos de reflexión.

ÍNDICE

RELACIÓN DE FIGURAS.....	X
RELACIÓN DE TABLAS.....	XII
RESUMEN	XIII
ABSTRACT	XIV
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES.....	8
JUSTIFICACIÓN	11
OBJETIVOS	13
Objetivo general.....	13
Objetivos específicos.....	13
ÁREA DE ESTUDIO.....	14
Golfo de California	14
Costa occidental de la Península de Baja California.....	17
MÉTODO	19
Colecta de paralarvas	19
Identificación de paralarvas Rhynchoteuthion	22
Análisis morfológico y morfométrico	22
Análisis genético	24
Extracción de ADN	24
Evaluación de la cantidad y calidad del ADN	26
Amplificación.....	26
Limpieza de los productos de PCR	27
Secuenciación.....	28
Edición y comparación de secuencias	28
Detección de sitios informativos.....	29
Análisis teórico de restricción.....	30

RESULTADOS.....	30
Descripción morfológica y morfométrica	30
Manto.....	31
Aletas.....	34
Cabeza.....	36
Ojos	37
Pico	38
Brazos	40
Denticiones en los brazos	40
Proboscis.....	42
División de la proboscis.....	44
Denticiones de las ventosas de la proboscis	47
Fotóforos.....	50
Cromatóforos	52
Análisis de componentes principales y funciones discriminantes	53
Análisis genético.....	59
Extracción de ADN e identificación genética.....	59
Frecuencia de haplotipos	60
Distancias genéticas intraespecíficas e interespecíficas	62
Análisis de restricción	63
Distribución espacial y temporal de paralarvas Rhynchoteuthion.....	65
DISCUSIÓN	68
CONCLUSIONES	89
RECOMENDACIONES	90
LITERATURA CITADA.....	93
ANEXO	110

Relación de figuras

1. Ejemplares adultos de <i>Dosidicus gigas</i> y <i>Sthenoteuthis oualaniensis</i>	2
2. Típica forma de una paralarva Rhynchoteuthion.....	4
3. Rhynchoteuthion <i>D. gigas</i>	4
4. Rhynchoteuthion y juvenil de <i>S. oualaniensis</i>	5
5. Distribución geográfica de <i>D. gigas</i> y <i>S. oualaniensis</i>	7
6. Registro de captura anual del calamar gigante <i>D. gigas</i> en el Pacífico mexicano de acuerdo al Anuario estadístico de pesca, SAGARPA, 2003.....	12
7. Zonas de origen de las muestras. <i>S. oualaniensis</i> (Hawaii), <i>D. gigas</i> (Costa occidental de la Península de Baja California y bahía de Santa Rosalía, B.C.S).....	19
8. Estaciones de muestreo exploradas por el programa IMECOCAL 2005 y por el Grupo Cefalópodos del CIBNOR durante el 2003 y 2004.....	21
9. Nomenclatura de estructuras a considerar para el análisis morfológico y morfométrico de las paralarvas Rhynchoteuthion.	24
10. Frecuencia de tallas por LM (mm) de paralarvas Rhynchoteuthion de <i>D. gigas</i> y <i>S. oualaniensis</i>	31
11. Forma del manto y arreglo de cromatóforos en <i>D. gigas</i> y <i>S. oualaniensis</i>	33
12. Relación aleta-manto.....	35
13. Relación cabeza-manto.....	37
14. Relación ojo-cabeza y ojo-manto.....	38
15. Comparación de picos.....	40
16. Comparación de las ventosas de los brazos.....	41
17. Relación proboscis-manto y tentáculo-manto.....	43
18. Medidas de la proboscis a distintos intervalos de talla en <i>D. gigas</i> y <i>S. oualaniensis</i>	44
19. División de la proboscis en <i>D. gigas</i> y <i>S. oualaniensis</i>	45
20. Medidas de la división de la proboscis en <i>D. gigas</i> y <i>S. oualaniensis</i>	46
21. División de la proboscis a distintos intervalos de talla en <i>D. gigas</i> y <i>S. oualaniensis</i>	47
22. Ventosas de la proboscis.....	48
23. Comparación de las ventosas de la proboscis.....	48

24. Comparación del promedio de número de denticiones internas y externas en las ventosas de la proboscis.....	50
25. Fotóforos oculares.....	51
26. Fotóforos viscerales.....	51
27. Nube de dispersión con rotación por variación máxima normalizada considerando a los 3 factores (72.2%). * Dg y * So.....	56
28. Perfil de restricción de la endonucleasa Hae III en la secuencia de <i>S. oualaniensis</i> (So), <i>D. gigas</i> (Dg) y <i>E. luminosa</i> (El).....	64
29. Distribución espacial de la biomasa estandarizada (PI/ 1000 m ³) de las paralarvas Rhynchoteuthion en la bahía de Santa Rosalía, B.C.S. durante el periodo 2003-2004 .	65
30. Distribución espacio-temporal de la biomasa estandarizada (PI/1000 m ³) de las paralarvas Rhynchoteuthion de <i>D. gigas</i> colectadas por el programa IMECOCAL 2005 en la costa occidental de la península de Baja California.....	67
31. Abundancia de paralarvas Rhynchoteuthion (PI/1000 m ³) y su relación con la temperatura (°C) durante los cruceros IMECOCAL 050102, 050708 y 0510.	68

Relación de tablas

I. Intervalos de abundancia utilizados para las paralarvas Rhynchoteuthion.....	20
II. Conteo de denticiones internas y externas por ventosa en los brazos de <i>D. gigas</i>	41
III. Conteo de denticiones internas y externas por ventosa en los brazos de <i>S. oualaniensis</i>	42
IV. Conteo de denticiones internas y externas por ventosa de la proboscis en <i>D. gigas</i>	49
V. Conteo de denticiones internas y externas por ventosa de la proboscis en <i>S. oualaniensis</i>	49
VI. Arreglo de cromatóforos en paralarvas Rhynchoteuthion de <i>D. gigas</i>	52
VII. Arreglo de cromatóforos en paralarvas Rhynchoteuthion de <i>S. oualaniensis</i>	53
VIII. Eigenvalores, extracción por componentes principales	54
IX. Factor loadings obtenidos con rotación por variación máxima normalizada	55
X. Análisis de funciones discriminantes.	57
XI. Distancias cuadradas de Mahalanobis por especie.....	58
XII. Distancias cuadradas de Mahalanobis por especie y por localidad	58
XIII. Matriz de clasificación de las especies en cuestión.....	59
XIV. Matriz de clasificación de las especies en cuestión por localidad.	59
XV. Sitios variables entre las secuencias de <i>D. gigas</i> , <i>S. oualaniensis</i> y <i>E. luminosa</i>	62
XVI. Estimación de la diversidad intraespecífica e interespecífica en las secuencias basado en el porcentaje de diferencias pareadas.....	63
XVII. Sitios teóricos de corte de distintas enzimas de restricción en la secuencia de 557 pb de <i>D. gigas</i> , <i>S. oualaniensis</i> y <i>E. luminosa</i>	64

Resumen

El calamar gigante *Dosidicus gigas* es una especie ecológicamente clave del ambiente pelágico en el Golfo de California y en la costa occidental de la península de Baja California. Ocupa el cuarto lugar del volumen nacional capturado, por lo que representa un importante recurso pesquero. Sin embargo, muchos aspectos sobre su biología reproductiva y la distribución de sus estadios tempranos son aún desconocidos. La similitud entre las paralarvas *Rhynchoteuthion* de esta especie con las del calamar púrpura *Sthenoteuthis oualaniensis* dificulta su identificación y por consiguiente la delimitación de las zonas, temporadas y condiciones del desove. En el presente estudio se realiza un análisis morfológico/morfométrico, sustentado por un análisis genético para diferenciar a las *Rhynchoteuthion* de estas dos especies. Las paralarvas de *D. gigas* se obtuvieron de arrastres de plancton realizados en la costa occidental de la península de Baja California por el Programa IMECOCAL durante el año 2005 (arrastres oblíquos, preservación en etanol al 99%) y las del Golfo de California se recolectaron en la Bahía de Santa Rosalía, B.C.S. (arrastres superficiales nocturnos, preservación en formol al 4%). Las *Rhynchoteuthion* de *S. oualaniensis* fueron proporcionadas por el Dr. Richard Young de la Universidad de Hawaii, E.U.A. con las cuales se hizo el análisis morfológico/morfométrico y para el análisis genético de *S. oualaniensis* se utilizó tejido que fue donado por el Dr. David Carlini de la Universidad Americana en Washington, DC, E.U.A. El análisis morfológico/morfométrico se realizó en las siguientes estructuras: las ventosas de la proboscis, ojos, cabeza, manto, aletas, fotóforos y el arreglo de cromatóforos; el pico solamente se revisó morfológicamente. Para el análisis genético, se extrajo el ADN de cada paralarva con el método sales-proteinasas K. Se amplificó un fragmento de 557 pb del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I (COI), se secuenció de forma automatizada y se efectuó un análisis teórico de restricción sobre las secuencias. Sólo en *S. oualaniensis* se observaron fotóforos oculares (≥ 1.8 mm de LM) y ambos viscerales (≥ 3.0 mm de LM). Para el análisis morfométrico se obtuvieron índices de cada estructura a partir de la longitud de dicha estructura entre la longitud de manto x 100. Los índices de la longitud de la cabeza y el ancho de la base de la cabeza, el coeficiente de la longitud de la cabeza/ancho de la base de la cabeza, el índice del diámetro de los ojos y el coeficiente del diámetro de los ojos/longitud de la cabeza aportaron cerca del 72.2% de la variación morfométrica entre *D. gigas* y *S. oualaniensis*. El análisis de las secuencias de ADN permitió identificar a 180 paralarvas de la costa occidental como *D. gigas* (30 haplotipos) y a 13 paralarvas como *Eucleoteuthis luminosa* (7 haplotipos), no se identificó ninguna paralarva como *S. oualaniensis*. La endonucleasa *Hae III* permitió distinguir a *D. gigas* de *S. oualaniensis* y *E. luminosa* a través de los perfiles de restricción del gen COI.

Palabras clave: Citocromo oxidasa I, *Dosidicus gigas*, morfología/morfometría, *Rhynchoteuthion*, *Sthenoteuthis oualaniensis*.

Abstract

The Humboldt squid *Dosidicus gigas* is a key species of the pelagic environment in the Gulf of California and the west coast of Baja California Peninsula. In terms of catch volume it is the fourth most important fishery in Mexico. Nevertheless, many aspects about its reproductive biology and early life-stage distribution, required for recruitment estimations and its management are still unknown. Similarity between Rhynchoteuthion paralarvae of this species with that of the purple squid *Sthenoteuthis oualaniensis*, complicate their identification, as well as, the precise determination of spawning areas and its seasonality. In the present study a morphological/morphometrical criterion is analyzed, supported by a genetic molecular analysis to differentiate the Rhynchoteuthion of these species. *D. gigas* paralarvae were obtained along the west coast of Baja California Peninsula by zooplankton tows as part of the IMECOCAL program during 2005 (oblique tows, preserved in ethanol 99%) and at Santa Rosalía Bay in the Gulf of California (nightly with superficial tows, preserved in formalin 4%). *S. oualaniensis* Rhynchoteuthions were provided by Dr. Richard Young from Hawaii University, USA for morphological/morphometrical analysis and *S. oualaniensis* tissue was provided by Dr. David Carlini from American University, Washington DC, USA for genetic analysis. Morphological/morphometrical analyses were focused on head, eyes, proboscis suckers, mantle, fins, photophores and chromatophore pattern. The beak was analyzed only morphologically. For genetic analysis, DNA extractions were taken from each paralarvae with the salt-proteinase K method. A fragment of 557 pb from the mitochondrial gene, Cytochrome Oxidase I (COI), was amplified, automatically sequenced and tested for a restriction analysis. Ocular and visceral photophores were observed only in *S. oualaniensis* at ≥ 1.8 mm ML and ≥ 3.0 mm ML, respectively. Indexes of every structure were obtained through the length of the structure between the mantle length x 100 for the morphometrical analysis. The head length index and head base width index, the coefficient head length/head base width, eye diameter index and coefficient eye diameter/head length contributed the 72.2% of the morphometric variation between *D. gigas* and *S. oualaniensis*. The DNA sequence analysis allowed identifying 180 paralarvae from the occidental coast as *D. gigas* (30 haplotypes) and 13 paralarvae as *E. luminosa* (7 haplotypes). No *S. oualaniensis* were identified. The endonuclease *Hae III* allowed distinguished *D. gigas* from *S. oualaniensis* and *E. luminosa* through COI restriction profiles.

Keywords: Cytochrome oxidase I, *Dosidicus gigas*, morphology/morphometry, Rhynchoteuthion, *Sthenoteuthis oualaniensis*.

Introducción

La familia Ommastrephidae tiene gran importancia comercial ya que representa las mayores capturas a nivel mundial (Jereb y Roper, 2005). El calamar gigante *Dosidicus gigas* (D'Orbigny, 1835) y el calamar púrpura *Sthenoteuthis oualaniensis* (Lesson, 1830) pertenecen a esta familia y en estadio adulto ambas especies son morfológicamente diferentes.

El estadio adulto de *D. gigas* se caracteriza por su manto largo y robusto, aletas amplias, musculosas y romboidales cuyo ancho es el 56% de su longitud de manto (LM) y su longitud es el 45% de LM. El ángulo de cada aleta es de 57°. El extremo terminal de los brazos es prolongado y atenuado, contiene entre 100 y 200 ventosas de tamaño reducido; la membrana protectora dorsal está poco desarrollada, mientras que las trabéculas están bien desarrolladas, con papilas expuestas. El brazo hectocotilizado carece de ventosas y tallo en la extremidad, así como de membranas protectoras expandidas y perforadas (Roper *et al.*, 1984).

En cambio, el estadio adulto de *S. oualaniensis* en el pacífico oriental presenta un manto muy muscular y cónico en la región posterior. Las aletas son musculosas y amplias, cuyo ancho es el 79% de LM y su longitud es el 43% de LM, el ángulo de cada aleta es de 64°; los machos tienen aletas más anchas que las hembras. Los brazos poseen menos de 200 pares de ventosas. Se distinguen por presentar un “parche” de fotóforos en la superficie anterodorsal del manto (Roper *et al.*, 1984) (Figura 1).

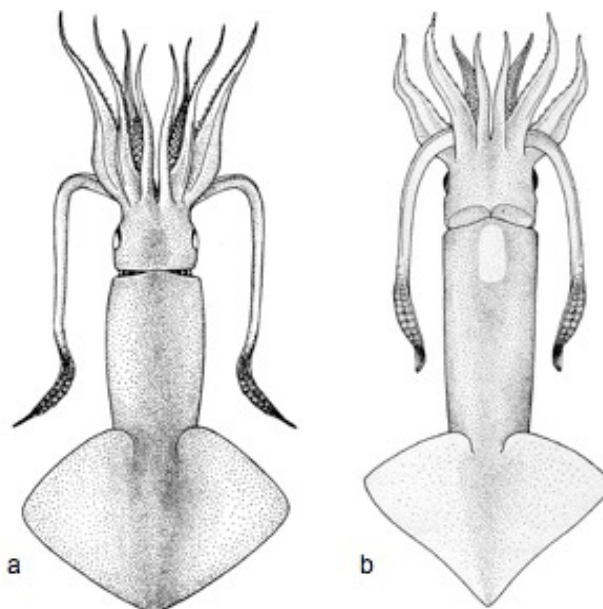


Figura 1. Ejemplares adultos de a) *Dosidicus gigas* y b) *Sthenoteuthis oualaniensis* (modificado de Roper *et al.*, 1984).

Ambas especies presentan una elevada producción de huevecillos; de acuerdo a Nesis (1970), la fecundidad para *D. gigas* en la porción sur del Pacífico (Perú y Chile) es de 100,000 a 600,000 oocitos con un máximo de 650,000 en hembras de más de 50 cm de LM, y Nigmatullin *et al.* (1999) registraron hasta 32,000 oocitos, aunque generalmente la fecundidad potencial varía entre 0.3 y 13 mil. La proporción de oocitos con vitelo y huevos maduros en el ovario y oviductos de hembras en pre-desove constituye cerca del 10% de la fecundidad potencial (Nigmatullin *et al.*, 2001). En *S. oualaniensis*, los oviductos contienen de 64 a 200 oocitos maduros y comprenden el 10-65% del total de oocitos.

El desove ocurre aproximadamente a los 3 días de la fecundación y es prolongado e intermitente para asegurar que al menos un desove se realice en condiciones ambientales adecuadas, generalmente en aguas oceánico-epipelágicas adyacentes a la plataforma continental (Nigmatullin y Laptikhovsky, 1994; Nigmatullin *et al.*, 2001). Una vez liberados

los huevecillos en el medio, son contenidos en una masa gelatinosa que permanece cerca de la superficie (O'Dor y Balch, 1985). Al eclosionar, la paralarva es planctónica epipelágica y se encuentra principalmente entre la superficie y los 200 m de profundidad.

El término paralarva fue propuesto y definido por Young y Harman (1988) como el estadio del primer crecimiento post-desove de cefalópodos, que es pelágico en aguas superficiales durante el día y que tiene un distinto modo de vida respecto a sus conespecíficos adultos, bajo el argumento de que “paralarva” está basado en criterios ecológicos y morfológicos, y no en el desarrollo del organismo en el cual se basan los términos larva o juvenil. De acuerdo a Sweeney *et al.* (1992) el término así definido, llena una clara necesidad en la presente terminología.

Dentro del grupo de los calamares (Orden Teuthida), la familia Ommastrephidae se caracteriza por presentar una paralarva conocida como Rhynchoteuthion, palabra que proviene de los términos griegos rhyncho (pico) y teuthion (calamar), y se distingue por la presencia de una proboscis en la región cefálica frontal que en su extremo distal tiene 8 ventosas. Esta estructura se presenta desde el momento de la eclosión y crece hasta que comienza su división longitudinal a partir de la base cuando la paralarva mide 5 mm de LM, para decrecer hasta que ocurre la completa separación a los 10 mm de LM aproximadamente, dando lugar a los tentáculos (Wormuth *et al.*, 1992; Wakabayashi *et al.*, 2002; Shea, 2005), momento en que se considera terminado el estadio Rhynchoteuthion (Figura 2).

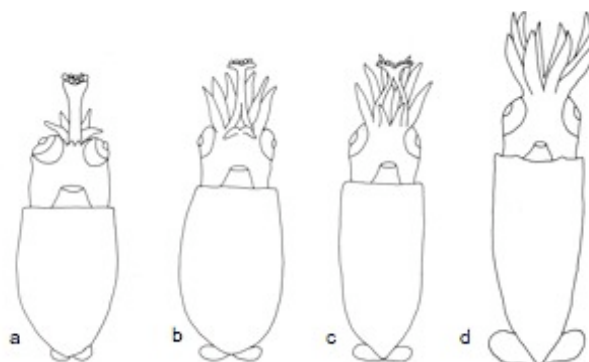


Figura 2. Típica forma de una paralarva *Rhynchoteuthion* a distintas longitudes de manto. a) 1.5 mm de LM, b) 4.0 mm de LM, c) 8.0 mm de LM, d) 15.0 mm de LM (Modificado de Wormuth *et al.*, 1992).

Estudios morfológicos (Nesis, 1983; Wormuth *et al.*, 1992; Yatsu, 1999) mencionan que las *Rhynchoteuthion* de *D. gigas* miden de 0.9 a 1.3 mm de longitud total (LT) al eclosionar, carecen de fotóforos oculares y viscerales, el manto de la paralarva es ancho (50-80% de su longitud) y su proboscis mide de 25 a 50% respecto a la LM. Nesis (1983) y Wormuth *et al.* (1992) indican que las 2 ventosas laterales del extremo distal de la proboscis son de mayor tamaño que las 6 restantes, sin embargo Yatsu *et al.* (1999) y Camarillo-Coop (2006) reportan que las 8 ventosas son del mismo tamaño, lo cual fue corroborado por la identificación genética realizada por Gilly *et al.* (2006). Los brazos III y IV se distinguen a los 1.5 y 3.0 mm de LM respectivamente (Figura 3).

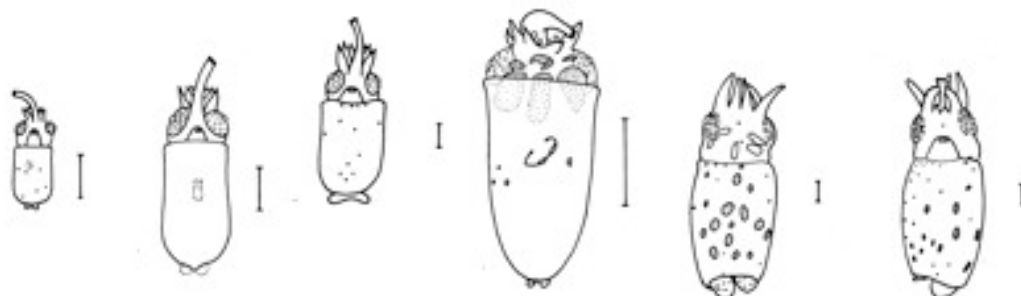


Figura 3. *Rhynchoteuthion D. gigas*. Barra de escala = 1.0 mm (Modificado de Wormuth *et al.*, 1992).

En cambio, las Rhynchoteuthion de *S. oualaniensis* miden 0.78-0.95 mm de LM al eclosionar (Cheslin y Giragosov, 1993). Presentan un fotóforo en la superficie ventral de cada ojo y dos fotóforos viscerales de igual tamaño que son claramente visibles en organismos mayores a 4.0 mm de LM (Harman y Young, 1985). La longitud de la proboscis es del 75-100% respecto a la LM; su división comienza a los 3.5-4.0 mm de LM y se completa a los 9.0 mm de LM en especímenes de Hawaii (Wormuth *et al.*, 1992). Las 8 ventosas que posee esta estructura en el extremo distal son de igual tamaño (Sakurai *et al.*, 1995) o similar (Harman y Young, 1985). Presentan un patrón de cromatóforos en la cabeza y manto (Young e Hirota, 1990; Cheslin y Giragosov, 1993) similar al que presentan las Rhynchoteuthion de *D. gigas* (Figura 4).

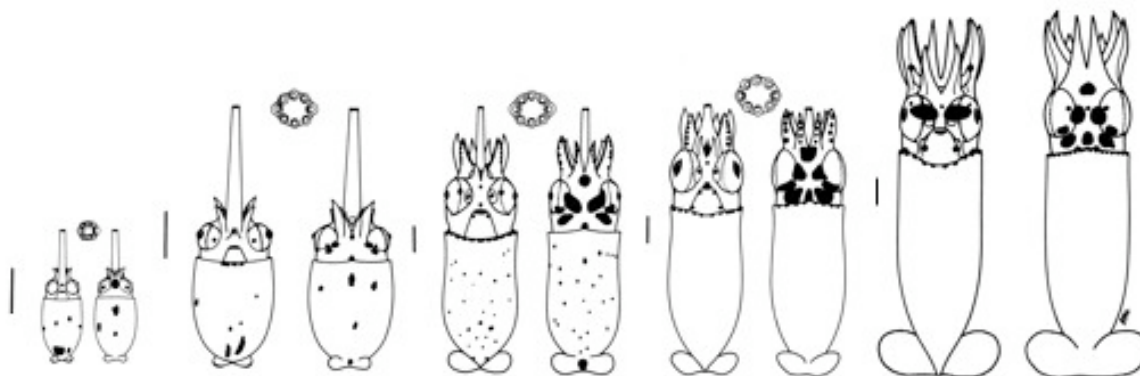


Figura 4. Rhynchoteuthion y juvenil de *S. oualaniensis*. Barra de escala = 1.0 mm (Modificado de Wormuth *et al.*, 1992).

Sin embargo, los caracteres morfológicos que se emplean para la identificación del estadio Rhynchoteuthion en ambas especies aún no han permitido diferenciarlas a determinadas tallas. Tal es el caso de los fotóforos oculares y viscerales; al respecto, Nigmatullin y Dubinina (datos no publicados), así como Shchetinnikov (1987) sugieren que en estadio juvenil *D. gigas* desarrolla fotóforos oculares e intestinales al alcanzar 12-15 mm

de LM, que desaparecen al medir 100-140 mm de LM. Pero hasta el momento no se han observado en estadio Rhynchoteuthion. Por lo tanto, considerando que en *S. oualaniensis* es difícil observar fotóforos oculares y viscerales a tallas menores de 4.0 mm de LM y *D. gigas* no los presenta en ningún momento de su estadio Rhynchoteuthion, es posible confundir ambas especies al menos en tallas menores a 4.0 mm de LM.

A pesar de que se ha reportado que la proporción de la longitud de proboscis respecto a la longitud de manto es claramente diferente en ambas especies (Harman y Young, 1985; Wormuth, 1992; Yatsu *et al.*, 1999), es posible que la longitud de la proboscis no sea una medida confiable para discriminarlas interespecíficamente debido a que los cambios en las condiciones oceanográficas influyen en las temporadas reproductivas (Ehrhardt *et al.*, 1986) y por ende los desoves de distintas temporadas difieren en su tasa de crecimiento (Masuda, 1998). Incluso, es posible que la proboscis sufra de contracción por acción de la preservación.

El patrón de cromatóforos es un carácter útil para la identificación de las paralarvas, desafortunadamente éstos pigmentos frecuentemente se dañan durante la recolecta de los especímenes. Y de acuerdo a Roper y Sweeney (1983), el tiempo máximo de preservación de éstos pigmentos es de aproximadamente 6 meses en etanol al 75%, por lo que ha sido necesario buscar estructuras alternas que ayuden en la identificación de las especies.

Otro punto a considerar es que ambas especies presentan un traslape en su distribución geográfica. *D. gigas* se encuentra en regiones tropicales-subtropicales de aguas eutróficas nerítico-oceánicas, se distribuye exclusivamente a lo largo de la plataforma continental en el Pacífico Este, desde el norte de California (45°N) hasta el sur de Chile (47°S) llegando a los 140°W sobre la franja ecuatorial (Nesis, 1983), asociado a las

corrientes de California y Perú con registros recientes de captura en las costas de Oregon y Sitka, Alaska E.U.A. (Hatfield y Hochberg, 2007), mientras que *S. oualaniensis* presenta una amplia distribución en la franja tropical y subtropical del Océano Pacífico e Índico (Young e Hirota, 1998). En el Pacífico se encuentra entre los 45° N y los 30° S en la costa Oeste y entre los 45° N y 10° N en la costa Este (Roper *et al.*, 1984) (Figura 5).

Bazanov (1987) y Shchetinnikov (1988) mencionan que ambas especies pueden formar agrupaciones mixtas; y Camarillo-Coop (2006) reportó la presencia de paralarvas de *D. gigas* y *S. oualaniensis* en la región sur de la costa occidental de la península de Baja California, identificándolas solamente con los caracteres taxonómicos descritos previamente.

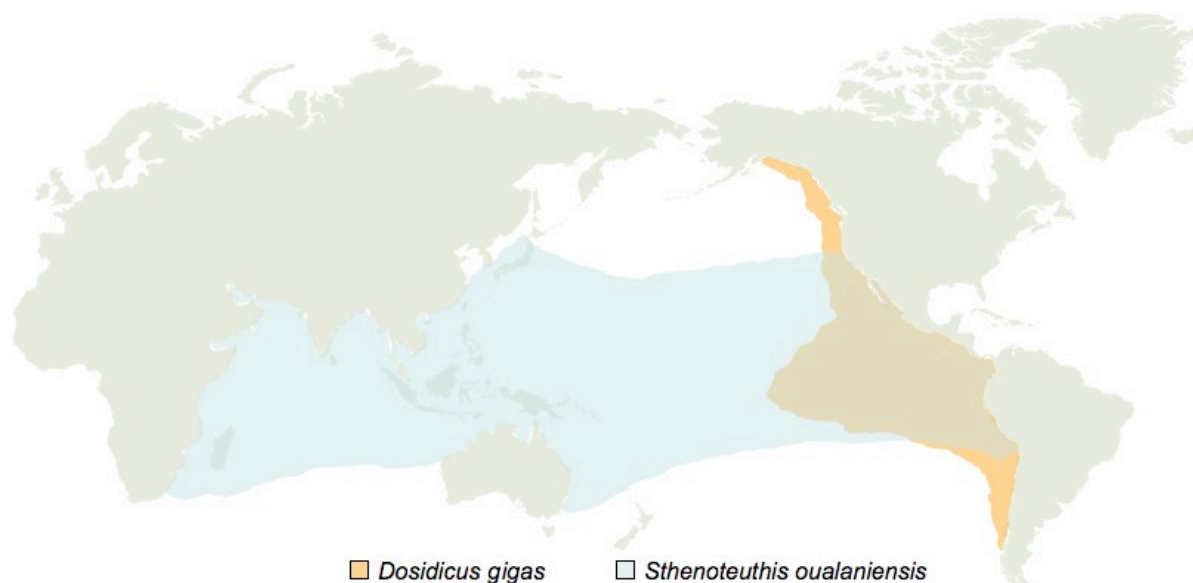


Figura 5. Distribución geográfica de *D. gigas* y *S. oualaniensis*, nótese la zona en la cual convergen geográficamente ambas especies (Roper *et al.*, 1984).

Actualmente la identificación del estadio Rhynchoteuthion de estas dos especies basada en caracteres morfológicos aún es insuficiente, particularmente a tallas menores de

4.0 mm de LM. Por tal razón es necesario realizar análisis más rigurosos y emplear nuevas técnicas que permitan identificar con certeza cada especie; el análisis multivariado de datos morfométricos es un método bien establecido para estudiar la variación taxonómica y geográfica en algunos invertebrados (De Wolf *et al.*, 1998), incluyendo cefalópodos (Neige y Boletzky, 1997; Martínez *et al.*, 2002; Neige, 2006). Por otro lado, se han empezado a utilizar con mayor frecuencia los experimentos de fertilización artificial, los cuales a partir de adultos previamente bien identificados permiten conocer diferentes aspectos como el desarrollo embrionario, la eclosión y post-eclosión de sus paralarvas proporcionando elementos más certeros sobre la ontogenia de una especie en particular. Otro enfoque que en los últimos años ha sido ampliamente utilizado son las herramientas moleculares que han servido para resolver diversas incertidumbres taxonómicas.

En este sentido, Barret y Hebert (2005) sugieren que la divergencia de secuencias en una región estándar del gen mitocondrial que codifica para citocromo oxidasa I (*COI*) puede proveer resolución a nivel especie en distintos grupos animales debido a su presencia en todo el reino animal y a la comparación directa de secuencias porque las inserciones y deleciones son raras, sobretodo porque el *COI* parece poseer suficiente divergencia en la secuencia para permitir regularmente una diferenciación entre especies altamente relacionadas.

Antecedentes

Diversos estudios sobre la descripción morfológica de las paralarvas de cefalópodos y de la familia Ommastrephidae se han realizado, entre los cuales se encuentra el de

Sweeney y colaboradores (1992), quienes elaboraron la guía “Larval and Juvenile Cephalopods: A Manual for Their Identification”, en la que detallan las características de todas las paralarvas de cefalópodos hasta ese momento reportadas.

Harman y Young (1985) se enfocaron en la descripción de las paralarvas de *Nototodarus hawaiiensis*, *Ommastrephes bartramii* y *S. oualaniensis* provenientes de Hawaii, en donde analizaron aspectos ecológicos y los caracteres taxonómicos útiles para su identificación, tales como la ubicación de los fotóforos, la longitud de proboscis, la longitud del manto a la cual la proboscis se separa, la estructura y el tamaño relativo de las ventosas de la proboscis, así como el patrón de cromatóforos.

Nesis (1983), Yamaguchi y Okutani (1990) se enfocaron en la morfología y distribución de las paralarvas de *D. gigas*; Cheslin y Giragosov (1993) analizaron la masa de huevos y el desarrollo embrionario en *S. oualaniensis*. Yatsu (1999) realizó una comparación morfológica de las Rhynchoteuthion de *D. gigas* y *S. oualaniensis* y diferenció a ambas especies por la presencia de fotoforos oculares y viscerales, así como pigmentos rojizos en *S. oualaniensis*. Por su parte, Tafur *et al.* (2001) describieron las temporadas y áreas de desove de *D. gigas*.

Shea (2005) realizó un estudio minucioso acerca del proceso de división de la proboscis de *S. oualaniensis*, *O. bartramii* y *Hyaloteuthis pelagica*, empleado para la identificación de especies. Definió 5 estadios ontogénicos de separación de los tentáculos con base en el mecanismo de división y la presencia de ventosas en el extremo distal.

Camarillo-Coop (2006) analizó la morfología y variación espacio-temporal de paralarvas Rhynchoteuthion de cefalópodos de importancia comercial en la costa occidental de la Península de Baja California.

Con el fin de describir el desarrollo embrionario, inicialmente Soeda (1952, 1954) realizó estudios sobre fertilización artificial con *Todarodes pacificus*. Sin embargo, Arnold y O'Dor (1990), así como Sakurai e Ikeda (1994) fueron los primeros que lograron la eclosión de los huevos a pesar de que reportaron una alta mortandad debido a infecciones bacterianas o a la falta de expansión del corion, lo cual constriñe al embrión.

Posteriormente, Ikeda *et al.* (1993b) descubrieron que al agregar glándula oviducal liofilizada a los huevos de *Todarodes pacificus* se lograba la primera fase del levantamiento del corion. Y al agregar glándula oviducal liofilizada de *T. pacificus*, *S. oualaniensis* u *O. bartramii*, Sakurai *et al.* (1995) observaron que es posible estimular el levantamiento del corion de las demás especies de la familia Ommastrephidae.

Sakurai e Ikeda (1992), Ikeda *et al.* (1993a), Sakurai *et al.* (1995) y Watanabe y colaboradores (1996) estandarizaron una técnica de fertilización artificial para calamares de la familia Ommastrephidae que permitió examinar el desarrollo embrionario y el estadio temprano de *T. pacificus* (fertilización, meiosis, segmentación, segregación celular, organogénesis y post-eclosión). Específicamente, Sakurai *et al.* (1995) produjeron paralarvas de *O. bartramii* y *S. oualaniensis* utilizando glándula oviducal y manteniendo los embriones a 18°C, y Yatsu *et al.* (1999) logró producir paralarvas de *D. gigas* a partir del procedimiento establecido por Sakurai e Ikeda (1994) para *T. pacificus*.

A pesar de los estudios morfológicos y de fertilización artificial útiles para la descripción de las Rhynchoteuthion de las distintas especies de la familia Ommastrephidae, no ha sido posible discriminar a las paralarvas de *D. gigas* de las de *S. oualaniensis*, principalmente a tallas menores a 4.0 mm de LM, lo cual hace necesario el uso de análisis morfológicos y morfométricos rigurosos así como de herramientas moleculares.

Wakabayashi y colaboradores (2006) emplearon RFLP's (del término en inglés Restriction Fragment Length Polymorphisms: polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción) en ADN mitocondrial para la identificación de distintas especies de la familia Ommastrephidae (*O. bartramii*, *S. oualaniensis*, *Eucleoteuthis luminosa* y *H. pelagica*). Fienberg (*in prep*) diferenció a través del gen COI entre las formas típicas y ecuatoriales de *S. oualaniensis* y sólo Gilly *et al.* (2006) han empleado el análisis genético para la identificación de *D. gigas* en muestras colectadas en la Isla San Pedro Mártir localizada en el Golfo de California. Este mismo autor actualmente desarrolla nuevas secuencias que permitan realizar dicho análisis también con *S. oualaniensis*.

Justificación

En México, el calamar gigante *D. gigas* es el principal componente en la captura comercial de Cefalópodos y ocupa el cuarto lugar en estadísticas pesqueras totales, cuyo volumen de captura anual ha oscilado drásticamente hipotetizándose que ésto se debe tanto a la influencia de los cambios en los regímenes ambientales como al esfuerzo de pesca (Anuario Estadístico de Pesca, 2003), provocando incertidumbre respecto a la disponibilidad de este recurso (Figura 6).

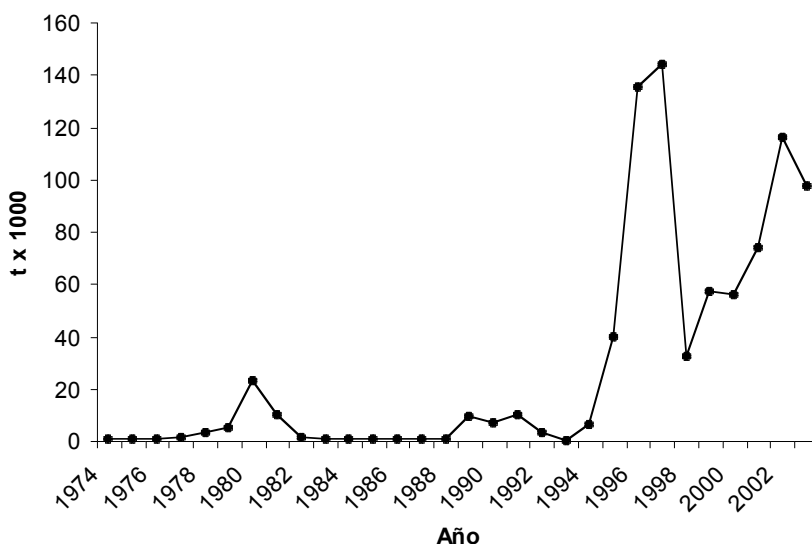


Figura 6. Registro de captura anual del calamar gigante *D. gigas* en el Pacífico mexicano de acuerdo al Anuario estadístico de pesca, SAGARPA, 2003.

Es importante considerar que la identificación taxonómica de las especies de interés comercial en todas las fases del ciclo de vida es un requisito para entender la dinámica poblacional, el reclutamiento y poder discriminar los stocks pesqueros (O'Dor y Lipinski, 1998); los cuales pueden estar conformados por distintas cohortes, que al ser extraídas indiscriminadamente ponen en riesgo a las cohortes juveniles. Esto hace potencialmente vulnerable a la población por la sobrepesca (Rosenberg *et al.*, 1990), más cuando la población presenta niveles bajos por sus fluctuaciones naturales y pueden ser directamente afectadas por las tasas relativamente bajas de supervivencia de las paralarvas y juveniles (Yatsu *et al.*, 1999).

Sin embargo, son varios los factores que dificultan conocer a detalle el estadio *Rhynchoteuthion* de *D. gigas*, entre los cuales se puede mencionar la falta de conocimiento sobre el comportamiento reproductivo de la especie, el breve periodo de desarrollo de la

paralarva, la insuficiente información sobre las condiciones en que ocurre el desove, el desarrollo embrionario en el medio natural y las características morfológicas para la identificación de las paralarvas y juveniles (Nesis, 1979; Sweeney *et al.*, 1992; Yatsu, 1999; Nigmatulin *et al.*, 2001); aunado a la similitud morfológica que presentan ésta especie y *S. oualaniensis* en estadio Rhynchoteuthion y al potencial traslape en la distribución de ambas especies.

Lo anterior complica la identificación de *D. gigas* en estadio Rhynchoteuthion. Por tal razón, este trabajo intenta determinar las características diagnósticas de *D. gigas* en este estadio y propone llevar a cabo posteriores estudios que ayuden a definir las áreas y temporadas de desove, las condiciones en las que éste ocurre, su biomasa y el papel ecológico de la paralarva como parte del zooplancton. En su conjunto, éstos estudios aportarían bases que permitan tomar decisiones respecto a estrategias de pesca con el fin de hacer un uso adecuado de la especie como recurso.

Objetivos

Objetivo general

Dar elementos que permitan diferenciar a la paralarva Rhynchoteuthion del calamar gigante *D. gigas* y del calamar púrpura *S. oualaniensis*.

Objetivos específicos

Diferenciar las paralarvas Rhynchoteuthion del calamar gigante *D. gigas* y del calamar púrpura *S. oualaniensis* a través del análisis morfológico.

Diferenciar las paralarvas Rhynchoteuthion del calamar gigante *D. gigas* y del calamar púrpura *S. oualaniensis* a través del análisis morfométrico.

Diferenciar las paralarvas Rhynchoteuthion del calamar gigante *D. gigas* y del calamar púrpura *S. oualaniensis* a través del análisis genético.

Área de estudio

El material biológico analizado proviene de tres sitios geográficamente distintos: El Golfo de California, la costa occidental de la península de Baja California y el archipiélago de Hawaii.

Golfo de California

El Golfo de California está limitado hacia el oeste por la península de Baja California y hacia el este por el macizo continental. El área ocupada por el golfo se encuentra en el orden de los 150,000 km², con un volumen cercano a los 123 km³ (Lluch-Cota *et al.*, 1998). Presenta características oceanográficas que son producto de la fisiografía submarina y de las islas que están presentes en la región (Marinone y Lavin, 1997). Se pueden localizar tres grandes zonas: El alto Golfo de California, la región central (donde se encuentra ubicada la Bahía de Santa Rosalía y la Bahía de Guaymas) y la parte sur (Méndez-Tenorio, 2001).

Representa un área subtropical con tasas excepcionalmente altas de productividad primaria; el promedio de productividad para todo el Golfo es de 0.382 g C m⁻²/día y la

concentración superficial de fosfato es mayor a 0.4 mM (Zeitzschel, 1969). Las isogramas de 1 ml⁻¹ de oxígeno disuelto, 2.5 mM de fosfato y 20 mM de nitrato son tan someras (100 a 200 m de profundidad) que las zonas de surgencia del Golfo deben de ser las de más alta concentración de nutrientes en el océano (Álvarez-Borrego *et al.*, 1978). Gilbert y Allen (1943) concluyen que las condiciones hidrográficas del Golfo son conducentes a una alta productividad y que el ciclo estacional del fitoplancton depende de los afloramientos al sur de las grandes islas y de la mezcla vertical al norte de ellas.

De acuerdo a Zeitzschel (1969), la región central del Golfo entre los 27°N y 29°N tiene un promedio de productividad de 0.53 g C m²/día durante diciembre, siendo mayor que en áreas al sur, pero menor que en el norte. En general la productividad primaria parece aumentar de sur a norte y es mayor en primavera y comienzo del verano (Álvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991; Santamaría del Angel *et al.*, 1994),

El campo de vientos sobre el Golfo de California es de naturaleza monzónica, con vientos del noroeste durante el invierno (noviembre-mayo) y del sur o sureste en verano (junio-septiembre). Este patrón de vientos produce surgencias costeras en la costa continental durante el invierno y en la de Baja California durante verano, siendo mayo y octubre los meses de cambio (Roden y Groves, 1959; Álvarez-Borrego, 1983; Badan-Dangon *et al.*, 1985; Álvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991; Bray y Robles, 1991).

Badan-Dangon *et al.* (1985) describieron la evolución temporal de una pluma de surgencia que se origina al norte de Guaymas en invierno y cruza el Golfo. A pesar del patrón alterno de surgencias, este transporte superficial de agua de surgencia desde una costa hasta la otra hace que las máximas concentraciones de pigmentos fotosintéticos se den en ambas costas durante el invierno. Sin embargo, las concentraciones son siempre mayores

frente a la costa oriental, debido a la pérdida de biomasa fotosintética por forrajeo o hundimiento durante el transporte a la costa occidental (Santamaría del Angel *et al.*, 1994).

La surgencia de verano frente a la costa occidental, aunque débil, se refleja en concentraciones de clorofila mayores a los de la costa oriental (Santamaría del Angel *et al.*, 1999). Es importante mencionar que las aguas enriquecidas de las surgencias quedan atrapadas en el centro del Golfo, a diferencia de los sistemas de surgencias frente al océano abierto, donde las aguas de surgencia son transportadas lejos de la costa (Gaxiola-Castro *et al.*, 1995), haciendo de la zona centro una masa de agua realmente productiva (Figura 7).

Un área de gran importancia para la pesquería del calamar gigante dentro del Golfo de California es la Bahía de Santa Rosalía, ésta se encuentra ubicada en la costa oriental de la Península de Baja California, frente al puerto de Santa Rosalía, B.C.S., aproximadamente a los 27° 20' N y 112° 15' W. Presenta temperaturas fluctuantes entre los 16°C a 20°C en el mes de mayo, con salinidades entre 35.0 y 35.4 ups (Bray, 1988). En los primeros 100 m de profundidad las aguas son frías y densas. En verano, el estrato superficial se calienta por encima de los 5°C y los estratos inferiores de agua (50 y 250 m) se acercan a 1°C.

La bahía se ve afectada por procesos de mezcla por mareas y surgencias estacionales que ocurren en la zona central del Golfo de California; causados por vientos del noroeste que provocan surgencias en la costa este durante invierno y primavera, mientras que vientos del sur causan surgencias en la costa oeste durante el verano. La transición entre cada proceso de surgencia ocurre a finales de mayo y principios de junio, reportándose que las surgencias de verano son menos intensas que las de primavera. Estos procesos causan una excepcional productividad fitoplanctónica, con tasas en el golfo dos a tres veces mayores que en el océano abierto del Atlántico o del Pacífico a latitudes similares (Badan-Dangon *et*

al., 1985; Valdéz-Holguín y Lara-Lara, 1987), que se ven reflejadas en el incremento de productividad que ocurre en la Bahía de Santa Rosalía en invierno y primavera.

La diferencia periódica en la temperatura superficial entre ambas costas del Golfo de California, generan aguas más frías en invierno frente a Guaymas, y en verano frente a Santa Rosalía provocando las surgencias alternas. En febrero, las isotermas, isohalinas e isobatas de oxígeno de las capas superficiales surgen hacia la costa oriental. La termoclina está bien desarrollada entre abril y octubre, y es más fuerte en agosto, cuando el gradiente de temperatura entre la superficie y los 150 m alcanza los 16°C. La estructura hidrográfica bajo la termoclina es igual a la del Pacífico ecuatorial, caracterizada por un mínimo de salinidad (34.50-34.55‰) entre los 600 y 1000 m, y una capa de oxígeno mínimo (0.1-0.2 ml·l⁻¹) entre los 400 y 800 m de profundidad (Roden y Groves, 1959; Roden, 1964).

Costa occidental de la Península de Baja California

En las costas del sistema de la Corriente de California la actividad de surgencias es intensa a lo largo de toda la costa y en periodos largos. La estructura de la línea de costa permite la formación de frentes y giros, donde los niveles de estratificación son mayores, por lo que la producción tiende a presentarse asociada a cabos y cañones (Hunstsman y Barber, 1977; Mann y Lazier, 1996).

En la costa occidental de la península de Baja California se reconocen tres zonas con mayores niveles de producción biológica (con base en la distribución de concentración pigmentaria), éstas son Punta Baja, Punta Eugenia (27.13°N, 115.16°W) y Bahía Magdalena (24.58°N, 112.00°W) registrándose los mayores aportes de nutrientes en Punta Baja, sin

embargo, los centros de refugio, desove y crianza de poblaciones pelágicas, como la sardina y anchoveta, están más relacionados a las otras dos, las cuales son áreas con altos valores de productividad primaria pero menores niveles de surgencia (Lluch-Belda, 1997).

Morales-Zárate *et al.* (2000) mencionan que en Punta Eugenia existen mecanismos físicos de convergencia de aguas enriquecidas, por lo cual esta zona representa un hábitat reproductivo adecuado donde se combinan los elementos de la tríada de Bakun (enriquecimiento, la concentración de partículas y la retención de los huevos y larvas en el hábitat adecuado, o su advección hacia él) que hacen de Punta Eugenia la zona de mayor importancia en términos de productividad biológica. Los valores de concentración pigmentaria que presenta son mayores a $2.51 \text{ mg Chl m}^{-3}$ a lo largo de todo el año, valores máximos de $3.58 \text{ mg Chl m}^{-3}$ en primavera y verano, y mínimos en otoño e invierno con $0.27 \text{ mg Chl m}^{-3}$. Existe un gradiente de concentración de nutrientes que va del océano al continente, en el área de Punta Eugenia éste gradiente se dirige principalmente hacia Bahía Vizcaíno en una zona separada de la costa.

En Punta Eugenia existe una mayor concentración y retención de partículas orgánicas, aparentemente por la presencia de estructuras oceanográficas que impiden su exportación por transporte horizontal, y donde los menores valores de turbulencia permiten que el fitoplancton pueda desarrollarse y permanecer el tiempo suficiente en la zona fótica para poder utilizar los nutrientes disponibles.

Asociados a la Contracorriente de California se presentan remolinos semipermanentes que se ubican consistentemente en las mismas zonas, al menos en la Cuenca del Sur de California y Punta Eugenia (Schwartzlose, 1963, Owen, 1980; Hewitt, 1980; Amador-Buenrostro *et al.*, 1995), jugando un importante papel en el mantenimiento

de la productividad biológica del sistema (Owen, 1980).

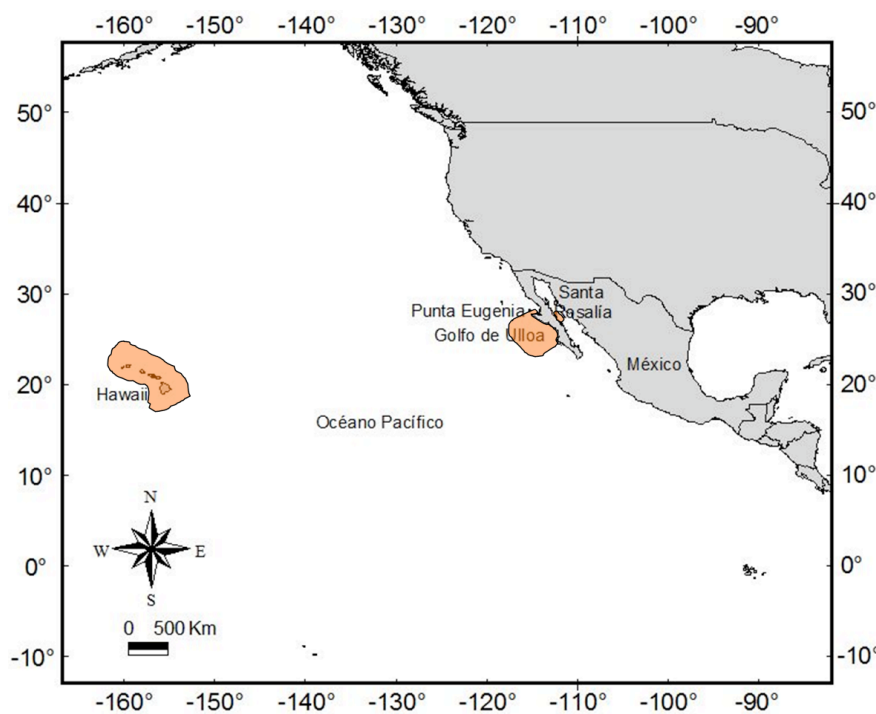


Figura 7. Zonas de origen de las muestras. *S. oualaniensis* (Hawaii), *D. gigas* (Costa occidental de la Península de Baja California y Santa Rosalía, B.C.S).

Método

Colecta de paralarvas

En la Bahía de Santa Rosalía, B.C.S., en los meses de marzo, junio, agosto y noviembre del 2003 y durante marzo, junio a agosto y octubre del 2004, se realizó un arrastre mensual nocturno y superficial con una red cónica simple de 60 cm de diámetro y 505 μm de luz de malla equipada con flujómetro. El arrastre se hizo a bordo de una lancha con motor fuera de borda a velocidad aproximada y constante de 2 nudos. El material recolectado fue fijado y preservado con una solución de formol al 4% saturado con Borato de sodio.

En la costa occidental de la Península de Baja California (COPBC), a bordo del buque oceanográfico Francisco de Ulloa se llevaron a cabo cuatro cruceros IMECOCAL correspondientes a los meses de enero-febrero, abril-mayo, julio-agosto y octubre del 2005 (050102, 050405, 050708 y 0510 respectivamente) y se revisaron las muestras de las estaciones que van de Punta Eugenia hasta el sur del Golfo de Ulloa (Figura 8).

Se realizaron arrastres oblicuos siguiendo el protocolo de Kramer *et al.*, (1972), con una red bongo de 71 cm de diámetro y 505 μm de luz de malla equipada con flujómetro, a velocidad constante de 2 nudos aproximadamente. Se extendieron 300 m de cable con una inclinación de 45°, el ángulo se registró cada 10 m durante el ascenso de la red y su promedio sirvió para determinar la profundidad del arrastre. En estaciones someras el lance se realizó a partir de los 10 m sobre el fondo marino. El material recolectado fue preservado con alcohol etílico al 99%. Se registró temperatura, salinidad y oxígeno utilizando un CTD y se determinó la biomasa zooplanctónica por medio del método volumétrico de Beers (1976). La abundancia de las paralarvas *Rhynchoteuthion* se estandarizó a 1000 m³ (Smith y Richardson, 1979) y los intervalos de abundancia se asignaron de acuerdo a lo establecido por Smith (1971), como se muestra en la tabla I:

Tabla I. Intervalos de abundancia utilizados para las paralarvas *Rhynchoteuthion*.

Intervalo (PI/1000 m³)	Abundancia
1 – 15	Muy baja
16 – 63	Baja
64 – 255	Media
256 – 1,023	Alta
1,024 – 4,095	Muy alta

Posteriormente, la abundancia de las paralarvas se correlacionó con la temperatura superficial del agua registrada durante los arrastres de zooplancton en la Bahía de Santa Rosalía, B.C.S. en el 2003 y 2004, así como de los registros provenientes del programa IMECOCAL 2005.

El Dr. Richard Young de la Universidad de Hawaii donó 22 especímenes de *S. oualaniensis* fijados en formol al 4% y posteriormente preservados en etanol al 70%, colectados en las costas de Hawaii con los cuales se realizó la descripción morfológica y morfométrica de esta especie.

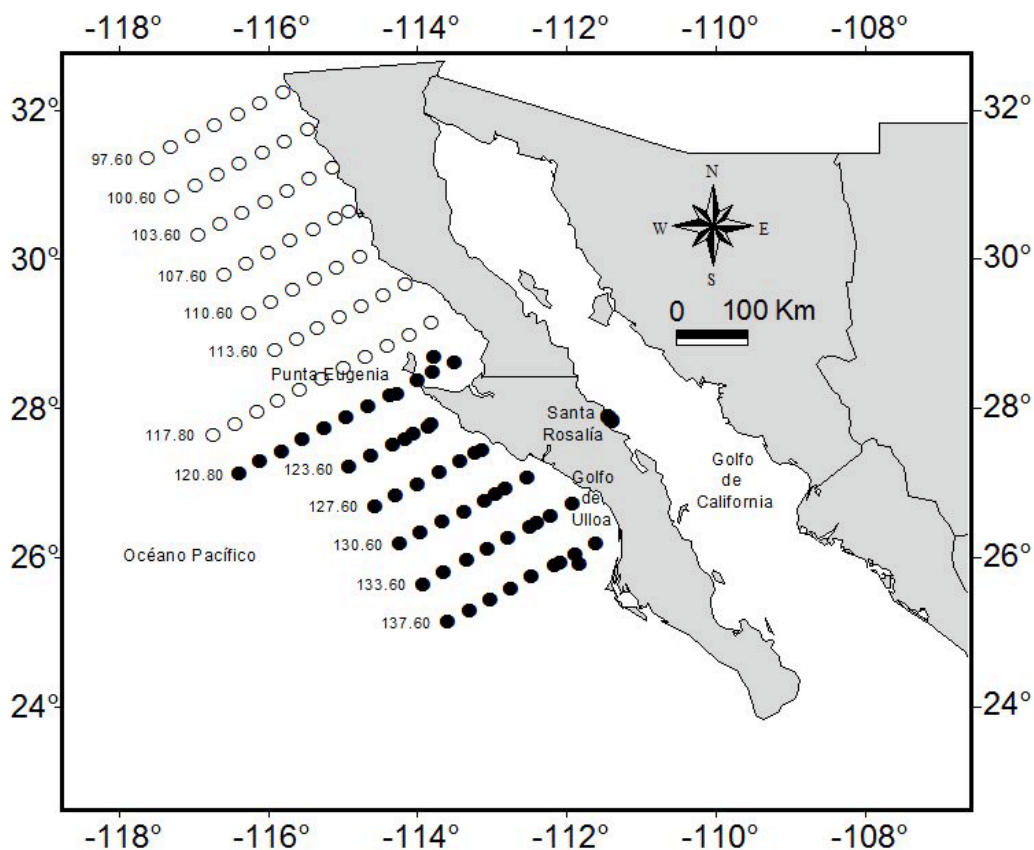


Figura 8. Estaciones de muestreo exploradas durante los cruceros de enero-febrero, abril-mayo, julio-agosto y octubre del programa IMECOCAL 2005, desde la frontera norte de México hasta el sur del Golfo de Ulloa en la costa occidental de la Península de Baja California. En la costa oriental se indica la zona en donde el Grupo Cefalópodos del CIBNOR realizó los muestreos durante el 2003 y 2004. Los puntos negros indican las estaciones analizadas.

Identificación de paralarvas Rhynchoteuthion

Las paralarvas Rhynchoteuthion fueron seleccionadas del resto de las paralarvas de otros cefalópodos por la presencia de la proboscis, característica exclusiva de la familia Ommastrephidae. Simultáneamente a las observaciones y registro de datos morfológico/morfométrico se elaboró un catálogo fotográfico de cada paralarva (con un código único) en vista dorsal, ventral, lateral derecha e izquierda, con un estereoscopio ZEISS Stemi DV4 y una cámara digital SONY PowerShot 4400. Con éstas imágenes se corroboraron las estructuras observadas posterior al análisis genético, y se realizó la identificación específica con base en los caracteres morfológicos establecidos (Harman y Young, 1985; Wormuth *et al.*, 1992; Cheslin y Giragosov, 1993; Yatsu *et al.*, 1999).

Análisis morfológico y morfométrico

El análisis morfológico se realizó con base en los caracteres mencionados por Nesis (1983), Roper *et al.* (1984), Wormuth *et al.* (1992) y Yatsu (1999). Las observaciones se hicieron con un estereoscopio ZEISS Stemi DV4, considerando la presencia de proboscis, presencia de fotóforos oculares (FO) y viscerales (FV), así como el arreglo de cromatóforos en cabeza y manto.

La cantidad y forma de las denticiones de las ventosas de la proboscis y brazos, así como la forma y ornamentaciones del pico se analizaron por microscopía electrónica de barrido (MEB) en las instalaciones del CIBNOR. El análisis de las ventosas de la proboscis se realizó sistemáticamente, numerándolas de 1 a 8 comenzando por la ventosa lateral izquierda de la proboscis siguiendo el sentido de las manecillas del reloj. La descripción de

las ventosas de los brazos no pudo realizarse sistemáticamente, por lo cual se reporta lo observado en distintas ventosas de diferentes brazos.

Los especímenes destinados a MEB que se encontraban fijados en formol al 4%, fueron deshidratados en pasos graduales en etanol al 40, 60, 80 y 100% (dos veces en cada paso de 30 minutos cada uno). Posteriormente, fueron colocadas en una cámara de vacío, se montaron en placas de aluminio y se sometieron a un baño de paladio para realizar las observaciones pertinentes. Las muestras previamente preservadas en etanol al 99% no tuvieron que deshidratarse.

Para el análisis morfométrico se midió la longitud (mm) de las distintas estructuras: longitud de cabeza (LC), ancho de cabeza (AC), ancho de la base de la cabeza (ABC), longitud de proboscis (LP), ancho de proboscis (AP), diámetro de tentáculo (DT), porcentaje de división de la proboscis respecto a la longitud de la proboscis (PDP), longitud de aleta (LA), ancho de aleta (AA) y diámetro del ojo (DO) (Figura 9). No se consideró el ancho de manto (AM) debido a que las paralarvas son capaces de retraer la cabeza hacia el interior del manto, de tal forma que las proporciones del AM pueden variar. Por lo que mejor se decidió utilizar el ancho de la base de la cabeza (ABC) como variable alternativa (Figura 9).

Éstas longitudes se obtuvieron con ayuda de un estereoscopio ZEISS Stemi DV4 y a partir de ellas se calcularon índices (i) con la siguiente ecuación, que indica la proporción de la longitud de cada estructura con respecto a la longitud del manto:

$$\text{Índice de estructura A} = \frac{\text{Longitud de estructura A}}{\text{Longitud de manto}} \times 100$$

Se analizó la normalidad de los datos con la prueba de Kolmogorov-Smirnov y se realizó un ANOVA de una vía para determinar posibles diferencias estadísticas entre las

medidas de las estructuras de ambas especies. A partir de las medidas que presentaron diferencia estadística significativa entre especies, se crearon coeficientes (estructura A/estructura B) con el fin de maximizar la variabilidad morfométrica interespecífica. Finalmente se aplicó el análisis de componentes principales y el análisis de funciones discriminantes a los índices y coeficientes de los índices para discriminar a *D. gigas* de *S. oualaniensis*.

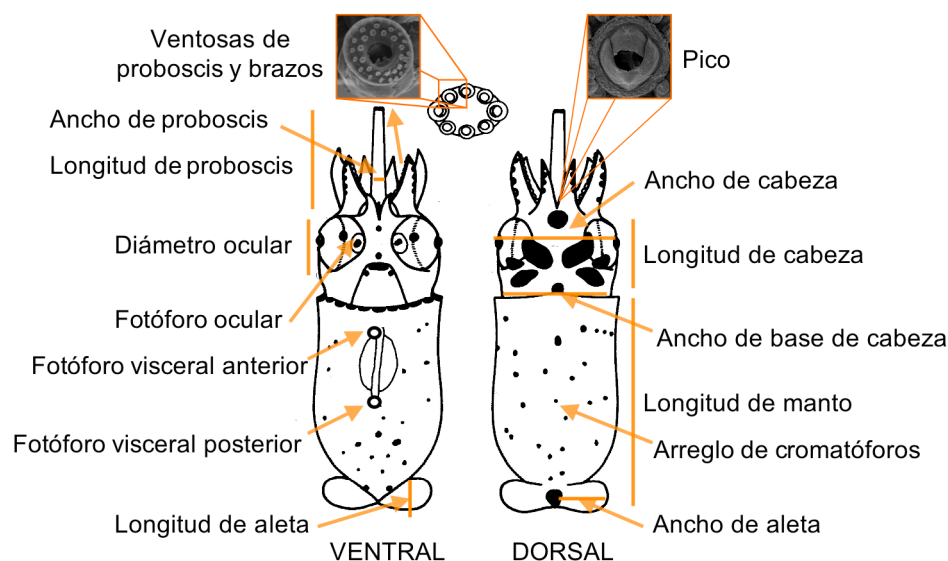


Figura 9. Nomenclatura de estructuras a considerar para el análisis morfológico y morfométrico de las paralarvas Rhynchoteuthion. AP, ancho de proboscis; LP, longitud de proboscis; FO, fotóforo ocular; AC, ancho de cabeza; FVA, fotóforo visceral anterior; FVP, fotóforo visceral posterior; AA, ancho de aleta; LA, longitud de aleta; LM, longitud de manto; ABC, ancho de la base de la cabeza; LC, longitud de cabeza y DO, diámetro del ojo (modificado de Wormuth *et al.*, 1992).

Análisis genético

Extracción de ADN

Se intentó extraer el ADN de todas las paralarvas Rhynchoteuthion colectadas (costa occidental de la península de Baja California, Bahía de Santa Rosalía y Hawaii) pero solamente se logró extraer ADN de las paralarvas preservadas en etanol al 99% de los

arrastres del Programa IMECOCAL 2005 y de los tejidos de *S. oualaniensis* adultos fijados en etanol al 70% proporcionados por el Dr. David Carlini de la Universidad Americana en Washington, DC. para realizar la comparación de secuencias y determinar los sitios informativos. Éstos últimos se usaron debido a que las paralarvas proporcionadas por el Dr. Young se encontraban originalmente en formol al 4% y esto impidió el análisis genético con dichas muestras.

El ADN genómico de las 197 *Rhynchoteuthion* disponibles del Programa IMECOCAL 2005 fue extraído siguiendo el método de sales-proteínasa K (Aljanabi y Martínez, 1997) con algunas modificaciones como se indica a continuación. Se colocó a la paralarva completa en un tubo estéril eppendorf de 1.5 mL y se le agregó 200 μ L de una solución amortiguadora de sales TEN (Tris-HCl 10 mM pH 8.0, NaCl 100 mM y EDTA 0.1 mM pH 8.0), 20 μ L de SDS 10% y 10 μ L de proteínasa K (20 mg/mL); el tejido se homogeneizó con ayuda de un pistilo plástico estéril y se digirió durante 10 horas a 55-65 °C. Posteriormente se agregaron 200 μ L de la solución amortiguadora de sales TEN y 300 μ L de NaCl 6M. Esta mezcla se agitó en el vórtex durante 30 segundos y se incubó por 5 minutos a temperatura ambiente.

Para eliminar las proteínas grandes y los residuos celulares se centrifugó a 10,000 x g por 30 minutos y se transfirieron entre 650 μ L y 700 μ L del sobrenadante (cuidando de no acarrear el debris formado) a un nuevo tubo eppendorf de 1.5 mL esterilizado, al cual se añadió un volumen de isopropanol al 99%, se agitó vigorosamente durante algunos segundos y se incubó a -70 °C por 10 minutos. Transcurrido este tiempo, se centrifugó a 12,000 x g por 15 minutos y se decantó el sobrenadante cuidando de no acarrear el ADN precipitado en el fondo del tubo. El precipitado se lavó agregando 500 μ L de etanol al 70% y se centrifugó

a 12,000 x g durante 5 minutos. De igual forma se decantó el sobrenadante y se colocó el tubo abierto e invertido sobre papel secante por aproximadamente 5 minutos, para posteriormente secar el precipitado en una centrífuga al vacío a 55-60 °C por 15 minutos. Finalmente se resuspendió el ADN en 10 µL de solución amortiguadora de almacenamiento TE (Tris-HCl 5.0 mM pH 7.9 y EDTA 0.1 mM pH 8.0) a 37°C por 12 horas y se almacenó a -20°C .

Evaluación de la cantidad y calidad del ADN

La cantidad y la calidad del ADN fue evaluada mediante electroforesis en geles de agarosa al 2% con 0.5 µg/µL de bromuro de etidio. El tamaño y la integridad del ADN contenido en 1µL de la extracción se estimaron comparando la intensidad y el peso molecular del ADN de cada muestra con respecto a un estándar con concentración conocida sobre una mesa de luz ultravioleta. La calidad del ADN se definió por la nitidez de la banda, es decir, una banda bien definida representa ADN de buena calidad, mientras que bandas barridas indican ADN degradado (Amos y Hoelzel, 1991). Con base en lo anterior se realizó la dilución en agua esterilizada del ADN obtenido con el fin de obtener una concentración de entre 15 ng/µL y 25 ng/µL para la posterior amplificación.

Amplificación

Se amplificó un fragmento de 557 pb del gen mitocondrial citocromo oxidasa I (CO I) por medio de una reacción en cadena con polimerasa (Polymerase Chain Reaction: PCR).

Las reacciones de PCR se realizaron en 50 μ L de una solución amortiguadora 22 mM Tris-HCl pH 8.4, 55 mM KCl, 220 μ M DNTP's, 3.0 mM MgCl₂, 2.2 U de *Taq* polymerasa recombinante (Invitrogen), 0.2 mM de cada primer, éstos son el primer universal SQ1 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3', también conocido como LCO1490) y SQ5 (5'-AGGATGGCAGTAATAAAGACA-3'; diseñado con ayuda del programa Primer Select del paquete Lasergene v7.2, DNASTAR, Madison, WI; <http://www.dnastar.com/products/primerselect.php>), 15 a 25 ng de ADN y H₂O (agua didestilada, desionizada y esterilizada) para ajustar el volumen final. La amplificación se efectuó con el siguiente perfil de PCR: 94 °C por 4 min, seguido de 35 ciclos de 94 °C por 30 s, 46 °C por 30 s, 72 °C por 60 s y una extensión final de 72 °C por 5 min.

Los productos de PCR fueron evaluados por electroforesis en geles de agarosa 2% y posteriormente se realizó la limpieza de los mismos.

Limpieza de los productos de PCR

Con el fin de preparar el fragmento amplificado para su posterior secuenciación, se limpió el producto de PCR de cada paralarva empleando columnas del PureLink del PCR Purification Kit de InvitrogenTM siguiendo las indicaciones del fabricante. Todas las muestras fueron eluidas con 30 μ L de TE para obtener una mayor concentración final de ADN. Posteriormente se realizó una última evaluación en geles de agarosa 2% para determinar la concentración final del producto de PCR recuperado de la limpieza.

Secuenciación

La mezcla para las reacciones de secuenciación cíclica se prepararon en un volumen final de 12 μ L que contenían 140 ng de ADN, 0.64 μ L del primer SQ5 ó SQ1 con una concentración 10 mM y H₂O para ajustar el volumen final. Estas reacciones se enviaron a SeqXcel Inc. (<http://www.seqxcel.com/>) en San Diego, California, EUA, en donde fueron amplificadas empleando nucleótidos terminadores de secuencia marcados con fluorocromos (BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit, Applied Biosystems) y posteriormente leídas en un secuenciador automático de tecnología capilar ABI Prism 3100 (Applied Biosystems).

Edición y comparación de secuencias

La revisión y edición de los cromatogramas de secuenciación se realizó con el software Chromas Pro 1.15 (Technelysium Pty Ltd), el cual permite comparar las secuencias complementarias correspondientes a cada muestra, determinar los sitios variables entre ellas y hacer una comparación con aquellas secuencias depositadas en la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica de Estados Unidos de América (NCBI por sus siglas en inglés) a través de la Herramienta de Búsqueda de Alineamientos Locales Básicos (BLAST por sus siglas en inglés, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Esta herramienta busca regiones comunes entre secuencias de nucleótidos en cuestión y las compara con las que contienen en sus bases de datos estableciendo porcentajes de similitud y permitiendo inferir a qué gen y especie corresponde la secuencia analizada.

Detección de sitios informativos

Las secuencias fueron alineadas y analizadas con el software Mega v3.1 (Kumar *et al.*, 2004) (<http://www.megasoftware.net/>), en el cual se formaron grupos por especie y se identificaron los haplotipos. Un haplotipo refiere a la condición que caracteriza al individuo que porta un alelo o variante de una región específica del ADN y que generalmente se hereda como una unidad (Klug y Cummings, 1996; Lewin, 2004). Con el mismo software se calcularon las distancias intra e interespecíficas. Se utilizaron secuencias disponibles en el GenBank (*T. pacificus*, *H. pelagica*, *O. bartramii*, y *S. oualaniensis*, de ésta última especie se usaron también secuencias obtenidas a partir del tejido proporcionado por el Dr. David Carlini; ver Anexo II), así como las secuencias obtenidas a partir de las paralarvas *Rhynchoteuthion* provenientes del crucero IMECOCAL 2005 (Tabla XIII y XIV). La estimación de la diversidad en las secuencias se realizó con base en el número de diferencias pareadas a partir de la siguiente ecuación:

$$\hat{\pi} = \frac{n}{n-1} \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k p_i p_j \hat{d}_{ij}$$

donde \hat{d}_{ij} es un estimado del número de mutaciones que han ocurrido desde la divergencia de los haplotipos i y j , k es el número de haplotipos, p_i es la frecuencia del haplotipo i , y n es el tamaño de la muestra (Tajima, 1993).

Posteriormente, se realizó la búsqueda de los sitios informativos con el fin de determinar si alguno de ellos permitiría la diferenciación de las especies en cuestión a través del uso de enzimas de restricción.

Análisis teórico de restricción

Con base en las secuencias obtenidas, se realizó un análisis teórico de restricción implementado en el programa NEBcutter v2.0 (<http://tools.neb.com/NEBcutter2/index.php>). En este análisis se incluyeron las secuencias de los haplotipos encontrados en los cuatro cruceros IMECOCAL 2005 y el tejido de adultos de *S. oualaniensis*. El software NEBcutter v2.0 simula la acción de distintas enzimas de restricción o endonucleasas, las cuales son nucleasas que reconocen secuencias nucleotídicas específicas en una molécula de ADN y que corta el ADN en este sitio al hidrolizar los enlaces fosfodiéster internos de la cadena polinucleotídica (Klug y Cummings, 1999), de tal manera que es posible determinar cuál endonucleasa crea perfiles de restricción únicos para cada especie.

Resultados

Descripción morfológica y morfométrica

Para el análisis morfológico se analizaron 133 paralarvas de *D. gigas* que midieron desde 0.55 hasta 6.0 mm de LM, de éstas el 55% de los especímenes midió 0.6 - 1.5 mm de LM. También se analizaron 22 paralarvas de *S. oualaniensis* que midieron entre 1.4 y 6.3 mm de LM, de los cuales el 36% midió 3.1-3.5 mm de LM (Figura 10).

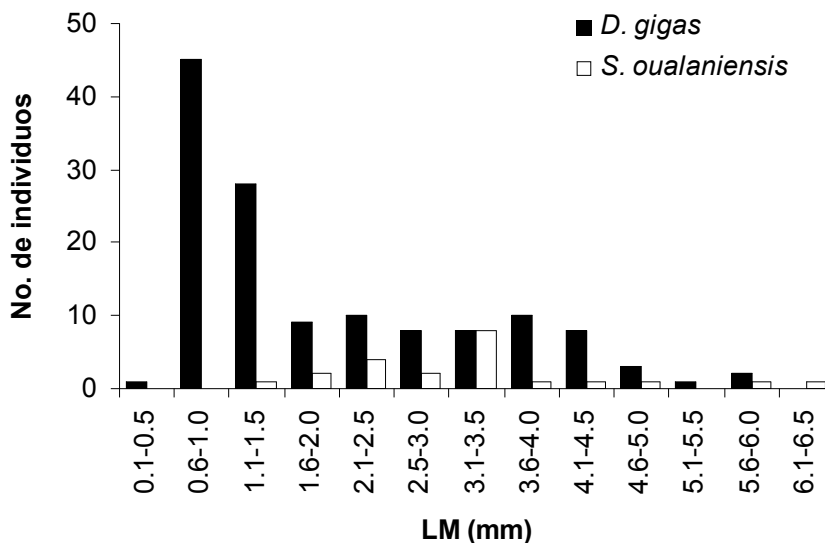


Figura 10. Frecuencia de tallas por LM (mm) de paralarvas Rhynchoteuthion de *D. gigas* y *S. oualaniensis*.

Manto

En los especímenes obtenidos de los arrastres de zooplancton (n=133) fijados en etanol al 99% o en formol al 4%, a 1.0 mm de LM o superior el manto es cilíndrico, sin ensanchamiento en la zona anterior dorsal a la altura del saco de tinta, posiblemente por la contracción muscular a causa de la preservación. Los bordes anteriores dorsal y ventral, así como el extremo posterior son iguales al de los organismos vivos (Figura 11).

En *S. oualaniensis* preservados en etanol al 70% (n=22), el extremo anterior dorsal es triangular convexo con una prolongación media, el extremo anterior ventral es ligeramente cóncavo y el extremo posterior es redondeado. A 1.4 mm de LM el manto no es cilíndrico, la región media anterior dorsal no es más ancha que el borde anterior como en *D. gigas*; sin embargo, la región media posterior dorsal se observa casi al nivel del ancho del borde anterior del manto. A los 2.3 mm de LM el manto comienza a tomar forma cilíndrica.

A partir de los 3.2 mm de LM el extremo anterior ventral es acentuadamente cóncavo. A los 3.5 mm de LM, el extremo posterior se observa más cónico, llegando a ser totalmente cónico a los 6.3 mm de LM. En todos los especímenes de *S. oualaniensis*, el borde anterior se orienta hacia afuera, siendo la porción más ancha del manto (Figura 11).

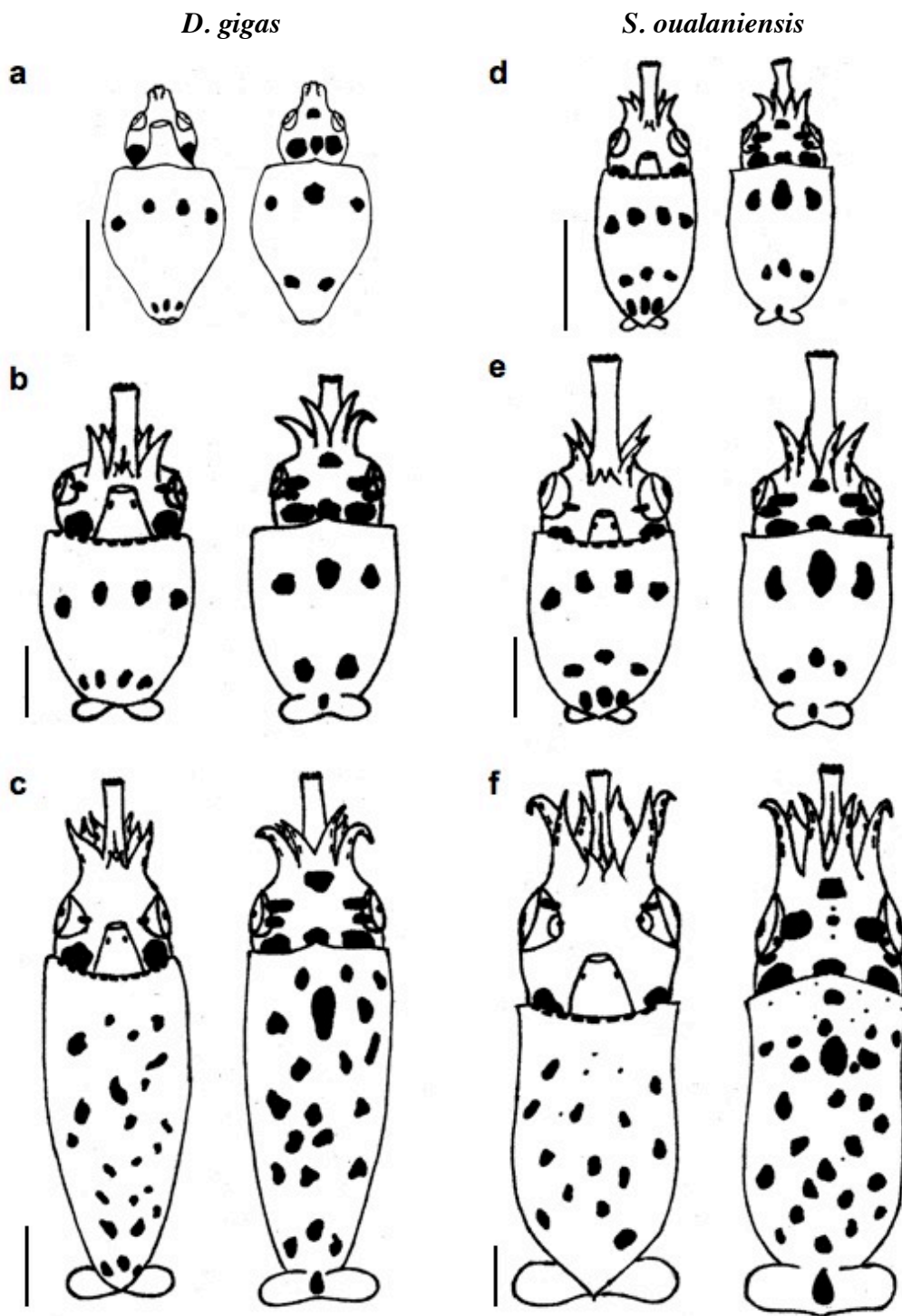


Figura 11. Forma del manto y arreglo de cromatóforos en *D. gigas* (n=133) y *S. oualaniensis* (n=22). Vista ventral y dorsal. a) 1.5 mm de LM, de un espécimen vivo; b) 3.2 mm de LM; c) 5.6 mm de LM, preservados en etanol al 99%, provienen de la COPBC; d) 1.5 mm de LM; e) 2.5 mm de LM; f) 5.6 mm de LM, fijadas en formol al 4% y preservadas en etanol al 75%, provienen de Hawaii.

Aletas

Se observó la presencia de diminutas aletas en 60 paralarvas de *D. gigas*. En especímenes de 0.9 mm de LM, éstas se originan a partir del extremo posterior del manto, son redondeadas y parten del centro del manto hacia los costados. Se orientan perpendiculares respecto al eje longitudinal del manto. A los 3.8 mm de LM se observan más anchas que largas y su borde externo alcanza o sobrepasa el extremo lateral del manto. El 92% de los individuos con aletas medibles presentaron un valor mayor en el ancho de la aleta que en la longitud de ésta (intervalo de 0.9-6.0 mm de LM; figura 12). La razón AA_i/LA_i es igual a 1.64 ± 0.93 .

En paralarvas de *S. oualaniensis* (n=19), a los 1.8 mm de LM las aletas se observan delgadas y con bordes redondeados, del mismo ancho tanto en el extremo proximal como distal, su origen es a partir del extremo posterior del manto; en paralarvas de 2.3 mm de LM ya se comienzan a observar más anchas que largas y se orientan perpendiculares al eje longitudinal del manto. A los 4.2 mm de LM comienza una reorientación hacia la superficie dorsal posterior del manto, el extremo distal de las aletas deja de ser redondeado y se vuelve cónico, el ancho de la aleta alcanza el extremo lateral del manto. A los 6.3 mm de LM el margen anterior de las aletas se observa ligeramente cóncavo y el margen posterior es convexo. La razón AA_i/LA_i es igual a 1.61 ± 0.58 (Figura 12).

El análisis de variancia indica que el coeficiente AA_i/LA_i no presenta diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) interespecífica.

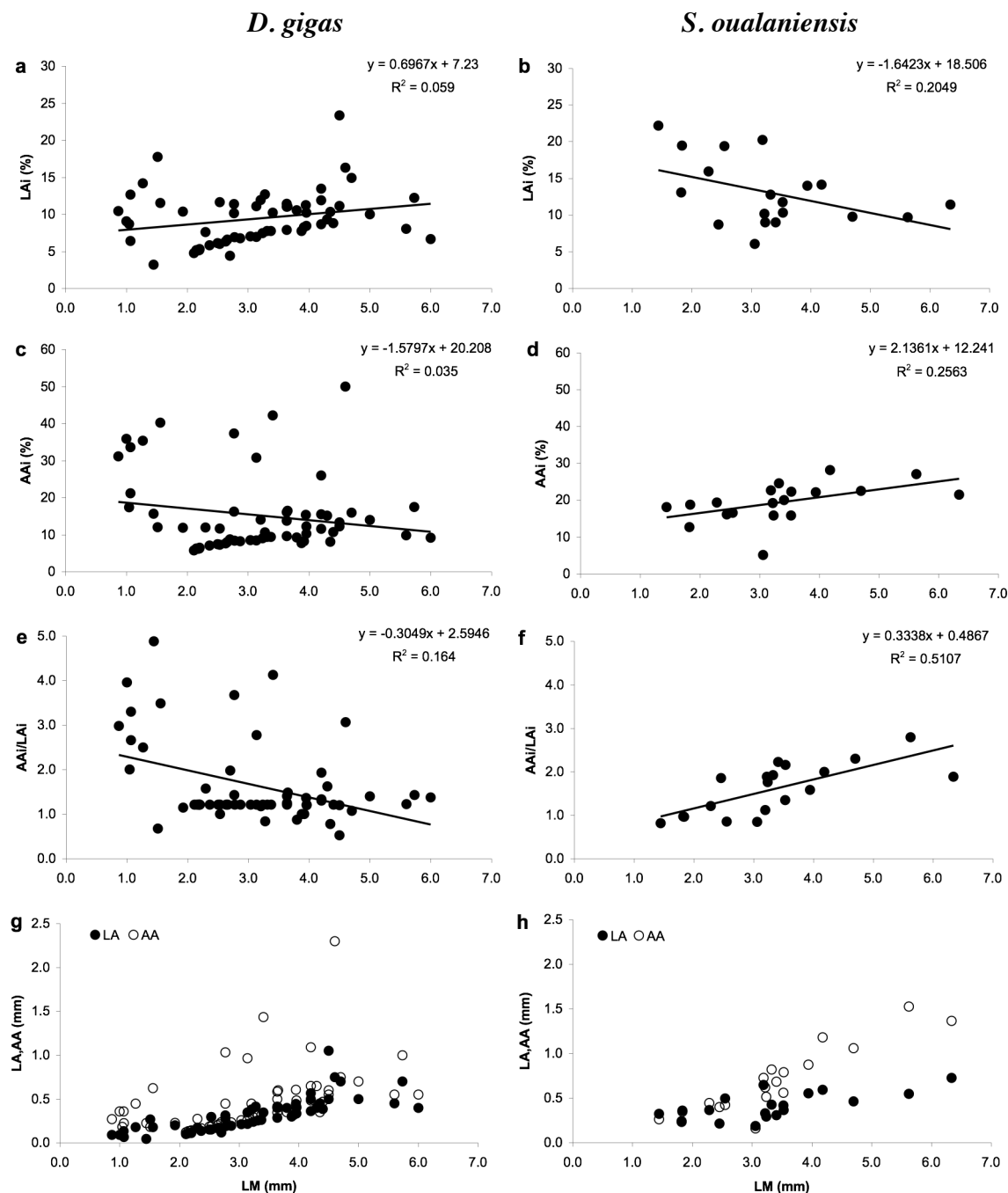


Figura 12. Relación aleta-manto. a-b) Relación entre el índice de longitud de aleta (LAI) y la longitud de manto (LM). c-d) Relación entre el índice de ancho de aleta (AAI) y la longitud de manto (LM). e-f) Razón AA/LA a distintas LM. g-h) Incremento de LA y AA y su relación con la LM. *D. gigas* (n=60), *S. oualaniensis* (n=19). $p < 0.05$

Cabeza

En las paralarvas de *D. gigas* (n=133) la cabeza es semi cúbica, más ancha que larga. La razón $LCi/ABCi = 0.71 \pm 0.17$ y la razón $LCi/ACi = 0.73 \pm 0.13$. Lateralmente, la cabeza es más ancha en la porción posterior que en la anterior. En *S. oualaniensis* (n=22) la cabeza es cúbica. La razón $LCi/ABCi = 1.03 \pm 0.11$ y la razón $LCi/ACi = 0.91 \pm 0.11$. Lateralmente, la cabeza es más ancha en la porción posterior que en la anterior (Figura 13). Ambos coeficientes ($LCi/ABCi$ y LCi/ACi) presentan diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) interespecíficas.

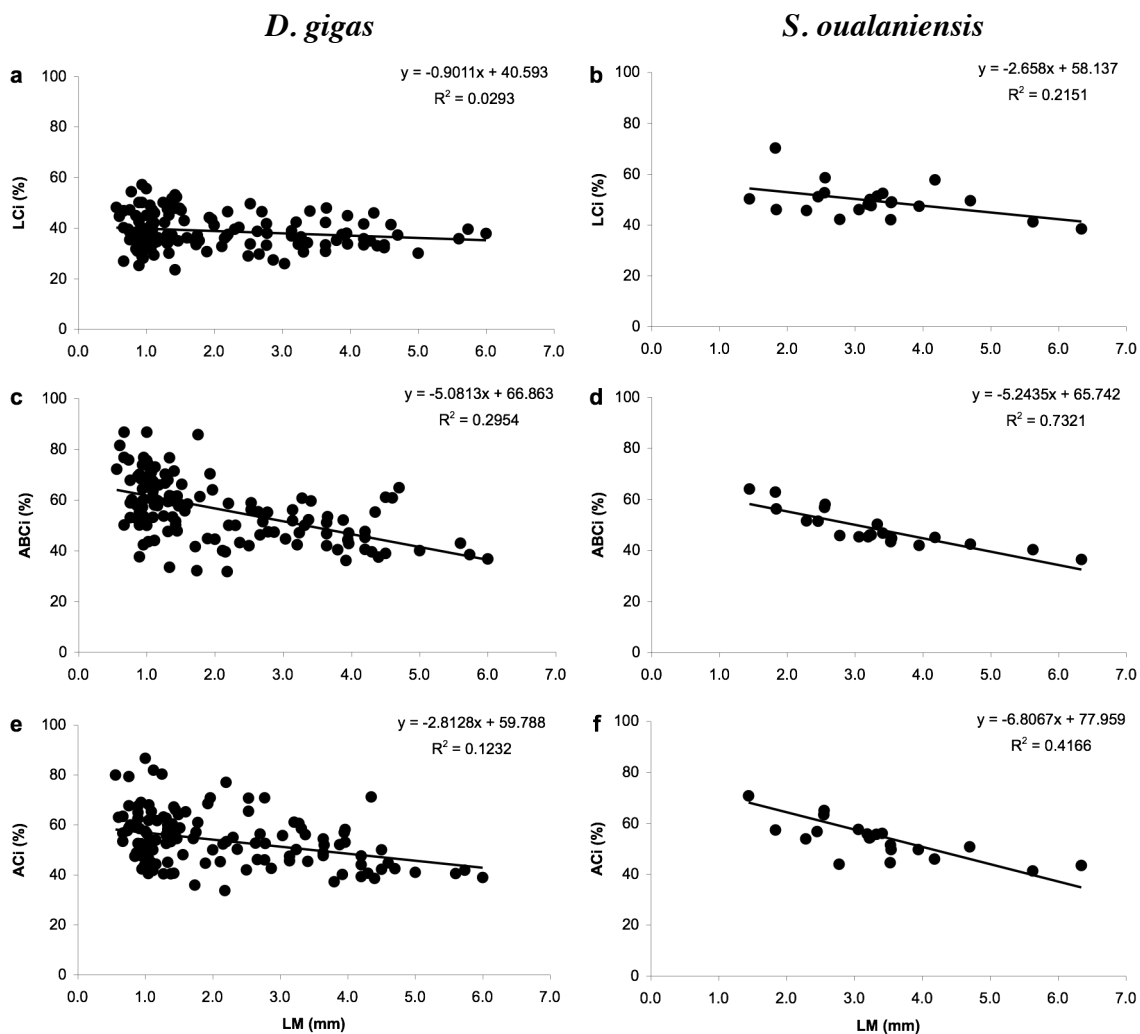


Figura 13. Relación cabeza-manto. a-b) Relación entre el índice de longitud de cabeza (LCi) y la longitud de manto (LM). c-d) Relación entre el índice de ancho de la base de la cabeza (ABCi) y la longitud de manto (LM). e-f) Relación entre el índice de ancho de la cabeza (ACi) y la longitud de manto (LM). *D. gigas* (n=133), *S. oualaniensis* (n=22). $p < 0.05$

Ojos

A simple vista, en *D. gigas* (n=133) los ojos son grandes y su superficie es de color negro, el tejido no refleja la luz. Cada uno se encuentra en el costado anterior, su diámetro (DO) es el $47\% \pm 0.08\%$ de la longitud de la cabeza y es menor que el grosor de la misma (Figura 14). *S. oualaniensis* (n=22) también presenta ojos grandes pero su superficie es de

color plateado brillante, se ubican en la misma posición que en *D. gigas* y ocupan cerca del $42\% \pm 0.05\%$ de la longitud de la cabeza, su diámetro es menor que el grosor de la cabeza (Figura 14).

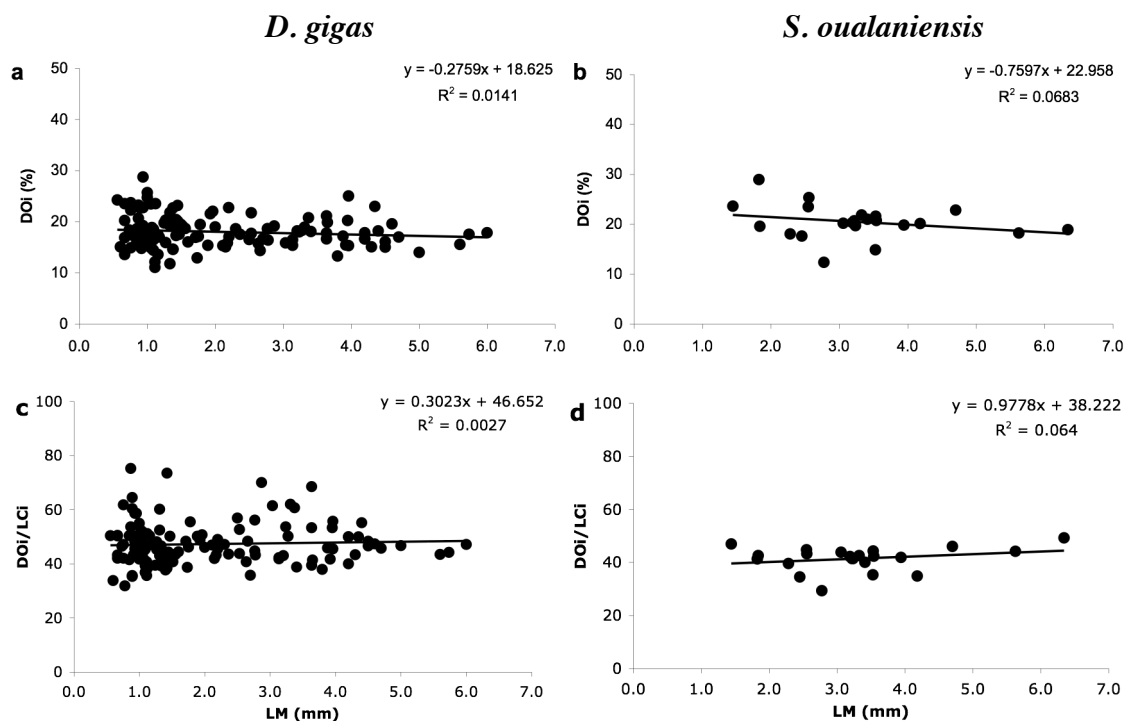


Figura 14. Relación ojo-manto. a-b) Relación entre el índice de diámetro del ojo (DOI) y la longitud de manto (LM). c-d) Coeficiente de DOI respecto al índice de longitud de cabeza (LCI) a distintas LM. *D. gigas* (n=133), *S. oualaniensis* (n=22). $p < 0.05$

Pico

En ambas especies, la mandíbula superior es más pequeña e interna respecto a la mandíbula inferior. De los 11 especímenes *D. gigas* revisados (0.8-5.0 mm de LM), 3 presentaron un rostro frontal con 3 proyecciones en la mandíbula superior. En un individuo de 2.5 mm de LM (Figura 15c) se observó que la proyección media es prominente y se orienta hacia el exterior, las proyecciones laterales son menos pronunciadas y se disponen

hacia arriba. El extremo inferior de la mandíbula superior es cóncavo y en algunos casos parece tener aserraciones, aunque posiblemente se trate de un daño físico.

La mandíbula inferior es amplia, su borde superior forma una U más ancha en el extremo distal que en el proximal, cuyas terminaciones son rectas y presenta una muesca en el medio del pico con dos proyecciones laterales orientadas hacia abajo y hacia fuera. En el área media de la superficie inferior se observa una protuberancia. A los 4.0 mm de LM, el extremo medio de la mandíbula inferior se aprecia puntiagudo y prolongado, y las proyecciones laterales ya no son tan evidentes (Figura 15g).

En *S. oualaniensis* (n=5), a los 1.4 mm de LM no se observan las 3 proyecciones en el rostro de la mandíbula superior, tampoco el rostro es tan marcado. El borde inferior de la mandíbula superior se observa recto y presenta muescas probablemente a causa de daños físicos; a los 4.7 mm de LM se observa convexo con terminación puntiaguda en medio. A los 1.4 mm de LM, la mandíbula inferior muestra una muesca en el medio y dos proyecciones laterales orientadas hacia abajo y al exterior, el borde tiene forma de U. A partir de los 2.6 mm de LM, el borde superior de la mandíbula inferior se observa puntiagudo y prolongado. No se observa protuberancia en el rostro de dicha mandíbula como en *D. gigas* y el ángulo del borde se aprecia recto (Figuras 15d, 15h y 15j).

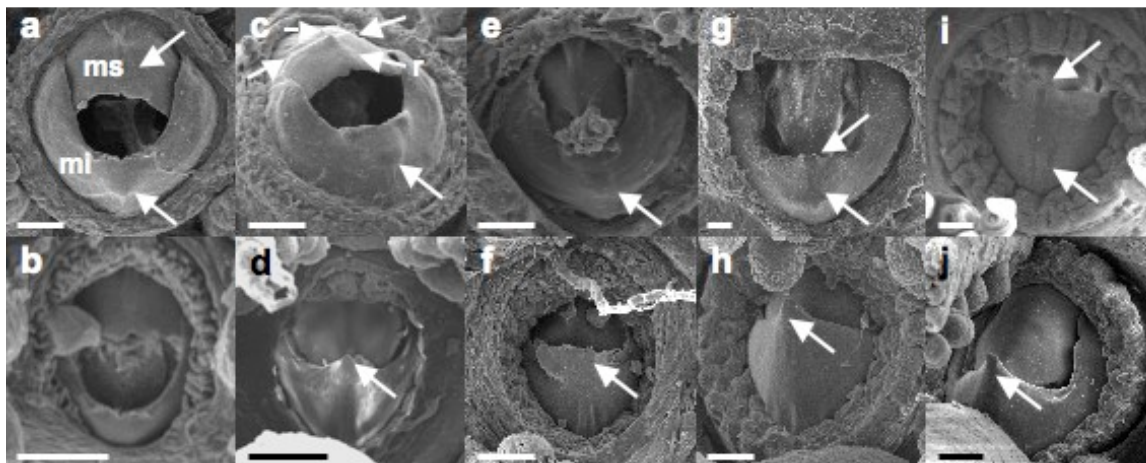


Figura 15. Comparación de picos. *D. gigas* (fila superior; n=11), *S. oualaniensis* (fila inferior; n=5). a) 2.1 mm de LM. b) 1.4 mm de LM. c) 2.5 mm de LM. d) 2.6 mm de LM. e) 3.0 mm de LM. f) 3.0 mm de LM. g) 4.0 mm de LM. h) 4.0 mm de LM. i) 4.6 mm de LM. j) 4.7 mm de LM. Las flechas indican el rostro de la mandíbula superior y la protuberancia de la mandíbula inferior (a,c) en *D. gigas*, así como la proyección excesiva en la mandíbula inferior en *D. gigas* (g,i) y en *S. oualaniensis* (h,j). ms. Mandíbula superior; mi. Mandíbula inferior; r. Rostro. Barra de escala = 50 μ m.

Brazos

Denticiones en los brazos

Tanto en *D. gigas* (n=27) como en *S. oualaniensis* (n=6) las ventosas de los brazos son similares, no se aprecian diferencias en sus ornamentaciones. Se observó una tendencia a la presencia de mayor cantidad de denticiones en las ventosas de la base de los brazos y en especímenes de mayor longitud de manto (Figura 16, Tabla II y III).

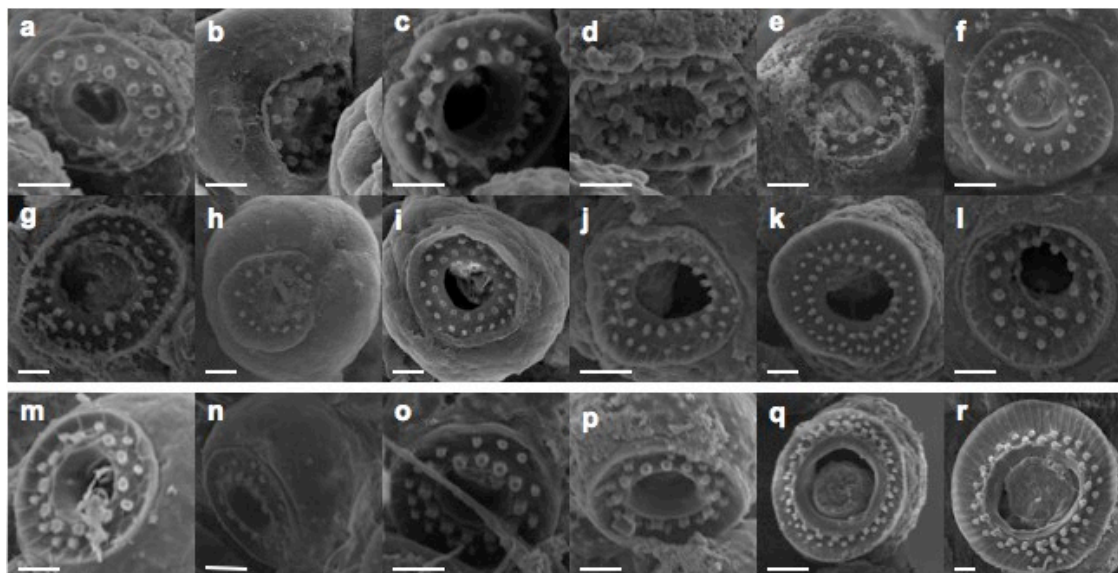


Figura 16. Comparación de las ventosas de los brazos. *D. gigas*, a) 0.9 mm de LM, brazo 1 ventosa 1. b) 1.7 mm de LM, brazo 1 ventosa 1. c) 2.1 mm de LM, brazo 1 ventosa 1. d) 2.3 mm de LM, brazo 1 ventosa 1. e) 2.8 mm de LM, brazo 1 ventosa 1. f) 3.4 mm de LM, brazo 2 ventosa 6. g) 4.0 mm de LM, brazo 3 ventosa 4. h) 4.3 mm de LM, brazo 1 ventosa 2. i) 4.5 mm de LM, brazo 3 ventosa 5. j) 5.0 mm de LM, brazo 1 ventosa 1. k) 5.6 mm de LM, brazo 2 ventosa 5. l) 6.0 mm de LM, brazo 2 ventosa 3. *S. oualaniensis*, m) 1.4 mm de LM, brazo 1 ventosa 1. n) 2.6 mm de LM, brazo 1 ventosa 1. o) 3.0 mm de LM, brazo 1 ventosa 1. p) 3.5 mm de LM, brazo 1 ventosa 2. q) 4.2 mm de LM, brazo 2 ventosa 14. r) 4.7 mm de LM, brazo 2 ventosa 4. *D. gigas* (n=27), *S. oualaniensis* (n=6). Barra de escala = 10 μ m.

Tabla II. Conteo de denticiones internas y externas por ventosa en los brazos de *D. gigas* (n=27).

LM (mm)	Brazo	Ventosa	Denticiones internas	Denticiones externas
0.9	1	1	12	14
1.7	1	1	11	11
2.3	1	1	14	15
2.8	1	-	12	13
2.8	3	-	13	14
3.4	2	6	17	10
4.0	3	4	18	22
4.0	3	5	19	22
4.3	1	1	10	11
4.3	1	2	10	14
4.3	1	3	11	16
4.5	3	5	14	16

5.0	1	1	18	19
5.6	2	3	16	18
5.6	2	5	22	36
5.6	2	7	21	34
6.0	2	3	11	13

Tabla III. Conteo de denticiones internas y externas por ventosa en los brazos de *S. oualaniensis* (n=6). Los tres primeros conteos pertenecen al mismo individuo (1.4 mm LM).

LM (mm)	Brazo	Ventosa	Denticiones internas	Denticiones externas
1.4	1	1	10	11
1.4	2	1	11	12
1.4	3	1	15	20
2.6	1	1	13	14
3.1	1	1	12	15
3.5	1	2	11	13
4.2	2	14	22	31
4.7	2	4	19	29

Proboscis

El índice de longitud de proboscis (LPi) en *D. gigas* (n=133) puede ser del 20 al 100% en especímenes de entre 0.6 y 6.0 mm de LM. En *S. oualaniensis* (n=22) se registró el mayor LPi (90% de LM) a los 2.5 mm de LM y la menor LPi a los 3.2 mm de LM con el 22% de la LM. A partir de 1.3 mm de LM se observa una mayor variación en la LPi (Figura 17a y 17b).

El índice del ancho de proboscis (APi) es una medición que muestra un incremento constante conforme aumenta la LM, en *D. gigas* es de $14.3\% \pm 4.8\%$ en especímenes de 0.6

a 6.0 mm de LM, mientras que en *S. oualaniensis* es de $11.8\% \pm 3.2\%$ en especímenes de 1.4 a 6.3 mm de LM (Figura 17).

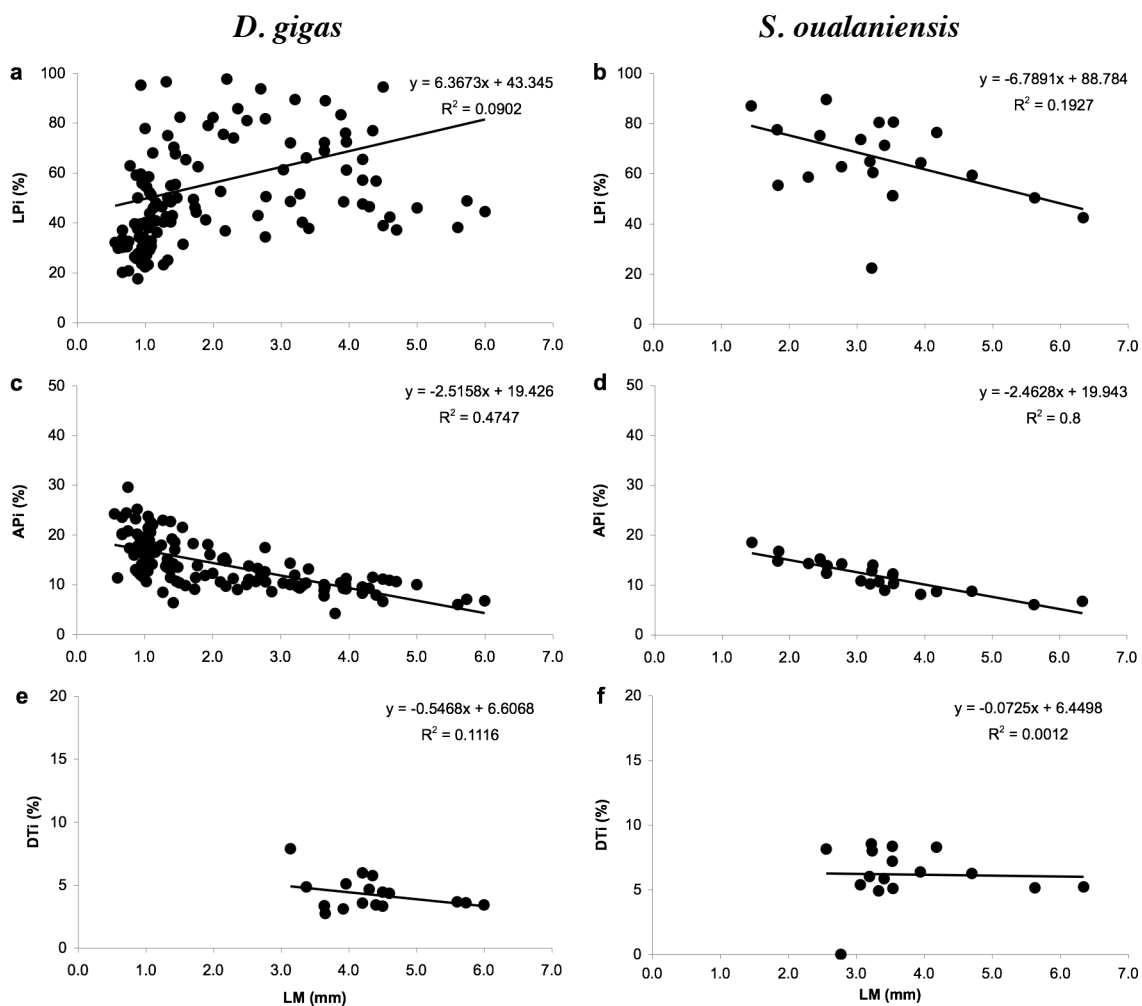


Figura 17. Relación proboscis-manto y tentáculo-manto. a-b) Relación entre el índice de longitud de proboscis (LPI) y la longitud de manto (LM). c-d) Relación entre el índice de ancho de proboscis (API) y la longitud de manto (LM). e-f) Relación entre el índice de diámetro de tentáculo (DTi) y la longitud de manto (LM). *D. gigas* (n=133), *S. oualaniensis* (n=22). $p < 0.05$

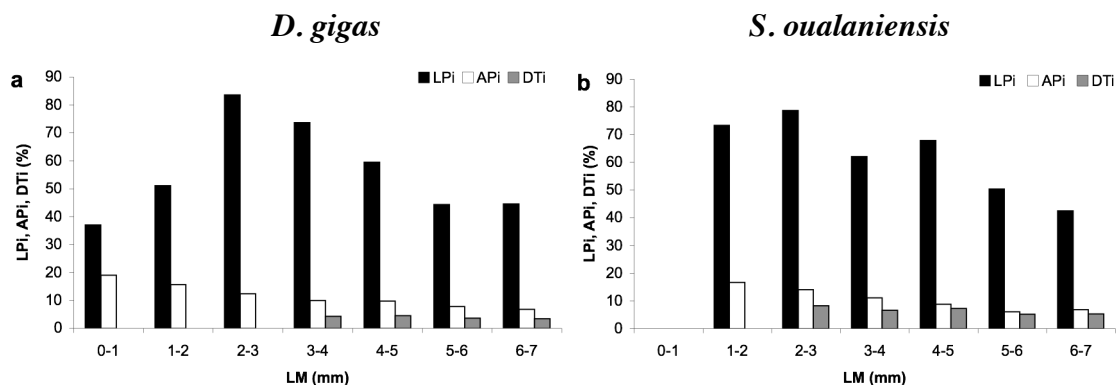


Figura 18. Índice de longitud de la proboscis (LPI), índice del ancho de la proboscis (API) e índice del diámetro de tentáculos (DTi) a distintos intervalos de talla en a) *D. gigas* (n=133) y b) *S. oualaniensis* (n=22). $p < 0.05$

División de la proboscis

Del total de las paralarvas de *D. gigas* analizadas, 18 presentaron división de la proboscis a tallas de entre 3.1 y 6.0 mm de LM. El menor índice de división de la proboscis (DPi) se registró a los 3.4 mm de LM con un valor de 2.4% y el mayor DPi se observó en una paralarva de 3.6 mm de LM con un valor de 11.1%. No se observó que a mayor LM incrementara el DPi, ya que este índice fue variable a distintas LM. En promedio, el índice de la proporción de división de la proboscis respecto a la longitud de la proboscis (PDPi) de las Rhynchoteuthion de *D. gigas* fue de $10.5\% \pm 4.1\%$. El índice de amplitud de la división de la proboscis (ADPi) fue en promedio de $3.6\% \pm 1.9\%$ en especímenes de entre 3.1 y 6.0 mm LM pero no se observó una tendencia al incremento en especímenes de mayor talla (Figuras 19 y 20).

Con respecto a las paralarvas de *S. oualaniensis*, 15 presentaron división de la proboscis en tallas de 2.6 (DPi = 12.3%) a 6.3 mm de LM (DPi = 8.7%). El menor DPi=8.1% se registró a los 3.1 mm de LM y el mayor DPi=35.5% a los 3.3 mm de LM. Al

igual que en *D. gigas*, no se observó que a mayor LM también incrementara el DPi. El PDPi fue de $3.8\% \pm 3.9\%$. El índice de la amplitud de la división de la proboscis (ADPi) fue de $3.9\% \pm 2.0\%$ (Figuras 19 y 20).

Al comparar los DPi y los PDPi de ambas especies, se observa que el índice de división de la proboscis (DPi) es mayor en *S. oualaniensis*, esto indica que la división de la proboscis respecto a la longitud del manto es mayor en *S. oualaniensis*. Sin embargo, *D. gigas* presenta mayor índice de la proporción de división de la proboscis respecto a la longitud de la proboscis (PDPi) que *S. oualaniensis* en grupos de talla de 3 a 7 mm de LM, es decir que el porcentaje de división de la proboscis respecto a la longitud de la proboscis es mayor en *D. gigas* (Figura 21).

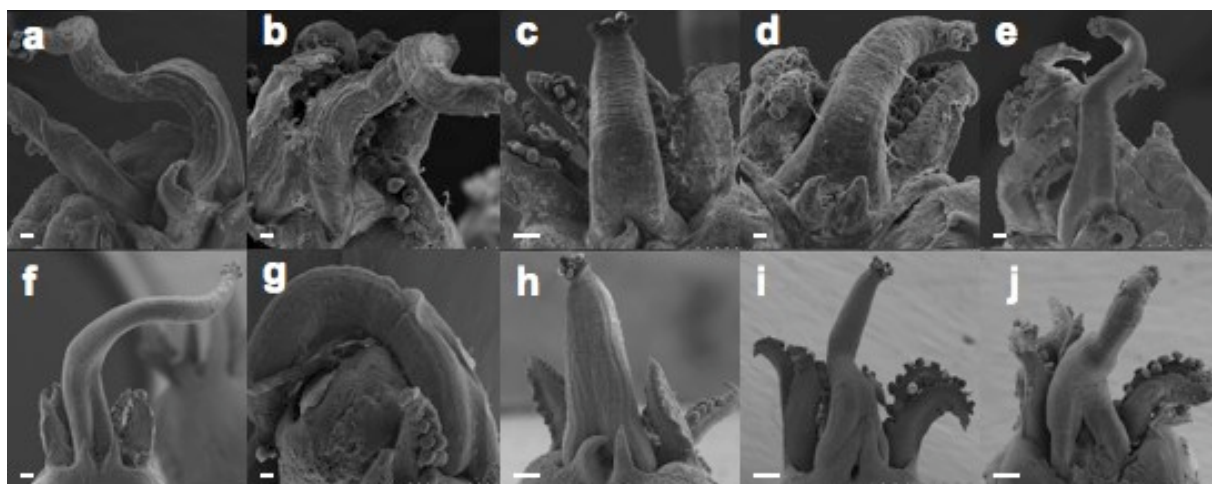


Figura 19. División de la proboscis en *D. gigas* (Fila superior; n=18): a) 4.0 mm de LM, b) 4.4 mm de LM, c) 4.6 mm de LM, d) 4.7 mm de LM, e) 5.7 mm de LM y *S. oualaniensis* (Fila inferior; n=15): f) 2.6 mm de LM, g) 3.05 mm de LM, h) 3.5 mm de LM, i) 4.2 mm de LM, j) 4.7 mm de LM. Barra de escala = 100 μm .

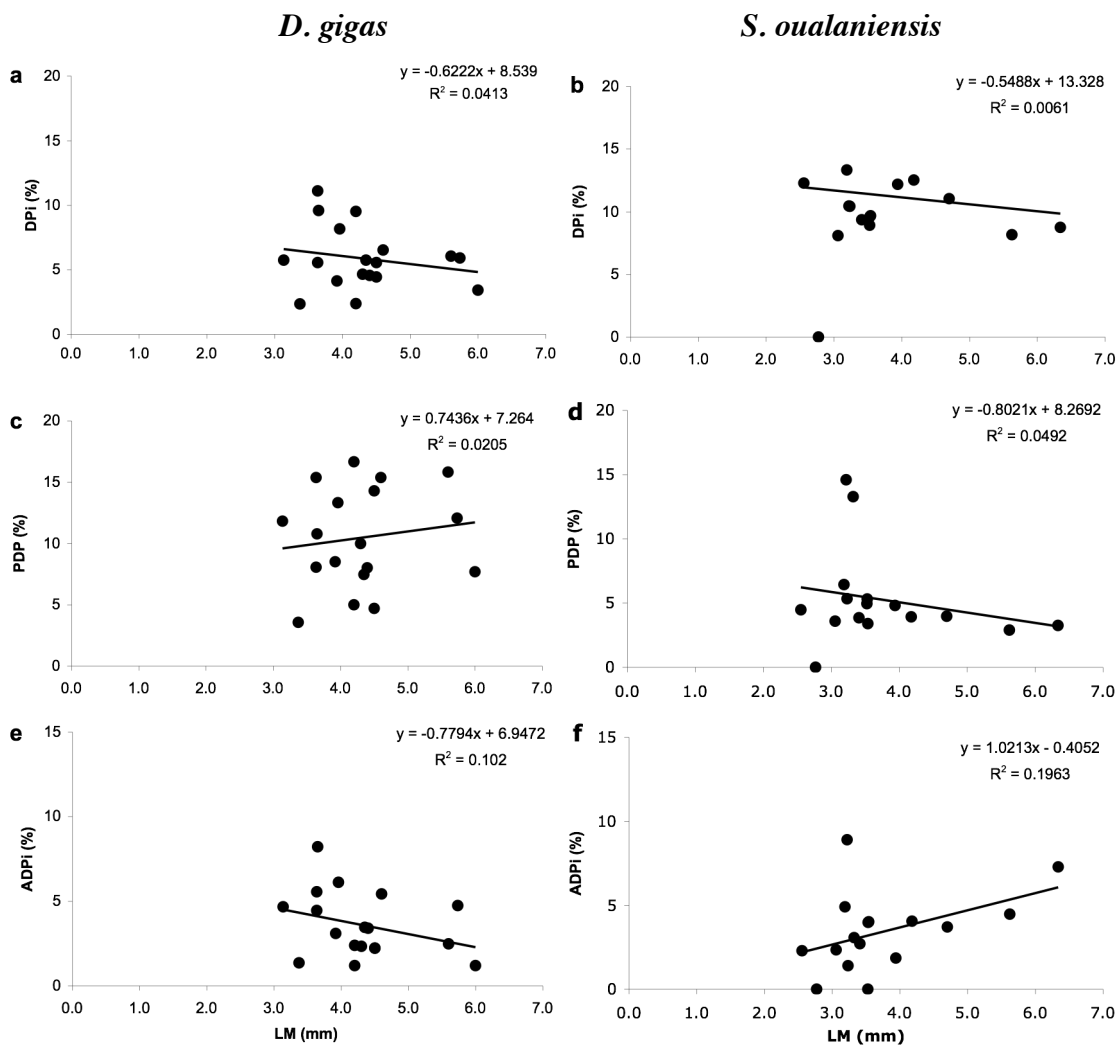


Figura 20. a-b) Relación entre el índice de división de la proboscis (DPi) y la longitud de manto (LM). c-d) Relación entre el porcentaje de separación de la proboscis respecto a la longitud de la proboscis (PDP) y la longitud de manto (LM). e-f) Relación entre el índice de amplitud de la división de la proboscis (ADPi) y la longitud de manto (LM). *D. gigas* (n=18), *S. oualaniensis* (n=15). $p < 0.05$

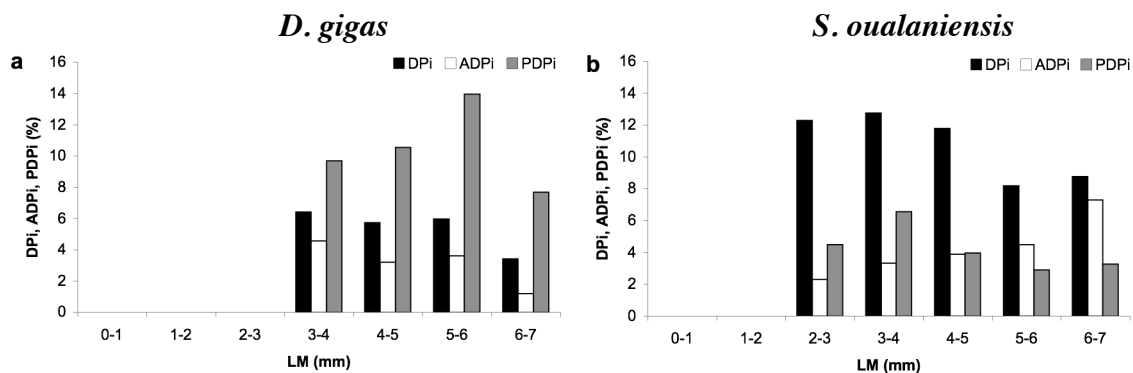


Figura 21. Índice de división de la proboscis (DPI), índice de amplitud de la división de la proboscis (ADPi) e índice de la proporción de división de la proboscis respecto a la longitud de la proboscis (PDPi) a distintos intervalos de talla en a) *D. gigas* (n=18) y b) *S. oualaniensis* (n=15). $p < 0.05$

Denticiones de las ventosas de la proboscis

Ambas especies presentan 8 ventosas de igual tamaño en el extremo distal de la proboscis (Figura 22). En Rhynchoteuthion de *D. gigas* (n=14), se observó que el número de denticiones internas y externas de las ventosas de la proboscis varía en especímenes de distinta longitud de manto. Las 8 ventosas tienen en promedio de 9 a 12 denticiones internas y de 11 a 15 denticiones externas en paralarvas que midieron de 1.4 a 4.6 mm de LM. Se presentó una sola excepción en una paralarva de 3.1 mm de LM en la cual las denticiones internas fueron más que las externas (10 y 9 respectivamente). En general, se registró una diferencia de -1 a 5 ventosas entre la línea externa e interna (Figura 23, Tabla IV).

En *S. oualaniensis* (n=6) también se observó que el número de denticiones internas y externas de las ventosas de la proboscis varía en especímenes de distinta longitud de manto. A tallas de entre 1.4 y 4.7 mm de LM se contaron en promedio de 9.5 a 13.3 denticiones internas y de 10.5 a 14 denticiones externas en distintas ventosas por grupo de talla. En general, la cantidad de denticiones externas es mayor que las denticiones internas, sin

embargo en una paralarva de 4.2 mm de LM se registraron 8 denticiones externas y 10 denticiones internas en las ventosas 6 y 8 (Figura 23, tabla V).

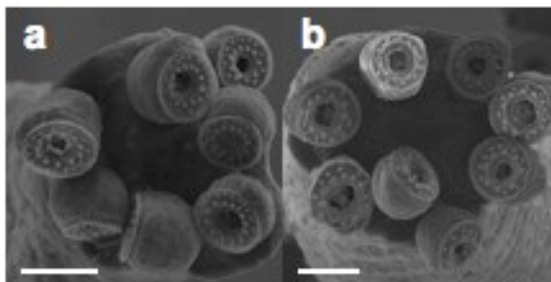


Figura 22. Ventosas de la proboscis de a) *D. gigas* (n=133) y b) *S. oualaniensis* (n=22). Barra de escala = 50 μ m

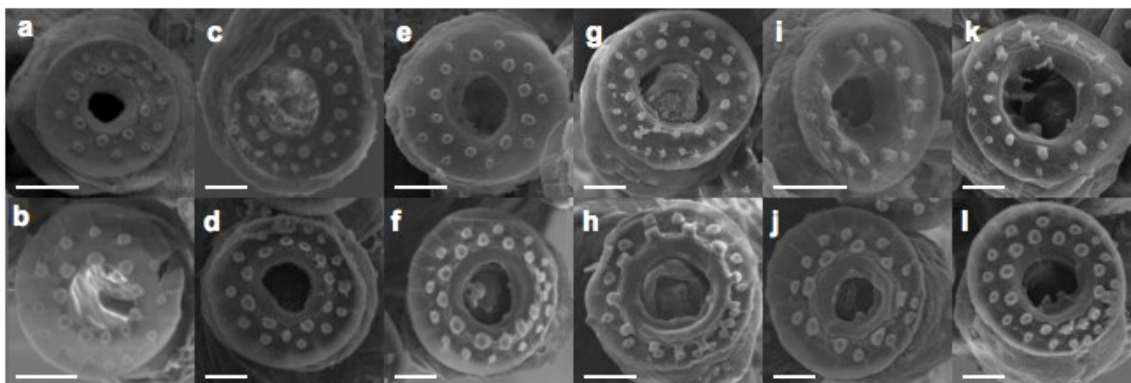


Figura 23. Comparación de las ventosas de la proboscis. *D. gigas* (fila superior; n=14), *S. oualaniensis* (fila inferior; n=6). a) 1.4 mm de LM, ventosa 3. b) 1.4 mm de LM, ventosa 3. c) 2.8 mm de LM, ventosa 4. d) 2.6 mm de LM, ventosa 3. e) 3.0 mm de LM, ventosa 8. f) 3.0 mm de LM, ventosa 6. g) 3.4 mm de LM, ventosa 6. h) 3.5 mm de LM, ventosa 2. i) 4.2 mm de LM, ventosa 1. j) 4.2 mm de LM, ventosa 2. k) 4.7 mm de LM, ventosa 8. l) 4.7 mm de LM, ventosa 7. Barra de escala = 10 μ m.

Tabla IV. Conteo de denticiones internas y externas por ventosa de la proboscis en *D. gigas* (n=14).

i. interna; e. externa.

LM (mm)	Ventosa								X	sd
	1	2	3	4	5	6	7	8		
	i e	i e	i e	i e	i e	i e	i e	i e		
	14	12	9	11	13	12	9	-	11.4	1.9
1.4	14	13	11	-	15	16	11	-	13.3	2.1
	-	-	-	12	-	-	11	9	10.7	1.5
2.8	-	-	-	16	-	-	12	12	13.3	2.3
	11	-	-	12	10	-	10	-	10.8	1.0
3.1	13	-	-	14	-	-	9	-	12.0	2.6
	-	10	11	10	9	13	-	-	10.6	1.5
3.4	-	15	15	-	12	18	-	-	15.0	2.4
	10	-	-	-	-	-	-	-	10.0	0.0
4.2	10	-	-	-	-	-	-	-	10.0	0.0
	12	11	10	-	-	10	12	-	11.0	1.0
4.6	13	-	10	-	-	10	13	-	11.5	1.7
	11.8	11.0	10.0	11.3	10.7	11.7	10.5	9.0	10.7	0.9
X	12.5	14.0	12.0	15.0	13.5	14.7	11.3	12.0	11.9	1.4
	1.7	1.0	1.0	1.0	2.1	1.5	1.3	0.0	1.2	0.6
sd	1.7	1.4	2.6	1.4	2.1	4.2	1.7	0.0	1.7	1.2

Tabla V. Conteo de denticiones internas y externas por ventosa de la proboscis en *S. oualaniensis* (n=6). i. interna; e. externa.

LM (mm)	Ventosa								X	sd
	1	2	3	4	5	6	7	8		
	i e	i e	i e	i e	i e	i e	i e	i e		
	-	-	10	-	-	11	-	9	10.0	1.0
1.4	-	-	13	-	-	12	-	10	11.7	1.5
	12	10	11	9	13	10	12	7	10.5	1.9
2.6	14	13	13	9	13	12	-	11	12.1	1.7
	13	9	10	-	11	13	10	10	10.9	1.6
3.0	15	-	10	-	13	14	11	-	12.6	2.1
	-	12	9	10	-	11	9	10	10.2	1.2
3.5	-	15	12	11	-	12	10	10	11.7	1.9
	10	8	8	9	11	10	10	10	9.5	1.1
4.2	11	11	10	12	12	8	12	8	10.5	1.7
	11	13	16	13	-	13	13	14	13.3	1.5
4.7	13	16	-	15	-	12	16	15	14.0	1.5
	11.5	10.4	10.7	10.3	11.7	11.3	10.8	10.0	10.8	0.6
X	13.3	13.0	11.6	11.8	12.7	11.7	12.3	10.8	12.1	0.8
	1.3	2.1	2.8	1.9	1.2	1.4	1.6	2.3	1.8	0.6
sd	1.7	1.6	1.5	2.5	0.6	2.0	2.6	2.6	1.9	0.7

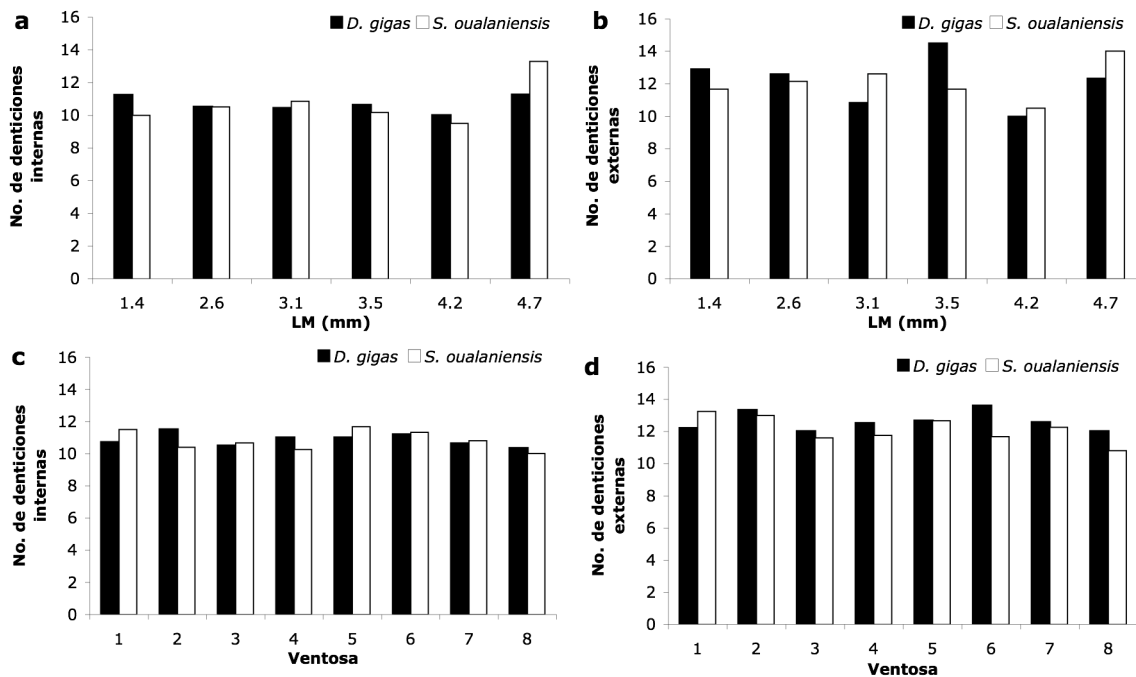


Figura 24. Comparación del promedio de número de denticiones a) internas y b) externas en las ventosas de la proboscis respecto a la longitud de manto, así como del promedio de número de denticiones c) internas y d) externas por ventosa de la proboscis. *D. gigas* (n=14), *S. oualaniensis* (n=6). $p < 0.05$

Fotóforos

En ninguna de las paralarvas de *D. gigas* (n=133) analizadas se observaron los fotóforos oculares (Figura 25a-c) ni los fotóforos viscerales (Figura 26a-h). En lo que respecta a las paralarvas de *S. oualaniensis* (n=22), se observaron los dos fotóforos oculares (ubicados cada uno en la región ventral del ojo) en tallas de 1.8 a 3.9 mm de LM (Figura 25 d-f), mismas en las que solamente se observó el fotóforo visceral anterior (Figura 26i-n). Las paralarvas de 5.6 y 6.3 mm de LM ya presentaban claramente todos los fotóforos (Figura 26 o-p).

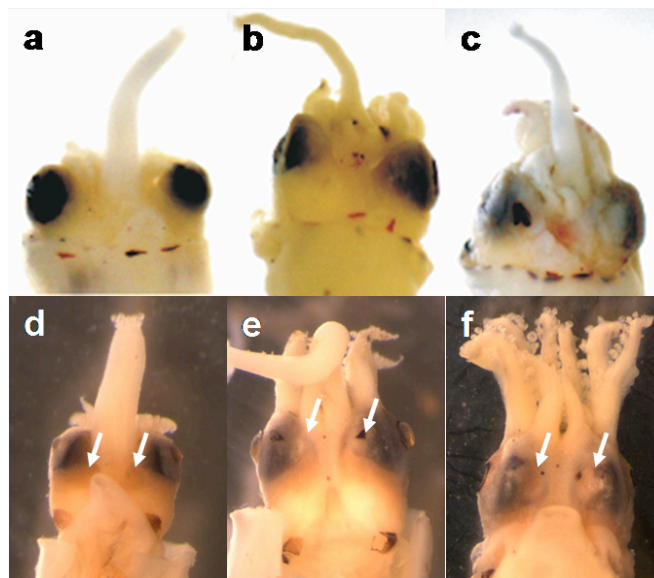


Figura 25. Fotóforos oculares. En *D. gigas* (n=133; a-c) no se observan fotóforos en la zona ventral de los ojos. En *S. oualaniensis* (n=22; d-f) se observan los fotóforos. a) 1.8 mm de LM; b) 3.6 mm de LM; c) 5.6 mm de LM; d) 1.8 mm de LM; e) 3.4 mm de LM; f) 5.6 mm de LM. Las flechas señalan los fotóforos oculares.

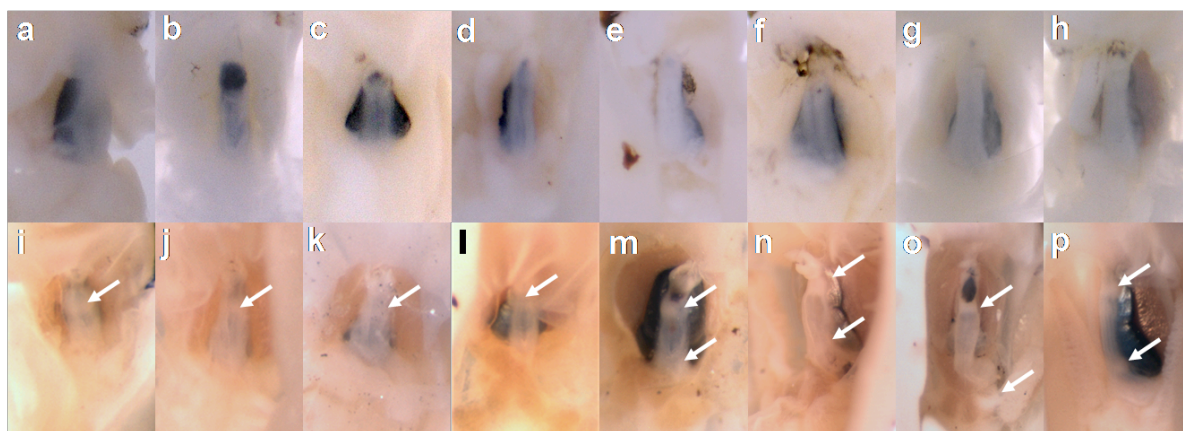


Figura 26. Fotóforos viscerales anteriores y/o posteriores. *D. gigas* (Fila superior; n=133); a) 1.7 mm de LM, b) 2.2 mm de LM, c) 2.5 mm de LM, d) 2.6 mm de LM, e) 2.7 mm de LM, f) 2.8 mm de LM, g) 3.6 mm de LM, h) 4.4 mm de LM. En *D. gigas* no se detectaron los fotóforos viscerales a ninguna talla. *S. oualaniensis* (Fila inferior; n=22); i) 1.8 mm de LM, j) 2.5 mm de LM, k) 2.6 mm de LM, l) 3.1 mm de LM, m) 3.5 mm de LM, n) 4.2 mm de LM, o) 5.6 mm de LM y p) 6.3 mm de LM. Las flechas señalan los fotóforos viscerales anterior y posterior.

Cromatóforos

En paralarvas de *D. gigas* (n=249) de entre 0.6 a 6.0 mm de LM, todos los cromatóforos de la cabeza son de color café, a excepción de los que se encuentran en los costados del sifón (uno a cada lado) a partir de los 1.1 mm de LM, los cuales son de color rojo. El arreglo de cromatóforos en la región dorsal de la cabeza a distintas tallas es como lo reportado en la tabla VI y figura 11; sin embargo, en una paralarva de 1.2 mm de LM se observaron 5 cromatóforos posteriores, 2 medios y 1 anterior, y otra de 1.6 mm de LM presentó 3 cromatóforos posteriores, 4 medios y 1 anterior. Se observaron cromatóforos café o amarillo en la superficie dorsal de los brazos en especímenes de 3.6 mm de LM en adelante.

Los cromatóforos del manto en especímenes de entre 0.6 a 6.0 mm de LM son de color café, aunque a partir de los 1.9 mm de LM se comenzó a observar cromatóforos color rojo, sobretodo en paralarvas de ≥ 5 mm de LM, talla a la cual incrementa la cantidad de cromatóforos y no presentan un arreglo definido.

Tabla VI. Arreglo de cromatóforos en paralarvas Rhynchoteuthion de *D. gigas* (n=249). p: posterior; m: medio; a: anterior; o: ojos; br: brazos; si: sifón; p: posterior; mp: medio posterior; m: medio; ma: medio anterior; a: anterior; al: aletas.

LM	Cabeza						Manto					Vista
	p	m	a	o	br	si	p	mp	m	ma	a	
0.8	3		1					2-3	3		1	dorsal
	2						4		3-4	10		ventral
0.9	3	2	1					2-3	3		1	
	2		2				4		3-4	10		
2.0	3	2	1	2		2		2-3	3		1	
	2		2				4		3-4	10		
3.6 >	3	2	1	2		2		2-3	3		1	
	2		2				4		3-4	10		

Todos los cromatóforos de las paralarvas de *S. oualaniensis* (n=22) se observaron de color café y muestran un arreglo como en la tabla VII y figura 11; sin embargo, un espécimen de 5.6 mm de LM presentó 5 cromatóforos posteriores, 9 medios y 1 anterior y otro de 6.3 mm de LM mostró 3 posteriores, 6 medios y 1 anterior en la región dorsal de la cabeza. A partir de los 3.9 mm de LM, los cromatóforos en la superficie dorsal y ventral del manto mantienen el arreglo descrito, pero el número de cromatóforos aumenta considerablemente en toda la superficie del manto sin un orden definido.

Tabla VII. Arreglo de cromatóforos en paralarvas Rhynchoteuthion de *S. oualaniensis* (n=22).
p: posterior, m: medio; a: anterior; o: ojos; br: brazos; si: sifón; p: posterior; mp: medio posterior;
m: medio; ma: medio anterior; a: anterior; al: aletas.

LM	Cabeza						Manto					Vista	
	p	m	a	o	br	si	p	mp	m	ma	a		al
1.4	3	2-5	1					3		3		1	dorsal
	2						3	3		4	8		ventral
1.8	3	2-5	1					3		3		1	
	2					2	3	3		4	8		
2.5	3	2-5	1		2			3		3		1	
	2		2				3	3		4	8		
3.9	3	2-5	1					3		3		1	
	2		2				3	3		4	8		
4.2	3	2-5	1					3		3		1	
	2		2	2			3	3		4	8		
4.7 >	3	2-5	1					3		3		1	
	2		2				3	3		4	8		

Análisis de componentes principales y funciones discriminantes

El análisis morfométrico se realizó con un total de 133 paralarvas de *D. gigas*, 56 de Santa Rosalía (SR) y 77 de la costa occidental de la península de Baja California (COPBC), así como con 22 paralarvas de *S. oualaniensis* provenientes de Hawaii (H). El análisis de

factores mostró que los factores 1, 2 y 3 representan el 72.2% de la variación total (Tabla VIII) y el análisis de componentes principales indicó que en el primer factor (28.6%), las variables de mayor peso son los índices ABCi y LCi/ABCi, en el segundo factor (26.8%) los índices LCi y DOi, y en el tercer factor (16.8%) el índice DOi/LCi (Tabla IX), éstos índices muestran diferencias significativas entre ambas especies (Anexo V).

Tabla VIII. Eigenvalores, extracción por componentes principales. Los 3 primeros factores representan el 72.2% de la variación.

Factor	Eigenvalor	% total de variancia	Eigenvalor Acumulado	% acumulado
1	2.861	28.616	2.861	28.616
2	2.674	26.748	5.536	55.364
3	1.680	16.800	7.216	72.164
4	1.208	12.082	8.424	84.247
5	0.657	6.571	9.081	90.818
6	0.596	5.962	9.678	96.780
7	0.283	2.834	9.961	99.614
8	0.015	0.157	9.977	99.772
9	0.012	0.126	9.989	99.898
10	0.010	0.101	10.000	100.000

Tabla IX. Factor loadings obtenidos con rotación por variación máxima normalizada. Los factores 1, 2 y 3 incluyen a las variables que representan el 72.2% de la variación total. Los valores marcados son > 0.70

Variable	Factor									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ABCi	0.940	0.206	0.060	0.001	0.105	-0.102	0.213	0.064	0.009	0.004
LCi	-0.060	0.835	0.511	0.076	-0.005	0.120	0.086	0.017	0.012	0.103
ACi	0.157	0.672	0.094	0.029	-0.152	-0.648	0.236	0.015	0.118	0.011
LCi/ABCi	-0.784	0.403	0.344	0.039	-0.084	0.256	-0.119	0.127	0.013	0.010
LCi/ACi	-0.265	0.162	0.441	0.038	0.156	0.810	-0.158	0.011	0.051	0.008
APi	0.250	0.164	0.032	-0.075	0.129	-0.165	0.927	-0.001	0.001	0.000
LAI	-0.019	0.110	0.018	0.971	0.197	0.012	-0.065	0.001	0.001	0.000
AAi	0.132	-0.092	0.053	0.218	0.944	0.135	0.122	-0.001	-0.001	0.000
DOi	0.004	0.955	-0.254	0.092	-0.058	0.000	0.088	-0.003	-0.028	-0.062
DOi/LCi	0.062	0.030	-0.984	-0.009	-0.047	-0.153	-0.036	-0.003	-0.002	0.004
Expl.Var	1.680	2.340	1.623	1.015	1.017	1.235	1.036	0.021	0.018	0.015
Prp.Totl	0.168	0.234	0.162	0.102	0.102	0.124	0.104	0.002	0.002	0.001

La nube de dispersión muestra una tendencia de *S. oualaniensis* a la separación respecto a *D. gigas* a través del factor 1 (28.6%), factor 2 (26.8%) y factor 3 (16.8%) (Figura 27).

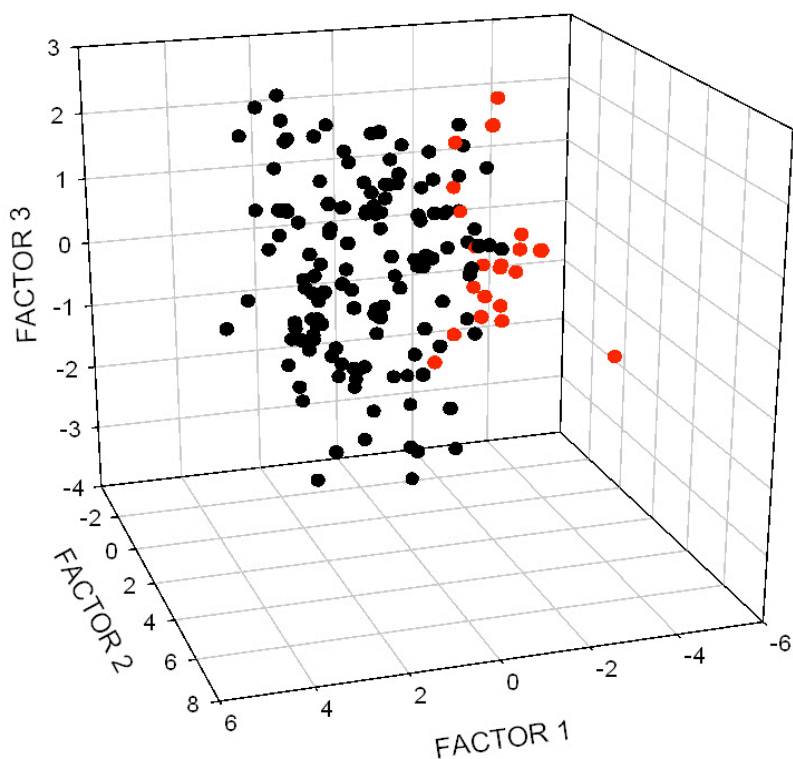


Figura 27. Nube de dispersión con rotación por variación máxima normalizada considerando a los 3 factores (72.2%). * Dg y * So.

El análisis de funciones discriminantes (Tabla X) indica que el ABCi, LCI, LCI/ABCi, DOi y DOi/LCi muestran los mayores valores de Lambda (>0.60), lo cual concuerda con el análisis de componentes principales (Tabla IX); sugiriendo que estos índices son los que representan el mayor peso dentro del 72.2% de la variabilidad morfométrica existente entre *D. gigas* y *S. oualaniensis*; al realizar la agrupación por especie, éstas presentan una distancia cuadrada de Mahalanobis de 5.9 (Tabla XI), pero al considerar la localidad de procedencia se obtiene que la mayor similitud se presenta entre *D. gigas* (COPBC) y *S. oualaniensis* (H) con 5.2, seguido de *D. gigas* (COPBC) y *D. gigas* (BSR) con 16.6. La mayor diferencia se registró entre *D. gigas* (BSR) y *S. oualaniensis* (H) con un valor de 21.7 (Tabla XII).

De acuerdo a la matriz de clasificación, el 96.9% (n=129) de los especímenes de *D. gigas* se encuentran correctamente clasificados y el 68.2% (n=15) de *S. oualaniensis* lo están con base en las variables consideradas (Tabla XIII).

Cuando se realiza el análisis considerando la localidad de procedencia, se obtiene que del 100% (n=77) de paralarvas *D. gigas* de la COPBC, el 96.1% (n=74) se encuentra correctamente clasificado como *D. gigas*; de éste porcentaje de *D. gigas*, el 94.8% (n=73) se clasifica como proveniente de la COPBC y el 1.2% (n=1) como procedente de la BSR. Por su parte, el análisis muestra que *D. gigas* de la BSR tiene el 96.4% (n=54) clasificado como *D. gigas* de la BSR y el 3.6% (n=2) como *D. gigas* de la COPBC, teniendo que el 100% se considera correctamente como *D. gigas*. Finalmente, *S. oualaniensis* de H presenta 72.7% (n=16) bien clasificado como *S. oualaniensis* de H y el 27.3% (n=6) como *D. gigas* de la COPBC (Tabla XIV, Anexo VI).

Tabla X. Análisis de funciones discriminantes. No. de variables en el modelo: 10; Agrupación: 2 grupos. Wilks' Lambda: 0.57898 approx. F (10,144)=10.471 p< .0000

Variable	Lambda de Wilk	Lambda parcial	F removida (1,66)	Nivel p	Tolerancia	1-Tolerancia (1-Sqr)
ABCi	0.600	0.965	5.265	0.023	0.047	0.953
LCi	0.601	0.964	5.378	0.022	0.022	0.978
ACi	0.585	0.990	1.525	0.219	0.028	0.972
LCi/ABCi	0.618	0.936	9.822	0.002	0.037	0.963
LCi/ACi	0.585	0.989	1.589	0.210	0.034	0.966
APi	0.587	0.987	1.873	0.173	0.559	0.441
LAI	0.583	0.993	1.030	0.312	0.719	0.281
AAi	0.581	0.996	0.586	0.445	0.540	0.460
DOi	0.601	0.963	5.537	0.020	0.031	0.969
DOi/LCi	0.603	0.959	6.089	0.015	0.043	0.957

Tabla XI. Distancias cuadradas de Mahalanobis por especie. **Distancia cuadrada de Mahalanobis;**
Valor de F, con g.l.=10,144; nivel de confianza (p<0.05).

Especie	Dg	So
Dg		5.894
	0	10.471 3.5×10^{-13}
So		0

Tabla XII. Distancias cuadradas de Mahalanobis por especie y por localidad. **Distancia cuadrada de Mahalanobis;**
Valor de F, con g.l.=10,143; nivel de confianza (p<0.05).

Especie	Dg (BSR)	Dg (COPBC)	So (H)
Dg (BSR)		16.580	21.650
	0	50.572	32.170
Dg (COPBC)		0	0
			5.222
So (H)		0	8.406
			1.14×10^{-10}
			0

Tabla XIII. Matriz de clasificación de las especies en cuestión. Se indica el porcentaje y cantidad de individuos correctamente clasificados para cada especie (filas), así como los que de acuerdo al análisis corresponden a la otra especie (columnas).

Especie	%	Dg	So
		p= 0.858	p= 0.142
Dg	96.992	129	4
So	68.182	7	15
Total	92.903	136	19

Tabla XIV. Matriz de clasificación de las especies en cuestión por localidad. Se indica el porcentaje y cantidad de individuos correctamente clasificados para cada especie (filas) por localidad, así como los que de acuerdo al análisis corresponden a la otra especie (columnas) por localidad.

Especie	%	Dg	Dg	So
		(BSR)	(COPBC)	(H)
		p= 0.361	p= 0.497	p= 0.142
Dg (BSR)	96.429	54	2	0
Dg (COPBC)	94.805	1	73	3
So (H)	72.727	0	6	16
Total	92.258	55	81	19

Análisis genético

Extracción de ADN e identificación genética

Se logró extraer ADN de las 197 paralarvas preservadas en etanol al 99%. A pesar de que se intentó la extracción y amplificación para algunos especímenes preservados en

formol al 4% provenientes de Santa Rosalía, B.C.S. y de Hawaii, en ninguna de estas paralarvas se obtuvo ADN de suficiente calidad.

No fue posible la amplificación por PCR en 4 (2%) de los 197 individuos ya sea por el poco ADN extraído debido al tamaño de la paralarva o porque el ADN se encontraba degradado. Del producto de PCR de 557 pb, correspondiente al gen mitocondrial citocromo oxidasa I (COI), se obtuvieron secuencias que en promedio representaron solo 369 pb, por lo que solo estos sitios fueron incluidos en el análisis.

Con base en las secuencias obtenidas, se determinó la presencia de dos especies: 180 *D. gigas* (91.4%) y 13 *Eucleoteuthis luminosa* (6.6%). Ningún espécimen fue identificado como *S. oualaniensis*. Se decidió reportar las secuencias de las paralarvas de *E. luminosa* con el fin de describir posibles nuevos haplotipos y discriminarla de *D. gigas* y *S. oualaniensis* por medio de RFLP's, ya que a pesar de que son diferentes morfológicamente de las paralarvas de *D. gigas* y *S. oualaniensis* porque presentan las 2 ventosas laterales de la proboscis de mayor tamaño y 1 fotóforo visceral grande, en ocasiones los métodos de colecta dañan dichas estructuras dificultando su identificación, más aún por el traslape en la distribución que presentó con *D. gigas* en la costa occidental de la península de Baja California durante el 2005.

Frecuencia de haplotipos

De entre los 180 individuos identificados como *D. gigas*, se encontraron 30 haplotipos, de los cuales el haplotipo Dg01 representó el 62.8% (n=108), el haplotipo Dg02 representa el 9.76% (n=17), el haplotipo Dg03 representa el 6.1% (n=10) y el Dg04

representa el 4.88% (n=8), la mayor parte de los 26 haplotipos restantes estuvieron representados por un solo individuo.

De los 13 individuos identificados como *E. luminosa*, se detectaron 8 haplotipos, el 23% (n=3) presentó el haplotipo EI01, los haplotipos EI02-EI08 estaban representados por un individuo. En 3 individuos no fue posible la asignación de un haplotipo debido a que las secuencias recuperadas fueron de menor tamaño que el fragmento de 369 pb empleado en las comparaciones interespecíficas. Sin embargo, la similitud de estas resultó del 100% al compararla con las demás secuencias de *E. luminosa*.

Las secuencias de *D. gigas* y *S. oualaniensis* presentan 25 sitios diagnósticos (2122, 2137, 2141, 2150, 2152, 2158, 2165, 2173, 2185, 2188, 2200, 2209, 2210, 2212, 2215, 2216, 2220, 2225, 2235, 2242, 2248, 2252, 2253, 2258 y 2260; Anexo III) que permiten diferenciar ambas especies con base en el fragmento de 369 pb analizado. Al incluir las secuencias de *E. luminosa*, solo 3 sitios resultaron informativos (2210, 2215 y 2252) y pueden ser usados como sitios diagnósticos entre las tres especies.

En la tabla XV se muestran sitios diagnósticos al comparar los haplotipos de *D. gigas*, *E. luminosa* y *S. oualaniensis*. Se consideraron dos bloques de haplotipos de *S. oualaniensis* (SoA y SoB; Anexo II), con el fin de determinar los sitios diagnósticos de *D. gigas* respecto a cualquier otro posible haplotipo de *S. oualaniensis* reportado para la zona del Pacífico occidental, donde el traslape distribucional entre ambas especies es posible.

Tabla XV. Sitios variables entre las secuencias de *D. gigas* (Dg), *S. oualaniensis* (So) y *E. luminosa*. (El). El fragmento de 369 pb analizado corresponde al fragmento 2120-2489 de la secuencia completa de *T. pacificus* (GenBank #AB240153). Algunas secuencias de *S. oualaniensis* fueron obtenidas del GenBank (Anexo II). Los asteriscos indican los sitios informativos.

	2222222222	2222222222	2222222222	2222222222	2222222222	2222222222	2222222222	2222222222	2222222222
	1111111111	1111111111	1111111111	1111111111	1112222222	2222222222	2222222222	2222222222	2222222222
	2222333333	3344445555	6677777788	8888899999	9990000111	1111222222	2333333344	4444555555	66666666
	2467023456	7901290128	5801235702	3458901246	7890359023	4568014567	9124567912	4568234578	012345
Dg01	TACAAATCAG	CCATTACGGC	CTATCCTTAA	TACCAAACAA	ATACCGGTTC	CCTCCCTCAA	AACTCTTTTC	ACTACTTTCC	TACGTT
Dg02CG..G..
Dg03C..T...
Dg04G..T...
Dg05	G.....
Dg06T...
Dg07T..
Dg08C..G..
Dg09	..T.....A
Dg10A
Dg11A..
Dg12A...C..T...
Dg13G.....
Dg14G.....
Dg15G..
Dg16G..C...T...
Dg17G..
Dg18	T.....G..
Dg19T..
Dg20T.....
Dg21C..G..T...
Dg22G..C.....
Dg23G..G.....
Dg24C.G..
Dg25G.....G..T...
Dg26A..
Dg27G.....T...
Dg28A..
Dg29A..C.....
Dg30G.....G.....
E101	..GG..TGA	.TG...TAAT	TC....C.G.	AGTT..TT..	..CTTAAGC	TAA..CATGG	CGTATC...GT	TT...TT	C.TA..
E102	..GG..TG.	.TG...TAAT	TC....C.G.	AGTT..TT..	..CTTAAGC	TAA..CATGG	C.TATC...GT	TT...TT	C.TA..
E103	..GG..TGA	.TG...TAAT	TC....C.G.	AGTT..TT..	..CTTAAGC	TAA..CATGG	C.TGTC...GT	TT...TT	C.TA..
E104	..GG..TGA	.TG...TAAT	TC....C.G.	AGTT..TT..	..CTTAAGC	TAA..CATGG	CGTATC...GT	TT...TT	C.TA..
E105	..GG..TGA	.TG...TAAT	TC....C.G.	AGTT..TT..	..CTTAAGC	TAA..CATGG	TGTATC...GT	TT...TT	C.TA..
E106	..GG..TGA	.TG...TAAT	TC....C.G.	AGTT..TT..	..CTTAAGC	TAA..CATGG	CGTATC..AT	GT...TT	C.TA..
E107	..GG..TGA	.TG...TAAT	TC....C.G.	AGTT..TT.G	..CTTAAGC	TAA..CATGG	CGTATC...GT	TT...TT	C.TA..
SoA01	C.T....G.	T..C..TCAT	T..CTTC...	A.TT.G.TG.	..TT.ACC	TTATT..T..	.TGT...T	...TAA.C.T	C..T..
SoA02	C.T....G.	T..C..TCAT	T..CTTC...	A.TT.G.TG.	..TTAACC	TTATT..T..	.TAT...T	...TAA.C.T	C..T..
SoA03	C.T....G.	T..C..TCAT	T..CTTC...	A.TT.G.TG.	..TTAACC	TTATT..T..	.TAT...T	...TAA.CTT	C..T..
SoA04	C.T....G.	T..C..TCAT	T..CTTC...	A.TT.G.TC.	..TT.ACC	TTATT..T..	.TGT...T	...TAA.C.T	C..T..
SoA05	C.T....G.	T..C..TAAT	T..CTTC...	A.TT.G.TG.	..TTAACC	TTATT..T..	.TAT...T	...TAA.C.T	C..T..
SoA06	C.T....G.	T..C..TAAT	T..CTTC...	A.TT.G.TG.	..T.AACC	TTATT..T..	.TAT...T	...TAA.C.T	C..T..
SoA07	C.T....G.	T..C..TCAT	T..CTTC...	A.TT.G.TG.	..TT.ACC	TTATT..T..	.TGT...T	...TAA.C.T	C..T..
SoA08	C.T....G.	T..C..TCAT	T..CTTC...	A.TT.G.TG.	..TTAACC	TTATT..T..	.TGT...T	...TAA.C.T	C..T..
SoB01	CGT..T.T.A	TT.CC.T.AT	TC....TA...	A.TT.....	..TTAACCT	TTA.TC.T..	.GTGT.A..T	.T.TAA..TT	CT.TC.
SoB02	C.T..T.T.A	TT.CC.T.AT	TC....TA...	A.TT.....	..TTAACCT	TTA.TC.T..	.GTAT.A..T	.T.TAA..TT	CT.TC.
SoB03	CGT..T.T.A	TT.CC.T.AT	TC....TA...	A.TT.....	..TTAACCT	TTA.TC.T..	.GTGT.A..T	.T.TAA..TT	CT.T..

Distancias genéticas intraespecíficas e interespecíficas

Considerando a *D. gigas*, *S. oualaniensis* y *E. luminosa*, el análisis de distancias intraespecíficas muestra que en cada especie, los haplotipos no muestran diferencias de

bases nucleotídicas mayores al 5%. Mientras que el análisis de distancias interespecíficas demuestra que *S. oualaniensis* presenta mayor similitud con *E. luminosa* que con *D. gigas*, y la menor similitud se observó entre *D. gigas* y *E. luminosa* (Tabla XVI, Anexo IV).

Tabla XVI. Estimación de la diversidad intraespecífica e interespecífica en las secuencias basado en el porcentaje de diferencias pareadas. Tp, *Todarodes pacificus* (n=4); Hp, *Hyaloteuthis pelagica* (n=2); Ob, *Ommastrephes bartramii* (n=5); So, *Sthenoteuthis oualaniensis* (n=29); Dg, *Dosidicus gigas* (n=178); El, *Eucleoteuthis luminosa* (n=10). Cifras entre paréntesis indican el error estándar.

	Tp	Hp	Ob	SoA	SoB	Dg	El
Tp	0.032 (0.006)						
Hp	0.140 (0.016)	0.00 (0.00)					
Ob	0.210 (0.019)	0.182 (0.019)	0.009 (0.003)				
SoA	0.148 (0.018)	0.128 (0.017)	0.172 (0.019)	0.005 (0.002)			
SoB	0.161 (0.019)	0.117 (0.017)	0.189 (0.019)	0.070 (0.013)	0.003 (0.002)		
Dg	0.163 (0.018)	0.132 (0.017)	0.159 (0.018)	0.118 (0.016)	0.135 (0.016)	0.003 (0.001)	
El	0.147 (0.017)	0.139 (0.018)	0.192 (0.019)	0.113 (0.016)	0.103 (0.016)	0.140 (0.017)	0.005 (0.002)

Análisis de restricción

En el análisis teórico de restricción, el software NEBcutter v2.0 (<http://tools.neb.com/NEBcutter2/index.php>) mostró que en el fragmento producido de 557 pb, las endonucleasas evaluadas (*Alu* I, *Dde* I y *Hae* III) crearon perfiles de restricción distintivos en cada especie (Tabla XVII).

Tabla XVII. Sitios teóricos de corte de distintas enzimas de restricción en la secuencia de 557 pb de *D. gigas*, *S. oualaniensis* y *E. luminosa*.

Especie	Enzima de restricción		
	<i>Alu</i> I	<i>Dde</i> I	<i>Hae</i> III
<i>D. gigas</i>	184, 247, 343	4, 111	326
<i>S. oualaniensis</i>	172, 184, 247, 343	339	No corta
<i>E. luminosa</i>	27, 184, 343, 364	4	271

Sin embargo, *Hae* III produjo el perfil de restricción con fragmentos más grandes y fácilmente identificables mediante electroforesis en gel de agarosa, por lo que se decidió efectuar una prueba en la que se utilizó a esta enzima para la diferenciación interespecífica (Figura 28).

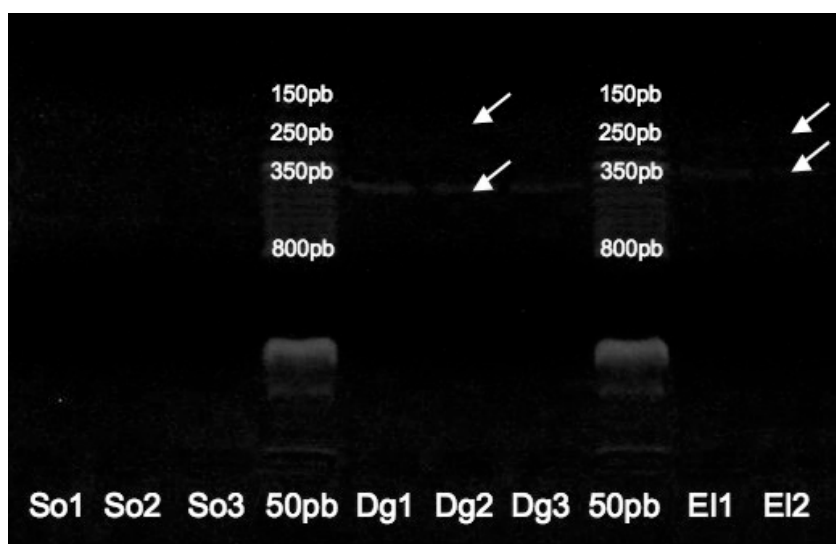


Figura 28. Perfil de restricción de la endonucleasa *Hae* III en la secuencia de *S. oualaniensis* (So), *D. gigas* (Dg) y *E. luminosa* (El). *S. oualaniensis* no presenta corte, en cambio se producen fragmentos de 395 pb y 162 pb en *D. gigas*, así como de 340 pb y 217 pb en *E. luminosa*.

Distribución espacial y temporal de paralarvas *Rhynchoteuthion*

En la bahía de Santa Rosalía, B.C.S. se encontraron en total 106 paralarvas *Rhynchoteuthion* en los meses de marzo, junio, agosto y noviembre del 2003 y durante marzo, junio a agosto y octubre del 2004. Aquí se presentan las abundancias no estandarizadas por dificultades técnicas del flujómetro utilizado. Las abundancias observadas fueron muy bajas durante todos los meses de muestreo (1 a 9 paralarvas), a excepción de agosto del 2003, donde se colectaron 83 paralarvas (Figura 29).

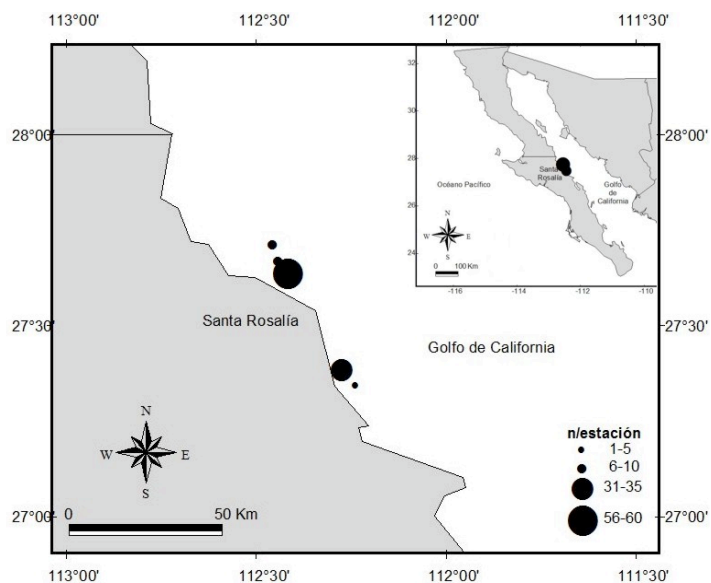


Figura 29. Distribución espacial de paralarvas *Rhynchoteuthion* en la Bahía de Santa Rosalía, B.C.S. durante el periodo 2003-2004.

Respecto a los cruceros IMECOCAL del 2005, se encontraron en total 250 *Rhynchoteuthion*. Con base en el análisis genético y morfológico/morfométrico se identificaron 197 paralarvas *D. gigas* y 17 paralarvas *E. luminosa*. Se distribuyeron en el Golfo de Ulloa y en estaciones cercanas a Punta Eugenia durante enero-febrero, julio-agosto y octubre (050102, 050708 y 0510 respectivamente). No se encontraron en el crucero IMECOCAL de abril-mayo (050405).

En el crucero IMECOCAL 050102 se capturaron en total 152.4 PI/1000 m³ y las mayores abundancias (49.4 PI/1000 m³) ocurrieron en la zona centro del Golfo de Ulloa (línea 133), principalmente dentro de las primeras 108 millas náuticas (mn) a partir de la costa.

En el crucero IMECOCAL 050708 se colectaron 243.9 PI/1000 m³ y las mayores abundancias (60.8 PI/1000 m³) fueron en el centro y sur del Golfo de Ulloa (líneas 130, 133 y 137) dentro de las primeros 108 mn a partir de la costa, aunque también se capturaron algunos especímenes entre las 108 y 162 mn de la costa (3.7 PI/1000 m³). Finalmente se capturaron 67.6 PI/1000 m³ durante el crucero IMECOCAL 0510 y las mayores abundancias se detectaron en las estaciones de muestreo más cercanas a la costa hacia el norte del Golfo de Ulloa, en las líneas 127 y 130 (24.4 y 27.9 PI/1000 m³, respectivamente), dentro de las primeras 108 mn mar adentro, aunque también se capturaron especímenes en estaciones posteriores a las 162 mn de la costa (1.9 PI/1000 m³) (Figura 30). En los 3 cruceros, las abundancias fueron muy bajas o bajas.

En relación a la temperatura, las paralarvas de *D. gigas* colectadas en la costa occidental de la península de Baja California se encontraron entre los 16.5° y 22.8 °C. En el crucero IMECOCAL 050102 las menores abundancias (1.5 PI/1000 m³) se detectaron a los 17.7° y a los 18.8 °C, y la mayor abundancia (49.4 PI/1000 m³) ocurrió a los 18.5 °C. En el crucero IMECOCAL 050607 la menor abundancia (1.6 PI/1000 m³) se obtuvo a los 16.5 °C y la mayor (60.8 8 PI/1000 m³) a los 21.5 °C. Durante el crucero IMECOCAL 0510 la menor abundancia (1.4 PI/1000 m³) se registró a los 20 °C y la máxima (27.9 PI/1000 m³) a los 21.1°C (Figura 31). La temperatura superficial del mar y la abundancia de paralarvas no muestran correlación ($R^2=0.03$).

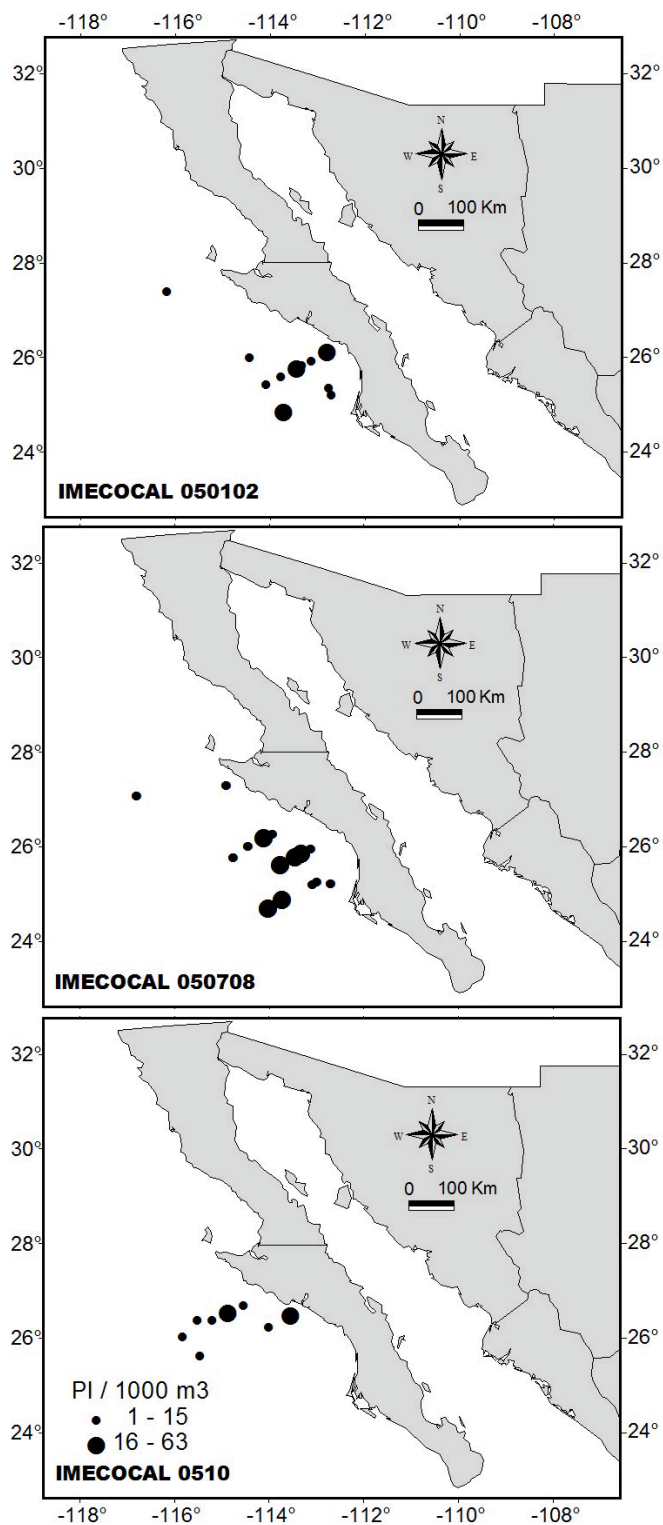


Figura 30. Distribución espacio-temporal de la biomasa estandarizada (PI/1000 m³) de las paralarvas *Rhynchoteuthion* de *D. gigas* colectadas por el programa IMECOCAL 2005 en la costa occidental de la península de Baja California.

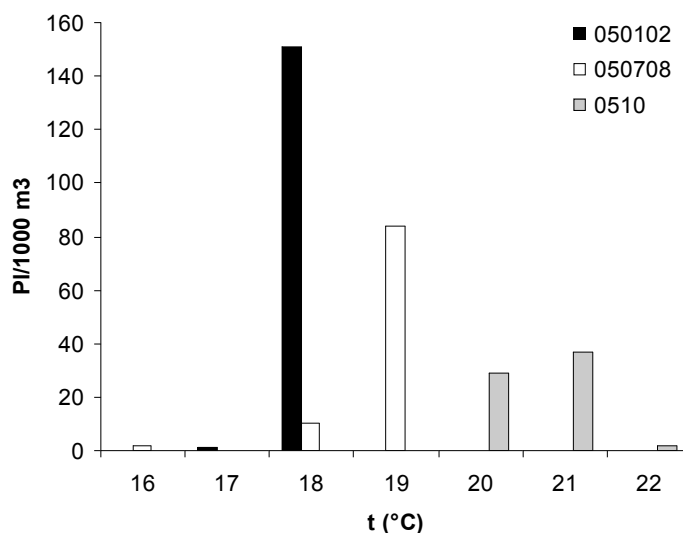


Figura 31. Abundancia de paralarvas *Rhynchoteuthion* (PI/1000 m³) y su relación con la temperatura (°C) durante los cruces IMECOCAL 050102, 050708 y 0510.

Discusión

Morfología y morfometría

Manto

El manto de paralarvas *D. gigas* vivas (2.0 mm de LM) se observa distinto del de los especímenes de 1.0 mm de LM o superior fijados en etanol al 99% o en formol al 4%, sobretodo en la región media anterior, donde los vivos presentan un ensanchamiento a la altura del saco de tinta y los fijados no. Es posible que esto se deba a que las paralarvas de *D. gigas* son capaces de retraer la cabeza hacia el interior del manto, de tal forma que las proporciones del ancho del manto pueden variar considerablemente entre organismos vivos y los fijados en etanol al 99% o formol al 4%.

Los especímenes de *S. oualaniensis* proporcionados por el Dr. Richard Young de la Universidad de Hawaii son diferentes en el extremo anterior dorsal y en el extremo posterior, y la región media anterior dorsal no es más ancha que el borde anterior como en

D. gigas. En todos los especímenes de *S. oualaniensis*, el borde anterior es la porción más ancha del manto. De acuerdo a Harman y Young (1985), el manto de *S. oualaniensis* es angosto, sin embargo no mencionan medidas o proporciones.

Las paralarvas con manto invertido fueron comunes, a pesar de que sólo un espécimen *S. oualaniensis* presentó el manto invertido a los 2.6 mm LM, 140 *D. gigas* tanto de Santa Rosalía, B.C.S. como de la costa occidental de la Península de Baja California presentaban el manto encorvado, invertido o totalmente deformado a tallas de 0.6 a 4.3 mm LM, por lo cual éstos individuos no fueron considerados en el análisis morfométrico. Esto coincide con lo reportado por Forch (1986) respecto a especímenes de 6 a 7 mm de LM en adelante.

Como se puede apreciar, el manto es susceptible a daños por manipulación o efectos de preservación, adoptando posturas distintas de la normal debido a que está formado por tejido blando; por lo cual las observaciones realizadas y medidas registradas se reportan considerando sólo a los especímenes en buen estado y a reserva de la posible subjetividad inherente a las condiciones de las muestras.

Aletas

En el presente estudio, las aletas se detectaron a partir de los 0.9 mm de LM en *D. gigas*, talla a la que aproximadamente eclosionan las paralarvas. Así como Yatsu *et al.* (1999), quien observó aletas el primer día después de la eclosión. El LAi presenta diferencias estadísticas significativas interespecíficas ($p < 0.05$) (Figura 12).

A pesar de que las 22 Rhynchoteuthion *S. oualaniensis* presentaron aletas en buen estado, 73 de las 133 (54%) paralarvas *D. gigas* que presentaron mantos en buen estado

contaban con aletas dañadas y no se consideraron en el presente análisis. Forch (1986) menciona que muy pocos especímenes presentan los márgenes de las aletas intactas, ya que al preservarse frecuentemente exhiben un acortamiento del manto debido a la contracción del extremo posterior que dificulta la medición de las aletas. Considerando que el 54% de las muestras tenía aletas en mal estado, y que el 46% restante en ocasiones tenía aletas en alguna posición que requiriera de manipulación excesiva para la medición (haciéndolas susceptibles a daños), no se recomienda el uso de estas estructuras para la diferenciación morfométrica de las *Rhynchoteuthion* de ambas especies a menos que estén recién muertas, no preservadas y en perfecto estado, o que su preservación sea reciente.

Cabeza

La cabeza es una de las pocas estructuras que muestran diferencias morfométricas entre *D. gigas* y *S. oualaniensis*, probablemente porque está compuesta por cartílago. Esto confiere firmeza a la cabeza y en cierta forma evita que sufra mayor daño por la preservación o manipulación, guardando fidelidad a sus dimensiones y facilitando obtener medidas confiables a partir de ella.

Los índices de las variables ABC, LC, LC/ABC y LC/AC presentan diferencia estadística significativa entre ambas especies ($p < 0.05$), por lo tanto es posible utilizarlas para la diferenciación interespecífica. En las paralarvas de *D. gigas* la cabeza es semi-cúbica, más ancha que larga ($LC/ABC = 0.71 \pm 0.17$). En cambio, las paralarvas de *S. oualaniensis* presentan cabeza cúbica ($LC/ABC = 1.03 \pm 0.11$), ligeramente más larga que ancha (Figura 13). El coeficiente LC/AC no fue considerado en el análisis morfométrico debido a que el AC depende del buen estado en que se encuentren los ojos, es decir, que no

se encuentren dañados en su forma o fuera de su posición original, y gran parte de las muestras presentó principalmente este último inconveniente.

No obstante, en ambas especies las correlaciones entre el LCI y la LM fueron bajas, así como entre el ACi y la LM. Lo cual coincide con lo reportado por Forch (1986), quien menciona que el grosor de la cabeza no tiene correlación alta con otras medidas de la cabeza o de la LM en otras especies de la familia Ommastrephidae (*Nototodarus sloani* y *N. gouldi*); incluso no existen estudios previos que consideren la morfología y/o morfometría de la cabeza en *D. gigas* y *S. ouanaliensis*.

Ojos

En el presente estudio se observó que los ojos de las Rhynchoteuthion de *D. gigas* presentan tejido alrededor que no es iridiscente, y en tallas menores a 1 mm se observaron ojos con coloración rojiza; mientras que los ojos de *S. oualiansis* presentan superficie color plateado brillante. Al respecto, Yatsu *et al.* (1999) observó que la posición y coloración de los ojos de *D. gigas* cambia durante el desarrollo, los especímenes pequeños tienen ojos rojizos brillantes. Conforme aumenta la LM, la posición de los ojos se vuelve más lateral, su color cambia a café rojizo y la superficie iridiscente plateada incrementa en su extensión y grosor. En los especímenes más largos esto tiende a oscurecer el color de los ojos.

Considerando que las observaciones de Yatsu *et al.* (1999) fueron realizadas en paralarvas vivas, lo anterior parece indicar que la preservación en etanol al 99% afecta dicho tejido, mas no ocurrió con las paralarvas *S. oualiansis* que fueron preservadas inicialmente en formol al 4% y posteriormente en etanol al 75%.

A pesar de que la disposición y forma de los ojos es susceptible a alteraciones por

manipulación, morfométricamente en paralarvas de *D. gigas* el diámetro de los ojos ($47\% \pm 0.08\%$) respecto a la longitud de la cabeza es significativamente mayor ($p < 0.05$) que en *S. oualaniensis* ($42\% \pm 0.05\%$) (Figura 14). No obstante, es recomendable realizar más observaciones y con estructuras en mejores condiciones para corroborar su utilidad en la diferenciación morfométrica interespecífica.

Picos

Las diferencias interespecíficas detectadas son con base en las observaciones realizadas por microscopía electrónica de barrido (11 *D. gigas* y 5 *S. oualaniensis*) en picos que estaban rodeados de tejido de la masa bucal y algunos se encontraban más retraídos que otros.

Morfológicamente, los picos de *D. gigas* ($n=11$) presentan un rostro en la región frontal de la mandíbula superior, así como una protuberancia bien marcada en la zona media frontal de la mandíbula inferior. Estas características no se observaron en los picos de *S. oualaniensis* ($n=5$) (Figura 15). No fue posible realizar mediciones de las mandíbulas a pesar de que se intentaron diversos métodos para eliminar el tejido circundante. El mismo tamaño de los picos fue un problema al no poder manipularlos con precisión. Sin embargo, es recomendable realizar la medición de cada pico como en Martínez *et al.* (2002) para determinar cuantitativamente si hay diferencias interespecíficas.

La ventaja que presentan estas estructuras reside en el hecho de que son rígidas y menos susceptibles a daños, sin embargo, las observaciones de las diferencias previamente mencionadas se tienen que realizar por microscopio electrónico de barrido, lo cual no es útil cuando la identificación precisa de realizarse en campo.

Brazos

Denticiones de las ventosas de los brazos

Se intentó realizar el conteo de las denticiones de las ventosas de los brazos de manera sistemática. Sin embargo, esto no fue posible debido a que la visualización de las ventosas se veía limitada por la dificultad de colocar a los brazos en la posición deseada durante el proceso de deshidratación, previo al montaje en la placas de aluminio para microscopía electrónica de barrido. De tal manera que las observaciones realizadas son tan sólo descriptivas a distintas tallas y en distintas ventosas de los brazos, lo cual no permite determinar si hay o no diferencias significativas en el número de denticiones entre ambas especies.

Tanto en *D. gigas* como en *S. oualaniensis* las ventosas de los brazos presentan similitud en la forma de las denticiones y en los compartimentos donde se encuentran las mismas (Figura 16; Tabla II y III). No obstante, se observó un aumento en el número de denticiones en la línea externa en especímenes de mayor talla, lo cual coincide con lo reportado por Wakabayashi *et al.* (2002) al comparar a *Eucleoteuthis luminosa* y *Ornithoteuthis volatilis* en estadio Rhynchoteuthion

Proboscis

Las paralarvas analizadas de *D. gigas* mostraron un valor promedio de LPi=56.3% \pm 28% (n=133; Figura 17a, 18a) entre los 0.6 y 6.0 mm de LM. Pero presentaron un crecimiento irregular de LP, con crecimiento hasta los 3-4 mm de LM, disminución a los 5-6 mm de LM y de nuevo incremento a partir de los 6-7 mm de LM. Al respecto, Yatsu *et al.* (1999) cubrió una parte del espectro de las distintas LM y reportó que en *D. gigas* el LPi

aumenta gradualmente de 20% en el día de la eclosión al 40-60% en el séptimo día después de la eclosión.

En las paralarvas *S. oualaniensis*, la LP (mm) incrementó hasta los 4-5 mm de LM y disminuyó a partir de los 5-6 mm de LM, 1 mm antes que lo reportado por Shea (2005), quien menciona que la disminución de la LP a partir de los 6 mm de LM se debe a la separación y no a la preservación. Las Rhynchoteuthion del presente estudio tuvieron un LPi del 22.3% al 107.3% ($x=66.4\% \pm 18.1\%$; $n=22$) en especímenes de entre 1.4 y 6.3 mm de LM (Figura 17b y 18b), menor que el reportado por Harman y Young (1985) de $81\% \pm 25\%$ (49%-134%; $n=94$). Ambos valores promedio de LPi son mayores en *S. oualaniensis* que en *D. gigas* pero no presentan diferencias estadísticas significativas ($p<0.05$) interespecíficamente.

Las 8 ventosas en el extremo distal son de tamaño similar en ambas especies, como se ha mencionado en estudios previos (Harman y Young, 1985; Yatsu *et al*, 1999; Shea, 2005; Camarillo-Coop, 2006).

El APi para *D. gigas* ($x=14.3\% \pm 4.83\%$) en especímenes de 0.6 a 6.0 mm de LM (Figura 17c, 18a) disminuyó en especímenes de mayor LM, del 19% a los 0-1 mm de LM hasta 6.7% a los 6-7 mm de LM. De igual forma, en especímenes *S. oualaniensis* de 1.4 a 6.3 mm de LM, el APi ($x=11.82\% \pm 3.2\%$; Figura 17d y 18b) presentaron la misma tendencia, con valor máximo de 18.5% a los 1.4 mm de LM y mínimo de 6.02% a los 5.6 mm de LM.

En el presente estudio se encontró que en *S. oualaniensis*, el diámetro de tentáculo (DT) mínimo es de 0.16 mm a los 3.3 mm de LM y máximo de 0.35 mm a los 4.2 mm de LM. Shea (2005) encontró que el DT en esta especie cambia significativamente entre los 2-3

mm de LM y los 5-6 mm de LM. En *D. gigas*, el menor DT=0.10 mm se registró a los 3.7 mm de LM y el mayor DT=0.25 mm a los 4.2 y 4.4 mm de LM (Figura 17e,17f, 18a y 18b). El DT presentó diferencias estadísticas significativas ($p<0.05$) entre especies, sin embargo, las mediciones de esta estructura se obtuvieron a partir de tamaños de muestra reducidos (18 *D. gigas* y 16 *S. oualaniensis*), por lo cual sería conveniente incrementar el tamaño de muestra para dar mayor certeza estadística de dicha diferencia.

En estudios anteriores la longitud de proboscis ha sido usada como carácter taxonómico para diferenciar a *D. gigas* de *S. oualaniensis*, pero en el presente estudio se observó que las paralarvas vivas de *D. gigas* tienen la capacidad de proyectar la proboscis incluso en un 100% de su longitud, por lo cual no debe considerarse esta característica para discernir entre las especies en cuestión (Anexo VIII), incluso la proboscis es una de las estructuras más susceptibles a daños debido a su pequeño grosor y flexibilidad del tejido.

División de la proboscis

La primera división de proboscis (DP) en *D. gigas* se registró a los 3.1 mm de LM y dicha división midió 0.18 mm (DPi=5.7%), la máxima DP fue de 0.4 mm (DPi=11.1%) a los 3.6 mm de LM y a los 4.2 mm de LM, la menor DP detectada fue de 0.08 mm (DPi=2.4 %) a los 3.4 mm de LM. Los promedios por grupos de talla del DPi muestran que hay una disminución de los 3-4 mm de LM a los 4-5 mm de LM, pero ocurre un incremento a los 5-6 mm de LM y vuelve a disminuir a los 6-7 mm de LM. No se observó la completa división de la proboscis (Figuras 19 y 20).

Respecto a *S. oualaniensis*, en el presente estudio se registró el inicio de la división a los 2.6 mm de LM (DPi=12.3%=0.3 mm). Los pocos especímenes que presentaron división

de proboscis no permiten determinar una tasa de división de la misma. Incluso, en ningún caso se observó la completa separación de la proboscis (Figuras 20 y 21). Pero Harman y Young (1985) y Shea (2005) observaron que la división de la proboscis comienza a los 3.0-5.0 mm de LM y se completa en especímenes de entre 7.6 y 10.0 mm de LM con un incremento de DP de 0 a 1.23 ± 0.04 mm y del ADP (ancho de la división de la proboscis) de 0 a 0.69 ± 0.09 mm en especímenes de 0 a 7 mm de LM.

La división de la proboscis también puede ser un carácter muy variable ya que depende de la longitud de la proboscis y como se mencionó anteriormente, ésta tiene la capacidad de proyectarse hasta en un 100% afectando así al DPi. Suponiendo que el crecimiento de la proboscis sea homogéneo a lo largo de toda la estructura hasta los 5 mm de LM (Shea, 2005), entonces el porcentaje de la división de la proboscis (DP) respecto a la longitud de la proboscis (LP), denominado PDPi puede ser un índice más representativo y comparable entre especies sólo hasta los 5 mm de LM debido a que ambas medidas llevan implícitas la variación propia del incremento o decremento de la longitud de la proboscis por efecto de la proyección (Figuras 20c y 20d). De tal forma que el PDPi de *D. gigas* fue mayor ($10.5\% \pm 4.1\%$ en especímenes de entre 3.1 y 6.0 mm de LM) que en *S. oualaniensis* ($3.8\% \pm 3.9\%$ en especímenes de entre 2.6 y 6.3 mm de LM), aunque no hubo diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) entre ambas especies.

En el presente estudio, se observó que el ADP aumentó de 0 a 0.46 ± 0.11 mm ($7.5\% \pm 2.3\%$; Figura 21), menor que lo reportado por Shea (2005), quien observó que el ADP incrementó de 0 a 0.69 ± 0.09 mm.

No se observó la separación completa de la proboscis. No obstante, se han reportado dos mecanismos de separación de la proboscis en distintas especies de la familia

Ommastrephidae. Shea (2005) observó la división de la base hacia el extremo distal, con reabsorción de las 8 ventosas distales originales, lo cual parece ser una característica de la subfamilia Ommastrephinae. En cambio, Forch (1986), en especies de la familia Ommastrephidae describió que la proboscis presenta un surco longitudinal por donde ocurre la división, este surco fue detectado en el presente estudio. La proboscis se divide a partir de la base, y el extremo distal de la proboscis tiene unas aurículas que se extienden lateralmente mientras incrementa la LM, en las aurículas se desarrollan brotes de ventosas más pequeñas que las 8 iniciales, las cuales mantienen su integridad, forma y orientación hasta el último momento de la separación.

Denticiones de las ventosas de la proboscis

Este es el primer estudio que analiza las denticiones de las ventosas de la proboscis en *D. gigas*, y se encontró que las 8 ventosas (Figura 22) tienen en promedio 10.4 (9.0-11.8) denticiones internas y 13.2 (11.3-15.0) denticiones externas en especímenes de 1.4 a 4.6 mm de LM.

En *S. oualaniensis* se detectaron en promedio 11.4 (9.5-13.3) denticiones internas y 12.3 (10.5-14.0) denticiones externas en especímenes de 1.4 a 4.7 mm de LM. Harman y Young (1985) también realizaron el conteo de denticiones diferenciando entre ventosas laterales y medias, pero si no se hubieran diferenciado tendrían en promedio 10.5 denticiones internas y 16.5 denticiones externas. Siendo menor la cantidad de denticiones internas pero mayor las denticiones externas que las registradas en el presente estudio. Sin embargo, el número de denticiones internas y externas entre especies no presenta diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$).

Fotóforos

En el presente estudio no se observaron fotóforos oculares ni viscerales en *D. gigas* en tallas de 0.6 a 6.0 mm de LM, lo cual concuerda con Yatsu *et al.* (1999) y Yatsu (1999, reporte preliminar) quien tampoco observó fotóforos en los ojos o intestinos en las *Rhynchoteuthion* de 3.5-5.5 mm de LM. En *S. oualaniensis*, Harman y Young (1985) observaron un fotóforo en la superficie ventral de cada ojo, y a partir de los 4.0 mm de LM un par de fotóforos viscerales entre el intestino y la glándula digestiva, uno cerca del ano y el otro cerca de la curva posterior del intestino, el cual es difícil de ver. Por su parte Yatsu (1999, reporte preliminar) reportó que los especímenes más pequeños de *S. oualaniensis* con fotóforos oculares y viscerales fueron de 2.5 y 2.1 mm de LM respectivamente.

Éstas observaciones se registraron a tallas considerablemente más pequeñas que las reportadas anteriormente por Sweeney *et al.* (1992) a <3.5-4.0 mm LM, donde se menciona que el fotóforo visceral anterior aparece primero y el fotóforo visceral posterior se observa a partir de los 4.5 mm de LM. Sin embargo, en el presente estudio se observaron los fotóforos oculares a partir de los 1.8 mm de LM, aunque no fue posible observar el fotóforo visceral posterior sino a partir de los 5.6 mm de LM (Figuras 25 y 26).

Roper y Lu (1978) mencionan que los fotóforos oculares en *S. oualaniensis* son susceptibles a perderse por efecto del muestreo o la manipulación, por lo cual generalmente no se observan sino sólo una porción de tejido descubierta, rodeada por epitelio reflectivo que permanece sobre el ojo. La observación de los fotóforos oculares y viscerales en organismos fijados en formol al 4% o en etanol al 99% no es fácil, en ocasiones es posible detectarlos si se modifica la intensidad de la luz. Aun así, generalmente esto es complicado, por tal razón es recomendable realizar las observaciones en organismos vivos. Con ayuda de

lámparas de luz azul y filtros naranja (www.nightsea.com) es posible apreciar los fotóforos, incluso aun cuando el espécimen murió recientemente.

Con base en las observaciones realizadas en especímenes de entre 0.6 a 6.0 mm de LM, es posible diferenciar a *D. gigas* de *S. oualaniensis* por la presencia/ausencia de fotóforos oculares y viscerales, a reserva de que el método de preservación afecte el tejido de dichas estructuras, ya que todas las paralarvas *D. gigas* se preservaron en etanol al 99% y las de *S. oualaniensis* en formol al 4% y posteriormente se pasaron a etanol al 75%. Incluso, a pesar de que en *D. gigas* no se observaron fotóforos en estadio Rhynchoteuthion, Nigmatullin *et al.* (2001) los observó en juveniles pequeños y Gilly *et al.* (2006) reportaron 2 paralarvas preservadas en formol (8 mm de LM) con fotóforos oculares, pero con fotóforos viscerales que no eran totalmente evidentes. Argumentando que este tipo de ambigüedades aumenta la posibilidad de variación en el tiempo de desarrollo de los fotóforos en *D. gigas* y apunta directamente a la necesidad de análisis morfológicos y moleculares en especímenes individuales.

Cromatóforos

Con las paralarvas vivas de *D. gigas*, se observó que los cromatóforos eran amarillos en el manto y se tornaban naranja o café en la cabeza después de la eclosión. Los pigmentos rojos se observaron frecuentemente a los costados del sifón y en el manto, principalmente a partir de los 3.5 mm de LM. Yatsu (1999; reporte preliminar) observó pigmentos amarillos que se vuelven rojizos en *D. gigas*, y Forch (1986) reportó cromatóforos café rojizos en la cabeza y manto de otras especies de la familia Ommastrephidae.

Todos los cromatóforos de la cabeza en *S. oualaniensis* fueron de color café, a

diferencia de lo mencionado por Harman y Young (1985); pero es importante mencionar que las paralarvas analizadas fueron preservadas en formol al 4% con un posterior cambio a etanol 75% y así se mantuvieron por 15 años aproximadamente (Young, *Comm. Pers.*), lo cual pudo haber desvanecido a los pigmentos rojos.

Nesis (1979) y Okutani (1987) sugieren que el patrón de cromatóforos de la superficie dorsal de la cabeza y los pigmentos color carmín son caracteres útiles para la identificación de las paralarvas. No obstante, Young e Hirota (1990) mencionan que los cromatóforos rojos se desvanecen rápidamente en preservación y por lo tanto son de poca ayuda para la identificación.

En cuanto al patrón de cromatóforos, Forch (1986) menciona que la posición y orden de aparición de los cromatóforos dorsales y ventrales de la cabeza es similar en distintas especies de la familia Ommastrephidae. Sin embargo, en el presente estudio la cantidad de cromatóforos en la región dorsal de la cabeza y en el manto de ambas especies mostró diferencias. A pesar de esto, debe considerarse que esta estructura generalmente sufre de pérdida total o parcial de cromatóforos, ya sea porque se desgasta el epitelio (Forch, 1986) por la preservación o durante la manipulación.

Respecto al manto, se observó que a partir de los 3.9 mm de LM la cantidad de cromatóforos en la superficie dorsal y ventral incrementa considerablemente y no muestran un arreglo aparente (Tablas VI y VII; Figura 11), esto fue descrito por Yatsu (1999; reporte preliminar) en esta especie pero a 3.5-4.0 mm de LM. La presencia de un solo cromatóforo en medio de las aletas también fue reportada por Forch (1986) para otras especies (probablemente *Nototodarus sloani* y *N. gouldi*: Ommastrephidae) en aguas de Nueva Zelanda.

Análisis de componentes principales y de funciones discriminantes

Los análisis de componentes principales y de funciones discriminantes indican que el ABCi, LCi/ABCi, LCi, DOi y DOi/LCi aportan el 72.2% de la variación morfométrica entre *D. gigas* y *S. oualaniensis*, sin embargo dichos índices presentan valores de Lambda de Wilk de entre 0.60 y 0.618 (Tablas VIII, IX y X). La lambda de Wilk es un valor entre 0 y 1 que representa la variación de los datos que no es explicada por el efecto de los niveles del factor (Zar, 1999). Valores pequeños de lambda (<0.5) indican que la variación de los índices no es significativa como para permitir la diferenciación entre ambas especies.

Aunque los valores de lambda de Wilk obtenidos son >0.5 , siguen siendo bajos como para considerar a los índices determinantes en la diferenciación morfométrica de ambas especies. Esto se puede deber al hecho de que se está haciendo la comparación de 133 paralarvas *D. gigas* contra 22 paralarvas *S. oualaniensis*, las últimas no alcanzan el tamaño de muestra mínimo estadístico necesario ($n=30$) y la variancia de cada índice tiende a ser elevada, es por eso que la gráfica de dispersión (Figura 27) muestra el traslape de 11 *Rhynchoteuthion* de ambas especies, aún cuando se observa una tendencia a la separación. Por lo cual se sugiere aumentar el tamaño de muestra en estudios posteriores. A pesar de los bajos valores de lambda de Wilk, se logró clasificar correctamente al 96.9% de las *Rhynchoteuthion D. gigas* y al 68.2% de las paralarvas *S. oualaniensis* (Tabla XIII).

La distancia cuadrada de Mahalanobis indica la similitud entre los especímenes de ambas especies, en este caso presentan un valor de 5.9 ($F=10.5$, $p<0.5$; Tabla XI). Considerando la localidad de origen de la paralarvas, se tiene que hay mayor similitud entre *D. gigas* (COPBC) (Mahalanobis=5.2, $F=8.406$, $p<0.5$) y *S. oualaniensis* (H), que entre *D. gigas* (BSR) y *S. oualaniensis* (H) (Mahalanobis=21.7, $F=32.17$, $p<0.5$; Tabla XII).

Prueba de esto es el elevado porcentaje de clasificación por localidad (Tabla XIV), donde el 96.4% de *D. gigas* se clasifica correctamente como proveniente de BSR, el 94.8% se clasifica correctamente como *D. gigas* proveniente de la COPBC y el 72.7% de *S. oualaniensis* como proveniente de la zona de Hawaii. Como se puede apreciar, 3 de 4 especímenes (3.8%) *D. gigas* (COPBC) clasificados dentro de otro grupo aparecen dentro de *S. oualaniensis* (H), y los 6 especímenes (27.3%) *S. oualaniensis* (H) clasificados dentro de otro grupo aparecen dentro de *D. gigas* (COPBC), debido a la similitud morfométrica que existe entre las paralarvas de ambas especies en el Pacífico.

Esto refuerza la teoría de que el desarrollo de las paralarvas esté determinado en parte por las condiciones del cuerpo de agua en el cual se encuentran, tales como temperatura, surgencias, productividad y disponibilidad de alimento. Martínez *et al.* (2002) menciona que los caracteres morfométricos pueden estar influenciados interespecíficamente e incluso intraespecíficamente por variables ambientales, causando variaciones morfométricas en el crecimiento de estructuras rígidas y blandas (Neige y Boletzky, 1997; O'Dor y Lipinski, 1998; Roper y Mangold, 1998).

O'Dor y Lipinski (1998) resaltan dos hipótesis sobre la diferencia en el crecimiento dependiendo de las condiciones ambientales, éstas son la existencia de diferencias genéticas entre especies, provocando diferencias morfológicas debido a la temperatura. Otra hipótesis sugiere que la diferencia de temperaturas causa variación en los caracteres al alterar patrones de crecimiento.

Los mismos autores encontraron que en especímenes *Illex coindetti* del Mediterráneo y de edad conocida, existe evidencia de que las distintas temporadas producen calamares que difieren en el tamaño máximo, peso a determinada talla y talla de madurez. Esto

probablemente refleja distintos regímenes de temperatura a pesar de que los calamares pueden mantener temperaturas constantes al variar su distribución vertical, y se sugiere que los grupos de desove de distintas temporadas están lo suficientemente aislados genéticamente que exhiben distinto crecimiento y patrones de maduración a pesar de la temperatura. Mencionan que esto podría ser clarificado al analizar secuencias de ADN o ARN que no sean alteradas por temperatura. También a través de la reconstrucción de la historia térmica de los individuos a partir del análisis de la composición de estatolitos; o a partir de la relación de O^{18}/O^{16} (Margosian *et al.*, 1987) y Sr/Ca (Radtke *et al.*, 1990), aunque su aplicación en cefalópodos ha sido limitada (Jackson, 1993; Young, 1993; Rodhouse *et al.*, 1994).

Análisis genético

El análisis de secuencias confirmó la presencia de paralarvas Rhynchoteuthion de *D. gigas* y de *E. luminosa*, así como la ausencia de *S. oualaniensis* en la costa occidental de la península de Baja California. Morfológicamente es posible diferenciar a *E. luminosa* debido a que presenta las ventosas laterales de la proboscis más grandes que las 6 restantes, así como un fotóforo visceral de mayor tamaño. No obstante, las paralarvas pueden estar muy deterioradas por el método de colecta o por la manipulación dificultando usar éstos caracteres para su diferenciación. Por tal razón, se decidió considerar a esta especie en el análisis genético.

Con base en el porcentaje de diferencias pareadas del análisis de distancias interespecíficas, se encontró que el fragmento de 369 pb de *E. luminosa* muestra mayor similitud con el de *S. oualaniensis* (0.103-0.113), menor que el valor reportado (0.133) por

Wakabayashi *et al.* (2006) basado en el promedio de diversidad de la secuencia de nucleótidos; mientras que el de *D. gigas* tiene mayor disimilitud con el de *E. luminosa* (0.140). Por su parte, Gilly *et al.* (2006) mencionan que las secuencias publicadas para *S. oualaniensis* difieren de su secuencia canónica de *D. gigas* por 0.130 (80 pb) y Carlini y Graves (1999) reportaron un valor de 0.150.

Intraespecíficamente, *D. gigas* muestra la menor disimilitud entre secuencias (0.003), aunque se han reportado valores aún menores (0.001) (Gilly *et al.*, 2006), seguido de *S. oualaniensis* (0.003 y 0.005), cuyos valores son menores que el 0.014 registrado por Wakabayashi *et al.* (2006); y finalmente *E. luminosa* (0.005). Sólo *H. pelagica* y *E. luminosa* mostraron mayor similitud tanto con *D. gigas* como con *S. oualaniensis* respectivamente, sin embargo es importante mencionar que éste análisis se realizó con las secuencias de Ommastreíidos disponibles en el GenBank, y como se puede apreciar tan sólo se consideraron 2 secuencias de *H. pelagica* (Tabla XVI). Por lo cual, es necesario aumentar el número de secuencias de ésta y de las demás especies permitiendo evidenciar con mayor certeza las distancias intra e interespecíficas.

A pesar de que Wakabayashi *et al.*, (2006) mostró que las endonucleasas *Alu I* y *Tsp509* producen perfiles de restricción diagnósticos para discriminar a *O. bartramii*, *S. oualaniensis*, *E. luminosa* y *H. pelagica*, no se había considerado a *D. gigas*. Por lo tanto, en el presente estudio, a partir de los 3 sitios informativos que presentaron *D. gigas*, *S. oualaniensis* y *E. luminosa* en la secuenciación del gen COI, fue posible diferenciar con la endonucleasa *Hae III*, que produce fragmentos de 162 y 395 pb en *D. gigas*, de 217 y 340 pb en *E. luminosa* y no presenta sitio de corte en *S. oualaniensis* (Tabla XVII, figura 28). En teoría, la endonucleasa *Alu I* también permite diferenciar a las 3 especies, pero produce

perfiles de restricción cuyas diferencias son poco perceptibles por la cercanía de las bandas en la electroforesis en agarosa.

Comparación de métodos de identificación

Los 3 métodos de identificación presentaron ventajas y limitaciones que dependen de las condiciones en las que se encuentran las muestras. Por el análisis morfológico sólo se encontraron diferencias en los picos y en la presencia/ausencia de fotóforos. Los fotóforos son posibles de observar en un estereoscopio y es necesario modificar la iluminación, también es conveniente contar con una lámpara de luz azul cuando las paralarvas están vivas o recién han muerto. Estas observaciones pueden llevar menos de 10 minutos. La observación de las ornamentaciones del pico requiere el uso de microscopía electrónica de barrido, para lo cual es necesario todo un proceso de preparación y montaje de las muestras, los costos pueden ser elevados y no hay garantía de que se observen completamente los picos si es que se encuentran aún en el organismo. La limpieza de los picos y su manipulación presenta mayores dificultades por el tamaño de los mismos, por lo cual se requiere de varias horas para poder realizar las observaciones pertinentes.

El método morfométrico permitió clasificar correctamente al 96.9% de los especímenes *D. gigas* y al 68.2% de los especímenes *S. oualaniensis*. Éstos son buenos porcentajes de correcta clasificación. Sin embargo, éste método no puede usarse cuando las paralarvas se encuentran en mal estado. Si las paralarvas no sufrieron daños por el método de colecta entonces requieren una relajación previa a su fijación/preservación y bajo estas condiciones las mediciones de éstas estructuras pueden realizarse en cuestión de minutos. No obstante, debe tenerse mucho cuidado en la aplicación de éste método en individuos de

distinto tamaño (Voight, 1991a,b), estados de madurez y que provengan de distintas regiones (Roeleveld, 1990), debido a que tales caracteres pueden reflejar el crecimiento estacional, estado nutricional y de madurez, y no ser útiles al intentar entender la dinámica poblacional y el reclutamiento (O'Dor y Lipinski, 1998).

El análisis genético por RFLP's (endonucleasa *Hae III*) genera perfiles de restricción únicos en *D. gigas*, *S. oualaniensis* y *E. luminosa* en la región analizada de 369 pb del gen mitocondrial COI, por lo que permite la identificación no ambigua de estas especies, provee mayor certeza que los dos métodos anteriores e implica menor costo que el análisis por secuenciación. No requiere que las paralarvas se encuentren en buen estado físico, pero es indispensable que sean preservadas en etanol al $\geq 75\%$. Este proceso puede requerir menos de 12 horas para identificar específicamente a 20 individuos (Anexo IX).

Distribución y abundancia

En el presente estudio, se encontraron por primera vez paralarvas *Rhynchoteuthion* en la Bahía de Santa Rosalía, B.C.S., lo cual coincide con el área de pesca de *D. gigas*. Las 83 paralarvas encontradas en el mes de Agosto del 2003 sugieren que se colectó al menos una porción de un desove. Sin embargo, la presencia de paralarvas *Rhynchoteuthion* a lo largo del 2003 y 2004 coincide con lo reportado por Markaida (2001).

En la Costa Occidental de la Península de Baja California durante enero-febrero del 2005, *D. gigas* presentó abundancias muy bajas (1 a 15 PI/1000 m³) cercanas a Punta Abreojos y abundancias bajas (16 a 63 PI/1000 m³) en la franja centro y sur del Golfo de Ulloa dentro de las primeras 108 millas náuticas (mn) a partir de la costa. Similar a lo encontrado por Camarillo-Coop (2006) en los mismos meses pero en 1998, dentro de las

primeras 135 mn y más cercana al área de Punta Eugenia.

En julio-agosto de 2005 las Rhynchoteuthion de *D. gigas* se encontraron principalmente entre Punta Abreojos y San Carlos con abundancias muy bajas (1 a 15 PI/1000 m³) a bajas (16 a 63 PI/1000 m³) dentro de las primeras 108 mn. Dos estaciones positivas ocurrieron frente a Punta Eugenia, donde las abundancias fueron muy bajas (1 a 15 PI/1000 m³) dentro de las primeras 162 mn a partir de la costa. En contraste con las abundancias bajas (16 a 63 PI/1000 m³) y altas (1024-4095 PI/1000 m³) reportadas por Camarillo-Coop (2006) frente a Punta Eugenia dentro de las primeras 135 mn a partir de la costa. No obstante, en ambos estudios se registraron las mayores abundancias en esta temporada del año.

Yatsu (1999) colectó paralarvas de *D. gigas* en una sola estación en las aguas de Costa Rica, dentro de las primeras 100 mn en el norte y 200 mn en el Sur y observó que en general las paralarvas de *S. oualaniensis* con arrastres oblicuos se encontraban localizadas más alejadas de la costa que *D. gigas*. Por su parte, Nesis (1970, 1983) encontró que las paralarvas de *D. gigas* se encuentran confinadas dentro de las primeras 200-300 mn de la costa. Esto es consistente con el hecho de que en el presente estudio las Rhynchoteuthion de *D. gigas* se encontraron principalmente dentro de las primeras 162 mn, con presencia esporádica entre las 162 y 200 mn (Figura 30).

Yamaguchi y Okutani (1990) analizaron la distribución de juveniles de *D. gigas* y *S. oualaniensis* (15.5-18.8 mm LM) y mostraron que *S. oualaniensis* prevalece en el límite de las 200 mn entre Perú y el norte de Chile. Probablemente ésta sea la causa por la cual no se encontraron Rhynchoteuthion de *S. oualaniensis* en la COPBC, ya que la zona de muestreo del Programa IMECOCAL no fue más allá de las 200 millas náuticas.

En el domo de Costa Rica, *D. gigas* fue colectado a 27.6 °C de temperatura superficial del mar y *S. oualaniensis* a 28.1-28.7 °C (arrastres oblicuos) o 27.6-29.1 °C (arrastres superficiales). En Perú, *D. gigas* fue registrado a 22.3-24.9 °C y *S. oualaniensis* de 23.9-26.6 (arrastres oblicuos) o desde 23.5-25.3 (arrastres superficiales). No obstante, Vecchione (1999) reportó abundancias extremas de Rhynchoteuthions de *S. oualaniensis* y *D. gigas* obtenidas con arrastres superficiales a 29 °C alrededor del Domo de Costa Rica durante el evento El Niño de 1987.

Las paralarvas de *D. gigas* colectadas en la costa occidental de la península de Baja California presentaron mayor abundancia (49.4 PI/1000 m³) a los 18.5 °C durante enero-febrero 2005, en julio-agosto la mayor abundancia (60.8 PI/1000 m³) se registró a los 21.5 °C y durante octubre se detectaron 27.9 PI/1000 m³ a 21.1°C (Figura 31). El promedio de las 3 temperaturas a las cuales se presentó la mayor abundancia de Rhynchoteuthion de *D. gigas* en los 3 cruceros IMECOCAL 2005 es igual a 20.4 °C, muy similar a la temperatura (20.5 °C) a la cual Camarillo-Coop (2006) registró las mayores abundancias de *D. gigas*. Sin embargo, en el presente estudio no hubo correlación entre la temperatura superficial del agua y la abundancia de paralarvas ($R^2=0.03$). Aunque es importante mencionar que debido a la naturaleza de los arrastres, no es posible determinar la profundidad exacta en la cual se encontraban las paralarvas, de tal forma que la temperatura superficial registrada puede no estar representando adecuadamente la influencia de la temperatura sobre la presencia de paralarvas.

Las Rhynchoteuthion de *S. oualaniensis* donadas por el Dr. Richard Young provienen de las costas de Hawaii pero se desconoce la posición exacta en la cual fueron colectadas. Al estudiar este estadio de *S. oualaniensis*, Young e Hirota (1990) registraron

una fuerte ocurrencia fuera de la costa (abundancia=8.4) respecto a estaciones costeras (abundancia=3.5) en aguas de Hawaii, y preferencia a aguas superficiales durante el día que durante la noche, aunque no mencionan la distancia de las estaciones de muestreo respecto a la costa.

Las altas abundancias de *S. oualaniensis* en aguas de Hawaii ocurren en la capa de mezcla, desde la superficie hasta los 20 m de profundidad (Young e Hirota, 1998); la temperatura y la capa de mínimo oxígeno debajo de la termoclina parecen limitar la profundidad de máxima abundancia de las paralarvas en el Pacífico Este tropical (Saltzman y Wishner, 1997; Vecchione, 1999).

Conclusiones

Las conclusiones se presentan en el orden en el cual se declararon los objetivos específicos de esta tesis:

Morfológicamente, sólo las paralarvas de *S. oualaniensis* mostraron fotóforos oculares (>1.8 mm de LM) y viscerales anterior y posterior (>3.0 mm de LM), esto coincide con estudios previos.

Morfométricamente, el índice de la longitud de la cabeza y el índice del ancho de la base de la cabeza, el coeficiente de la longitud de la cabeza/ancho de la base de la cabeza, el índice del diámetro de los ojos y el coeficiente del diámetro de los ojos/longitud de la cabeza

aportan cerca del 72.2% de la variación morfométrica entre las paralarvas de *D. gigas* y *S. oualaniensis* y permitieron diferenciar el 92.9% de las paralarvas analizadas.

El análisis morfométrico corroboró que las paralarvas provenientes de la Bahía de Santa Rosalía corresponden a *D. gigas*, lo cual coincide con el área de pesca de esta especie.

El análisis genético mostró que la endonucleasa *Hae III* permite distinguir a *D. gigas*, *S. oualaniensis* y *E. luminosa* a través de los perfiles de restricción del gen COI.

Aproximadamente el 86.3% de las paralarvas Rhynchoteuthion encontradas en la costa occidental de la Península de Baja California son *D. gigas* y el resto corresponde a *E. luminosa*.

Recomendaciones

El método de captura de las paralarvas de cefalópodos no ha permitido obtener organismos en buen estado morfológico, por lo cual es importante realizar los arrastres a menor velocidad o desarrollar una estrategia alternativa de muestreo.

El método de fijación debe ser lo menos agresivo posible ya que ésta es otra posible causa de la inversión de los mantos. En el presente estudio el 29.6% del total de muestras de la costa occidental del Pacífico de la Península de Baja California presentaron manto invertido, este es un problema mayor ya que a partir del manto se calculan todos los índices morfométricos, por lo cual es recomendable relajar a las paralarvas antes de la fijación final

con etanol al 75% o formol al 4% según sea el propósito del estudio. La relajación se puede realizar ya sea con etanol al 95% vertido lentamente hasta alcanzar una concentración al 0.5% o 1.0%, el agua fría también puede ser útil, sobretodo con especímenes tropicales. Al disminuir la salinidad gradualmente en un periodo de varias horas hasta que alcanza 17 a 18 UPS, por cloruro de magnesio isotónico con agua de mar en una concentración de 7.5 mg $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 92.5 mL de agua destilada más 100 mL de agua de mar (Roper y Sweeney, 1983).

Por lo anterior, es recomendable que las mediciones se efectúen a la brevedad, evitando con ello que las muestras se encojan desproporcionadamente por su inadecuada preservación, lo cual reduce la precisión en las lecturas.

Es importante renovar el preservador constantemente, esto evitará alterar su pH y dañar las muestras, lo cual es un inconveniente para fines genéticos por el daño al ADN y para fines morfológicos ya que afecta el tejido.

Aumentar el tamaño de muestra de cada especie. Estadísticamente está comprobado que un tamaño mínimo de 30 registros disminuye la variación de las lecturas realizadas, esto es indispensable ya que la desviación estándar de la media de cada índice considerado se reduciría y por consiguiente también disminuiría el traslape de las desviaciones estándar de los índices calculados para ambas especies, que a su vez posiblemente permita observar diferencias significativas y diferenciar a las especies analizadas.

Considerando el hecho de que las estructuras blandas son más susceptibles de daños, es conveniente incluir en el análisis morfométrico a las estructuras duras, en este caso el pico compuesto por quitina, así como desarrollar una técnica de montaje y medición adecuada (Anexo X) . En el presente estudio se intentó realizar este análisis pero no se tuvo

éxito inmediato en la digestión del tejido que rodea a esta estructura. La digestión se intentó con tripsina, hidróxido de sodio 1 M, cloro y ácido clorhídrico 1M hasta por 4 días pero no se observaron cambios. También se intentó la extracción manual (con pinzas de plancton no. 0.5) pero no fue posible sin romper o perder el pico.

Literatura citada

- Aljanabi, S.L. e I. Martínez. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*. Vol. 195. No. 22. 4692-4693.
- Álvarez-Borrego, S. 1983. Gulf of California. 427-449. *En: B. H. Ketchum (ed.). 1983. Ecosystems of the World: Estuaries and enclosed seas*. Elsevier Scientific Publishing Company. Holanda. 500 p.
- Álvarez-Borrego, S. y J. R. Lara-Lara. 1991. The physical environment and productivity of the Gulf of California. *En: Dauphin, J.P. y B. Simoneit (Eds.), The Gulf and Peninsular Province of the Californias. Amer. Assoc. Petrol. Geol. Mem., 47: 555-567.*
- Álvarez-Borrego, S., J. A. Rivera, G. Gaxiola-Castro, M. J. Acosta-Ruiz y R. A. Schwartzlose. 1978. Nutrientes en el Golfo de California. *Ciencias Marinas*. 5(2): 53-71.
- Amador-Buenrostro, A., M.L. Argote-Espinosa, M. Mancilla-Peraza y M. Figueroa-Rodríguez. 1995. Variaciones de periodo corto de la circulación anticiclónica en Bahía Sebastián Vizcaíno, B.C. *Ciencias Marinas*. 21: 201-223.
- Amos, W. y A.R. Hoelzel. 1991. Long-term preservation of whale skin for DNA analysis. *Report to the International Whaling Commission*. Special Issue 13: 99-103.
- Anuario Estadístico de Pesca. 2003. *Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México.*
- Arnold, J.M. y R.K. O'Dor. 1990. In vitro fertilization and embryonic development of oceanic squid. *Journal of Cephalopod Biology*. 1:21-36.
- Badan-Dangon, A., C.J. Koblinsky y T. Baumgartner. 1985. Spring and summer in the Gulf

- of California. *Oceanologica Acta*. Vol. 8. No. 1: 13-22.
- Barret, R.D.H. y P.D.N. Hebert. 2005. Identifying spiders through DNA barcodes. *Canadian Journal of Zoology*. 83: 481-491.
- Bazanov, S.I. 1987. On the cause of coexistence in mixed shoals of two sympatric epipelagic squids of the family Ommastrephidae in Southeastern Pacific. *Inform. Bull. Freshwater Biol.* 73, 48-51 (en Ruso). *En*: Nigmatullin, C.M., K.N. Nesis, A.I. Arkhipkin. 2001. A review on the biology of the jumbo squid *Dosidicus gigas*. *Fisheries Research*. 54:9-19.
- Beers, J.R. 1976. Volumetric methods. *En*: Steedman, H.F. (Ed). Zooplankton fixation and Preservation. *Monographs on oceanographic Methodology*. No. 4. UNESCO press. 84 p.
- Bray, N.A. 1988. Thermohaline circulation in the Gulf of California. *J. Geophys. Res.*, 93(C5): 4993-5020.
- Bray, N.A. y J.M. Robles. 1991. Physical oceanography of the Gulf of California. *En*: Dauphin, J. P. y B. Simoneit (Eds.), The Gulf and Peninsular Province of the Californias. *Amer. Assoc. Petrol. Geol. Mem.*, 47: 511-553.
- Camarillo-Coop, S. 2006. Variación espacio-temporal de paralarvas de calamares (Cephalopoda: Ommastrephidae) de importancia comercial en la costa occidental de la península de Baja California. Tesis de maestría. *IPN-CICIMAR*. 92 p.
- Carlini, D.B. y J.E. Graves. 1999. Phylogenetic analysis of cytochrome C oxidase I sequences to determine higherlevel relationships within the coleoid cephalopods. *Bull Mar Sci*. 64:57-76
- Cheslin, M.V. y V.YE. Giragosov. 1993. The egg mass and embryonic development of the

- purple squid *Sthenoteuthis oualaniensis* (the gigantic Arabian form) under experimental conditions. *Oceanology*. Vol. 33. No. 1: 98-101.
- De Wolf, H., T. Backeljau, S.V. Dongen y R. Verhagen. 1998. Large scale patterns of shell variation in *Littorina striata*, a planktonic developing periwinkle from Macronesia (Mollusca: Prosobranchia). *Marine Biology*. 131: 309-317.
- Ehrhardt, N.M., P.S. Jacquemin, F. García, G. González, J.M. López, J. Ortiz, A. Solís. 1983. On the fishery and biology of the giant squid *Dosidicus gigas* in the Gulf of California, Mexico. *FAO Fisheries Technical Paper No. 231*. 306-340 p.
- Ehrhardt, N.M., A. Solís, P. Jacquemin, J. Ortiz, P. Ulloa, G. Gonzáles y F. García. 1986. Análisis de la biología y condiciones del stock del calamar gigante *Dosidicus gigas* en el Golfo de California, México, durante 1980. *Ciencia Pesquera*, 5: 63-76.
- Fienberg, H. *in prep*. A Resolution to the Enigmatic Status of the “equatorial form” of *Sthenoteuthis oualaniensis*.
- Forch, E.C. 1986. Rhynchoteuthion larvae from New Zealand coastal waters (Cephalopoda: Ommastrephidae). *Vie et Milieu*. 36(3):177-183.
- Gaxiola-Castro, G., J. Garcia-Cordova, J.E. Valdez-Holguin y M. Botello-Ruvalcaba. 1995. Spatial distribution of chlorophyll and primary productivity in relation to winter physical structure in the Gulf of California. *Cont. Shelf. Res.*, 15(9): 1043-1059
- Gilbert, J.Y. y W.E. Allen. 1943. The phytoplankton of the Gulf of California obtained by the E. W. Scripps in 1939 and 1940. *J. Mar. Res.*, 5: 89-110.
- Gilly, W.F., C.A. Elliger, C.A. Salinas, S. Camarillo-Coop, G. Bazzino y M. Beman. 2006. Spawning by jumbo squid *Dosidicus gigas* in San Pedro Mártir Basin, Gulf of California, México. *Marine Ecology Progress Series*. Vol. 313: 125-133.

- Harman, R.F. y R.E. Young. 1985. The larvae of Ommastrephid squids (Cephalopoda, Teuthoidea) from Hawaiian waters. *Vie et Mille*. Vol. 35. No. 3/4. 211-222 p.
- Hatfield, E.M.C. y F.G. Hochberg. 2007. *Dosidicus gigas* northern range expansion events. *En: CalCOFI Annual Conference 2007*. November 26-28. Shedd Auditorium. Hubbs-SeaWorld Research Institute. San Diego, Cal. E.U.A. 12 p.
- Hewitt, R. 1980. Distributional atlas of fish larvae in the Current region: northern anchovy, *Engraulis mordax* (Girard) 1996-1979. *Calif. Coop. Oceanic. Fish. Invest. Atlas 28*. *En: Bautista-Romero, J. 1999. Distribución de larvas de peces de la Corriente de California, en los dominios temporal, espacial y térmico. CICIMAR-IPN. Tesis de maestría. La Paz, B.C.S., México. 75 p.*
- Hunstsman, S.A. y R.T. Barber. 1977. Primary production off the northwest Africa: the relationship to wind and nutrient conditions. *Deep-sea Res.* 24: 25-33.
- Ikeda, Y., Y. Sakurai y K. Shimazaki. 1993a. Fertilizing capacity of squid (*Todarodes pacificus*) spermatozoa collected from various sperm storage sites, with special reference to the role of gelatinous substance from oviducal gland in fertilization and embryonic development. *Invertebrate Reproduction and Development*. 23(1):39-44. *En: Watanabe, K., Y. Sakurai, S. Segawa y T. Okutani. 1996. Development of the ommastrephid squid *Todarodes pacificus*, from fertilized egg to Rhynchoteuthion paralarva. American Malacological Bulletin. 13(1/2): 73-88.*
- Ikeda, Y., Y. Sakurai y K. Shimazaki. 1993b. Maturational processes of the Japanese common squid, *Todarodes pacificus* in captivity. 179-187. *En: Sakurai, Y., R.E. Young, J. Hirota, K. Mangold, M. Vecchione, M.R. Clarke y J. Bower. 1995. Artificial fertilization and development through hatching in the oceanic squids *Ommastrephes**

- bartramii* and *Stenoteuthis oualaniensis* (Cephalopoda: Ommastrephidae). *The Veliger*. 38(3): 185-191.
- Jackson, G.D. 1993. In Round Table Discussion. *En*: T. Okutani, R.K. O'Dor y T. Kubodera, eds. *Recent advances in cephalopod fisheries biology*, p. 690, Tokyo, Tokai University Press. *En*: O'Dor, R.K. y M.R. Lipinski. 1998. The genus *Illex* (Cephalopoda: Ommastrephidae): characteristics, distribution and fisheries. *En*: Rodhouse P.G., E.G. Dawe, R.K. O'Dor (eds). Squid recruitment dynamics. The genus *Illex* as a model, the commercial *Illex* species and influences on variability. *FAO Fish Tech Pap* 376:1-12
- Jereb, P. y C.F.E. Roper (Eds.). 2005. Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of cephalopod species known to date. *FAO Species Catalogue for Fishery Purposes*. Rome, FAO. 1(4). 262 p.
- Klett, A. 1982. Jumbo squid fishery in the Gulf of California, Mexico. *En*: *Proceedings of the International Squid Symposium*, August 9-12. 1981, New-England Fisheries Development Found. Boston, Massachusetts. 81-100.
- Klug, W.S. y M.R. Cummings. 1996. *Essentials of genetics*. Prentice Hall. Segunda edición. E.U.A. 560 p.
- Kramer, D., M. Kalin, E. Stevens, J. Thrailkill y J. Zweifel. 1972. Collecting and processing data on fish eggs and larvae in the California Current region. National Oceanic and Atmospheric Administration. Technical Report NMFS circ.-370. USA. 38 pp.
- Kumar, S., K. Tamura, and M. Nei (2004) MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5:150-163.

- Lewin, B. 2004. *Genes VIII*. Pearson-Prentice Hall. E.U.A. 1027 p.
- Lluch-Belda, D. 1997. A proposal for IAI phase II research Biological Action Centers: Background. Antecedentes de trabajo en el taller “IAI-Phase I Workshop: Comparative studies on the physical and biological environments of upwelling temperate areas. Biological Action Centers (BAC)”. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIB)/ Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR), Inter.-American Institute for Global Change Research (IAI). La Paz, B.C.S. México. *En:* D. Lluch-Belda, J. Elorduy-Garay, S.E. Lluch-Cota y G. Ponce-Díaz (Ed). 2000. BAC. Centros de Actividad Biológica del Pacífico mexicano. CIB-CICIMAR-CONACYT. 99-110.
- Lluch-Cota, S.E., J. López-Martínez, J. Bautista-Romero, J.P. Arias-Aréchiaga, L. Brito-Castillo, E. Alcántara-Razo y E. Meza-Chávez. 1998. Variabilidad temporal de las surgencias por viento en la costa continental del Golfo de California. *Informe Técnico Interno*. 17 p.
- Mann, K.H. y J.R.N. Lazier. 1996. *Dynamics of marine ecosystems. Biological-physical interactions in the oceans*. 2da. ed. Blackwell Science. E.U.A. 394 pp.
- Marinone, S.G. y M.F. Lavín. 1997. Mareas y corrientes residuales en el Golfo de California. *En:* M.F. Lavín, editor. Contribuciones a la Oceanografía física en México. Monografía No. 3. Unión Geofísica Mexicana. 113-139.
- Margosian, A., F.C. Tan, D. Cai, y K.H. Mann. 1987. Seawater temperature records from stable isotope profiles in the shell of *Modiolus*. *Estuarine Coastal Shelf Sci.*, 25: 81–89. *En:* O’Dor, R.K. y M.R. Lipinski. 1998. The genus *Illex* (Cephalopoda: Ommastrephidae): characteristics, distribution and fisheries. *En:* Rodhouse P.G., E.G. Dawe y R.K. O’Dor (eds). Squid recruitment dynamics. The genus *Illex* as a model, the

- commercial *Illex* species and influences on variability. *FAO Fish Tech Pap* 376:1–12
- Markaida, U. y O. Sosa-Nishizaki. 2001. Reproductive biology of jumbo squid *Dosidicus gigas* in the Gulf of California, 1995-1997. *Fisheries Research*. 54: 63-82.
- Martínez, P., A. Sanjuan y A. Guerra. 2002. Identification of *Illex coindetii*, *I. illecebrosus* and *I. argentinus* (Cephalopoda: Ommastrephidae) throughout the Atlantic Ocean; by body and beak characters. *Marine Biology*. 141:131-143.
- Masuda, S., K. Yokawa, A. Yatsu y S. Kawahara. 1998. Growth and population structure of *Dosidicus gigas* in the southeastern Pacific ocean, in *Large Pelagic Squids* (ed. T. Okutani), Japan Marine Fishery Resources Research Center, Tokyo. 107-118. *En: Yatsu, A., R. Tafur y C. Maravi*. 1999. Embryos and Rhynchoteuthion paralarvae of the jumbo flying squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda) obtained through artificial fertilization from Peruvian waters. *Fisheries Science*. 65(6). 904-908.
- Méndez-Tenorio, F.J. 2001. Análisis biológico pesquero del camarón *Litopenaeus stylirostris* y *Farfantepenaeus californiensis* en la parte central y sur del Golfo de California durante las temporadas de pesca de 1994/1995 y 1995/1996. Tesis de licenciatura. *IPN*. 82 pp.
- Morales-Zárate, M.V., S.E. Lluch-Cota, D. Vitolina y E. Muñoz-Mejía. 2000. Comparación entre zonas de alta actividad biológica en la costa occidental de Baja California: Punta Eugenia y Punta Baja. *En: D. Lluch-Belda, J. Elorduy-Garay, S.E. Lluch-Cota y G. Ponce-Díaz* (Ed). 2000. BAC. Centros de Actividad Biológica del Pacífico mexicano. *CIB-CICIMAR-CONACYT*. 99-110.
- Neige, P. 2006. Morphometrics of hard structures in cuttlefish. *Vie et Milieu*. Life & Environment. 56(2). 121-127.

- Neige, P. y Sv. Boletzky. 1997. Morphometrics of the shell of three *Sepia* species (Mollusca: Cephalopoda): intra and interspecific variation. *Zool Beitr NF* 38[Suppl 2]:137–156
- Nesis, K. N. 1970. The biology of the giant squid of Peru and Chile, *Dosidicus gigas*. *Oceanology*, 10(1): 108-118. *En*: Nigmatullin, C.M., K.N. Nesis, A.I. Arkhipkin. 2001. A review oh the biology of the jumbo squid *Dosidicus gigas*. *Fisheries Research*. 54:9-19
- Nesis, K.N. 1979. Squid larvae of the Family Ommastrephidae (Cephalopoda). *Zoologicheskii Zhurnal* 58:17-30 (In Russian with English abstract). *En*: Nigmatullin, C.M., K.N. Nesis, A.I. Arkhipkin. 2001. A review oh the biology of the jumbo squid *Dosidicus gigas*. *Fisheries Research*. 54:9-19
- Nesis, K.N. 1983. *Dosidicus gigas*. *En*: Boyle PR (ed) *Cephalopod life cycles, vol 1: species accounts*. Academic Press. E.U.A. 215-231.
- Nigmatullin Ch. M. y T.S. Dubinina. *En*: Nigmatullin, C.M., K.N. Nesis, A.I. Arkhipkin. 2001. A review oh the biology of the jumbo squid *Dosidicus gigas*. *Fisheries Research*. 54:9-19
- Nigmatullin, Ch. M. y V. V. Laphikhovsky. 1994. Reproductive strategies in the squids of the family Ommastrephidae (preliminary report). *Ruthenica*, 4(1): 79-82.
- Nigmatullin, Ch.M., V. V. Laptikhovsky, N. Mokrin, R. Sabirov, y U. Markaida. 1999. On life history traits of the jumbo squid *Dosidicus gigas*. *En*: Tresierra-Aquilar, A.E. y Z. G. Culquichicón-Malpica (Eds.), VIII Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar, Oct. 1999, Trujillo, Peru. *Libro de Resúmenes Ampliados*, vol. 1: 291.
- Nigmatullin, C.M., K.N. Nesis, A.I. Arkhipkin. 2001. A review oh the biology of the jumbo

- squid *Dosidicus gigas*. *Fisheries Research*. 54:9-19
- O'Dor, R.K., P. Helm y N. Balch. 1985. Can Rhynchoteuthion suspension feed? (Mollusca: Cephalopoda). *Vie Milieu*. 35(3/4):267-271
- O'Dor, R.K. y M.R. Lipinski. 1998. The genus *Illex* (Cephalopoda: Ommastrephidae): characteristics, distribution and fisheries. *En: Rodhouse P.G., E.G. Dawe, R.K. O'Dor (eds). Squid recruitment dynamics. The genus Illex as a model, the commercial Illex species and influences on variability. FAO Fish Tech Pap 376:1-12*
- Okutani, T. 1987. Juvenile morphology. 33-44 pp. *En: Boyle, P.R. (Ed.) Cephalopod Life Cycles Vol. 2, Academic Press, London.*
- Owen, R.W. 1980. Eddies of the California Current System: physical and ecological characteristics. *En: Bautista-Romero, J. 1999. Distribución de larvas de peces de la Corriente de California, en los dominios temporal, espacial y térmico. CICIMAR-IPN. Tesis de maestría. La Paz, B.C.S., México. 75 p.*
- Radtke, R.L., D.W. Townsend, S.D. Folson, y M.A. Morrison. 1990. Strontium:calcium concentration ratios in otoliths of herring larvae as indicators of environmental histories. *Env. Biol. Fishes*, 27: 51-61. *En: O'Dor, R.K. y M.R. Lipinski. 1998. The genus Illex (Cephalopoda: Ommastrephidae): characteristics, distribution and fisheries. En: Rodhouse P.G., E.G. Dawe y R.K. O'Dor (eds). Squid recruitment dynamics. The genus Illex as a model, the commercial Illex species and influences on variability. FAO Fish Tech Pap 376:1-12*
- Roden, G. I. 1964. Oceanographic aspects of the Gulf of California. *En: Van Andel Tj. H. y G. G. Shor, Jr. (Eds.). Marine geology of the Gulf of California: a symposium. Amer. Assoc. Petrol. Geol. Mem., 3: 30-58.*

- Roden, G.I. y G.W. Groves. 1959. Recent oceanographic investigations in the Gulf of California. *J. Mar. Res.*, 18: 10-35.
- Rodhouse, P.G., K. Robinson, S.B. Gajdatsy, H.I. Daly y M.J.S. Ashmore. 1994. Growth, age structure and environmental history in the cephalopod *Martialia hyadesi* (Teuthoidea: Ommastrephidae) at the Antarctic Polar Frontal Zone and on the Patagonian Shelf edge. *Antarctic Sci.*, 6: 259–267. *En:* O’Dor, R.K. y M.R. Lipinski.
1998. The genus *Illex* (Cephalopoda: Ommastrephidae): characteristics, distribution and fisheries. *En:* Rodhouse P.G., E.G. Dawe, R.K. O’Dor (eds). Squid recruitment dynamics. The genus *Illex* as a model, the commercial *Illex* species and influences on variability. *FAO Fish Tech Pap* 376:1–12
- Roeleveld, M.A. 1990. The relevance of size, sex and maturity stage in the classification of ommastrephid squids. Oceans '90, 7th National Oceanographic Conference, June, 1990, San Lameer, South Africa. Programme and Abstracts, p. 66–67. *En:* O’Dor, R.K. y M.R. Lipinski.
1998. The genus *Illex* (Cephalopoda: Ommastrephidae): characteristics, distribution and fisheries. *En:* Rodhouse P.G., E.G. Dawe, y R.K. O’Dor (eds). Squid recruitment dynamics. The genus *Illex* as a model, the commercial *Illex* species and influences on variability. *FAO Fish Tech Pap* 376:1–12
- Roper, C.F.E. y C.C. Lu. 1978. Rhynchoteuthion larvae of Ommastrephid squids of the Western North Atlantic, with the first description of larvae and juveniles of *Illex illecebrosus*. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 91(4):1039-1059.
- Roper, C.F.E. y K.M. Mangold. 1998. Systematic and distributional relationships of *Illex coindetii* to the genus *Illex* (Cephalopoda: Ommastrephidae). *En:* Rodhouse P.G., E.G. Dawe, y R.K. O’Dor (eds). Squid recruitment dynamics. The genus *Illex* as a model,

the commercial *Illex* species and influences on variability. *FAO Fish Tech Pap* 376:13–26

Roper, C.F.E. y M.J. Sweeney. 1983. Techniques for fixation, preservation and curation of cephalopodos. *En: Stone, D.M. (Ed). Memoirs of the National Museum of Victoria. Vol. 44: 29-48.*

Roper, C. F. E., M. J. Sweeney y C. E. Nauen. 1984. Cephalopods of the World. An annotated and illustrated catalogue of species of interest to fisheries. *FAO Fish. Synop.*, 125(3): 277 p.

Rosenberg, A.A., Kirkwood, G.P., Crombie, J.A. y Beddington, J.R. 1990. The assesment of stocks of annual squid species. *Fish. Res.* 8: 335-350. *En: Pierce, P.J. y A. Guerra. 1994. Stock assesment methods for cephalopods fisheries. Fish. Res.* 21: 255-285.

Sakurai, Y. y Y. Ikeda. 1992. Laboratory rearing methods of *Todarodes pacificus* for the ecological study of life cycle. Proceedings of the Squid Stock and Fisheries Oceanic Conditions. *Natural Research Institute of Far Seas Fisheries (1993):51-69. En: Watanabe, K., Y. Sakurai, S. Segawa y T. Okutani. 1996. Development of the ommastrephid squid *Todarodes pacificus*, from fertilized egg to Rhynchoteuthion paralarva. American Malacological Bulletin. 13(1/2): 73-88.*

Sakurai, Y. y Y. Ikeda. 1994. Laboratory rearing methods of *Todarodes pacificus* for the ecological study of life cycle. Report of 1992 Annual Meeting on Resources and Fisheries of Squids. National Institute for Far Sea Research, pp. 51-69. *En: Sakurai, Y., R.E. Young, J. Hirota, K. Mangold, M. Vecchione, M.R. Clarke y J. Bower. 1995. Artificial fertilization and development through hatching in the oceanic squids *Ommastrephes bartramii* and *Stenoteuthis oualaniensis* (Cephalopoda:*

- Ommastrephidae). *The Veliger*. 38(3): 185-191.
- Sakurai, Y., R.E. Young, J. Hirota, K. Mangold, M. Vecchione, M.R. Clarke y J. Bower. 1995. Artificial fertilization and development through hatching in the oceanic squids *Ommastrephes bartramii* and *Stenoteuthis oualaniensis* (Cephalopoda: Ommastrephidae). *The Veliger*. 38(3): 185-191.
- Saltzman, J. y F. Wishner. 1997. Zooplankton ecology in the eastern tropical Pacific oxygen minimum zone above a seamount: 1. General trends. *Deep-Sea Res.* 44: 907-930 *En:* Vecchione, M. 1999. Extraordinary abundance of squid paralarvae in the tropical eastern Pacific Ocean during El Niño of 1987. *Fishery Bulletin*, 97:1025-1030.
- Santamaría-del-Angel, E., S. Álvarez-Borrego y F. E. Müller-Karger. 1994. Gulf of California biogeographic regions based on coastal zone color scanner imagery. *J. Geophys. Res.*, 99(C4): 7411-7421.
- Santamaría-del-Angel, E., S. Álvarez-Borrego, R. Millán-Núñez y F. E. Müller- Karger. 1999. Sobre el efecto débil de las surgencias de verano en la biomasa fitoplanctónica del Golfo de California. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 49: 207–212.
- Schwartzlose, R.A. 1963. Nearshore currents of the western United States and Baja California as measured by drift bottles. *Calif. Coop. Oceanic Fish. Invest. Rep.* 9: 15-22. *En:* Bautista-Romero, J. 1999. Distribución de larvas de peces de la Corriente de California, en los dominios temporal, espacial y térmico. *CICIMAR-IPN*. Tesis de maestría. La Paz, B.C.S., México. 75 p.
- Shchetinnikov, A.S. 1987. The luminescence of squids of family Ommastrephidae from Eastern Pacific. *En:* Nigmatullin, C.M., K.N. Nesis, A.I. Arkhipkin. 2001. A review of the biology of the jumbo squid *Dosidicus gigas*. *Fisheries Research*. 54:9-19.

- Shchetinnikov, A.S. 1988. Feeding and food relations of abundant squids in southeastern part of the Pacific Ocean. Autoreferat Dissertatsii na Soiskanie Uchenoj Stepeni Kandidata Biologii-cheskikh. Nauka, Moscow. 21 pp. (En Ruso). *En*: Nigmatullin, C.M., K.N. Nesis, A.I. Arkhipkin. 2001. A review on the biology of the jumbo squid *Dosidicus gigas*. *Fisheries Research*. 54:9-19.
- Shea, E.K. 2005. Ontogeny of the fused tentacles in three species of ommastrephid squids (Cephalopoda, Ommastrephidae). *Invertebrate Biology*. 124(1): 24-38.
- Smith, P. 1971. Distributional atlas of zooplankton volume in the California Current Region, 1951-1966. California Cooperative Oceanic Fisheries Investigation. Atlas 13. 5101-6612.
- Smith, P.E. y S.I. Richardson. 1979. Técnicas modelo para prospecciones de huevos y larvas de peces pelágicos. *FAO. Documentos técnicos de pesca*. No. 175. FIR/T175 (Es). 107 p.
- Soeda, J. 1952. On the artificial insemination and the early cleavage of the ovum in oegopsid cephalopod, *Ommastrephes sloani pacificus*, Surume-ika. *Bulletin of the Hokkaido Regional Fisheries Laboratory*. 5:1-15. *En*: Sakurai, Y., R.E. Young, J. Hirota, K. Mangold, M. Vecchione, M.R. Clarke y J. Bower. 1995. Artificial fertilization and development through hatching in the oceanic squids *Ommastrephes bartramii* and *Stenoteuthis oualaniensis* (Cephalopoda: Ommastrephidae). *The Veliger*. 38(3): 185-191.
- Soeda, J. 1954. A study on the fertilization of the egg of the squid, *Ommastrephes sloani pacificus* (Steenstrup). *Bulletin of the Hokkaido Regional Fisheries Research Laboratory*. 11:1-6. *En*: Sakurai, Y., R.E. Young, J. Hirota, K. Mangold, M. Vecchione,

- M.R. Clarke y J. Bower. 1995. Artificial fertilization and development through hatching in the oceanic squids *Ommastrephes bartramii* and *Stenoteuthis oualaniensis* (Cephalopoda: Ommastrephidae). *The Veliger*. 38(3): 185-191.
- Sweeney, M.J., C.F.E. Roper, K.M. Mangold, M.R. Clarke, S.v Boletzky. 1992. "Larval" and juvenile cephalopods: a manual for their identification. *Smithsonian Contributions to Zoology #513*, Smithsonian Institution Press, Washington DC. 282 p.
- Tafur, R., P. Villegas, M. Rabí y C. Yamashiro. 2001. Dynamics of maturation, seasonality of reproduction and spawning grounds of the jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae) in Peruvian waters. *Fisheries Research*. 54: 33-50.
- Tajima, F. 1993. Measurement of DNA polymorphism. *En: Mechanisms of Molecular Evolution. Introduction to Molecular Paleopopulation Biology*, edited by Takahata, N. and Clark, A.G., Tokyo, Sunderland, MA: Japan Scientific Societies Press, Sinauer Associates, Inc., p. 37-59.
- Valdéz-Holguín, J.E. y J.R. Lara-Lara. 1987. Productividad primaria en el Golfo de California: efectos del evento El Niño 1982-1983. *Ciencias Marinas*, 13(2): 34-50.
- Vecchione, M. 1999. Extraordinary abundance of squid paralarvae in the tropical eastern Pacific Ocean during El Niño of 1987. *Fishery Bulletin*, 97:1025-1030.
- Voight, J.R. 1991a. Morphological variation in octopod specimens: Reassessing the assumption of preservation induced deformation. *Malacologia*, 33: 241-253. *En: O'Dor, R.K. y M.R. Lipinski. 1998. The genus Illex (Cephalopoda: Ommastrephidae): characteristics, distribution and fisheries. En: Rodhouse P.G., E.G. Dawe y R.K. O'Dor (eds). Squid recruitment dynamics. The genus Illex as a model, the commercial Illex*

- species and influences on variability. *FAO Fish Tech Pap* 376:1–12
- Voight, J.R. 1991b. Ligula length and courtship in *Octopus digueti*: A potential mechanism of mate choice. *Evolution*, 45: 1726–1730. *En*: O’Dor, R.K. y M.R. Lipinski. 1998. The genus *Illex* (Cephalopoda: Ommastrephidae): characteristics, distribution and fisheries. *En*: Rodhouse P.G., E.G. Dawe, R.K. O’Dor (eds). Squid recruitment dynamics. The genus *Illex* as a model, the commercial *Illex* species and influences on variability. *FAO Fish Tech Pap* 376:1–12
- Wakabayashi, T., K. Saito, K. Tsuchiya y S. Segawa. 2002. Descriptions of *Eucleoteuthis luminosa* (Sasaki, 1915) and Descriptions of *Ornithoteuthis volatilis* (Sasaki, 1915) paralarvae in the Northwest Pacific. *Venus* 60(4):237-260.
- Watanabe, K., Y. Sakurai, S. Segawa y T. Okutani. 1996. Development of the ommastrephid squid *Todarodes pacificus*, from fertilized egg to Rhynchoteuthion paralarva. *American Malacological Bulletin*. 13(1/2): 73-88.
- Wormuth, J.H., R.K. O’Dor, N. Balch, M.C. Dunning, E.C. Forch, R.F. Harman y T.W. Rowell. 1992. Family Ommastrephidae Steenstrup, 1857. 105-119. *En*: Sweeney, M.J., C.F.E. Roper, K.M. Mangold, M.R. Clarke y S.v Boletzky. 1992. Larval and juvenile Cephalopods: a Manual for their Identification. Smithsonian Contributions to Zoology. No. 513. Smithsonian Institution Press. Washington, DC. 282 p.
- Yamaguchi, H. y T. Okutani. 1990. Notes on young squids dip-netted and incidentally jigged during the exploratory fishing on *Dosidicus gigas* in the eastern Pacific, December 1987-March 1988. *Journal of the Tokyo University of Fisheries*. Vol. 77(1):1-8.

- Yatsu, A. 1999. Morphology and distribution of rhynchoteuthion paralarvae of two ommastrephid squids, *Dosidicus gigas* and *Sthenoteuthis oualaniensis*, collected from eastern tropical Pacific Ocean during 1997 *En: Report of the Kayio Maru* cruise for study on the resources of two ommastrephid squids, September 11-December 24, 1997. Fisheries Agency of Japan, p 193-206.
- Yatsu, A., R. Tafur y C. Maravi. 1999. Embryos and Rhynchoteuthion paralarvae of the jumbo flying squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda) obtained through artificial fertilization from Peruvian waters. *Fisheries Science*. 65(6): 904-908.
- Young, R.E. 1993. *In Round Table Discussion. In T. Okutani, R.K. O'dor & T. Kubodera.* eds. *Recent advances in cephalopod fisheries biology*, p. 690. Tokyo, Tokai University Press. *En: O'Dor, R.K. y M.R. Lipinski.* 1998. The genus *Illex* (Cephalopoda: Ommastrephidae): characteristics, distribution and fisheries. *En: Rodhouse P.G., E.G. Dawe, R.K. O'Dor* (eds). Squid recruitment dynamics. The genus *Illex* as a model, the commercial *Illex* species and influences on variability. *FAO Fish Tech Pap* 376:1-12
- Young, R. E. y R. F. Harman. 1988. Larva, paralarva and subadult in cephalopod terminology. *Malacología*. 29(1):201-207
- Young, R.E. y J. Hirota. 1990. Description of *Ommastrephes bartramii* (Cephalopoda: Ommastrephidae) paralarvae with evidence for spawning in Hawaiian waters. *Pacific Science*, 44(1):71-80.
- Young, R.E. and J. Hirota. 1998. Review of the ecology of *Sthenoteuthis oualaniensis* near the Hawaiian Archipelago. *En: Okutani, T.* (ed.) Contributed papers to international symposium on large pelagic squids. Japan Marine Fishery Resources Research Center,

Tokyo, p 131-143

Zar, J.H. 1999. *Biostatistical análisis*. Prentice-Hall. 4ta. edición. E.U.A. 929 p.

Zeitzschel, B. 1969. Primary productivity in the Gulf of California. *Mar. Biol.*, 3: 201-207.

Internet

<http://www.dnastar.com/products/primerselect.php>

<http://www.seqxcel.com/>

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

<http://www.megasoftware.net/>

<http://tools.neb.com/NEBcutter2/index.php>

www.nightsea.com

ANEXO

I. Abreviaturas.

LC.	Longitud de cabeza.
AC.	Ancho de cabeza interorbital.
ABC.	Ancho de la base de la cabeza.
DO.	Diámetro del ojo.
LP.	Longitud de proboscis.
AP.	Ancho de proboscis.
DT.	Diámetro de los tentáculos.
DP.	Longitud de la división de la proboscis.
ADP.	Ancho de la división de la proboscis.
PDP.	Proporción de la división de la proboscis respecto a la longitud de la proboscis.
LM.	Longitud de manto.
LA.	Longitud de aleta.
AA.	Ancho de aleta.
FO.	Fotóforo ocular.
FVA.	Fotóforo visceral anterior.
FVP.	Fotóforo visceral posterior.
BSR.	Bahía de Santa Rosalía.
COPBC.	Costa occidental de la península de Baja California.
H.	Hawaii.
ADN.	Ácido desoxirribonucleico.
COI.	Citocromo Oxidasa región I.
<i>Hae</i> III.	<i>Haemophilus aegyptius</i> III.
Dg.	<i>Dosidicus gigas</i> .
So.	<i>Sthenoteuthis oualaniensis</i> .
El.	<i>Eucleoteuthis luminosa</i> .
ms.	Mandíbula superior
mi.	Mandíbula inferior.
r.	Rostro.

Nota: Las variables anteriores que en el documento tienen el subíndice i, hacen referencia al índice de esa variable, el cual representa su proporción respecto a la longitud de manto.

II. Secuencias utilizadas en el análisis genético obtenidas del GenBank.

Especie	Haplotipo	Referencia GenBank
<i>D. gigas</i>	Dg01	DgDQ191367
<i>E. luminosa</i>	EI02	EIAB199554
<i>E. luminosa</i>	EI08	EIAB199555
<i>H.pelagica</i>	Hp01	HpAB199556
<i>H.pelagica</i>	Hp01	HpAB199557
<i>O. bartramii</i>	Ob01	ObAB199549
<i>O. bartramii</i>	Ob01	ObAB199550
<i>O. bartramii</i>	Ob02	ObAB199551
<i>O. bartramii</i>	Ob03	ObAB191283
<i>O. bartramii</i>	Ob04	ObAF000057
<i>S. oualaniensis</i>	SoA01	SoDQ885826
<i>S. oualaniensis</i>	SoA01	SoDQ885832
<i>S. oualaniensis</i>	SoA01	SoDQ885833
<i>S. oualaniensis</i>	SoA01	SoDQ885846
<i>S. oualaniensis</i>	SoA01	SoDQ885847
<i>S. oualaniensis</i>	SoA01	SoAB199552
<i>S. oualaniensis</i>	SoA01	SoLCcibS3B
<i>S. oualaniensis</i>	SoA02	SoDQ885838
<i>S. oualaniensis</i>	SoA02	SoDQ885840
<i>S. oualaniensis</i>	SoA02	SoDQ885841
<i>S. oualaniensis</i>	SoA02	SoDQ885844
<i>S. oualaniensis</i>	SoA02	SoAB199553
<i>S. oualaniensis</i>	SoA03	SoDQ885831
<i>S. oualaniensis</i>	SoA03	SoDQ885839
<i>S. oualaniensis</i>	SoA03	SoDQ885843
<i>S. oualaniensis</i>	SoA03	SoDQ885845
<i>S. oualaniensis</i>	SoA04	SoLCcibS2B
<i>S. oualaniensis</i>	SoA04	SoDQ885828
<i>S. oualaniensis</i>	SoA04	SoDQ885829
<i>S. oualaniensis</i>	SoA05	SoDQ885842
<i>S. oualaniensis</i>	SoA06	SoDQ885830
<i>S. oualaniensis</i>	SoA07	SoDQ885827
<i>S. oualaniensis</i>	SoA08	SoAF000069
<i>S. oualaniensis</i>	SoB02	SoDQ885824
<i>S. oualaniensis</i>	SoB03	SoDQ885825
<i>S. oualaniensis</i>	SoB01	SoDQ885834
<i>S. oualaniensis</i>	SoB01	SoDQ885835
<i>S. oualaniensis</i>	SoB01	SoDQ885836
<i>S. oualaniensis</i>	SoB01	SoDQ885837
<i>T. pacificus</i>	Tp01	TpAB199559
<i>T. pacificus</i>	Tp02	TpAB240153
<i>T. pacificus</i>	Tp03	TpAB158364
<i>T. pacificus</i>	Tp04	TpAB191285

III. Sitios variables entre las secuencias de *D. gigas* (Dg) y *S. oualaniensis* (So). El fragmento de 369 pb analizado corresponde al fragmento 2120-2489 de la secuencia completa de *Todarodes pacificus* (GenBank #AB240153). Algunas secuencias de *S. oualaniensis* fueron obtenidas del GenBank. Los asteriscos indican los sitios informativos.

```

*          * * * * *          *          **          * * * *          * * * *          * *          * * * *          * *
2222222222 2222222222 2222222222 2222222222 2222222222 2222222222 2222222222 2222222222 2222222222 2222222222
1111111111 1111111111 1111111111 1111111111 1112222222 2222222222 2222222222 2222222222 2222222222 2222222222
2222333333 3344445555 6677777788 8888899999 9990000111 1112222222 2333333344 4444555555 66666666 66666666
2467023456 7901290128 5801235702 3458901246 7890359023 4568014567 9124567912 4568234578 012345 012345
Dg01  TACAAATCAG CCATTACGGC CTATCCTTAA TACCAAACAA ATACCGGTTC CCTCCTTCAA AACTCTTTTC ACTACTTTCC TACGTT
Dg02  .....G.....
Dg03  .....C.....T...
Dg04  .....G.....T...
Dg05  .....G.....
Dg06  .....T...
Dg07  .....T...
Dg08  .....C.....G.....
Dg09  .....T.....
Dg10  .....A.....A
Dg11  .....A.....A
Dg12  .....A.....C.....T...
Dg13  .....G.....
Dg14  .....G.....C.....T...
Dg15  .....G.....
Dg16  .....G.....
Dg17  .....G.....
Dg18  .....T.....
Dg19  .....T.....
Dg20  .....T.....
Dg21  .....C.....G.....T...
Dg22  .....G.....C.....
Dg23  .....G.....
Dg24  .....C.G.....
Dg25  .....G.....G.....T...
Dg26  .....A.....
Dg27  .....G.....T...
Dg28  .....A.....
Dg29  .....A.....C.....
Dg30  .....G.....G.....
SoA01  C.T...G.T.C.TCAT T.CTTC...A.TT.G.TG...TT ACC TTATT.T...TGT...T...TAA.C.T.C.T...
SoA02  C.T...G.T.C.TCAT T.CTTC...A.TT.G.TG...TTAACC TTATT.T...TAT...T...TAA.C.T.C.T...
SoA03  C.T...G.T.C.TCAT T.CTTC...A.TT.G.TG...TTAACC TTATT.T...TAT...T...TAA.CTT.C.T...
SoA04  C.T...G.T.C.TCAT T.CTTC...A.TT.G.TC...TT ACC TTATT.T...TGT...T...TAA.C.T.C.T...
SoA05  C.T...G.T.C.TAAT T.CTTC...A.TT.G.TG...TTAACC TTATT.T...TAT...T...TAA.C.T.C.T...
SoA06  C.T...G.T.C.TAAT T.CTTC...A.TT.G.TG...T.AACC TTATT.T...TAT...T...TAA.C.T.C.T...
SoA07  C.T...C.G.T.C.TCAT T.CTTC...A.TT.G.TG...TT ACC TTATT.T...TGT...T...TAA.C.T.C.T...
SoA08  C.T...G.T.C.TCAT T.CTTC...A.TT.G.TG...TTAACC TTATT.T...TGT...T...TAA.C.T.C.T...
SoB01  CGT..T.T.A TT.CC.T.AT TC...TA...A.TT.....TTAACCT TTA.TC.T...GTGT.A.T.T.TAA..TT CT.TC.
SoB02  C.T..T.T.A TT.CC.T.AT TC...TA...A.TT.....TTAACCT TTA.TC.T...GTAT.A.T.T.TAA..TT CT.TC.
SoB03  CGT..T.T.A TT.CC.T.AT TC...TA...A.TT.....TTAACCT TTA.TC.T...GTGT.A.T.T.TAA..TT CT.T...

```

IV. Estimación de la diversidad intraespecífica e interespecífica en las secuencias basado en el número de diferencias pareadas. Tp, *Todarodes pacificus* (n=4); Hp, *Hyaloteuthis pelagica* (n=2); Ob, *Ommastrephes bartramii* (n=5); So, *Sthenoteuthis oualaniensis* (n=29); Dg, *Dosidicus gigas* (n=180); El, *Eucleoteuthis luminosa* (n=10). Cifras entre paréntesis indican el error estándar.

	Tp	Hp	Ob	SoA	SoB	Dg	El
Tp	11.667 (2.176)						
Hp	45.417 (6.065)	0.00 (0.00)					
Ob	69.117 (7.167)	65.000 (7.465)	3.200 (1.240)				
SoA	47.130 (5.655)	45.866 (6.566)	60.057 (7.449)	1.921 (0.797)			
SoB	52.417 (6.386)	42.333 (6.126)	66.800 (8.200)	24.083 (4.819)	1.000 (0.571)		
Dg	53.039 (6.473)	47.800 (6.264)	55.842 (7.302)	41.726 (6.288)	48.107 (6.470)	1.074 (0.410)	
El	46.867 (5.576)	49.700 (6.621)	67.600 (6.490)	39.261 (6.151)	36.133 (5.835)	49.698 (6.911)	2.000 (0.845)

V. Variables que presentan diferencias significativas (ANOVA, $p < 0.05$) entre *D. gigas* y *S. oualaniensis*.

Variable	ANOVA	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Sig.
ABCi	Entre grupos	1227.923	1	1227.923	8.846	0.003
	Dentro de grupos	21237.645	153	138.808		
	Total	22465.568	154			
LCi	Entre grupos	2126.994	1	2126.994	44.320	0.000
	Dentro de grupos	7342.776	153	47.992		
	Total	9469.770	154			
ACi	Entre grupos	40.006	1	40.006	0.339	0.561
	Dentro de grupos	18030.151	153	117.844		
	Total	18070.157	154			
LC/ABC	Entre grupos	18774.940	1	18774.940	69.656	0.000
	Dentro de grupos	41239.498	153	269.539		
	Total	60014.438	154			
LC/AC	Entre grupos	5822.346	1	5822.346	36.642	0.000
	Dentro de grupos	24311.338	153	158.898		
	Total	30133.684	154			
LPi	Entre grupos	1923.496	1	1923.496	2.663	0.105
	Dentro de grupos	110506.451	153	722.264		
	Total	112429.947	154			
APi	Entre grupos	116.180	1	116.180	5.397	0.021
	Dentro de grupos	3293.837	153	21.528		
	Total	3410.017	154			
DTi	Entre grupos	289.759	1	289.759	81.720	0.000
	Dentro de grupos	542.496	153	3.546		
	Total	832.255	154			
DPi	Entre grupos	1033.875	1	1033.875	81.163	0.000
	Dentro de grupos	1948.959	153	12.738		
	Total	2982.834	154			
PDPi	Entre grupos	109.060	1	109.060	7.202	0.008
	Dentro de grupos	2316.824	153	15.143		
	Total	2425.883	154			
ADPi	Entre grupos	76.472	1	76.472	29.483	0.000
	Dentro de grupos	396.847	153	2.594		
	Total	473.319	154			
LAI	Entre grupos	58.445	1	58.445	4.988	0.027
	Dentro de grupos	1792.825	153	11.718		
	Total	1851.270	154			
AAi	Entre grupos	.555	1	0.555	0.007	0.933
	Dentro de grupos	11819.839	153	77.254		
	Total	11820.393	154			
AA/LA	Entre grupos	0.015	1	0.015	0.020	0.888
	Dentro de grupos	56.725	77	0.737		
	Total	56.739	78			
DOi	Entre grupos	107.844	1	107.844	11.064	0.001
	Dentro de grupos	1491.305	153	9.747		
	Total	1599.149	154			
DO/LC	Entre grupos	639.873	1	639.873	11.887	0.001
	Dentro de grupos	8236.257	153	53.832		
	Total	8876.130	154			

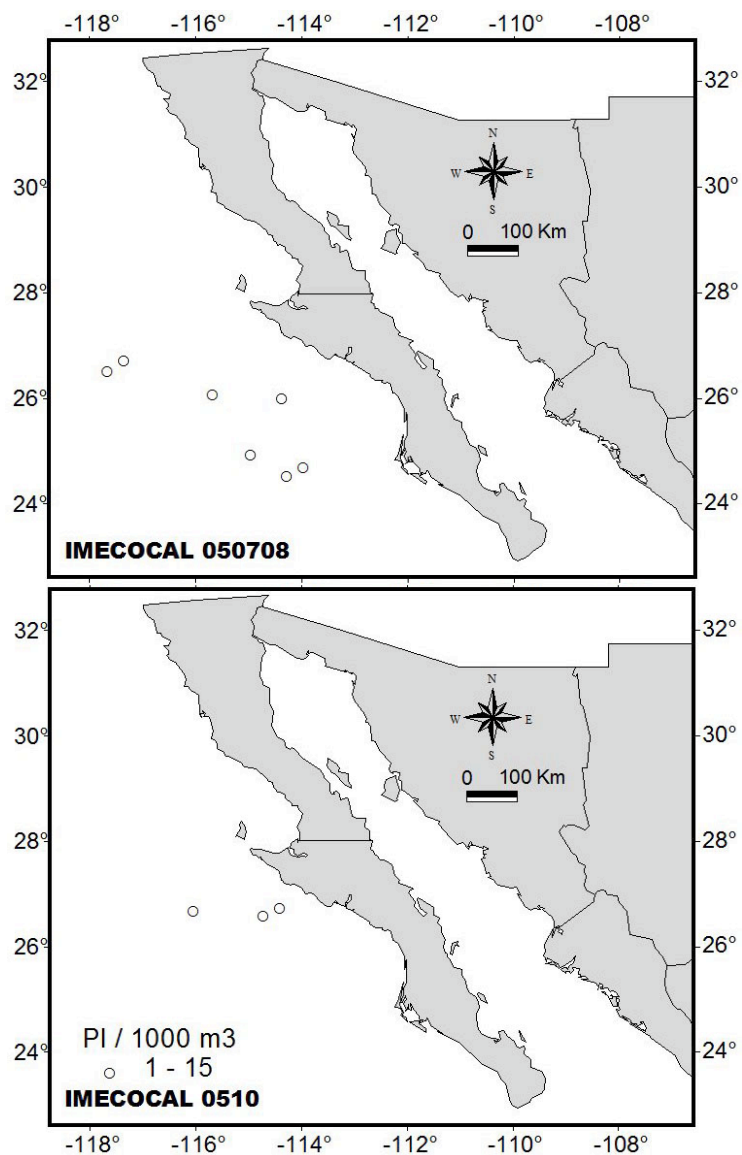
VI. Clasificación de casos. Distancias cuadradas de Mahalanobis a partir del centroide por grupo y probabilidades posteriores. Las clasificaciones incorrectas presentan *.
Dg. *D. gigas*; So. *S. oualaniensis*

Especimen	Clasificación observada	Distancia cuadrada de Mahalanobis		Probabilidades posteriores	
		Dg p=0.858	So p= 0.142	Dg p=0.858	So p= 0.142
003-22sr	Dg	16.264	27.602	0.999	0.001
004-09sr	Dg	20.817	24.382	0.973	0.027
003-18sr	Dg	6.252	12.530	0.993	0.007
004-08sr	Dg	17.319	24.814	0.996	0.004
004-10sr	Dg	10.902	27.243	1.000	0.000
004-11sr	Dg	8.045	17.381	0.998	0.002
003-20sr	Dg	9.340	19.882	0.999	0.001
100-13p	Dg	5.546	11.333	0.991	0.009
005-45sr	Dg	36.683	51.510	1.000	0.000
005-51sr	Dg	5.810	18.495	1.000	0.000
*005-33sr	Dg	25.085	18.655	0.195	0.805
003-19sr	Dg	2.811	14.813	1.000	0.000
005-47sr	Dg	5.925	9.235	0.969	0.031
005-22sr	Dg	32.886	39.997	0.995	0.005
005-37sr	Dg	5.231	13.531	0.997	0.003
005-35sr	Dg	6.636	12.679	0.992	0.008
005-41sr	Dg	18.271	15.515	0.604	0.396
005-46sr	Dg	9.933	21.062	0.999	0.001
005-50sr	Dg	8.711	18.583	0.999	0.001
010-01sr	Dg	15.633	23.475	0.997	0.003
008-02sr	Dg	5.683	17.122	0.999	0.001
090-01p	Dg	9.891	9.974	0.863	0.137
100-14p	Dg	20.773	19.309	0.744	0.256
005-25sr	Dg	3.860	12.032	0.997	0.003
005-48sr	Dg	8.474	19.575	0.999	0.001
003-23sr	Dg	4.776	11.193	0.993	0.007
005-29sr	Dg	9.142	16.957	0.997	0.003
005-32sr	Dg	6.479	16.982	0.999	0.001
005-31sr	Dg	3.954	14.292	0.999	0.001
037-03p	Dg	11.859	14.956	0.966	0.034
100-28p	Dg	13.982	15.802	0.938	0.062
005-26sr	Dg	7.730	17.996	0.999	0.001
006-01sr	Dg	21.145	25.679	0.983	0.017
005-28sr	Dg	9.297	17.043	0.997	0.003
005-44sr	Dg	8.464	15.222	0.994	0.006
005-23sr	Dg	7.152	18.162	0.999	0.001
005-27sr	Dg	6.686	16.825	0.999	0.001
032-05p	Dg	7.189	17.748	0.999	0.001
037-02p	Dg	8.762	14.815	0.992	0.008
003-21sr	Dg	3.553	15.414	1.000	0.000
005-34sr	Dg	5.353	11.030	0.990	0.010
005-24sr	Dg	4.074	12.497	0.998	0.002
005-30sr	Dg	4.497	15.427	0.999	0.001
005-38sr	Dg	9.665	10.195	0.887	0.113
005-42sr	Dg	3.755	11.614	0.997	0.003
005-52sr	Dg	6.200	15.038	0.998	0.002
094-01p	Dg	4.730	4.149	0.819	0.181

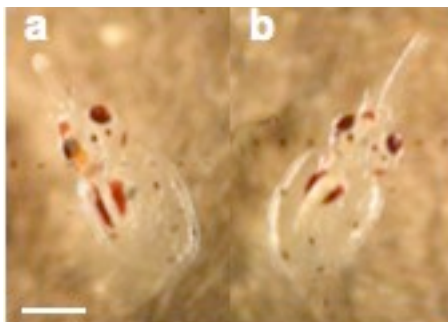
008-01sr	Dg	10.784	25.468	1.000	0.000
009-03sr	Dg	8.162	20.292	1.000	0.000
037-04p	Dg	16.703	26.691	0.999	0.001
005-39sr	Dg	3.351	13.300	0.999	0.001
009-04sr	Dg	5.814	16.976	0.999	0.001
037-05p	Dg	4.081	14.674	0.999	0.001
119-01p	Dg	14.611	13.515	0.778	0.222
018-01sr	Dg	9.889	19.020	0.998	0.002
022-04sr	Dg	8.317	15.036	0.994	0.006
100-12p	Dg	6.077	15.044	0.998	0.002
115-02p	Dg	3.039	4.665	0.932	0.068
116-12p	Dg	2.757	8.482	0.991	0.009
100-30p	Dg	2.800	6.974	0.980	0.020
101-02p	Dg	6.896	11.050	0.980	0.020
009-01sr	Dg	24.689	28.626	0.977	0.023
005-43sr	Dg	8.082	16.682	0.998	0.002
005-49sr	Dg	10.537	18.663	0.997	0.003
020-01sr	Dg	12.238	12.478	0.872	0.128
022-03sr	Dg	9.968	9.292	0.812	0.188
100-17p	Dg	42.469	47.020	0.983	0.017
*101-11p	Dg	14.404	5.211	0.057	0.943
*115-03p	Dg	12.999	6.620	0.199	0.801
002-02sr	Dg	7.809	11.931	0.979	0.021
100-18p	Dg	2.422	11.456	0.998	0.002
101-08p	Dg	3.787	4.354	0.889	0.111
101-12p	Dg	13.237	13.572	0.877	0.123
021-01sr	Dg	11.847	16.687	0.985	0.015
100-11p	Dg	8.472	17.883	0.999	0.001
101-14p	Dg	7.223	12.896	0.990	0.010
094-03p	Dg	15.314	15.278	0.856	0.144
019-01p	Dg	23.574	29.137	0.990	0.010
094-05p	Dg	2.661	12.695	0.999	0.001
101-09p	Dg	4.224	13.689	0.999	0.001
040-02p	Dg	3.404	11.092	0.996	0.004
073-04p	Dg	4.235	12.167	0.997	0.003
095-05p	Dg	4.733	6.172	0.925	0.075
101-17p	Dg	5.391	12.659	0.996	0.004
096-03p	Dg	8.843	13.172	0.981	0.019
101-13p	Dg	43.967	43.119	0.798	0.202
072-08p	Dg	15.789	21.535	0.991	0.009
090-05p	Dg	3.734	12.342	0.998	0.002
016-03p	Dg	2.479	7.777	0.988	0.012
095-09p	Dg	4.954	6.040	0.912	0.088
101-15p	Dg	6.755	15.814	0.998	0.002
072-06p	Dg	4.144	4.296	0.867	0.133
091-06p	Dg	15.894	28.783	1.000	0.000
072-15p	Dg	4.645	12.451	0.997	0.003
116-14p	Dg	6.255	18.570	1.000	0.000
075-01p	Dg	8.689	7.878	0.801	0.199
096-09p	Dg	15.588	26.764	0.999	0.001
022-01sr	Dg	9.955	15.475	0.990	0.010
116-17p	Dg	3.289	8.988	0.991	0.009
072-01p	Dg	20.781	27.991	0.996	0.004
096-08p	Dg	12.548	23.098	0.999	0.001

094-14p	Dg	4.723	13.251	0.998	0.002
015-02sr	Dg	4.914	11.775	0.995	0.005
094-12p	Dg	10.958	7.724	0.545	0.455
090-07p	Dg	3.406	11.349	0.997	0.003
037-01p	Dg	5.053	13.194	0.997	0.003
096-10p	Dg	7.282	16.661	0.998	0.002
095-07p	Dg	5.025	13.513	0.998	0.002
015-03sr	Dg	19.704	21.057	0.922	0.078
072-16p	Dg	3.221	11.241	0.997	0.003
076-02p	Dg	11.750	18.091	0.993	0.007
*094-15p	Dg	6.646	2.630	0.448	0.552
071-01p	Dg	5.331	3.530	0.711	0.289
090-04p	Dg	12.991	18.138	0.988	0.012
090-06p	Dg	3.045	10.665	0.996	0.004
090-02p	Dg	9.025	8.432	0.818	0.182
072-14p	Dg	5.395	7.842	0.954	0.046
076-05p	Dg	18.021	15.396	0.619	0.381
096-11p	Dg	5.242	13.783	0.998	0.002
094-13p	Dg	4.502	10.813	0.993	0.007
095-11p	Dg	2.653	8.465	0.991	0.009
095-14p	Dg	6.568	5.578	0.787	0.213
094-11p	Dg	3.310	7.418	0.979	0.021
096-12p	Dg	6.554	10.146	0.973	0.027
076-04p	Dg	6.442	9.964	0.972	0.028
094-16p	Dg	3.122	13.144	0.999	0.001
094-17p	Dg	26.588	28.504	0.940	0.060
022-02sr	Dg	21.802	25.314	0.972	0.028
095-15p	Dg	11.937	20.449	0.998	0.002
093-01p	Dg	4.493	12.898	0.998	0.002
095-12p	Dg	6.203	11.796	0.990	0.010
090-08p	Dg	8.497	5.242	0.543	0.457
092-01p	Dg	11.442	10.927	0.824	0.176
*05H	So	18.700	19.360	0.894	0.106
*03H	So	37.968	24.824	0.008	0.992
*02H	So	12.798	13.080	0.874	0.126
*04H	So	7.073	5.484	0.732	0.268
07H	So	12.984	6.401	0.184	0.816
09H	So	14.515	9.548	0.335	0.665
10H	So	26.192	22.286	0.462	0.538
*08H	So	21.841	25.888	0.979	0.021
*13H	So	7.874	4.971	0.586	0.414
12H	So	19.031	9.291	0.044	0.956
14H	So	9.278	1.314	0.101	0.899
06H	So	6.319	1.459	0.347	0.653
17H	So	9.736	2.420	0.135	0.865
15H	So	16.151	4.867	0.021	0.979
*11H	So	7.539	6.202	0.756	0.244
16H	So	9.507	2.635	0.163	0.837
01H	So	17.310	13.296	0.448	0.552
18H	So	14.516	4.189	0.033	0.967
19H	So	48.554	28.802	0.000	1.000
20H	So	18.588	8.484	0.037	0.963
*21H	So	13.111	9.977	0.558	0.442
22H	So	13.690	8.840	0.349	0.651

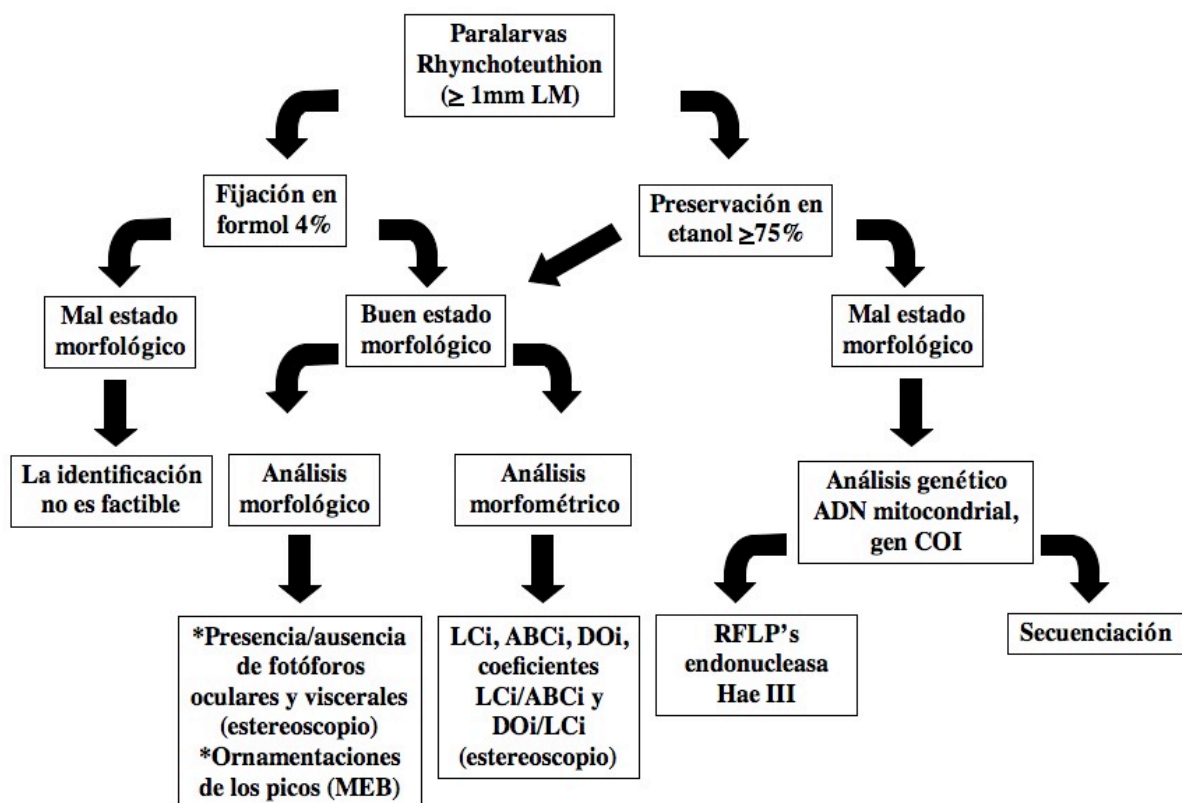
VII. Distribución espacio-temporal de la biomasa estandarizada (PI/1000 m³) de las paralarvas Rhynchoteuthion de *E. luminosa* colectadas por el programa IMECOCAL 2005 en la costa occidental de la península de Baja California.



VIII. Proyección de la proboscis observada en una paralarva *D. gigas* de 2.0 mm LM. La imagen a y b corresponden a la misma paralarva con 6 segundos de diferencia. Barra de escala = 1.0 mm.



IX. Diagrama de flujo de los análisis morfológico, morfométrico y genético a realizar dependiendo de las condiciones de las paralarvas Rhynchoteuthion.



X. Pico de calamar. a) Mandíbula superior. LSP. Longitud superior; LSR. Longitud superior rostral; LSA. Longitud superior del ala; BSL. Borde superior lateral; AS. Altura superior; CS. Cresta superior. b) Mandíbula inferior. LIP. Longitud inferior; LIR. Longitud inferior rostral; MIR. Muesca inferior rostral; LIA. Longitud inferior del ala; BIL. Borde inferior lateral; AIH. Altura inferior del “hombro” (Modificado de Martínez *et al.*, 2002).

