

Taxonomía y sistemática

Las especies del género *Bryopsis* (Chlorophyta) presentes en las costas del Atlántico mexicano

Species of the genus Bryopsis (Chlorophyta) on the Atlantic coasts of Mexico

Roberto C. Tufiño-Velázquez^a y Francisco F. Pedroche^{b, *}

^a Posgrado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510 Ciudad de México, México

^b Departamento de Ciencias Ambientales, Universidad Autónoma Metropolitana-Lerma, Av. de las Garzas 10, Col. El Panteón, 52005 Lerma de Villada, Estado de México, México

*Autor para correspondencia: fpedroche@correo.ler.uam.mx (F.F. Pedroche)

Recibido: 24 abril 2018; aceptado: 25 octubre 2018

Resumen

La taxonomía alfa del género *Bryopsis* permanece dependiente de los caracteres morfológicos altamente variables. Incluso, los caracteres reproductivos y los citológicos no han sido suficientes para clarificar la taxonomía de este género. Se presentan algunas hipótesis, después de haber realizado análisis filogenéticos por parsimonia, máxima verosimilitud y bayesiano, empleando caracteres moleculares del gen *psbB* del cloroplasto, que respaldan la presencia de *Bryopsis pennata* como única especie en el Atlántico mexicano. Se confrontaron estos resultados con las especies morfológicas reconocidas a la fecha para esta región geográfica. El análisis, que incluyó secuencias del GenBank de regiones geográficas distintas, muestra claramente 2 clados; el primero incluye a los individuos septentrionales de aguas templadas y cálidas y el segundo a individuos tropicales o subtropicales, entre ellos los mexicanos del golfo y Caribe mexicanos. El intervalo que se propone, en referencia a la distancia genética, para la discriminación de especies en este género y con este marcador es de 5% - 12%. Los registros existentes bajo la denominación de *B. hypnoides* y *B. plumosa* son considerados nombres mal aplicados o registros inciertos y se estima que *B. ramulosa* y *B. halliae* podrían ser sinónimos de *B. pennata*.

Palabras clave: Algas marinas; Filogenia; *psbB*; Análisis concatenado; Distribución geográfica

Abstract

The alpha taxonomy of the genus *Bryopsis* remains dependent on the highly variable morphological characters. Even reproductive and cytological characters have not been enough to clarify the taxonomy of this genus. Some hypotheses are presented, after having performed parsimony, maximum likelihood and Bayesian cladistic analyzes, using molecular characters of the *psbB* chloroplast gene, which support the presence of *Bryopsis pennata* as the only

species in the Mexican Atlantic. These results were compared with the morphological species recognized to date for this geographical region. The analysis, which included GenBank sequences from different geographical regions, clearly shows 2 clades; the first, includes the northern temperate and warm waters, and the second, tropical or subtropical specimens, among them the ones from the Gulf of Mexico and Mexican Caribbean. The proposed range, in reference to genetic distance, for the discrimination of species in this genus and with this marker is between 5% - 12%. The existing records under the denomination of *B. hypnoides* and *B. plumosa* are considered misapplied names or uncertain records and it is estimated that *B. ramulosa* and *B. halliae* could be synonyms of *B. pennata*.

Keywords: Seaweeds; Phylogeny; *psbB*; Concatenated analysis; Geographical distribution

Introducción

El género *Bryopsis* J. V. Lamouroux comprende un grupo de algas verdes, poco conspicuas, distribuidas en aguas marinas relativamente protegidas, templadas y tropicales (Bold y Wynne, 1985), pertenece a la Clase Bryopsidophyceae (Hoek et al., 1995), caracterizada por talos que poseen una organización cenocítica o sifonal. Cada talo es prácticamente una sola célula y está constituido por una fronda con apariencia de pluma que porta un sistema de ramas regularmente pinnadas, que a su vez se origina de un sifón rastrero (Egerod, 1952). En promedio, el talo alcanza una longitud de alrededor de 10 cm; en Japón, una especie (*B. máxima* Okamura) presenta una longitud de más de 40 cm, pero la mayoría de las especies tienen unos pocos centímetros de alto (Bold y Wynne, 1985). El protoplasma forma una delgada capa periférica dentro del sifón que contiene núcleos en la parte externa y cloroplastos discoidales hacia la parte interna. El cloroplasto comúnmente contiene pirenoides. El centro del sifón está ocupado por una gran vacuola. Las pínulas pequeñas están destinadas a convertirse en gametangios, previa formación de una constricción en el poro que separa el citoplasma de una de las ramas (Hoek et al., 1995; Lee, 2008)

Lamouroux fue quien describió el género en 1809 y en función del arreglo, la longitud y la densidad de las pínulas, sobre el eje erecto del talo, distinguió 5 especies (Lamouroux, 1809, p. 333). Desde entonces, existen más de 130 nombres para especies en todo el mundo (Guiry y Guiry, 2018). Sin embargo, en la literatura se presentan varios nombres que, por diversas razones, deben ser excluidos o tratados como dudosos (ya sea que no son legítimos, de publicación no válida, sinónimos o que han sido transferidos a otros géneros), por lo que la lista de nombres actualmente reconocidos se reduce a 58 (Guiry y Guiry, 2018; Wynne, 2005). Para las costas del Atlántico tropical y subtropical americano, Wynne (2017) registra 8 especies, 5 de las cuales han sido citadas para México: *B. hypnoides* J. V. Lamouroux, *B. pennata* J. V. Lamouroux, *B. plumosa* (Hudson) C. Agardh, *B. halliae* W. R. Taylor

y *B. ramulosa* Montagne). En cuanto al Pacífico mexicano, existen registros para 6 especies (*B. hypnoides*, *B. pennata*, *B. plumosa*, *B. corticulans* Setchell, *B. galapagensis* W. R. Taylor y *B. muscosa* J. V. Lamouroux) (Ortega et al., 2001; Pedroche et al., 2005).

Para el reconocimiento de las especies del género *Bryopsis*, los caracteres morfológicos externos, anatómicos o ultraestructurales y reproductivos, han sido la base para la identificación de las especies (Hillis-Colinvaux, 1984). Sin embargo, dada la plasticidad fenotípica en las especies del género, resultado de su condición cenocítica, los caracteres y estados de carácter con que se cuenta para la discriminación de las entidades a nivel específico, es reducido (Woolcott et al., 2000). Adicionalmente, la expresión fenotípica de los caracteres morfológicos podría estar influenciada por factores ambientales como salinidad y temperatura (Silva, 1979), lo que podría generar una interpretación inadecuada de los caracteres por solapamiento, haciendo difícil la determinación de especies con base únicamente en el fenotipo. Incluso, ni los caracteres reproductivos, ni los citológicos han sido suficientes para clarificar la taxonomía de este género. Así, pues, la taxonomía alfa de *Bryopsis* permanece dependiente de los caracteres morfológicos altamente variables.

Un análisis morfológico y molecular previo en *Bryopsis*, para el Atlántico occidental y el Caribe (Krellwitz et al., 2001), reveló la presencia de 4 clados, genéticamente distintos, que parecen reflejar una disyunción tanto estacional como geográfica y que no corresponden totalmente con las especies morfológicas descritas con anterioridad. Krellwitz et al. (2001) utilizaron información contenida en el ADN del cloroplasto, en particular los genes *psbT* y *psbH*, que codifican las proteínas del fotosistema II y que se localizan en el operon *psbB* (Quandt et al., 2003). En el presente estudio y con el objetivo de tener una visión más amplia de este género, en la región del Atlántico, se realizó un análisis filogenético utilizando secuencias moleculares de estos genes, generadas con especímenes mexicanos e incorporando las secuencias previas conocidas hasta la fecha y depositadas en GeneBank (Benson et al., 2013) para esta área geográfica.

Materiales y métodos

Se visitaron 15 localidades, a lo largo de la costa mexicana del Atlántico (fig. 1), en las que existían registros previos de este género (Ortega et al., 2001) y solo en 8 de ellas fueron recolectados individuos frescos de este taxón. En la mayoría de los casos, el material biológico fue muy escaso. De cada uno de los individuos recolectados, una porción fue preservada en alcohol al 70% para el estudio de la morfología y otra fue colocada en sílica gel para ser usada en el análisis molecular. Algunos individuos fueron herborizados e integrados a la colección de algas de UAMIZ (Thiers, 2017). Secuencias de 2 individuos del género *Derbesia* y una secuencia del GenBank® correspondiente a *Lambia antarctica* (Skottsberg) Delépine fueron empleados como grupo externo (tabla 1).

La extracción de ADN genómico, la amplificación vía PCR y la obtención de secuencias, fueron realizadas según lo descrito por Pedroche (2001) y Díaz-Martínez et al. (2016). La amplificación del gen *psbB* del cloroplasto, se realizó utilizando los primers *psbT* (5'-ATGGAAGCWTTAG TWTATACWTT-3') y *psbH* (5' GTHCCCCARCCDGGDRVHACTTTWCC-3') bajo las condiciones mencionadas en Krellwitz et al. (2001). En la mayoría de los casos, para la amplificación se realizaron diluciones de las extracciones entre 1:10 y 1:1000, con agua bidestilada y filtrada. Las reacciones se llevaron a cabo con un termociclador Touchgene Gradient Techne. Para las reacciones de secuenciación se utilizaron los químicos de la compañía Perkin Elmer (PRISMTMDye Terminador Cycle Sequencing Reaction Kit) y las secuencias fueron leídas automáticamente por un secuenciador ABI-377

32 °



Figura 1. Localidades visitadas a lo largo de las costas del Golfo y Caribe mexicanos. En las localidades a - f fueron recolectados individuos de *Bryopsis*. Las localidades marcadas con asterisco, aunque con registros previos, no aportaron material nuevo.

(Applied Biosystems™). El ensamble y edición de las secuencias obtenidas se realizó con la ayuda del programa Phylogenetic Data Editor, versión 0.997 (Müller et al., 2010), que facilita el alineamiento manual y representa una alternativa para el establecimiento de las hipótesis de homología (Ochoterena, 2009). Para contextualizar esta información, secuencias obtenidas del GenBank® (tabla 2) fueron incorporadas a la matriz y a los análisis realizados. Los géneros incorporados como grupos

externos están respaldados por los trabajos de Krellwitz et al. (2001) y Friedl y Rybalka (2012). Una vez completa la matriz, se reconocieron eventos microestructurales potenciales de evolución (Ochoterena, 2009), que fueron tratados como caracteres estándar y codificados en una matriz independiente. En el caso de los vacíos simples, se codificaron como presencia/ ausencia y cuando hubo vacíos anidados, estos se codificaron como valores inaplicables para los vacíos más inclusivos.

Tabla 1

Datos de los individuos utilizados en este trabajo, indicando nomenclatura de la muestra, fecha y lugar de recolecta, herbario en donde se encuentran depositados y el número de acceso en GenBank®

Taxón	Fecha	Localidad	Herbario	GenBank®
<i>Bryopsis</i> sp. 03	20/10/2006	La Mancha, Veracruz, MX	UAMIZ 435	MH837712
<i>Bryopsis</i> sp. 10	04/12/2007	Puerto Real, Campeche, MX	UAMIZ 442	MH837702
<i>Bryopsis</i> sp. 11	04/12/2007	Puerto Real, Campeche, MX	UAMIZ 443	MH837703
<i>Bryopsis</i> sp. 12	13/06/2007	Puerto Real, Campeche, MX	UAMIZ 1329	MH837699
<i>Bryopsis</i> sp. 13	13/06/2007	Puerto Real, Campeche, MX	UAMIZ 1330	MH837700
<i>Bryopsis</i> sp. 30	13/06/2007	Puerto Real, Campeche, MX	UAMIZ 444	MH837705
<i>Bryopsis</i> sp. 34	13/06/2007	Puerto Real, Campeche, MX	UAMIZ 447	MH837713
<i>Bryopsis</i> sp. 40	13/06/2007	Champoton, Campeche, MX	UAMIZ 449	MH837706
<i>Bryopsis</i> sp. 41	13/06/2007	Sabancuy, Campeche, MX	UAMIZ 450	MH837707
<i>Bryopsis</i> sp. 20	09/04/2007	Puerto Real, Campeche, MX	UAMIZ 451	MH837715
<i>Bryopsis</i> sp. 21	09/04/2007	Puerto Real, Campeche, MX	UAMIZ 452	MH837716
<i>Bryopsis</i> sp. 22	09/04/2007	Puerto Real, Campeche, MX	UAMIZ 453	MH837704
<i>Bryopsis</i> sp. 53	23/05/2009	Los Muñecos, Veracruz, MX	UAMIZ 456	MH837718
<i>Bryopsis</i> sp. 55	23/05/2009	Los Muñecos, Veracruz, MX	UAMIZ 458	MH837717
<i>Bryopsis</i> sp. 298	13/05/2004	Penacho de Indio, Veracruz, MX	UAMIZ 298	MH837708
<i>Bryopsis</i> sp. 300	14/05/2004	Mata de Uva, Veracruz, MX	UAMIZ 300	MH837714
<i>Bryopsis</i> sp. 476	21/09/2004	Boca Andrea, Veracruz, MX	UAMIZ 476	MH837709
<i>Bryopsis</i> sp. 488	23/02/2006	Isla Mujeres, Quintana Roo, MX	UAMIZ 488	MH837701
<i>Bryopsis</i> sp. 514-13	28/12/2003	Isla Mujeres, Quintana Roo, MX	UAMIZ 514	MH837710
<i>Bryopsis</i> sp. 514-14	28/12/2003	Isla Mujeres, Quintana Roo, MX	UAMIZ 514	MH837711
<i>Derbesia</i> sp. 222	27/09/2002	Oregon, USA	UAMIZ 222	MH883321
<i>Derbesia</i> sp. 226	26/09/2002	Oregon, USA	UAMIZ 226	-----

Tabla 2

Listado de secuencias obtenidas de GenBank® (número de acceso) utilizadas en este trabajo.

Taxón	Localidad	GenBank®
<i>Lambia antarctica</i>	No disponible	AF170416
<i>Bryopsis</i> sp. A	Conception Bay, Newfoundland, CA	AF170413
<i>Bryopsis</i> sp. A	Conception Bay, Newfoundland, CA	AF170414
<i>Bryopsis</i> sp. B	Virginia Beach, Virginia, USA	AF170395
<i>Bryopsis</i> sp. B	Virginia Beach, Virginia, USA	AF170396

Tabla 2
 Continuación

Taxón	Localidad	GenBank®
<i>Bryopsis</i> sp. B	Virginia Beach, Virginia, USA	AF170397
<i>Bryopsis</i> sp. B	Virginia Beach, Virginia, USA	AF170398
<i>Bryopsis</i> sp. B	Virginia Beach, Virginia, USA	AF170400
<i>Bryopsis</i> sp. B	Virginia Beach, Virginia, USA	AF170401
<i>Bryopsis</i> sp. B	Virginia Beach, Virginia, USA	AF170402
<i>Bryopsis</i> sp. B	Virginia Beach, Virginia, USA	AF170404
<i>Bryopsis</i> sp. B	Virginia Beach, Virginia, USA	AF170405
<i>Bryopsis</i> sp. B	Virginia Beach, Virginia, USA	AF170406
<i>Bryopsis</i> sp. A	Virginia Beach, Virginia, USA	AF170408
<i>Bryopsis</i> sp. A	Wilmington, North Carolina, USA	AF170409
<i>Bryopsis</i> sp. A	Beaufort, North Carolina, USA	AF170415
<i>Bryopsis</i> sp. C	Beaufort, North Carolina, USA	AF170384
<i>Bryopsis</i> sp. C	Beaufort, North Carolina, USA	AF170386
<i>Bryopsis</i> sp. C	Beaufort, North Carolina, USA	AF170387
<i>Bryopsis</i> sp. C	Beaufort, North Carolina, USA	AF170388
<i>Bryopsis</i> sp. C	Beaufort, North Carolina, USA	AF170390
<i>Bryopsis</i> sp. C	Beaufort, North Carolina, USA	AF170391
<i>Bryopsis</i> sp. C	Beaufort, North Carolina, USA	AF170392
<i>Bryopsis</i> sp. C	Beaufort, North Carolina, USA	AF170394
<i>Bryopsis</i> sp. A	Isle of Palms, South Carolina, USA	AF170410
<i>Bryopsis</i> sp. C	Hilton Head, South Carolina, USA	AF170383
<i>Bryopsis</i> sp. C	Hilton Head, South Carolina, USA	AF170385
<i>Bryopsis</i> sp. C	Hilton Head, South Carolina, USA	AF170393
<i>Bryopsis</i> sp. C	Brunswick, Georgia, USA	AF170389
<i>Bryopsis</i> sp. E	Long Key, Florida, USA	AF170378
<i>Bryopsis</i> sp. E	Long Key, Florida, USA	AF170379
<i>Bryopsis</i> sp. C	Long Key, Florida, USA	AF170407
<i>Bryopsis</i> sp. E	Key West, Florida, USA	AF170373
<i>Bryopsis</i> sp. E	Roottnest Island, AU	AF170376
<i>Bryopsis</i> sp. E	Lady Elliot Island, AU	AF170375
<i>Bryopsis</i> sp. A	Sydney, AU	AF170411
<i>Bryopsis</i> sp. B	Grevelingen, NL	AF170399
<i>Bryopsis</i> sp. A	Grevelingen, NL	AF170412
<i>Bryopsis</i> sp. A	Grevelingen, NL	AF170412
<i>Bryopsis</i> sp. B	Choshi-shi, JP	AF170403
<i>Bryopsis</i> sp. D	Monterrey, California, USA	AF170381
<i>Bryopsis</i> sp. D	Princeton, California, USA	AF170382
<i>Bryopsis</i> sp. E	Isla Magueyes, PR	AF170374
<i>Bryopsis</i> sp. E	San Juan, PR	AF170377
<i>Bryopsis</i> sp. E	ATL-Sur Cozumel, MX	AF170380

Se realizaron análisis de parsimonia, con la ayuda de Nona (Goloboff, 1993) empleando la interfase de WinClada (Nixon, 2002), estableciendo 500 iteraciones por réplica, reteniendo 20 árboles en cada iteración y muestreando 60 caracteres al azar en cada perturbación de la matriz. Todas las posiciones fueron establecidas como no aditivas e igualmente pesadas; los vacíos se trataron como valores faltantes. Para este análisis se construyó una matriz concatenada con la información de los eventos microestructurales y las secuencias de nucleótidos informativos del marcador mencionado. También se incluyeron análisis de máxima verosimilitud (ML) y bayesiano al considerarse la aproximación probabilística en los datos moleculares. La elección del modelo evolutivo, al que se ajustan los datos, se obtuvo empleando JModeltest2 (Darriba et al., 2012; Guindon y Gascuel, 2003). La filogenia de ML fue inferida utilizando PAUP, versión 4.0a (build 163), (Swofford, 2002) para la matriz molecular, eligiendo el algoritmo de búsqueda heurística y el procedimiento de intercambio TBR para la reconexión de ramas en el árbol, y se estimó el respaldo nodal mediante análisis de bootstrap (100 réplicas). Para el análisis bayesiano se empleó la matriz combinada arriba mencionada con la ayuda de MrBayes v3.2 (Ronquist et al., 2012), definiéndose $nst = 6$ y $rates = invgamma$ para la partición molecular y $nst = 1$ y $rates = gamma$ para los caracteres codificados como estándar, el número de generaciones fue de 10 millones y se descartó una fracción de 25%. La desviación estándar media de las frecuencias indicó que las muestras de los árboles se volvieron cada vez más parecidas y que se alcanzó una distribución estacionaria (split frequency = 0.0076). Los árboles fueron visualizados con FigTree v. 1.4.3. (Rambaut, 2018).

Se estimó también, como otro elemento de razonamiento, la divergencia genética presente en las secuencias analizadas. Para ello, se construyó una matriz con todos los taxones del estudio; así como una matriz entre clados y una tabla de divergencias máximas dentro de cada uno de los clados. Estos análisis se llevaron a cabo en MEGA6 (Tamura et al., 2013), utilizando el modelo evolutivo de Tamura 3-parámetros (Tamura, 1992) e involucraron a los 66 taxones del estudio, incluidos los grupos externos.

Resultados

El alineamiento consistió en 66 secuencias con un total de 675 pares de bases de longitud. De éste, fueron eliminadas 30 posiciones correspondientes a una región hipervariable en las posiciones 306-335, donde el alineamiento se volvió problemático y ambiguo, por lo que se optó por excluir dichas posiciones de la matriz. Aunado a esto, 372 posiciones fueron consideradas como sitios no

informativos y 273 sitios potencialmente informativos. En cuanto a los eventos microestructurales, fueron reconocidos 39 caracteres, correspondientes a las codificaciones de los eventos potenciales de evolución molecular. Los eventos identificados en la matriz fueron repeticiones de secuencias en tándem (STR) o microsátelites e indels sin repeticiones, es decir vacíos simples y vacíos anidados.

Cuando los grupos de datos, moleculares y microestructurales, se analizaron por separado, en parsimonia, máxima verosimilitud y bayesiano, los árboles recuperados se encontraron pobremente resueltos (datos no mostrados) y las diferencias en las topologías se detectaron en las ramas con poco respaldo. Por su parte, los análisis de parsimonia y bayesiano, con los alineamientos concatenados, resultaron en topologías más robustas y similares. El análisis de parsimonia de matraca resultó en 298 árboles igualmente parsimoniosos. En el árbol consenso estricto, la longitud fue de 808 pasos con un IC = 0.61 e IR = 0.88. En el análisis bayesiano la desviación estándar promedio de las frecuencias divididas fue de 0.0076 y los valores de credibilidad de los clados se encontraron entre 70 y 99%. En ambas topologías es posible distinguir claramente 2 grandes clados; el primero con 4 grupos (A-D) y el segundo con 5 (E-H). Los individuos mexicanos del Atlántico se colocaron en este segundo clado identificados como E', F, G y H, conformando, con el clado E, un grupo resuelto y hermano al resto de ellos. A su vez, en este clado se puede apreciar la existencia de 3 subclados. El primero conformado por los grupos G y H, así como por los individuos de *Bryopsis* 514-13 y 514-14 (grupo F). El segundo por el grupo E' y el tercero por E (figs. 2, 3). La figura 3 muestra, además, la relación entre las secuencias de *psbB* con las morfologías y los nombres de las especies que fueron asignadas a los individuos después de un análisis de los caracteres morfológicos (figs. 4-9).

Para *psbB*, las divergencias con respecto al grupo externo (divergencia entre géneros) se encontraron entre 0.296 (29.6%) y 0.331 (33.1%). La mayor divergencia entre los clados mencionados se presentó entre C y E' con un valor de 0.121 (12.1%). Entre los clados A y B, donde se encuentran algunos individuos nomenclaturalmente determinados, la divergencia tiene un valor de 0.049 (4.9%). Por otra parte, la mayor divergencia dentro de los clados se presentó en el clado C, con un valor de 0.040 (4%) y la menor, dentro del clado D con un valor de 0.

Discusión

La topología de los árboles generados es congruente con el trabajo de Krellwitz et al. (2001), en lo que respecta a los clados A, B, C, D y E. La inclusión de las secuencias generadas en el presente trabajo recupera 3 clados adicionales denominados F, G, H y permite distinguir un

clado anexo en el denominado E, para dividir éste en el E y E'. Las especies del golfo de México y el Caribe (E, E', F, G y H) conforman un linaje monofilético, resuelto en el análisis de parsimonia y con una politomía en el análisis bayesiano. Como parte de este linaje, también están incluidos los individuos de *Bryopsis* procedentes de Isla Mujeres que no se recuperaron como un solo

clado (grupo F en las figuras 2 y 3). Los clados A-D son septentrionales en relación con los individuos del golfo de México y corresponden a 2 provincias del Atlántico de EUA (Humm, 1968; Searles, 1984). La primera influenciada por la corriente del Labrador que corresponde a elementos de aguas templadas, en el presente caso los clados A y B. La segunda con características templado-cálidas con límite

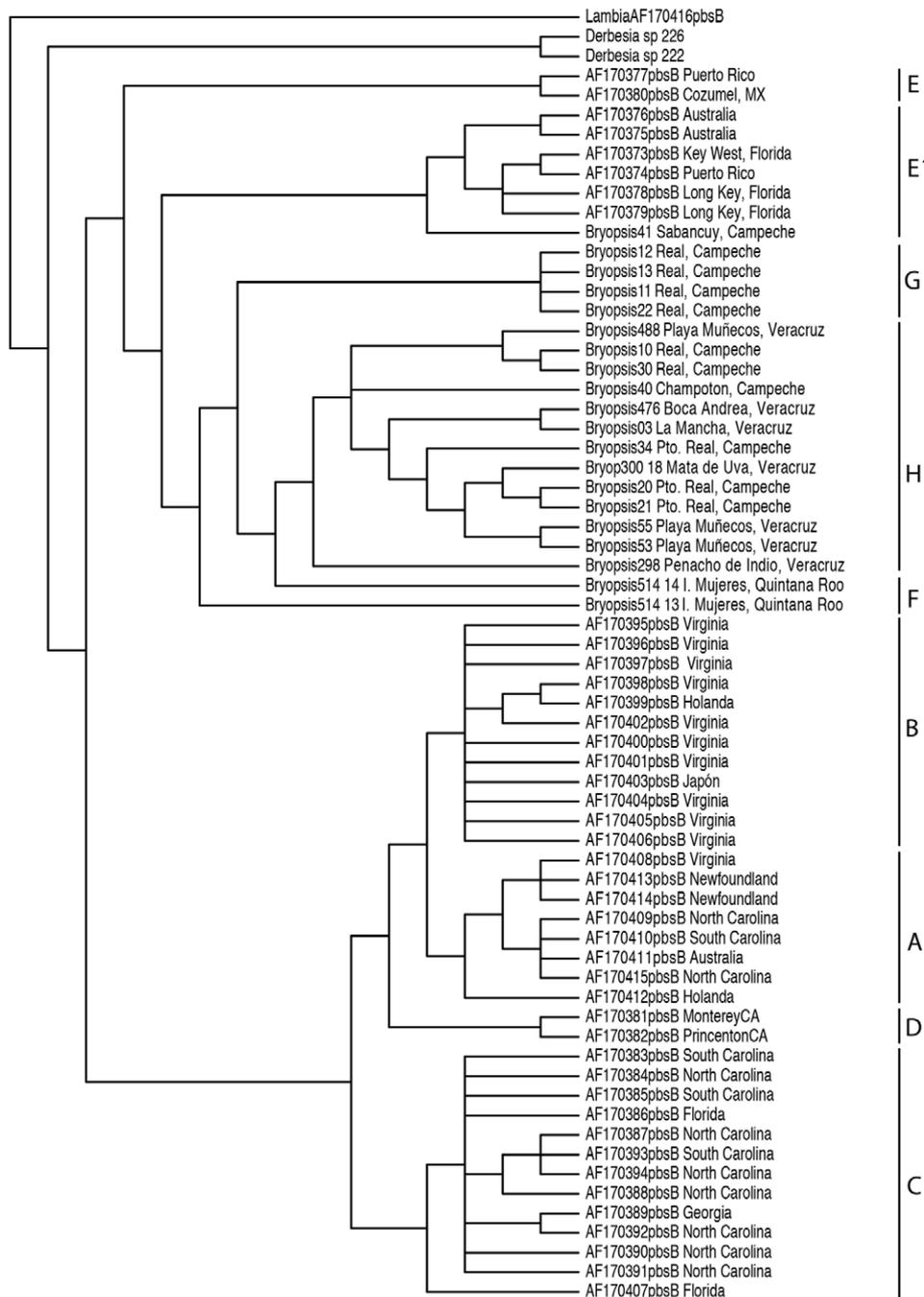


Figura 2. Topología resultado del análisis por parsimonia. Árbol consenso estricto ($L = 808$, $IC = 0.61$, $IR = 0.88$) de los 298 árboles más parsimoniosos. Las letras mayúsculas en el extremo derecho corresponden con los clados mencionados en el texto.

norte en Cabo Hatteras en Carolina del Norte, clado C. La aseveración de que los clados del golfo de México conforman un linaje independiente se ve apoyada cuando se analizan las distancias genéticas dentro de cada clado y entre los clados resueltos en la topología. Por un lado, las distancias dentro de cada uno de los clados resueltos tienen un intervalo de 0 a 0.04, como apuntábamos en los resultados. Las distancias entre los clados del golfo de México oscilan entre 0.4% y 3.2% mientras que las distancias con respecto a los del Atlántico se encuentran en el intervalo de 6.5% -12.1%. Si consideramos que los clados A y B, cuentan con secuencias provenientes de

individuos nomenclaturalmente determinados como *B. plumosa* en el clado A y *B. hypnoides* y *B. maxima* en el clado B y que, entre estos clados se calculó una distancia de 0.049 (4.9%), entonces el clado que contiene a los individuos mexicanos representa a una sola especie.

Tomando como punto de partida la determinación de estos individuos, su resolución en la topología del árbol y la distancia genética, se considera que este valor (4.9%) es el umbral inferior para la discriminación de especies en este análisis, proponiéndose como el valor máximo el de 12% mostrado entre los grupos C y E'. Es interesante destacar que las divergencias entre los individuos del Pacífico

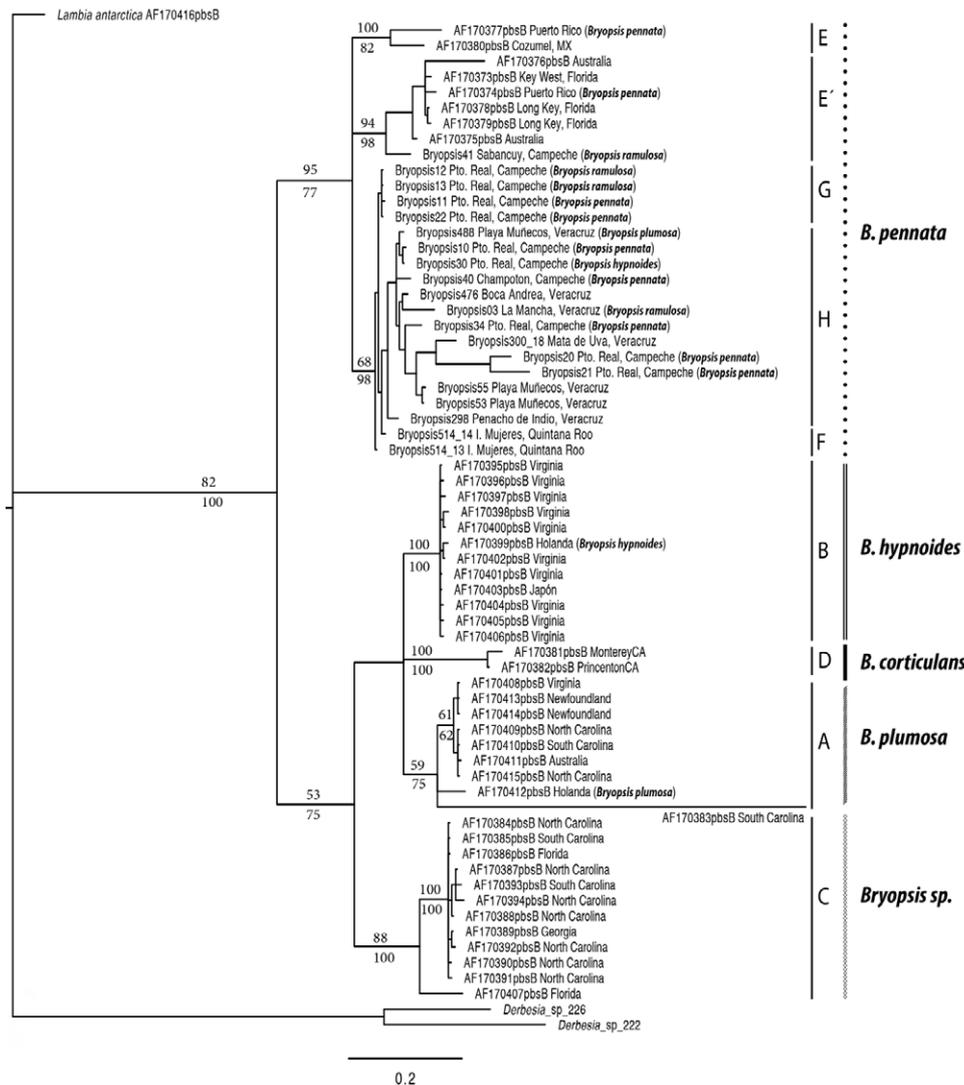


Figura 3. Árbol de inferencia bayesiana del género *Bryopsis* obtenido por análisis concatenado del gen *psbT* (nucleótidos y eventos microestructurales). Los números asociados a las ramas indican valores de respaldo: arriba, porcentaje de bootstrap y abajo, valores de credibilidad (probabilidad posterior en porcentaje) de los clados. Los nombres de las especies en negritas son los nombres que fueron asignados a los individuos después de un análisis de los caracteres morfológicos. Las letras mayúsculas en el extremo derecho corresponden con los clados mencionados en el texto. También en esta figura se presenta una propuesta de las especies reconocidas para el género *Bryopsis* en el Atlántico mexicano y parte del Atlántico norte de EUA.

(clado D) y los del Atlántico (11%) son cercanamente similares entre algunos de los clados del propio Atlántico, por ejemplo, entre el clado C y el G (11%).

Respecto a la taxonomía y la asignación de nombres, la propuesta de este trabajo es que a partir de los individuos determinados que se usaron en el análisis, de

la topología del árbol y con el apoyo de las distancias genéticas calculadas, se puede asignar el nombre de *Bryopsis plumosa* (Loc. tipo: Inglaterra) al clado A que contiene el ejemplar holandés AF170412, determinado como *B. plumosa*. Los análisis de parsimonia, máxima verosimilitud y bayesiano anidan, en el clado B, secuencias



Figuras 4-9. Representación de las morfologías de las especies de *Bryopsis* asignadas y presentes en la figura 3. 4 y 5: hábitos de *Bryopsis pennata*; 6: hábito de *Bryopsis plumosa*; 7 y 8: hábitos de *Bryopsis ramulosa*; 9: hábito de *Bryopsis hypnoides*.

de *B. hypnoides* (AF170399) y *B. maxima* (AF170403), ambas con diferencias muy pequeñas entre sí (figs. 2, 3). *Bryopsis hypnoides* tiene asignada como localidad tipo al Mediterráneo y *B. maxima* a Japón. Consideramos que *B. máxima* representa posiblemente un nombre mal aplicado para la secuencia AF170403 y que, para resolver esto, sería adecuado incrementar la representación de individuos provenientes de Japón y áreas aledañas, así como obtener secuencias de especímenes de *B. hypnoides* procedentes del Mediterráneo, ya que la secuencia AF170399 procede de Holanda. De esta manera, temporalmente, *B. hypnoides* es el nombre que hay que aplicar al clado B. Las topologías y las divergencias muestran que el clado C corresponde posiblemente a una especie de *Bryopsis* no descrita, por lo que en la figura 3 aparece como *B. sp.* Las secuencias del clado D son representativas de *B. corticulans* especie descrita para el área central de California, USA.

Los individuos recolectados y las secuencias recuperadas del GenBank® que se anidan en los clados E-H, tal como lo respaldan las topologías y las distancias genéticas, pertenecen a una misma especie. A la fecha existen 3 nombres que han sido registrados para la zona y que poseen localidades tipo para esta región, considerándose típicas de mares tropicales y subtropicales (Ortega et al., 2001; Wynne, 2005), *B. pennata* (loc. tipo: Antillas), *B. ramulosa* (loc. tipo: Cuba) y *B. halliae* (loc. tipo: Key West, Florida). La última recientemente registrada para Tabasco, en la parte sur del golfo de México (Mendoza-González et al., 2017). En el árbol recuperado, secuencias de individuos de Key West (AF170373) y Long Key (AF170378 y AF170379) se anidan en el mismo clado con las de Puerto Rico (AF170377 y AF170374), con diferencias genéticas mínimas. Si consideramos que Puerto Rico es parte de las Antillas y ante la posibilidad casi nula de extraer ADN del ejemplar tipo de *B. pennata*, lo más probable es que estas 2 especies sean sinónimos; máxime que, como se ha mencionado en la introducción y se muestra en los resultados (fig. 3), los caracteres morfológicos son poco fiables en la comparación y determinación de las especies de este género. En la misma situación se encuentra *B. ramulosa* de la cual desafortunadamente no existen a la fecha secuencias y menos aun de Cuba, por lo que es posible que también esta especie sea sinónimo de *B. pennata*; sin embargo, hasta no poseer más datos moleculares, de poblaciones de esta isla en el Caribe, podremos afirmar su ubicación taxonómica. En conclusión, se propone que los individuos mexicanos analizados son representantes de *B. pennata* (fig. 3).

Las otras 2 especies, previamente registradas, no han sido consideradas pues sus localidades tipo y áreas de distribución están principalmente fuera del Golfo y Caribe mexicanos. *Bryopsis hypnoides* (loc. tipo: costa mediterránea de Francia) se distribuye mayormente en

Europa, Africa y Asia (Guiry y Guiry, 2018) y ha sido considerada como una forma de crecimiento de *B. plumosa* (Schneider y Searles, 1991) que también posee su localidad tipo en Europa (Devon, England) y se desarrolla en mares cálidos y templados con una distribución similar a *B. hypnoides*. Aunado a esta consideración, las secuencias obtenidas de individuos determinados bajo estos epítetos se anidan en los clados A-C. Por tanto, se considera que los registros existentes en el Atlántico mexicano, bajo la denominación de *B. hypnoides* y *B. plumosa*, son nombres mal aplicados o registros inciertos. La figura 3 muestra la posible configuración de las especies presentes en el golfo de México, mar Caribe y una parte de la costa norte del Atlántico de los EUA.

La explicación de la distribución de los taxones en los diferentes clados o, mejor dicho, de la distribución de los genotipos de estos taxones en los clados, podría deberse simplemente a que existe una limitada migración entre poblaciones geográficamente separadas (se definió que hay un clado principal que es más septentrional a los clados del golfo y Caribe de México). Una segunda hipótesis está más orientada a un enfoque ecológico (Krellwitz et al., 2001) que propone una diferenciación ecológica responsable de la distribución de los genotipos, es decir, es probable que los clados resueltos estén correlacionados con algún parámetro ambiental. Esta misma diferenciación ecológica es responsable morfológicamente, por ejemplo, de la distribución de los individuos de *Bryopsis maxima* (Japón) y *B. hypnoides* (Holanda) dentro del clado B y cuyo genotipo es idéntico (distancia genética = 0). Krellwitz et al. (2001) explican que uno de los principales factores ambientales que pueden estar influenciando la distribución de los genotipos es la temperatura, señalando que es probable obtener información ecológica y de distribución geográfica a partir de experimentos de tolerancia a este parámetro. En su trabajo se señalan, por ejemplo, que el clado A fue recolectado en varias latitudes, pero en temperaturas templadas y el clado C, en temperaturas más cálidas. Otro factor importante que considerar es la densidad de las poblaciones de *Bryopsis*, que a su vez está relacionada con arribos o introducciones recientes de las poblaciones.

Como se estableció anteriormente, las distancias genéticas permiten hipotetizar que existen 2 clados intraespecíficos, definidos en cuanto al área geográfica de su distribución. Uno netamente caribeño y otro para el golfo de México. Sin embargo, la presencia de 1 ejemplar de Sabancuy, Campeche, en el clado caribeño, podría manifestar que el sur del golfo de México representa una zona de transición entre el golfo de México, propiamente dicho y el mar Caribe, o bien, como algunos autores han postulado, una región biogeográficamente aislada (Britton y Morton, 1989; Callejas-Jiménez et al.,

2005). Recientemente, Vilchis et al. (2018) proponen la existencia de un nodo biogeográfico, en la región norte de la península de Yucatán, que podría representar el límite entre estas 2 grandes regiones del Atlántico mexicano. Sin embargo, estos autores solo incluyeron en su análisis a las denominadas grandes macroalgas, entre las cuales no se encuentra *Bryopsis*. Con la finalidad de aportar más datos y consensuar los posibles límites del golfo de México y Caribe se requiere de un estudio filogeográfico que arroje información sobre los haplotipos en esta posible zona de transición. Por otra parte, también contamos con una incógnita respecto a individuos de *Bryopsis* en el Atlántico norte mexicano. En las localidades de esta porción no se encontró material biológico, por lo que aún se tiene un vacío en el conocimiento de este género en esa región. Será interesante que, además de un mayor esfuerzo de muestreo, se intente obtener datos moleculares de los individuos preservados en algunos herbarios y que corresponden a registros en esta parte del golfo de México. También es importante incorporar información de parámetros ecológicos que pongan a prueba la hipótesis de diferenciación ambiental ya mencionada (Krellwitz et al., 2001; Silva, 1979).

Por lo que respecta a las secuencias de individuos australianos y japoneses es necesario ampliar el muestreo en esas regiones pues existe la posibilidad de que representen especies no nativas que han sido introducidas debido a algún factor antropogénico, como sucede con varios taxones algales del Pacífico californiano y mexicano (Aguilar-Rosas et al., 2014; Miller et al., 2011)

Finalmente, la presente investigación confirma que existe una incongruencia entre la información morfológica y los datos moleculares (fig. 3). Cuando se asignaron los morfotipos o morfoespecies a los individuos de *Bryopsis* en el cladograma resuelto, no se obtuvo ningún patrón evidente entre los clados y las especies definidas. Aunque el análisis de los caracteres morfológicos no fue objeto del presente estudio, investigaciones previas sobre *Bryopsis* o géneros cercanos, sugieren que su exploración no proporciona suficiente información filogenética (Krellwitz et al., 2001; Tufiño, datos sin publicar). Recuérdese que hay relativamente pocos caracteres morfológicos y/o anatómicos en el grupo, que existen pocos estados de carácter y que éstos están influenciados posiblemente por factores ambientales como la salinidad y la temperatura; además, también podemos sumar al enfoque morfológico, los problemas de definición y delimitación de estados de carácter. Es poco probable que algunos de ellos se pudieran incluir en una matriz combinada con otro tipo de evidencia. Se ha sugerido, por otra parte, que los estudios han estado basados en identificaciones erróneas de especies polimórficas y pobremente delimitadas (Kapaun, 2005).

Agradecimientos

Principalmente a Helga Ochoterena Booth, Hilda Patricia León Tejera, Abel Senties Granados, Alejandrina Ávila Ortiz, Johana Díaz Larrea y Alejandra Serrato Díaz por los diversos apoyos otorgados para realizar este trabajo, así como por sus valiosos comentarios. El apoyo económico fue mediante el proyecto “Diversidad de macroalgas marinas mexicanas: filogenia y biogeografía” de la UAM-I y UAM-L. Los comentarios de dos revisores anónimos enriquecieron considerablemente el contenido de esta contribución.

Referencias

- Aguilar-Rosas, L., Pedroche, F. F. y Zertuche-González, J. (2014). Algas marinas no nativas en la costa del pacifico mexicano. En R. Mendoza y P. Koleff (Eds.), *Especies acuáticas invasoras en México* (pp. 211–222). México D.F.: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Benson, D. A., Cavanaugh, M., Clark, K., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D. J., Ostell, J. et al. (2013). GenBank. *Nucleic Acids Research (database Issue)*, 41, D36–D42.
- Bold, H. C. y Wynne, M. J. (1985). *Introduction to the Algae: structure and reproduction, Segunda Ed.* Englewood Cliffs: Prentice-Hall.
- Britton, J. C. y Morton, B. (1989). *Shore ecology of the Gulf of Mexico.* Austin: University of Texas Press.
- Callejas-Jiménez, M. E., Senties, A. y Dreckmann, K. M. (2005). Macroalgas de Puerto Real, Faro Santa Rosalía y Playa Preciosa, Campeche, México, con algunas consideraciones florísticas y ecológicas para el estado. *Hidrobiológica*, 15, 89–96.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R. y Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9, 772.
- Díaz-Martínez, S., Zuccarello, G. C., Chávez, G. A. S., Pedroche, F. F. y Ávila-Ortiz, A. G. (2016). Species of *Padina* (Dictyotales, Phaeophyceae) in tropical Mexican waters based on molecular-assisted taxonomy. *Phycologia*, 55, 673–687.
- Egerod, L. E. (1952). An analysis of the siphonous Chlorophycophyta with special reference to the Siphonocladales, Siphonales and Dasycladales of Hawaii. *University of California Publications in Botany*, 25, 325–454.
- Friedl, T. y Rybalka, N. (2012). Systematics of the green algae: a brief introduction to the current status. En U. Lüttge, W. Beyschlag, B. Büdel y D. Francis (Eds.), *Progress in Botany, Vol. 73* (pp. 259–280). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin.
- Goloboff, P. (1993). NONA and PeeWee (Version 2). Zoological Museum, University of Copenhagen. Recuperado el 06 junio, 2018 de: <http://www.zmuc.dk/public/phylogeny>
- Guindon, S. y Gascuel, O. (2003). A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, 52, 696–704.

- Guiry, M. D. y Guiry, G. M. (2018). *AlgaeBase. World-wide electronic publication*. National University of Ireland, Galway Recuperado el 03 de agosto, 2018 de: <http://www.algaebase.org/>
- Hillis-Colinvaux, L. (1984). Systematics of the Siphonales. En D. E. G. Irvine y D. M. John (Eds.), *Systematics of the green algae*. The Systematics Association special Vol. 27 (pp. 271–296). New York: Academic Press.
- Hoek, C. V. D., Mann, D. G. y Jahns, H. M. (1995). *Algae. An introduction to Phycology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Humm, H. J. (1968). Distribution of marine algae along the Atlantic Coast of North America. *Phycologia*, 7, 43–53.
- Kapraun, D. F. (2005). Nuclear DNA content estimates in multicellular green, red and brown algae: phylogenetic considerations. *Annals of Botany*, 95, 7–44.
- Krellwitz, E. C., Kowallik, K. V. y Manos, P. S. (2001). Molecular and morphological analyses of *Bryopsis* (Bryopsidales, Chlorophyta) from the western North Atlantic and Caribbean. *Phycologia*, 40, 330–339.
- Lamouroux, J. V. F. (1809). Observations sur la physiologie des algues marines, et description de cinq nouveaux genres de cette famille. *Nouveau Bulletin des Sciences, par la Société Philomathique de Paris*, 1, 330–333.
- Lee, R. E. (2008). *Phycology*. New York: Cambridge University Press.
- Mendoza-González, A. C., Mateo-Cid, L. E. y García-López, D. Y. (2017). Inventory of benthic marine and estuarine algae and Cyanobacteria for Tabasco, México. *Biota Neotropica*, 17, 327–314.
- Miller, K. A., Aguilar-Rosas, L. E. y Pedroche, F. F. (2011). A review of non-native seaweeds from California, USA and Baja California, Mexico. *Hidrobiológica*, 21, 365–379.
- Müller, K., Quandt, D., Müller, J. y Neinhuis, C. (2010). PhyDE®: Phylogenetic Data Editor (Version version 0.997). Institut für Mathematik, Humboldt Universität zu Berlin. Recuperado el 07 de mayo, 2018 de: <http://www.phyde.de>
- Nixon, K. C. V. (2002). WinClada (Version 1.0000). Ithaca, New York: publicado por el autor. Recuperado el 12 de mayo, 2017 de: <http://www.diversityoflife.org/winclada/>
- Ochoterena, H. (2009). Homology in coding and non-coding DNA sequences: a parsimony perspective. *Plant Systematics and Evolution*, 282, 151–168.
- Ortega, M. M., Godínez, J. L. y Solórzano, G. G. (2001). *Catálogo de algas bénticas de las costas mexicanas del golfo de México y mar Caribe (Cyanophyta, Chlorophyta, Phaeophyta, Rhodophyta)*. Cuadernos del Instituto de Biología, 34. México D.F.: Conabio/ UNAM.
- Pedroche, F. F. (2001). Estudios filogenéticos del género *Codium* (Chlorophyta) en el Pacífico mexicano. Uso de ADN mitocondrial. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas*, 47, 109–123.
- Pedroche, F. F., Silva, P. C., Aguilar-Rosas, L., Dreckmann, K. y Aguilar-Rosas, R. (2005). *Catálogo de las algas marinas bentónicas del Pacífico de México. I. Chlorophycota*. México D.F.: UAM/ UABC/ UC Berkeley.
- Quandt, D., Müller, K. y Huttunen, S. (2003). Characterization of the chloroplast DNA *psbT*-H region and the influence of dyad symmetrical elements on phylogenetic reconstructions. *Plant Biology*, 5, 400–410.
- Rambaut, A. (2018). Figtree 1.4.3. Institute of Evolutionary Biology. Edinburgh. Recuperado el 18 agosto, 2018 de: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van-Der-Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S. et al. (2012). MrBayes 3.2. Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61, 539–542.
- Schneider, C. W. y Searles, R. B. (1991). *Seaweeds of the southeastern United States. Cape Hatteras to Cape Canaveral*. Durham y London: Duke University Press.
- Searles, R. B. (1984). Seaweed biogeography of the mid-Atlantic coast of the United States. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, 38, 259–271.
- Silva, P. C. (1979). The benthic algal flora of Central San Francisco Bay. En T. J. Conomos (Ed.), *San Francisco Bay: the urbanized estuary* (pp. 287–345). San Francisco: Pacific Division, American Association for the advancement of Science.
- Swofford, D. L. (2002). PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates. Recuperado el 2 de agosto, 2018 de: <https://paup.phylosolutions.com/>
- Tamura, K. (1992). Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G+ C-content biases. *Molecular Biology and Evolution*, 9, 678–687.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A. y Kumar, S. (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30, 2725–2729.
- Thiers, B. (2017). *Index herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff*. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Recuperado el 28 de agosto, 2018 de: <http://sweetgum.nybg.org/science/ih/>
- Vilchis, M. I., Dreckmann, K. M., García-Trejo, E. A., Hernández, O. E. y Senties, A. (2018). Patrones de distribución de las grandes macroalgas en el golfo de México y el Caribe mexicano: una contribución a la biología de la conservación. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 89, 1–11.
- Woolcott, G. W., Knöller, K. y King, R. J. (2000). Phylogeny of the Bryopsidaceae (Bryopsidales, Chlorophyta): cladistic analyses of morphological and molecular data. *Phycologia*, 39, 471–481.
- Wynne, M. J. (2005). Two new species of *Bryopsis* (Ulvoephyceae, Chlorophyta) from the Sultanate of Oman, with a census of currently recognized species in the genus. *Contributions from the University of Michigan Herbarium*, 24, 229–256.
- Wynne, M. J. (2017). A checklist of benthic marine algae of the tropical and subtropical western Atlantic: fourth revision. *Nova Hedwigia*, 145, 7–202.