

J. Diversificación de Especies

**EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LAS PROTEASAS DIGESTIVAS A LO LARGO DE LA DIGESTION DE PULPO COMÚN (*Octopus vulgaris*)**

**Javier Román-Padilla<sup>1</sup>, Lorenzo Márquez<sup>2</sup>, Eduardo Gismero<sup>1</sup>, Beatriz C. Felipe<sup>1</sup>, Eduardo Almansa<sup>1</sup>, M. Virginia Martín<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Centro Oceanográfico de Canarias (COC-IEO), CSIC, Santa Cruz de Tenerife, Canarias

<sup>2</sup>Centro de Investigación, Innovación y Creación, NIPA, Fac. de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco, Chile

**Resumen**

El interés por el cultivo de pulpo común (*Octopus vulgaris*) ha aumentado, siendo su alimentación y nutrición factores de gran importancia para un óptimo desarrollo. El objetivo de este estudio fue la caracterización de la actividad enzimática digestiva durante el proceso de la digestión de esta especie. Para ello, 24 ejemplares de *O. vulgaris* permanecieron en ayunas durante 24 h, tras lo cual fueron alimentados con cangrejo y posteriormente sacrificados a diferentes tiempos después de la ingesta de alimento (0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas). Se tomaron muestras de diferentes tejidos y quimo de diferentes segmentos del tracto digestivo para el análisis de las actividades proteasas. Los resultados obtenidos mostraron que cada órgano posee dotaciones enzimáticas claramente definidas independientemente del tiempo de muestreo. Las actividades enzimáticas en la glándula salival posterior son principalmente básicas, con presencia mayoritaria de proteasas de serina como la tripsina y la quimotripsina, mientras que en la glándula digestiva son mayoritariamente ácidas, posiblemente por la presencia de catepsinas. Además, se observó a lo largo del proceso digestivo una tendencia a un comportamiento enzimático cíclico con dos máximos de actividad en proteasas ácidas y alcalinas para la mayoría de tejidos y quimos correspondientes a 1-2 horas y 6 horas post-ingestión.

**Introducción**

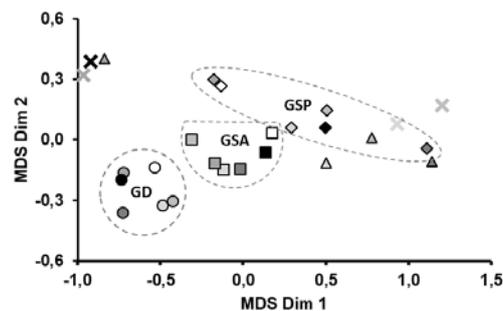
*O. vulgaris* es un cefalópodo de gran interés para la acuicultura ya que posee un rápido crecimiento y un incremento en su demanda, que su producción pesquera no puede cubrir. Debido a este creciente interés en su cultivo es necesario obtener un mayor conocimiento en los procesos de digestión y asimilación de alimento, y así poder determinar las condiciones óptimas de crecimiento y bienestar animal. El pulpo es un animal carnívoro que tiene un metabolismo principalmente proteico, por lo que las enzimas proteolíticas desempeñan un papel clave en la digestión y disponibilidad de nutrientes. De este modo, la caracterización de la actividad enzimática y de los factores que la modulan es un punto de gran importancia para comprender la capacidad digestiva de esta especie y ayudar a identificar sus requerimientos nutricionales en condiciones de cultivo. Por todo ello el objetivo de este trabajo se centró en la caracterización de la actividad enzimática digestiva durante el proceso de la digestión de esta especie.

**Material y métodos**

Este estudio se realizó en las instalaciones del Instituto Español de Oceanografía (IEO-CSIC) de Tenerife. Se usaron 24 ejemplares adultos de *O. vulgaris* que fueron capturados por pescadores en las costas de Tenerife con un peso medio de  $1.737 \pm 504,4$  g y aclimatados durante una semana en las instalaciones del IEO. Previamente al ensayo todos los pulpos pasaron 24 h de ayuno y posteriormente fueron alimentados con 150 g de cangrejo (*Callinectes sapidus*). Los individuos fueron sacrificados tras 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas desde la ingesta del alimento (n = 4). Se tomaron muestras de hemolinfa (H), glándula digestiva (GD), glándula salival anterior (GSA), glándula salival posterior (GSP) y quimo de distintos tramos pertenecientes al buche (B), estomago (E) y ciego (C) para el análisis de proteasas ácidas (PAc), proteasas alcalinas (PAI), tripsina y quimotripsina. Los datos fueron analizados mediante Escalamiento Multidimensional (MDS), ANOVAS de dos y una vía, seguido por el test de comparación múltiple de Tukey para detectar diferencias entre grupos experimentales ( $P < 0.05$ ).

## Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos del análisis MDS tomando el conjunto de enzimas digestivas de los diferentes órganos y segmentos analizados mostró una clara diferenciación por tejidos separando específicamente GD, GSA y en menor medida GSP (Figura 1). Esto sugiere que tanto GD como GSA poseen dotaciones enzimáticas claramente definidas independientemente del tiempo de muestreo. Específicamente, las actividades enzimáticas en la GSP son mayoritariamente básicas, posiblemente por la predominancia de proteasas de serina como la tripsina y la quimotripsina, mientras que en la DG son mayoritariamente ácidas, posiblemente por la presencia de catepsinas, lo cual son resultados similares a los obtenidos en modelos *in vitro* para *O. vulgaris* por Hamdan y col. (2014). Por otra parte, cuando analizamos el perfil temporal de la dotación enzimática digestiva dentro de cada órgano (desde 0 a 8 horas post-digestión) se observa que tanto la PAc como la PAI varían significativamente ( $P < 0.05$ ) en función del tiempo de digestión. Para la mayoría de tejidos analizados se detectan dos máximos de actividad tanto para PAI como PAc. El primero en torno a 1-2 horas post-digestión y el segundo tras 6 horas de digestión. Este comportamiento cíclico coincide con los datos obtenidos en otras especies de pulpo (Linares *et al.*, 2015; Bastos *et al.*, 2020). Específicamente en *Octopus maya* se detectaron dos picos de proteasas ácidas en la GD a los 0 y 360 minutos después de la alimentación (Linares *et al.*, 2015). Esto sugiere que la liberación de enzimas durante el proceso de digestión alterna las fases de síntesis y secreción, lo que podría permitir a los animales preparar el proceso digestivo para la siguiente ingesta.



**Figura 1.** Gráfico de Escalamiento Multidimensional (MDS) que muestra distancias entre tejidos y quimos de diferentes tramos del tracto digestivo. Las diferentes formas corresponden a: ○ GD, □ GSA, ◇ GSP, △ B y ✕ E. La secuencia temporal desde 0h hasta 8h se indica mediante la gradación en escala de grises: el color blanco indica 0h, y el negro indica 8h.

## Palabras clave

*Octopus vulgaris*, proteasas digestivas, metabolitos, hemolinfa.

## Bibliografía

- Bastos, P., D.M. Fracalossi, M.E. Chimal, A. Sánchez y C. Rosas. 2020. Digestive enzymes and timing of digestion in *Octopus vulgaris* type II. *Aquac Rep.* 16: 100262.
- Hamdan, M., A. Tomás-Vidal, S. Martínez, J. Cerezo-Valverde y F.J. Moyano. 2014. Development of an *in vitro* model to assess protein bioavailability in diets for common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquac Res.* 45: 2048-2056.
- Linares, M., C. Caamal-Monsreal, A. Olivares, A. Sánchez, S. Rodríguez, O. Zúñiga, C. Pascual, P. Gallardo y C. Rosas. 2015. Timing of digestion, absorption and assimilation in octopus species from tropical (*Octopus maya*) and subtropical-temperate (*O. mimus*) ecosystems. *Aquat Biol.* 24: 127-140.

## Agradecimientos

Ayuda PID2021-126824NB-C31(ECOPHYN) financiada por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y por “FEDER Una manera de hacer Europa”.

## Correo del Autor

javier.roman@ieo.csic.es