



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Evaluación taxonómica de las
morfoespecies de *Padina* (Dictyotaceae)
en el Atlántico y Pacífico Tropical de
México con base en datos moleculares.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(SISTEMÁTICA)**

P R E S E N T A

SERGIO DÍAZ MARTÍNEZ

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. ALEJANDRINA GRACIELA AVILA ORTIZ
COMITÉ TUTOR: DR. GERARDO ADOLFO SALAZAR CHÁVEZ
DR. FRANCISCO FLORES PEDROCHE

MÉXICO, D.F.

MAYO, 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 4 de Abril de 2011, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (SISTEMATICA)** del alumno **DÍAZ MARTINEZ SERGIO** con número de cuenta **99085377** con la tesis titulada **“Evaluación taxonómica de las morfoespecies *Padina* (Dictyotaceae) en el Atlántico y Pacífico Tropical de México con base en datos moleculares”**, realizada bajo la dirección de (la) **DRA. ALEJANDRINA GRACIELA ÁVILA ORTÍZ**

Presidente: DR. GERARDO ADOLFO SALAZAR CHÁVEZ
Vocal: DR. ABEL SENTÍES GRANADOS
Secretario: DR. FRANCISCO FLORES PEDROCHE
Suplente: DRA. HILDA PATRICIA LEÓN TEJERA
Suplente: DR DANIEL LEÓN ÁLVAREZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
“POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU”
Cd. Universitaria, D.F., a 20 de Mayo de 2011.

M. del Coro Arizmendi

Dra. María del Coro Arizmendi Arraiga
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

Agradecimientos

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirle cursar sus estudios de Maestría bajo el más alto nivel académico.

Estos estudios y la redacción del presente manuscrito fueron posibles gracias a la beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT; No.225346) y al financiamiento del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) IN222910.

Asimismo, agradezco la dirección invaluable de los miembros del Comité Tutor: a la Dra. Alejandrina Avila Ortiz (Director de Tesis), Herbario FEZA de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza (UNAM), al Dr. Gerardo A. Salazar Chávez, Instituto de Biología (UNAM) y al Dr. Francisco F. Pedroche, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.

Agradecimientos a título personal

A la Universidad Nacional Autónoma de México, al Posgrado en Ciencias Biológicas, a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza y al Instituto de Biología, por permitirme continuar con mi formación académica.

A la Dra. Alejandrina, por su orientación durante el desarrollo de este trabajo, su apoyo invaluable durante el curso de mi maestría y por abrirme las puertas al mundo de la ficología.

Al Dr. Gerardo Salazar, por haber compartido sus conocimientos conmigo y ser un guía insustituible durante mi formación.

Al Dr. Francisco Flores Pedroche por haber compartido sus conocimientos en el campo de la ficología.

A los miembros del sínodo: Abel Sentíes, Hilda León, Daniel León y David Nahúm Espinoza, por su paciencia durante revisión de la tesis y sus críticas al trabajo.

A las doctoras Luz Elena Mateo Cid y Catalina Mendoza Gonzales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas por ejemplares prestados y por sus conocimientos durante las prácticas de campo.

A Edith Calixto, por tu amor y cariño, por enseñarme nuevos caminos y formas de ver la vida, y por alentarme a alcanzar las metas más altas.

A mis padres Juana y Alejandro y mis hermanos Diana y Alex por su compañía y apoyo en todo momento.

Y a todas las personas, maestros, amigos y compañeros imposibles de mencionar en su totalidad.

A todos, ¡Gracias!

*Dedicado a Edith,
Mi Familia
y a todas las Padres del Mundo.*

Mi ciencia para la humanidad

Mi fe para la naturaleza

Mi salud para la vida

CONTENIDO

Resumen.....	ix
Abstract.....	x
1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	6
2.1 Antecedentes taxonómicos de <i>Padina</i> en México.....	6
2.2 Estudios en sistemática molecular.....	7
3. Justificación de este estudio.....	8
4. Hipótesis.....	9
5. Objetivos.....	9
6. Materiales y Métodos.....	9
6.1 Área de Estudio.....	9
6.2 Material biológico.....	12
6.3 Técnicas moleculares.....	13
6.3.1 Extracción de ADN.....	13
6.3.2 Amplificación de los genes seleccionados.....	14
6.3.3 Secuenciación.....	15
6.4 Análisis filogenéticos.....	16
6.4.1 Generación de hipótesis filogenéticas.....	16
6.4.2 Evaluación de las morfoespecies de acuerdo a los clados recuperados.....	19
6.4.3 Exploración de la variación genética en los genes utilizados.....	19
7. Resultados.....	20
7.1 Morfoespecies reconocidas.....	20
7.1.1 Morfoespecies reconocidas en el Golfo de México y Mar Caribe.....	20
7.1.2 Morfoespecies reconocidas del Pacífico Tropical mexicano.....	24

7.2 Análisis cladísticos con secuencias de ADN.....	36
7.2.1 Secuencias obtenidas.....	36
7.2.2 Análisis de parsimonia.....	36
7.2.3 Análisis bayesiano.....	43
7.2.4 Exploración de las distancias genéticas.....	48
8. Discusión.....	49
8.1 Concepto de especies y criterio de delimitación de especies en este trabajo.....	49
8.2 Genes utilizados e hipótesis filogenéticas generadas.....	50
8.3 Evaluación de las morfoespecies.....	52
8.3.1 Especies del Golfo de México y Mar Caribe.....	52
8.3.1.1 <i>Padina antillarum</i>	52
8.3.1.2 <i>Padina boergesenii</i>	54
8.3.1.3 <i>Padina gymnospora</i>	55
8.3.1.4 <i>Padina sanctae-crucis</i> , <i>P. haitiensis</i> y <i>Padina sp. 1</i>	57
8.3.2 Especies del Pacífico tropical mexicano.....	58
8.3.2.1 <i>Padina crispata</i>	58
8.3.2.2 <i>Padina durvillei</i>	60
8.3.2.3 <i>Padina mexicana</i>	63
8.3.2.4 <i>Padina ramonribae</i>	64
9. Conclusiones.....	66
10. Consideraciones finales.....	67
11. Literatura citada.....	68
Anexo 1 Ejemplares incluidos en el estudio.....	75
Anexo 2 Distancias genéticas del gen <i>psbA</i> entre las distintas morfoespecies y ejemplares.....	80
Anexo 3 Distancias genéticas del gen COI entre las distintas morfoespecies y ejemplares.....	82

Lista de tablas

Tabla 1. Especies de <i>Padina</i> registradas en México.....	2
Tabla 2. Localidades representadas en el estudio.....	10
Tabla 3. Primers empleados en el estudio.....	15
Tabla 4. Programas de PCR utilizados en la aplicación de <i>psbA</i> y COI.....	15
Tabla 5. Resumen de caracteres diagnósticos de las morfoespecies de <i>Padina</i> incluidas en este análisis.....	29
Tabla 6. Resumen de características conjuntas de datos moleculares.....	51

Lista de figuras

Figura 1. Caracteres morfológicos de <i>Padina</i>	5
Figura 2. Localidades representadas en el estudio.....	10
Figura 3. Cladograma de consenso estricto del análisis del gen <i>psbA</i> con el criterio de Parsimonia.....	38
Figura 4. Cladograma de consenso estricto del análisis del gen COI con el criterio de Parsimonia.....	40
Figura 5. Cladograma de consenso estricto del análisis de los genes <i>psbA</i> +COI con el criterio de Parsimonia.....	42
Figura 6. Filograma obtenido del análisis del gen <i>psbA</i> a partir de Inferencia Bayesiana.....	44
Figura 7. Filograma obtenido del análisis del gen COI a partir de Inferencia Bayesiana.....	46
Figura 8. Filograma obtenido del análisis de los genes <i>psbA</i> +COI a partir de Inferencia Bayesiana.....	47
Figura 9. Correlación del clado <i>Padina antillarum</i> (C) con la distribución de los ejemplares.....	53
Figura 10. Correlación del clado <i>Padina boergesenii</i> (B) con la distribución de los ejemplares.....	54

Figura 11. Correlación de los clados <i>Padina gymnospora</i> (E y F) con la distribución de los ejemplares.....	56
Figura 12. Correlación de <i>P. sanctae-crucis</i> , <i>P. haitiensis</i> y <i>Padina</i> sp. 1 (A) con la distribución de los ejemplares.....	58
Figura 13. Correlación del clado <i>Padina crispata</i> (G) con la distribución de los ejemplares.....	60
Figura 14 Correlación de <i>Padina durvillei</i> , <i>P. caulescens</i> , <i>P. concrescens</i> (I) con la distribución de los ejemplares.....	62
Figura 15. Correlación del clado <i>Padina mexicana</i> (D) con la distribución de los ejemplares.....	64
Figura 16. Correlación del clado <i>Padina ramonribae</i> (H) con la distribución de los ejemplares.....	65

Lista de láminas

Lámina 1. <i>Padina antillarum</i> <i>P. boergesenii</i> , <i>P. gymnospora</i> , <i>P. haitiensis</i>	31
Lámina 2. <i>Padina sanctae-crucis</i> , <i>P. sp 1</i> , <i>P. caulescens</i> , <i>P. concrescens</i> <i>P. crispata</i> , <i>P. durvillei</i>	32
Lámina 3. <i>Padina durvillei</i> , <i>P. mexicana</i> var. <i>mexicana</i> , <i>P. mexicana</i> var. <i>erecta</i> , <i>P. ramonribae</i> , <i>P. sp 2</i>	33
Lámina 4. <i>Padina</i> aff. <i>antillarum</i> <i>P. boergesenii</i> , <i>P. gymnospora</i> , <i>P. haitiensis</i> , <i>P. sanctae-crucis</i> , <i>P. sp 1</i> , <i>P. caulescens</i> , <i>P. concrescens</i>	34
Lámina 5. <i>Padina crispata</i> , <i>P. durvillei</i> , <i>P. mexicana</i> var. <i>mexicana</i> , <i>P. mexicana</i> var. <i>erecta</i> , <i>P. ramonribae</i> , <i>P. sp 2</i>	35

Resumen

El género *Padina* Adanson (Dictyotaceae) es un grupo de algas pardas que se distribuye en las aguas tropicales y subtropicales en todo el mundo, registrándose en México 12 de las 37 especies actualmente descritas. A pesar de los diversos estudios taxonómicos realizados en México, aún existe confusión respecto a los límites de algunas especies y su situación taxonómica no está resuelta. En este trabajo se evaluaron las morfoespecies de *Padina* que se distribuyen en el Golfo de México, Mar Caribe y Pacífico tropical mexicano, contrastado sus límites con clados recuperados en análisis cladísticos de secuencias de ADN (genes de plástido *psbA* y mitocondria COI). Para ello se analizaron las secuencias de 107 ejemplares bajo el criterio de Máxima Parsimonia e Inferencia Bayesiana. Se consideraron como grupo externo a otros géneros de la familia Dictyotaceae y se incluyeron secuencias de *Padina* disponibles en GenBank. Los análisis cladísticos apoyan la identidad independiente de la mayoría de las especies basadas en morfología. En este sentido *Padina antillarum*, *P. boergesenii*, *P. crispata*, *P. mexicana* y "*P. ramonribae*" (aún no válidamente publicado) se recuperaron en clados exclusivos. En *P. gymnospora* se observó una separación intraespecífica coincidente con un patrón geográfico, aunque existe la posibilidad de que se trate de especies distintas. *Padina concrescens* y *P. caulescens* se recuperaron en el mismo clado que *P. durvillei* y posiblemente son la misma especie. En el caso de *P. haitiensis* y *Padina* sp. 1 (morfoespecie distromática del Golfo de México) se agruparon con *P. sanctae-crucis*, poniendo en duda el estatus taxonómico de estas especies. *Padina* sp. 2 (morfoespecie de cuatro capas de células del Pacífico) se recuperó dentro el mismo clado que *P. crispata*, indicando que es un ejemplar de esta especie pero con variación morfológica de consideración. Se corroboró la identidad de "*P. ramonribae*" como una especie distinta. Finalmente, los marcadores moleculares fueron de gran utilidad para la evaluación de las morfoespecies de *Padina* ya que permitieron reconocer patrones coincidentes a partir de una fuente de datos independiente.

Palabras clave: *Padina*; Pacífico Tropical; Golfo de México; Mar Caribe; evaluación taxonómica; morfoespecie; análisis cladísticos; *psbA*; COI.

Taxonomical evaluation of *Padina* (Dictyotaceae) morphospecies from tropical Atlantic and Pacific coasts of Mexico based on molecular data.

The genus *Padina* Adanson (Dictyotaceae) is a group of brown algae that distributes on tropical and subtropical waters around the world, occurring in Mexico about 12 of the 37 actually described species. Although there are several works dealing with the taxonomy of the group in Mexico, there is still confusion about the limits of some species and its taxonomy is not resolved yet. In this work, the morphospecies of *Padina* that distributes in the Gulf of Mexico, Caribbean Sea and Tropical Pacific Mexican coasts were evaluated, contrasting their limits with clades recovered in cladistic analyses of DNA sequences (plastid *psbA* and mitochondria COI). To achieve this, 107 sequences were analyzed with Maximum Parsimony and Bayesian Inference methods. Other sequences of Dictyotaceae were considered as out-group and sequences of *Padina* downloaded from GenBank were included. The cladistic analyses support the independent identity of most of the species based on morphology. In this sense *Padina antillarum*, *P. boergesenii*, *P. crispata*, *P. mexicana* and “*P. ramonribae*” (not valid published yet) were recovered within exclusive clades. Two clades coincident with a geographical pattern were observed in *P. gymnospora*, although there is a chance that correspond to two different species. *Padina concrescens* and *P. caulescens* were recovered in the same clade as *P. durvillei* and could be the same species. *Padina haitiensis* and *Padina* sp. 1 (distromatic species from Gulf of Mexico) occurs in the same clade with *P. sanctae-crucis*, casting doubt on the taxonomical status of these species. *Padina* sp. 2 (tetrastrumatic species from Pacific) was recovered in the same clade as *P. crispata*, indicating that this specimen correspond to this last species, but with great morphological variation. The identity of “*P. ramonribae*” was corroborated as distinct species. Finally, the molecular markers were of great utility in the evaluation of the morphospecies of *Padina* since they allowed the recognition of coincident patterns between two independent data.

Key words: *Padina*; Tropical Pacific; Gulf of Mexico; Caribbean Sea; taxonomic evaluation; morphospecies; cladistic analyses; *psbA*; COI.

1. INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente, la sistemática de macroalgas se ha basado en el uso de características morfológicas para la descripción, delimitación y propuestas de clasificación de las especies. Sin embargo, estas tareas suelen ser conflictivas debido principalmente a que las descripciones originales de las especies son poco informativas, a la existencia de variación en los caracteres considerados diagnósticos y probablemente evolución convergente y paralela en algunos de estos (Bowler y Allen, 2007). Recientemente, con la implementación de herramientas de la sistemática molecular en la ficología, se ha obtenido información adicional para la reconstrucción filogenética, clasificación, identificación y la delimitación de taxones en diferentes niveles de inclusión. Sin embargo los estudios realizados en su mayoría son en niveles jerárquicos superiores a género, siendo los avances en el conocimiento de las especies aún escasos. En este sentido, los estudios basados en información molecular al nivel de especie prometen proporcionar una buena alternativa para el estudio de grupos de algas taxonómicamente complejos y la corroboración de especies propuestas bajo el contexto morfológico tradicional (Saunders, 2005).

El género *Padina* Adanson pertenece a la familia Dictyotaceae (Heterokontophyta; según la clasificación en Guiry y Guiry, 2011). Se distribuye en las aguas tropicales y subtropicales en todo el mundo. Se caracteriza por los talos en forma de abanico, un meristemo marginal circinado y por presentar calcificación (Bold y Wynne, 1985). Junto con *Newhousia imbricata*, son las únicas algas pardas calcificadas (Kraft *et al.*, 2004).

Actualmente se reconocen 37 especies a nivel mundial (Guiry y Guiry, 2011) de las cuales se han registrado 12 para las costas tropicales de México. Seis para Pacífico, cinco para el Golfo de México y Mar Caribe y *Padina gymnospora* (Kützing) Sonder para ambas costas (Tabla 1).

Tabla 1. Especies de <i>Padina</i> registradas en México	
Golfo de México y Mar Caribe	Referencias
<i>Padina boergesenii</i> Allender et Kraft	Dreckman, 1998; Littler y Littler, 2000; Ortega <i>et al.</i> 2001.
<i>Padina haitiensis</i> Thivy	Taylor, 1960; Dreckman, 1998; Littler y Littler, 2000; Ortega <i>et al.</i> 2001.
<i>Padina pavonica</i> (L.) Thivy	Taylor, 1960; Dreckman, 1998; Littler y Littler, 2000; Ortega <i>et al.</i> 2001.
<i>Padina perindusiata</i> Thivy	Taylor, 1960; Dreckman, 1998; Littler y Littler, 2000; Ortega <i>et al.</i> 2001.
<i>Padina sanctae-crucis</i> Børgesen	Taylor, 1960; Dreckman, 1998; Littler y Littler, 2000; Ortega <i>et al.</i> 2001.
Pacífico Tropical Mexicano	
<i>Padina caulescens</i> Thivy	Taylor, 1945; González-González, <i>et al.</i> , 1996; Pedroche <i>et al.</i> , 2008.
<i>Padina concrescens</i> Thivy	Taylor, 1945; González-González, <i>et al.</i> , 1996; Pedroche <i>et al.</i> , 2008.
<i>Padina crispata</i> Thivy	Taylor, 1945; González-González, <i>et al.</i> , 1996; Avila-Ortiz y Pedroche, 2005; Pedroche <i>et al.</i> , 2008.
<i>Padina durvillei</i> Bory de Saint-Vicent	Taylor, 1945; González-González, <i>et al.</i> , 1996; Avila-Ortiz y Pedroche, 2005; Pedroche <i>et al.</i> , 2008.
<i>Padina mexicana</i> Dawson var. <i>mexicana</i>	Dawson, 1944; González-González, <i>et al.</i> , 1996; Avila-Ortiz, 2003; Avila-Ortiz y Pedroche, 2005; Pedroche <i>et al.</i> , 2008.
<i>Padina mexicana</i> Dawson var. <i>erecta</i> Avila-Ortiz	Avila-Ortiz, 2003; Avila-Ortiz y Pedroche, 2005; Pedroche <i>et al.</i> , 2008.
“<i>Padina ramonribae</i>” Avila-Ortiz y Pedroche (aún no válidamente publicado)	Avila-Ortiz y Pedroche, 2005; Pedroche <i>et al.</i> , 2008.
Ambas costas	
<i>Padina gymnospora</i> (Kützinger) Sonder	Taylor, 1960 (= <i>P. vickersiae</i> Hoyt); González-González, <i>et al.</i> , 1996; Dreckman, 1998; Littler y Littler, 2000; Mateo-Cid <i>et al.</i> , 2000; Ortega <i>et al.</i> 2001; Pedroche <i>et al.</i> , 2008.

Para el reconocimiento de las especies de *Padina* se han utilizado principalmente los siguientes caracteres morfológicos vegetativos y reproductivos (fig. 1):

Estructuras vegetativas:

1) Número de capas celulares en la región basal. Este carácter vegetativo es considerado uno de los más importantes para la delimitación de especies. En la mayoría de las claves taxonómicas se recurre de forma inmediata al número de capas celulares (p. e. Taylor, 1945, 1960; Allender y Kraft, 1983; Littler y Littler, 2000; Geraldino *et al.*, 2005; Norris, 2010) y dependiendo de la especie, el número de capas puede variar (p. e. en *Padina gymnospora* y *P. durvillei*) o ser constante (p. e. en *P. sanctae-crucis* y *P. antillarum*).

2) Arreglo de los pelos feofíceos en la lámina. Los pelos feofíceos se originan de la capa de células corticales y forman líneas concéntricas en la cara externa y/o interna del talo (Avila-Ortiz y Pedroche, 2005; García, 2007)

3) Calcificación del talo. Se puede presentar una capa de carbonato de calcio en una o ambas superficies del talo y puede darse en diferente grado (nula, escasa, moderada y fuerte). Para algunos autores, este carácter permite la distinción entre algunos taxones (Avila-Ortiz y Pedroche, 2005; Norris, 2010).

4) Forma de la lámina. Entre los autores es de uso general considerar la forma del margen, forma del estípite y talla como caracteres diagnósticos. (p. e. entero a dividido como en *Padina conrescens* y en *P. durvillei*; lobado en *P. mexicana*; crispado en *P. crispata* [Avila-Ortiz y Pedroche, 2005]).

5) Fase *Vaughaniella*. Algunas especies de *Padina* presentan una forma de crecimiento llamada *Vaughaniella* (= *Dictyerpa*). Esta se observa cuando un individuo inicia su desarrollo a partir de una célula apical y no puede llevar el cambio a un margen de células apicales (Lewis y Norris, 1987). Esta forma de crecimiento parece manifestarse sólo en algunas especies (p.e. *P. boergesenii* y *P. sanctae-crucis*) y por tanto, la presencia o ausencia de esta forma de desarrollo

puede ser de utilidad en la taxonomía dentro de *Padina* (Ni-Ni-Win, 2010; Norris, 2010)

6) Forma de crecimiento. La mayoría de las especies presentan un talo erecto a excepción de *Padina mexicana* var. *mexicana* y *P. conrescens*. En el caso de *P. conrescens*, la posición postrada es un carácter que lo diferencia de *Padina durvillei* (Taylor, 1945; Avila-Ortiz, 2003, Pedroche *et al.*, 2008).

Estructuras reproductivas

7) Posición de los soros esporangiales y oogoniales. Las estructuras reproductivas han sido utilizadas ampliamente como un carácter diagnóstico entre las especies, principalmente esporangios y oogonios (los gametofitos masculinos presentan gran variabilidad en los soros anteridiales y son los menos descritos en la literatura). Según la literatura las especies se pueden reconocer por: 1) su posición en una o ambas superficies de la lámina; 2) su ubicación con respecto a los pelos feofíceos; y 3) su distribución sobre la lámina (Taylor, 1945, 1960; Littler y Littler, 2000; Avila-Ortiz y Pedroche, 2005).

8) Indusio. Es una membrana delgada que cubre a los soros. La presencia o ausencia de esta estructura tiene valor taxonómico a nivel de especie para algunos autores (e. g. Taylor, 1945, 1960; Littler y Littler, 2000; Avila-Ortiz y Pedroche 2005).

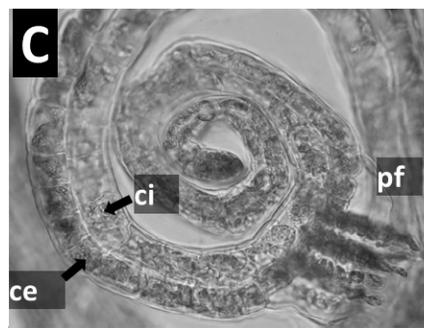
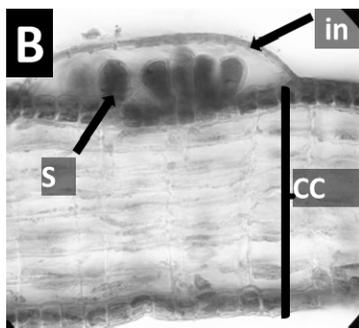
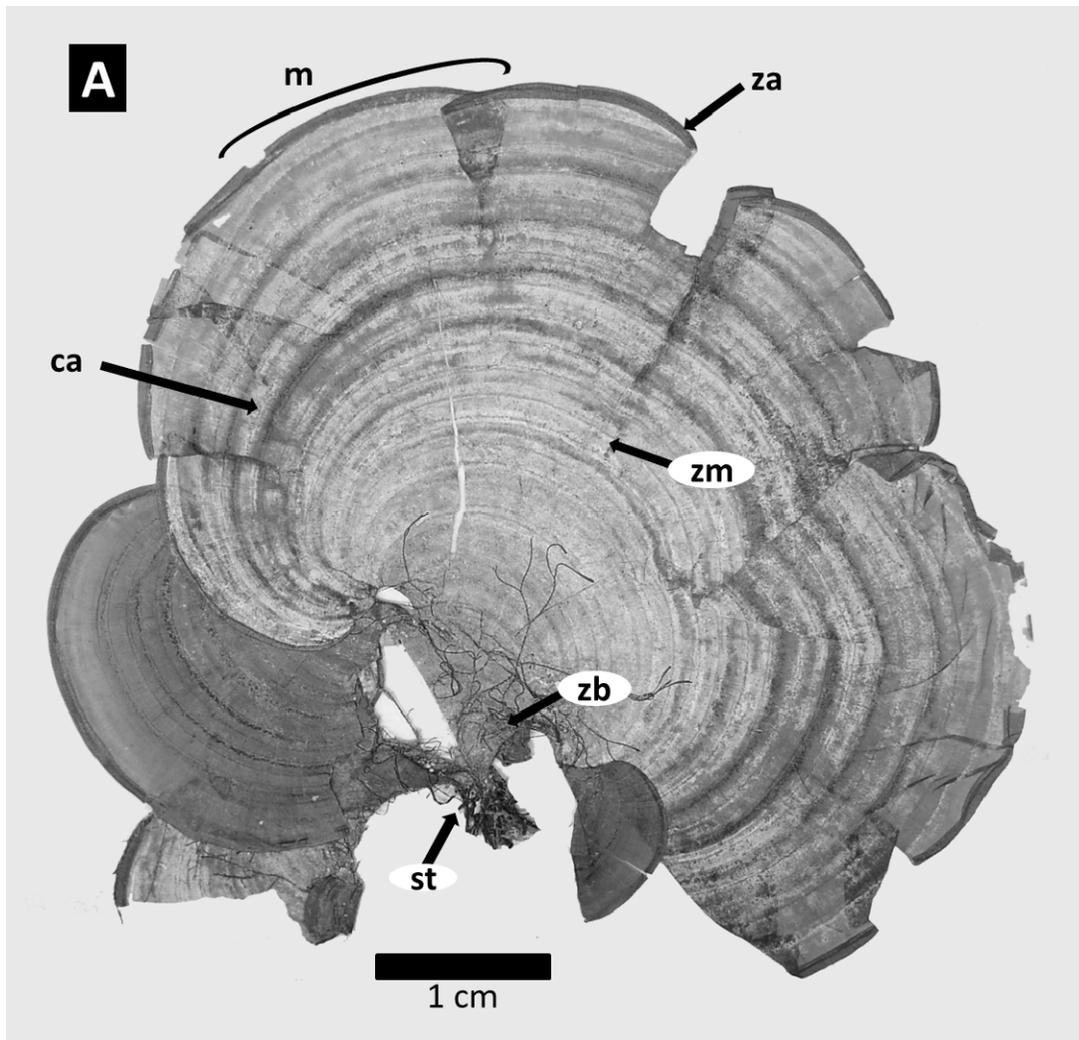


Figura 1. Caracteres morfológicos de *Padina*. A) forma de la lámina (en este caso flabeliforme, lámina entera) en donde se aprecia el margen (m), zona apical (za), zona media (zm), zona basal (zb), el estípite (st) y calcificación (ca). B) corte longitudinal del talo en zona media mostrando el número de capas celulares (cc), soros (s) en este caso esporangiales cubierto por un indusio (in). C) corte longitudinal del margen mostrando la orientación de la cara interna (ci) y la cara externa (ce), y exhibiendo pelos feofoceos (pf).

2. ANTECEDENTES

2.1 Antecedentes taxonómicos de *Padina* en México

Los primeros estudios taxonómicos sobre *Padina* en México pueden encontrarse en los trabajos de Dawson (1944) y Taylor (1945, 1960). Para el Pacífico se describieron *Padina mexicana* en Dawson (1944) y *P. caulescens*, *P. concrescens* y *P. crispata* (Taylor, 1945), y se registró la presencia de *P. durvillei* (Taylor, 1945). En el Golfo de México y Mar Caribe se describieron *P. haitiensis* y *P. perindusiata* (Taylor, 1960); se registró a *P. vickersiae* Hoyt, *P. sanctae-crucis* y *P. gymnospora* (Kützinger) *sensu* Vickers (Taylor, 1960); y se creó una nueva combinación para *P. pavonica* (Taylor 1960).

Con el tiempo, se propusieron diferentes cambios taxonómicos de consideración que afectan a las especies mexicanas, entre los cuales destacan los siguientes: Allender y Kraft (1983), en un estudio de la ficoflora de las Islas “Lord Howe” al este de Australia, compararon el material denominado como *P. vickersiae* con el ejemplar tipo de *Padina gymnospora* descrito por Kützinger (1859), encontrando a *P. vickersiae* indistinguible y relegándola como sinónimo de *Padina gymnospora*, reconociendo además que Sonder en 1871 ya había realizado esta observación (Allender y Kraft, 1983).

Adicionalmente, Allender y Kraft (1983) notaron que la combinación *P. gymnospora* (Kützinger) *sensu* Vickers (especie tristemática) no correspondía al material tipo de Kützinger, y dado que no existía un nombre válido para los individuos con esas características, formaron una nueva combinación: *Padina boergesenii* Allender *et* Kraft. Posteriormente, Avila-Ortiz (2003) describió una variedad de *P. mexicana* en el Pacífico tropical de México y que nombró *P. mexicana* var. *erecta*.

En 2005, Avila-Ortiz y Pedroche realizaron una revisión del género en las costas del Pacífico mexicano encontrando una nueva especie llamada “*Padina ramonribae*” Avila-Ortiz y Pedroche, pero no descrita formalmente. Por último,

García (2007) realizó un análisis estadístico de los caracteres diagnósticos (cualitativos y cuantitativos) de cuatro especies de *Padina* en el Golfo de México, proponiendo a *P. antillarum* como un nuevo registro para esta región y confirmando la utilidad del número de capas celulares en la zona basal y posición de los soros en relación a los pelos feofíceos como caracteres diagnósticos entre las especies.

2.2 Estudios en sistemática molecular.

El género *Padina* ha sido incluido en diversos estudios filogenéticos. Sin embargo, la mayoría tratan la filogenia en niveles taxonómicos superiores a género, así como estableciendo la posición de *Padina* dentro de la familia Dictyotaceae (Lee y Bae, 2002; Hoshina *et al.*, 2004; De Clerck *et al.*, 2006; Bittner *et al.*, 2008; Silberfed *et al.*, 2010). Recientemente, Ni-Ni-Win *et al.* (2008, 2010) realizaron estudios filogenéticos dentro de *Padina* utilizando secuencias de ADN de los genes *rbcL* y *cox3*, evidenciando la presencia de tres nuevos registros en Japón y la existencia de cuatro nuevas especies en el Pacífico Occidental.

En México, la primera aproximación desde un enfoque molecular al género corresponde a Díaz-Martínez (2008), que realizó un análisis morfométrico y molecular (secuencias de los genes *psbA*, *psaA* e ITS) para evaluar el estatus taxonómico de *Padina gymnospora* en el Golfo de México y Mar Caribe, reportando diferencias moleculares entre posibles poblaciones, pero sin manifestar patrones morfo-anatómicos distinguibles en los caracteres analizados.

3. JUSTIFICACIÓN DE ESTE ESTUDIO

A pesar de los diversos trabajos que tratan la taxonomía de *Padina* en las costas mexicanas (bajo el enfoque morfológico tradicional), su situación taxonómica actual no está del todo resuelta y aún existe confusión con respecto a la delimitación de algunas especies (Avila-Ortiz y Pedroche 2005; Norris, 2010). Los nuevos registros y especies de *Padina* encontradas en Japón y el Pacífico Occidental (Ni-Ni-Win *et al.*, 2008, 2010) sugieren la existencia de una mayor diversidad a la actualmente descrita y los datos generados por Díaz-Martínez (2008) demuestran la posibilidad de encontrar variación genética de consideración en especies mexicanas morfológicamente indistinguibles con los criterios actuales. Por este motivo, abordar la taxonomía del género desde el enfoque molecular permitiría obtener información independiente de la morfología para ayudar a esclarecer los límites taxonómicos de las especies mexicanas, así como facilitar su reconocimiento y recuperar sus relaciones filogenéticas.

Este trabajo pretende evaluar las especies de *Padina* basadas en caracteres morfológicos (“morfoespecies”; revisado en Mayden, 1997) que se distribuyen en las costas tropicales de México, contrastando sus límites con los clados recuperados en análisis cladísticos con secuencias de ADN. Para ello se consideró: a) el “Concepto Filogenético de Especie” según Mishler y Theriot (2000) definido como “Una especie es el taxón mínimamente inclusivo (monofilético) reconocido en una análisis filogenético formal”; y b) un criterio de delimitación de especies basado en una topología (Weins y Penkrot, 2002; Sites y Marshal, 2003, 2004) en donde una especie posee alelos genealógicamente más cercanos que los alelos de su taxón hermano (“monofilia recíproca”; Avise, 1994).

4. HIPÓTESIS

Las morfoespecies del género *Padina* actualmente registradas para las costas tropicales mexicanas, se recuperarán dentro de clados exclusivos generados a partir de análisis filogenéticos de secuencias de genes de plástido y mitocondria

5. OBJETIVOS

Objetivo General:

- Evaluar los límites taxonómicos de las morfoespecies de *Padina* en el Golfo de México, Mar Caribe y Pacífico tropical mexicano utilizando marcadores moleculares (secuencias de ADN) como una fuente de datos independiente.

Objetivos particulares:

Reconocer las morfoespecies de *Padina* distribuidas en costas tropicales mexicanas.

Generar hipótesis filogenéticas a partir de análisis cladísticos de secuencias de los genes *psbA* (plástido) y COI (mitocondria).

Analizar las coincidencias entre las morfoespecies reconocidas y los clados recuperados en los análisis cladísticos.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Área de Estudio

El área de estudio se delimitó dentro de costas tropicales mexicanas situadas en las áreas biogeográficas reportadas por Pedroche y Sentíes (2003): El Pacífico tropical mexicano se consideró desde Bahía de Banderas (localizado en la frontera de Nayarit y Jalisco) hasta la frontera sureste mexicana (Oaxaca). La Provincia Caribeña en el Atlántico mexicano, a partir del sur de Tamaulipas en el Golfo de México, hasta Quintana Roo. Se empleó material biológico de 20 localidades del Golfo de México y Mar Caribe, y 16 del Pacífico tropical mexicano (fig. 2, Tabla 2)

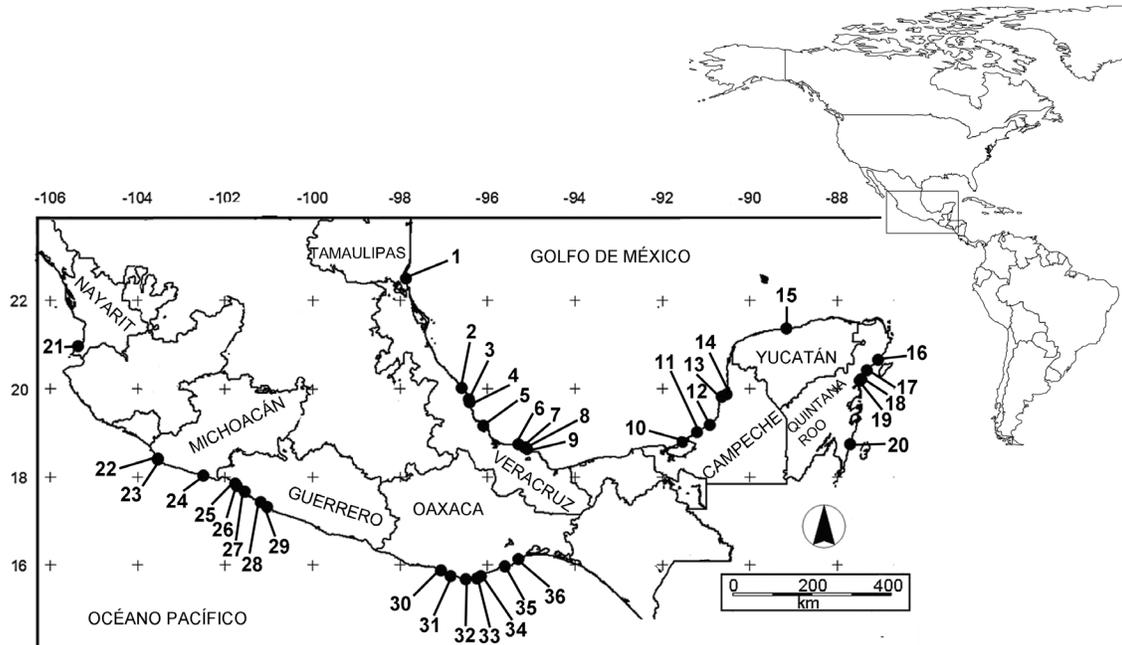


Figura 2. Localidades representadas en el estudio.

Tabla. 2 Localidades representadas en el estudio.		
LOCALIDAD	LATITUD	LONGITUD
GOLFO DE MÉXICO Y MAR CARIBE		
TAMAULIPAS:		
1 ALTAMIRA	22° 29' 52.15"	-97° 51' 18.57"
VERACRUZ:		
2 LECHUGUILLAS	20° 0' 24.76"	-96° 34' 40.6"
3 MUÑECOS	19° 44' 35.7"	-96° 24' 23.4"
4 VILLA RICA	19° 40' 36"	-96° 23' 38"
5 PENACHO DE INDIO	19° 9' 12.2"	-96° 5' 38.17"
6 PUNTILLAS	18° 42' 58.9"	-95° 17' 18.1"
7 PLAYA HERMOSA	18° 39' 54.63"	-95° 7' 43"
8 MONTEPIO	18° 38' 40.39"	-95° 5' 56.41"
9 BALZAPOTE	18° 37' 15.18"	-95° 4' 10.82"
CAMPECHE:		
10 PUERTO REAL	18° 46' 45.24"	-91° 31' 51.44"
11 SABANCUY	18° 59' 35"	-91° 11' 8.3"
12 PUNTA XEN	19° 10' 50"	-90° 54' 9.6"
13 PLAYA BONITA	19° 47' 44.3"	-90° 37' 3.8"
14 CAMPECHE	19° 51' 49.9"	-90° 31' 39.4"

Tabla 2. Continuación Localidades muestreadas durante el estudio.		
LOCALIDAD	LATITUD	LONGITUD
YUCATÁN:		
15 SAN CRISANTO	21° 21' 20.5"	-89° 8' 42.6"
QUINTANA ROO:		
16 PUNTA ESMERALDA	20° 38' 44.7"	-87° 3' 15.7"
17 AKUMAL	20° 24' 55.3"	-87° 17' 56.42"
18 TULUM	20° 12' 46.96"	-87° 25' 44.64"
19 PUNTA PIEDRA	20° 10' 22.9"	-87° 26' 52.4"
20 MAHAHUAL	18° 43' 27"	-87° 42' 4.4"
PACÍFICO TROPICAL MEXICANO		
NAYARIT:		
21 LO DE MARCOS	20° 57' 8.2"	-105° 22' 9.8"
MICHOACÁN		
22 MAHAHUITA	18° 24' 7.87"	-103° 31' 47.39"
23 EL ZAPOTE	18° 23' 14.2"	-103° 31' 42.4"
24 LAS PEÑAS	18° 1' 17.5"	-102° 30' 5.8"
GUERRERO		
25 LA SALADITA	17° 50' 10.11"	-101° 46' 7.4"
26 LOS TRONCONES	17° 46' 47.3"	-101° 43' 16"
27 LA MADERA	17° 38' 12.56"	-101° 33' 4"
28 LA BARRITA	17° 24' 38.4"	-101° 10' 49.7"
29 CAYAQUITOS	17° 18' 4"	-101° 3' 6.3"
OAXACA		
30 PUERTO ESCONDIDO	15° 51' 36.4"	-97° 3' 37.7"
31 SANTA ELENA	15° 44' 13.1"	-96° 50' 59.1"
32 PUERTO ANGEL	15° 39' 56.5"	-96° 29' 24.5"
33 SAN AGUSTIN	15° 41' 4.3"	-96° 14' 22.5"
34 LA ENTREGA HUATULCO	15° 44' 36.34"	-96° 7' 40.57"
35 LA COLORADA	15° 57' 12.5"	-95° 34' 44.2"
36 PLAYA AZUL	16° 6' 57.8"	-95° 16' 54.6"

6.2 Material biológico

Se efectuaron exploraciones ficológicas en las costas de los estados de Veracruz, Oaxaca, Guerrero y Michoacán durante el 2009 y 2010. Además se incluyó material previamente recolectado en 2007 y 2008 en las costas del Golfo de México y Mar Caribe. Finalmente, se complementó el material biológico con ejemplares de herbario pertenecientes a los herbarios FEZA (FES Zaragoza, UNAM), ENCB (Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN) y UAMI (Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa) (Anexo 1).

Para los ejemplares recolectados en campo se tomó una pequeña muestra del talo (preferentemente cerca del margen) que fue cepillada con agua destilada para retirar arena y posibles epífitas, seguido de su deshidratación en sílica gel para los análisis moleculares. Los ejemplares de respaldo fueron prensados y etiquetados. Ya en el herbario, fueron rehidratados en una solución jabonosa precalentada y se realizaron cortes anatómicos manualmente con una navaja de rasurar y examinados en un microscopio de campo claro para su determinación taxonómica, de acuerdo con los caracteres morfológicos descritos en la literatura para cada morfoespecie. Finalmente, los ejemplares de respaldo fueron incorporados a la colección del herbario FEZA.

Los ejemplares de herbario fueron reexaminados taxonómicamente y en caso necesario se realizaron las correcciones nomenclaturales pertinentes.

Posteriormente, se les cortó una porción libre de epífitas y otros posibles contaminantes mediante su disección en un estereoscopio. Dicha muestra fue empleada para los análisis moleculares.

Se seleccionaron en total 107 ejemplares de *Padina* de las costas mexicanas (Anexo 1) incluyendo todo el material disponible, con la finalidad de representar poblaciones de distinta distribución geográfica para cada morfoespecie y, en medida de lo posible, más de un ejemplar por localidad.

6.3 Técnicas moleculares

6.3.1 Extracción de ADN

El ADN total fue extraído con el método del 2X CTAB (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio) (Doyle y Doyle, 1987) modificado por Salazar (com. pers.) la adición de 2% de Polivinilpirrolidona (PVP). Antes de iniciar la extracción, se añadió al tampón 0.4% de 2-mercaptoetanol y se precalentó a 65°C. Se colocó un fragmento del talo de aproximadamente 1 cm² en un mortero esterilizado. En seguida se agregó nitrógeno líquido para el congelamiento completo de la muestra. Inmediatamente después de que el nitrógeno se evaporó por completo, la muestra se trituró hasta producir un polvo fino. Con una espátula limpia se transfirió una pequeña cantidad a un tubo Eppendorf de 1.5 mL y se agregó 500 µL del tampón de CTAB caliente. En el caso de muestras muy delgadas se trituró directamente en tubo Eppendorf. Posteriormente se homogenizó la mezcla del tubo usando un minipistilo esterilizado y se le incubó a 65°C durante 30 min. Se realizó la extracción con 500 µL de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1), dejando escapar el gas y mezclando varias veces con suavidad dejando reposar durante 30 min. Posteriormente las muestras fueron centrifugadas a 9,000 RPM durante 10 min y se transfirió la fase acuosa a un tubo Eppendorf de 1.5 mL limpio y etiquetado.

El ADN fue precipitado con 350 µL de isopropanol a -20°C, invirtiendo suavemente el tubo varias veces hasta observar la precipitación como un enturbiamiento de la mezcla extracto-alcohol. Se dejaron reposar los extractos a -20°C por lo menos durante una hora; en caso de muestras de herbario se prolongó el tiempo hasta por dos días para incrementar la precipitación. Posteriormente se centrifugaron las muestras a 13,000 RPM durante 5 min y se descartó el líquido. Se lavó el ADN con 500 µL de etanol al 70%, centrifugando las muestras nuevamente a 13,000 RPM durante 3 min y se desechó el líquido cuidando de no perder el precipitado. Los extractos fueron secados en una centrifuga de vacío durante 4 min a temperatura ambiente. Ya seco el precipitado, fue resuspendido en 50 µL de tampón Tris bajo en EDTA y se les mantuvo a -

20°C. Se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio para verificar la presencia de ADN

6.3.2 Amplificación de los genes seleccionados.

Se seleccionó un gen de plástido y otro de mitocondria con la finalidad de incluir información filogenética de dos genomas independientes. El primer marcador elegido es el gen de plástido *psbA*, que codifica la proteína D1 tilacoidal del fotosistema 2 P680. Este gen ha sido utilizado en diversos estudios dentro de las Phaeophyceae y ha mostrado variación suficiente para la distinción de variedades en *Dictyota* (Dictyotaceae) (Hwang *et al.*, 2005). El gen mitocondrial COI (citocromo C oxidasa 1) se ha empleado como “código de barras” genético para la identificación de especies en animales (Hebert *et al.*, 2003 a, b) y de igual manera en algas rojas (Saunders 2005; Robba *et al.*, 2006) y algas pardas (Kucera y Saunders 2008; McDevit y Saunders 2009), aunque aún falta por probarlo en algunos grupos de algas.

Las regiones de ADN de interés se amplificaron en reacciones en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) usando el “Taq PCR Core Kit” (Qiagen) ajustado a reacciones de 25 µL y con la adición de 1 µL BSA, en un termociclador Gene Amp® PCR 9700 de Applied Biosystems®. El gen *psbA*, de aproximadamente 952 pares de bases (pb), se amplificó en una sola pieza con los primers *psbAF1* y *psbAR1* (Tabla 3) bajo el programa descrito en la Tabla 4. De igual manera, el gen COI (aproximadamente 700 pb) fue amplificado en una sola pieza con los primers *GazF2* y *GazR2* (Tabla 3) utilizando el mismo programa que en *psbA*, pero durante más ciclos (Tabla 4) (McDevit y Saunders, 2008). Para confirmar la amplificación de ADN, se llevaron a cabo electroforesis en gel de agarosa al 1% teñidos con bromuro de etidio. En caso de observarse poco producto de PCR, se procedió a realizar una reamplificación bajo el mismo programa pero durante 16 ciclos.

Tabla 3. Primers empleados en el estudio.

Gen o región	Nombre del "Primer"	Secuencia	Dirección	Referencia
<i>psbA</i>	psbAF1	ATGACTGCTACTTTAGAAAGACG	5'-3'	Yoon <i>et al.</i> ,(2002)
	psbAR1	GCTAAATCTARWGGGAAGTTGTG	3'-5'	Yoon <i>et al.</i> ,(2002)
COI	GazF2	CAA CCA YAA AGA TAT WGG TAC	5'-3'	Lane <i>et al.</i> , (2007)
	GazR2	GGA TGA CCA AAR AAC CAA AA	3'-5'	Lane <i>et al.</i> , (2007)

Tabla 4. Programas de PCR utilizados en la amplificación de *psbA* y COI

Temperatura/Tiempo				
	<i>psbA</i>		COI	
Pre-desnaturalización	94°C/4 min.		94°C/4 min.	
Desnaturalización	94°C/1 min.	28 ciclos	94°C/1 min.	35 ciclos
Re-naturalización	50°C/1 min.		50°C/1 min.	
Extensión	72°C/1 min.		72°C/1 min.	
Extensión final	72°C/7 min.		72°C/7 min.	

6.3.3. Secuenciación

Las reacciones de secuenciación cíclica ("cycle sequencing") de ADN se efectuaron tanto en el Laboratorio de Sistemática Molecular del Instituto de Biología de la UNAM como en los laboratorios de "High-Throughput Sequencing Solutions" de la Universidad de Washington, Estados Unidos (www.htseq.org). En el caso de las muestras trabajadas en el Instituto de Biología, se procedió a la purificación de los productos de PCR en columnas de sílica QIAquick (Qiagen®) de acuerdo al protocolo del fabricante. Posteriormente, se efectuaron reacciones de secuenciación cíclica con el "Big Dye Terminator" versión 3.1 de Applied Biosystems® y los mismos primers empleados en la amplificación, en volumen ajustado a 5 µL totales con 1 µL de Big Dye. Los productos para secuenciación fueron purificados con columnas CENTRI-SEP (Princeton Separations®) bajo el protocolo del fabricante. Los productos limpios fueron secados por centrifugación al vacío a 60°C durante 20 min y secuenciados en un secuenciador automático de capilares 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems®).

Para los productos de PCR enviados a Washington, se colocaron en placas de 96 pozos debidamente etiquetados y con su respectiva placa de primers y selladas para su envío siguiendo las especificaciones marcadas por el laboratorio prestador del servicio. Los cromatogramas obtenidos fueron editados con el programa Sequencher 4.8 (Gene Codes®) y alineadas visualmente para la construcción de las matrices de datos.

6.4 Análisis filogenéticos

6.4.1 Generación de hipótesis filogenéticas.

A partir de las secuencias generadas se construyó una matriz de datos para *psbA*, otra para el gen COI y una tercera con la concatenación de los dos genes (*psbA*+COI). Para los ejemplares que carecían de una secuencia en la matriz concatenada se completaron los caracteres como ausentes “?”. Se incluyeron como grupo externo secuencias de otros géneros de la familia Dictyotaceae (*Dictyota*, *Lobophora*, *Dictyopteris*, entre otros) descargadas de GenBank y otras generadas en este trabajo (Anexo 1).

Con la finalidad de obtener la mejor hipótesis filogenética de ambos genes, pero considerando la posibilidad de obtener diferentes historias filogenéticas de cada uno (Nichols, 2001), se siguió la metodología propuesta por Wiens (1998) para la combinación de conjuntos de datos distintos. De esta forma, se efectuaron análisis independientes de cada gen evaluando el soporte individual de los clados; posteriormente se analizaron los genes concatenados como la mejor estimación filogenética, pero considerando cuestionables aquellas partes del árbol con conflictos fuertemente apoyados en los análisis por separado.

Para obtener la hipótesis filogenética más objetiva y robusta, las matrices se analizaron por dos métodos con fundamentos distintos (Holder y Lewis, 2003) suponiendo que recuperarán relaciones filogenéticas similares o incluso idénticas si los datos no presentan conflictos. Por un lado se realizó una búsqueda bajo el criterio de parsimonia con el programa PAUP* versión 4.02 (Swofford, 2003) y por el otro un análisis de inferencia bayesiana con Mr. Bayes (Huelsenbeck y Ronquist, 2001). El criterio de parsimonia es simple, no paramétrico y asume, implícitamente, que el cambio evolutivo es lento, por lo que un árbol que minimiza los cambios (pasos) es la mejor estimación de la filogenia (Page y Holmes, 1998). Por otra parte, la inferencia bayesiana es un método paramétrico y probabilístico que permite una reconstrucción más precisa de la filogenia al corregir múltiples eventos de mutación en un mismo sitio incorporando un modelo de evolución molecular (Huelsenbeck y Ronquist, 2001).

Para los análisis con el criterio de máxima parsimonia (MP) se realizó una búsqueda heurística de 1000 réplicas con adición aleatoria de terminales e intercambio de ramas “tree-bisection-reconnection”, caracteres no ordenados y de igual peso (parsimonia de Fitch; Fitch, 1971) guardando hasta 20 cladogramas por repetición para evitar que el análisis se encasille en islas de árboles sub-óptimos. El apoyo interno de los clados se evaluó mediante un análisis de bootstrap (Felsenstein, 1985), efectuando 300 repeticiones cada una de 20 réplicas de secuencias de adición de terminales al azar y TBR, reteniendo hasta 20 cladogramas más parsimoniosos por repetición.

En análisis bayesiano (BS) se crearon, para las matrices de *psbA* y COI, tres particiones considerando la posición de codón (1^a, 2^a y 3^a) y en el caso de la matriz combinada seis particiones (tres por cada gen). Los mejores modelos de evolución molecular fueron calculados con Modeltest (Posada y Crandall, 1998) para cada partición bajo el criterio de Información Akaike (1974). Posteriormente, se decidió implementar un modelo independiente desligando cada partición bajo el supuesto de que cada posición de codón posee una tasa de sustituciones y frecuencias independientes (Page y Holmes, 1998).

En el gen *psbA* a la primera posición se le asignó un modelo “Transitional” de seis parámetros libres y frecuencias de bases desiguales; en la segunda posición el modelo “Two parameter-transversion” con cinco parámetros libres y frecuencias de bases desiguales, más proporción de invariables; en la tercera posición un modelo “Transversional model” de siete parámetros libres, frecuencias de bases desiguales con distribución gama y proporción de invariables.

Para el gen COI se asignó un modelo “General time-reversible” de ocho parámetros libres, frecuencias de bases desiguales, más proporción de invariables y distribución gama en la primera y tercera posición; y en la segunda posición un “Transversional model” de siete parámetros libres, frecuencias de bases desiguales y proporción de invariables. Para los genes concatenados se asignaron los mismos modelos mencionados en el análisis individual de cada gen y desligando todas las particiones.

Para cada matriz se ejecutaron dos análisis paralelos, consistentes de cuatro cadenas Markov Montecarlo, que corrieron 5 000 000 generaciones (para aumentar la posibilidad de que el análisis alcance la estabilidad) y obteniendo muestras cada 100 generaciones. Se graficó el número de generación contra la verosimilitud obtenida en cada muestra para obtener una curva y evaluar visualmente si alcanzó la estabilidad. La estabilidad se alcanzó aproximadamente a las 100,000 generaciones en el caso de *psbA* y *psbA*+COI, y en el caso de COI se observó aproximadamente en la 200,000. En cada análisis las primeras 500 000 generaciones fueron descartadas como el “burn-in” y se realizó un filograma con el largo de ramas promedio a partir de los 90 000 árboles restantes generados por las dos cadenas, asignándoles los valores de las probabilidades posteriores en cada rama.

6.4.2 Evaluación de las morfoespecies de acuerdo a los clados recuperados

Una vez generadas las hipótesis filogenéticas, y bajo criterio de delimitación de especies basado en “monofilia recíproca”, se examinaron las topologías a fin de encontrar clados que coincidieran de forma exclusiva con las morfoespecies reconocidas en este trabajo.

6.4.3 Exploración de la variación genética en los genes utilizados.

Con el fin de explorar las diferencias genéticas en las regiones utilizadas, se efectuó una comparación de las secuencias en PAUP* (Swofford, 2003). Para cada gen, se calcularon dos matrices de distancias entre morfoespecies: la primera comparando la distancias mínima y máxima absoluta y la segunda comparando los valores p sin corregir máximos y mínimos.

7. RESULTADOS

7.1 Morfoespecies reconocidas.

Se reconocieron seis morfoespecies para las costas del Atlántico y siete en el litoral del Pacífico. Las principales características utilizadas para la determinación taxonómica se mencionan a continuación y se resumen en la Tabla 5. Dentro de los caracteres diagnósticos se excluyó la presencia de la fase *Vaughaniella* debido a que no fue observada en la mayoría de los individuos revisados, incluso en aquellos en cuya morfoespecie está registrada. La ubicación geográfica de las localidades se pueden consultar en la fig. 2 y Tabla 2.

7.1.1 Morfoespecies reconocidas en el Golfo de México y Mar Caribe

Padina antillarum (Kützing) Piccone

Lams. 1-A y 4-A.

Se consideraron como *P. antillarum* a ejemplares en los que se observó: 1) láminas de lobadas a laciniadas, profundamente divididas, estípites cilíndrico a cónico; 2) cuatro capas de células en la región media y basal del talo; 3) calcificación escasa o nula; 4) soros oogoniales y esporangiales distribuidos en la cara externa y en el caso de los esporangiales, también esparcidos en manchones en la cara interna; 5) soros en la cara externa formando bandas a cada lado de la línea de pelos feofíceos y de presentarse internos esparcidos sobre la lámina; 6) presencia de indusio cubriendo los oogonios y ausencia en los esporangios.

Comentarios particulares: como característica distintiva se observó la germinación de esporas *in situ* (Wynne y De Clerck, 1999).

Material revisado. Tamaulipas: Altamira, 14 abril 2002, (UAMI 1015). Campeche: Puerto Real, 12 abril 2007, (FEZA 827); Puerto Real, 13 junio 2007, (FEZA 1743); Sabancuy, 21 abril 2006 (FEZA 758); Sabancuy, 24 junio 2006, (FEZA 708); Sabancuy, 12 abril 2007; (FEZA 825, 1744).

Referencias (Piccone, 1886; Wynne y De Clerck, 1999; García, 2007).

Los ejemplares agrupados dentro de esta morfoespecie presentaron: 1) láminas enteras a divididas, lobadas, estípites cilíndrico a cónico; 2) hasta tres capas de células en la región basal ocasionalmente tres debido a la división incompleta de células corticales internas en la región media; 3) calcificación fuerte a moderada sobre la cara interna de la lámina y escasa en la externa; 4) soros formando líneas continuas en la cara externa y manchones en la cara interna; 5) en la cara externa los soros se presentan en la parte media entre la línea de pelos; 6) las líneas de soros en la cara externa se alternan en zonas fértiles y estériles; 7) indusio ausente en los esporangios y persistente en los oogonios.

Material revisado. Veracruz: Villa Rica, 31 marzo 2006, (FEZA 928); Villa Rica, 24 mayo 2009, (FEZA 1745); Playa Hermosa, 3 julio 2009 (FEZA 1746); Montepío, 3 julio 2009, (FEZA 1747). Campeche: Puerto Real, 12 abril 2007, (FEZA 1227); Puerto Real, 13 junio 2007, (FEZA 1750); Puerto Real, 2 octubre 2007, (FEZA 1748, 1749); Sabancuy, 12 abril 2007, (FEZA 1752).

Referencias (Allender y Kraft, 1983; García, 2007, Avila-Ortiz, *et al.*, 2011).

Los ejemplares incluidos en esta morfoespecie presentaron: 1) láminas de enteras a muy divididas, lobuladas, estípites cónicos; 2) cuatro a seis capas de células en la parte media y seis a más de diez en la región basal del talo; 3) calcificación ligera a nula; 4) soros oogoniales y esporangiales en líneas en la cara interna y manchones en la cara externa; 5) soros entre las líneas de pelos en la cara interna y esparcidos en la cara externa; 6) los soros esporangiales se presentan cubiertos por un indusio conspicuo persistente.

Material revisado. Veracruz: Lechuguillas, 12 septiembre 2009, (FEZA 1741); Playa Muñecos, 10 octubre 2007, (FEZA 840, 841); Villa Rica, 12 diciembre 2004, (FEZA 773, 774); Villa Rica, 31 marzo 2006, (FEZA 735, 776); Penacho de Indio, 9

noviembre 2007, (FEZA 829, 951); Puntillas, 4 julio 2009, (FEZA 1220). Campeche: Puerto Real, 13 junio 2007, (FEZA 824); Puerto Real, 4 noviembre 2007, (FEZA 836); Sabancuy, 4 septiembre 2007, (FEZA 837, 843); Punta Xen, 21 abril 2006, (FEZA 736); Playa Bonita, 14 abril 2007, (FEZA 839). Yucatán: Escollera de San Crisanto, 13 abril 2007, (FEZA 838, 1742); Escolleras de San Crisanto, 23 junio 2006, (FEZA 826). Quintana Roo: Punta esmeralda 1 septiembre 2007, (FEZA 828, 835); Punta Esmeralda, 29 septiembre 2007, (FEZA 830); Punta Esmeralda, 14 junio 2007 (FEZA 831); Punta Piedra, 30 septiembre 2007, (FEZA 832, 842); Mahahual, 1 octubre 2007, (FEZA 833, 834);

Referencias (Sonder, 1871; Allender y Kraft, 1983; García, 2007).

Padina haitiensis Thivy in W.R. Taylor

Lams. 1-D y 4-D.

Los ejemplares de esta morfoespecie presentaron: 1) láminas enteras a poco divididas, lobadas, estípites marcados; 2) dos capas de células a lo largo del talo; 3) calcificación abundante en la cara interna y poca o ausente en la cara externa; 4) soros esporangiales y oogoniales en la cara externa del talo; 5) formación de bandas irregulares de esporangios inmediatamente arriba o entre los pelos feofíceos; alternando entre zonas fértiles y estériles; y 6) indusio presente.

Comentarios particulares: muy similar a *P. sanctae-crucis* pero con la presencia de pelos ferruginosos.

Material revisado. Quintana Roo: Akumal, 29 septiembre 2007, (FEZA 1759).

Referencia: (Taylor, 1960).

Se incluyeron dentro de esta morfoespecie a los ejemplares que presentaron: 1) láminas enteras a poco divididas, lobadas, de estípote cónico; 2) dos capas de células a lo largo del talo; 3) calcificación abundante a moderada en la cara interna y poca o ausente en la cara externa; 4) esporangios u oogonios en la cara inferior del talo; 5) disposición de soros en líneas continuas sobre la línea de pelos, alternando entre zonas fértiles y estériles; y 6) indusio evanescente.

Material revisado. Veracruz: Balzapote, 11 septiembre 2009, (FEZA 1223, 1753). Campeche: Playa Bonita, 14 abril 2007, (FEZA 1754, 1755); Campeche, 14 abril 2007, (FEZA 1224). Quintana Roo: Punta Esmeralda, 1 septiembre 2007, (FEZA1756); Tulum, 15 junio 2007, (FEZA 1757); Punta Piedra, 30 septiembre 2007, (FEZA 1222); Akumal, 2 septiembre 2007, (FEZA 1758); Mahahual, 1 octubre 2007, (FEZA 1221).

Referencias (Børgesen, 1914; Abbot y Huisman, 2003; Geraldino *et al.*, 2005; García. 2007).

Los ejemplares que fueron considerados dentro de esta morfoespecie consisten en: 1) lámina divididas, lobadas, estípote cónico; 2) dos capas de células a lo largo del talo; 3) calcificación abundante en la cara interna y escasa en la cara externa; 4) oogonios en la cara inferior del talo y una línea discontinua de soros en la cara interna, opuestos; 5) oogonios arriba de la línea de pelos feofíceos; 6) indusio presente.

Comentarios particulares: la presencia de oogonios en la cara interna de la lámina no se describe para *P. sanctae-crucis* y *P. haitiensis* y por esta razón se trata como una morfoespecie distinta. No se observaron esporofitos.

Material revisado. Veracruz: Puntillas, 4 julio 2009, (FEZA 1226, 1760). Quintana Roo: Punta Piedra, 2 septiembre 2007, (FEZA 1225).

7.1.2 Morfoespecies reconocidas del Pacífico Tropical mexicano.

Padina caulescens Thivy

Lams. 2-C y 4-G.

El ejemplar considerado dentro de esta morfoespecie presentó: 1) láminas divididas, lobuladas, estípites muy marcados y delgados; 2) incremento inmediato en el número de capas de células hasta diez en la parte basal; 3) calcificación nula. 4) soros esporangiales creciendo en la cara interna en líneas o esparcidos; 5) indusio en esporangios inmaduros.

Material revisado. Michoacán: El Zapote, 14 diciembre 2009, AGAO 33 (ENCB).

Referencias (Taylor, 1945; Avila-Ortiz y Pedroche, 2005).

Padina concrescens Thivy

Lams. 2-D y 4-H.

Los ejemplares reconocidos dentro de esta morfoespecie presentaron las siguientes características: 1) láminas divididas, lobuladas, estípites cónicos, en algunos casos sin el disco de fijación; 2) incremento inmediato en el número de capas de células llegando a ser de cuatro a seis en la parte media y mayor a diez en la parte basal; 3) calcificación nula; 4) los soros esporangiales dispuestos en manchones en la cara interna y externa; 5) los soros sin indusio. 6) talos postrados creciendo de forma imbricada.

Material revisado. Oaxaca: San Agustín 15 marzo 2010, (FEZA 1776); La Entrega, 14 marzo 2010, (FEZA 1777).

Referencias (Taylor, 1945).

Los ejemplares reconocidos dentro de esta morfoespecie presentaron: 1) láminas divididas con un margen crispado característico, estípite cilíndrico; 2) en el margen del talo dos a cuatro capas de células, en la zona media cuatro capas de células y en la base hasta nueve capas de células; 3) la cara interna está fuertemente calcificada; 4) los soros esporangiales y oogoniales se dispuestos en líneas irregulares sobre la superficie interna; 5) indusio presente en los oogonios en etapas tempranas del desarrollo.

Comentarios particulares: Se encontraron dos ejemplares que no se ajustaron a esta morfoespecie. En el caso del ejemplar (FEZA 1795) se observa que el número de capas en la región basal disminuye a seis provocando una confusión con *P. mexicana* var. *erecta*. Por otro lado, el ejemplar (FEZA 1794) presenta un incremento en la región basal a doce capas, lo que no está descrito para la especie. A estos ejemplares se les nombró como *Padina* aff. *crispata*.

Material revisado. Michoacán: Las Peñas, 8 marzo 2010, AGAO 39 (ENCB); Las Peñas, 8 mayo 2010, (FEZA 1790, 1791, 1794). Guerrero; Los troncones, 9 mayo 2010, (FEZA 1792, 1795); La Barrita, 17 abril 2009, AGAO 18 (ENCB). Oaxaca: Puerto Escondido, 16 marzo 2010, (FEZA 1794).

Referencias (Taylor, 1945; Avila-Ortiz y Pedroche, 2005).

Los ejemplares de esta morfoespecie presentaron; 1) láminas de enteras a poco divididas, muy lobuladas, con estípite cónico, de consistencia rígida; 2) incremento inmediato en el número de capas de células llegando a ser mayor a diez en la parte basal; 3) calcificación nula; 4) los soros esporangiales y oogoniales presentes en una o ambas caras de la lámina, dispuestos en líneas irregulares ceca del margen y en manchones hacia la base de la lámina en la cara interna; 5) indusio no evidente o presente en esporangios inmaduros.

Comentarios particulares: Se registraron dos ejemplares con características que no se ajustan a esta especie por completo. El ejemplar (FEZA 1774) presentó diez capas de células en la región basal y una lámina más dividida y forma espatulada. En el caso del ejemplar (FEZA 1775), se observó un número de capas celulares no mayor a diez, soros esporangiales en la cara externa con indusio. Estos ejemplares fueron nombrados *Padina* aff. *durvillei*.

Material revisado. Nayarit: Lo de Marcos, 21 marzo 2009, AGAO 15 (ENCB). Michoacán: El Zapote, 12 diciembre 2008, AGAO 8 (ENCB); Las Peñas, 2 diciembre 1995, (FEZA 98); Las Peñas, 9 marzo 2010, AGAO 42, 43 (ENCB); Las Peñas, 8 mayo 2010, (FEZA 1769). Guerrero: La Saladita, 9 mayo 2010, (FEZA 1770, 1771, 1774); Los Troncones, 9 mayo 2010, (FEZA 1772); La Madera, 9 mayo, 2010, (FEZA 1775); La Barrita, 10 mayo 2010, (FEZA1773).

Referencias (Bory de Saint-Vincent, 1827; Taylor, 1945; Avila-Ortiz y Pedroche 2005).

Padina mexicana Dawson var. *mexicana*

Figs. 3-B y 5-C.

Los ejemplares reconocidos dentro de esta morfoespecie presentaron: 1) láminas enteras a divididas, lobuladas, estípites cónicos; 2) en el margen dos capas de células, en la zona media y basal seis capas de células; 3) calcificación fuerte a moderada a en la cara interna; 4) soros oogoniales y esporangiales sobre la superficie interna; 5) soros oogoniales y esporangiales principalmente dispuestos en líneas regulares, entre las líneas de pelos, alternando con las zonas de carbonato de calcio; 6) soros cubiertos por un indusio; 7) talos postrados creciendo de forma imbricada.

Material revisado. Guerrero: La Madera, 9 mayo 2010, (FEZA 1761, 1762).

Referencias (Dawson, 1944; Avila-Ortiz y Pedroche 2005).

Se consideraron dentro de esta morfoespecie a ejemplares que presentaron; 1) láminas enteras, lobuladas, estípites cónicos; 2) en el margen dos capas de células, en la zona media y basal hasta seis capas de células; 3) calcificación moderada en la cara interna; 4) soros oogoniales y esporangiales sobre la superficie interna y ocasionalmente se presentan sobre la superficie externa en líneas irregulares; 5) soros oogoniales y esporangiales principalmente dispuestos en líneas regulares, alternando con las zonas de carbonato de calcio; 6) soros cubiertos por un indusio;

Comentarios particulares: a diferencia de *P. mexicana* var. *mexicana*, este talo es erecto.

Material revisado: Nayarit: Lo de Marcos, 31 marzo 2009, AGAO 29 (ENCB). Michoacán: El Zapote, 14 diciembre 2009, AGAO 34 (ENCB); Las Peñas, 8 mayo 2010, (FEZA 1763). Guerrero: La Barrita, 10 mayo 2010, (FEZA 1764, 1765, 1766); Cayaquitos, 19 noviembre 2000, (FEZA 1767). Oaxaca: La Entrega, 14 marzo 2010, (FEZA 1768).

Referencias (Avila-Ortiz, 2003; Avila-Ortiz y Pedroche, 2005).

“Padina ramonribae” Avila-Ortiz et Pedroche (inválido) Lams. 3-D y 5-D.

Dentro de esta morfoespecie se consideraron aquellos ejemplares que presentaron: 1) láminas divididas, ligeramente crispadas; 2) en el margen dos capas de células, incrementándose rápidamente hacia la parte media, por lo general de cinco a seis capas y en la parte basal hasta 10 capas de células; 3) con impregnaciones de carbonato de calcio sólo sobre la cara interna en el margen; 4) soros esporangiales sobre la superficie interna dispuestos en líneas irregulares hacia el margen y en parches hacia la base de la lámina; 5) soros entre las bandas de pelos, los cuales, son poco evidentes; 6) soros esporangiales y oogoniales con indusio cuando jóvenes.

Material revisado. Michoacán: Mahahuita, 11 marzo 2010, AGAO 45 (ENCB).
Guerrero: La Saladita, 9 mayo 2010, (FEZA 1778); Los Troncones, 1 noviembre 2008, AGAO 7 (ENCB); La Madera, 1 noviembre 2009, (FEZA 1779); La Barrita, 17 abril 2009, AGAO 17 (ENCB); Cayaquitos, 24 septiembre 1999, (FEZA 1780, 1782); Cayaquitos, 10 mayo 2010, (FEZA 1781). Oaxaca: Puerto Escondido, 16 marzo 2010, (FEZA 1783, 1784); Santa Elena, 15 marzo 2010, (FEZA 1785, 1786) Puerto Ángel, 15 marzo 2010, (FEZA 1787); La Colorada, 14 marzo 2010, (FEZA 1788); Playa Azul, 14 marzo 2010, (FEZA 1789).

Referencias (Avila-Ortiz y Pedroche, 2005).

Padina sp 2.

Lams. 4-E y 5-E.

Este es un ejemplar que presentó, entre las características observables: 1) láminas divididas a lobadas, ligeramente crispadas; 2) hasta cuatro capas de células en la región basal; 3) calcificación fuerte a moderada en la cara interna del talo; 4) soros (¿oogonios?) en la cara interna distribuidos en la líneas discontinuas; 5) indusio en soros inmaduros.

Comentarios particulares: Este es el único ejemplar del Pacífico que presentó cuatro capas en la región basal y pertenece al herbario ENCB del Instituto Politécnico Nacional.

Material revisado. Michoacán: Mahahuita, 12 diciembre 2008, AGAO 1 (ENCB).

Tabla 5. Resumen de caracteres diagnósticos de las morfoespecies de *Padina* incluidas en este análisis

Especie	Forma de la lámina	Capas celulares	Calcificación	Posición de los soros en cara interna y/o externa	Soros respecto a la línea de pelos	Presencia de indusio	Otras características distintivas
Costa del Atlántico							
<i>Padina antillarum</i>	Lobada a laciniada, profundamente dividida, estípite cilíndrico a cónico	2 parte apical, 4 parte media, 4 parte basal	Escasa o Nula	Oogonios y esporas en líneas en la cara externa, y esporangios también en manchones en cara interna	Sobre y debajo la línea de pelos en cara externa. Esparcidos en cara interna	Ausente en esporangios, presente en oogonios	Germinación de esporangios <i>in situ</i>
<i>Padina boergesenii</i>	lámina entera a dividida, lobada, estípite cilíndrico a cónico	2-3 en todo el talo	Fuerte a moderada en cara interna, escasa en externa	Líneas en cara externa, manchones en interna	Entre las líneas de pelos; alternancia entre zonas fértiles y estériles	Ausente en esporangios, persistente en oogonios	
<i>Padina gymnospora</i>	lámina de entera a muy dividida, lobulada, estípite cónico	4-6 parte media, 6-10 parte basal	Ligera o en ambas capas	Líneas en cara interna y manchones cara externa	Entre las bandas de pelos en cara interna, esparcidos en cara externa	Esporangios con indusio persistente	Especie de mayor grosor del Atlántico
<i>Padina haitiensis</i>	lámina dividida, lobada, estípite marcado	2 en todo el talo	Fuerte cara interna, escasa o ausente cara externa	Presentes en cara externa, ausentes en interna	Bandas entre las líneas de pelos.	Persistente en esporangios	
<i>Padina sanctae-crucis</i>	lámina entera a dividida, lobada, de estípite cónico	2 en todo el talo	Fuerte cara interna	Líneas presentes en la cara externa, ausentes en la interna	Sobre líneas de pelos; alternancia entre zonas fértiles y estériles.	Evanescente en esporangios	
<i>Padina sp 1</i>	lámina dividida, lobada, estípite cónico	2 en todo el talo	Fuerte cara interna	Oogonios en cara externa, pocos y dispersos cara interna	Bandas sobre líneas de pelos; alternancia entre zonas fértiles y estériles	Ausente en oogonios	Los oogonios en la cara interna no están reportados para <i>Padina haitiensis</i> y <i>P. sanctae-crucis</i>

Tabla 5. Resumen de caracteres diagnósticos de las morfoespecies de *Padina* incluidas en este análisis. Continuación.

Costa del Pacífico	Forma de la lámina	Capas celulares	Calcificación	Posición de los soros en cara interna y/o externa	Soros respecto a línea de pelos	Presencia de indusio	Otras características distintivas
<i>Padina caulescens</i>	Láminas muy divididas, lobuladas, estípote muy marcado y cilíndrico	2 parte apical, de 9 a 12 parte basal	Nula	Esporangios en líneas discontinuas en la cara interna	No se observaron bandas de pelos	Presente en soros inmaduros	Varias veces dividida, con estípote conspicuo
<i>Padina conrescens</i>	láminas divididas, lobuladas, estípote cónico, se pierde el disco de fijación	4-6 parte media, 10-20 parte basal	Nula	Esporangios en líneas, esparcidos o en parches, en ambas caras	No se observaron bandas de pelos	No se observó indusio.	Habito postrado característico de esta especie
<i>Padina crispata</i>	Lámina dividida con un margen crispado característico, estípote cilíndrico	2-4 parte apical, 9 en parte basal	Fuerte en cara interna	Esporangios y oogonios en líneas en cara interna	Entre las bandas de pelos	En oogonios en etapas tempranas	
<i>Padina durvillei</i>	lámina de entera a poco dividida, muy lobulada, con estípote cónico, de consistencia rígida	4 parte apical, >10 parte basal	Nula	Esporangios y oogonios en líneas irregulares ó manchones en ambas caras del talo	No se observaron bandas de pelos	No evidente o presente en esporangios inmaduros	Especie de mayor grosor del Pacífico
<i>Padina mexicana var. mexicana</i>	lámina entera a dividida, lobulada, estípote cónico	2 parte apical, 6 parte basal	Fuerte a moderada en cara interna	Oogonios y esporangios en líneas en cara interna.	Entre las líneas de pelos	Presencia de indusio en oogonios y esporangios	Habito postrado.
<i>Padina mexicana var. erecta</i>	talos enteros, lobulados, estípote cónico	2 parte apical, 6 parte basal	Fuerte a moderada en cara interna	Oogonios y esporangios en líneas en cara interna, ocasionalmente sobre la cara externa	Entre las líneas de pelos	Presencia de indusio en oogonios y esporangios	Habito erecto
“<i>Padina ramonribae</i>”	lámina dividida, ligeramente crispada	2 en el margen, 4-6 parte media, 10 parte basal	Ligera en la cara interna cerca del margen	Esporangios y oogonios en líneas irregulares ó manchones en cara interna	Entre bandas de pelos; bandas de pelos poco evidentes	Presente en soros inmaduros, restos en maduros	
<i>Padina sp. 2</i>	lámina divide a lobada, ligeramente crispada;	2 parte apical, 4 parte media y basal	Calcificación fuerte a moderada en la cara interna	Cara interna en líneas discontinuas	No se aprecia	Indusio en soros inmaduros.	ejemplar de 4 capas detectado en el Pacífico

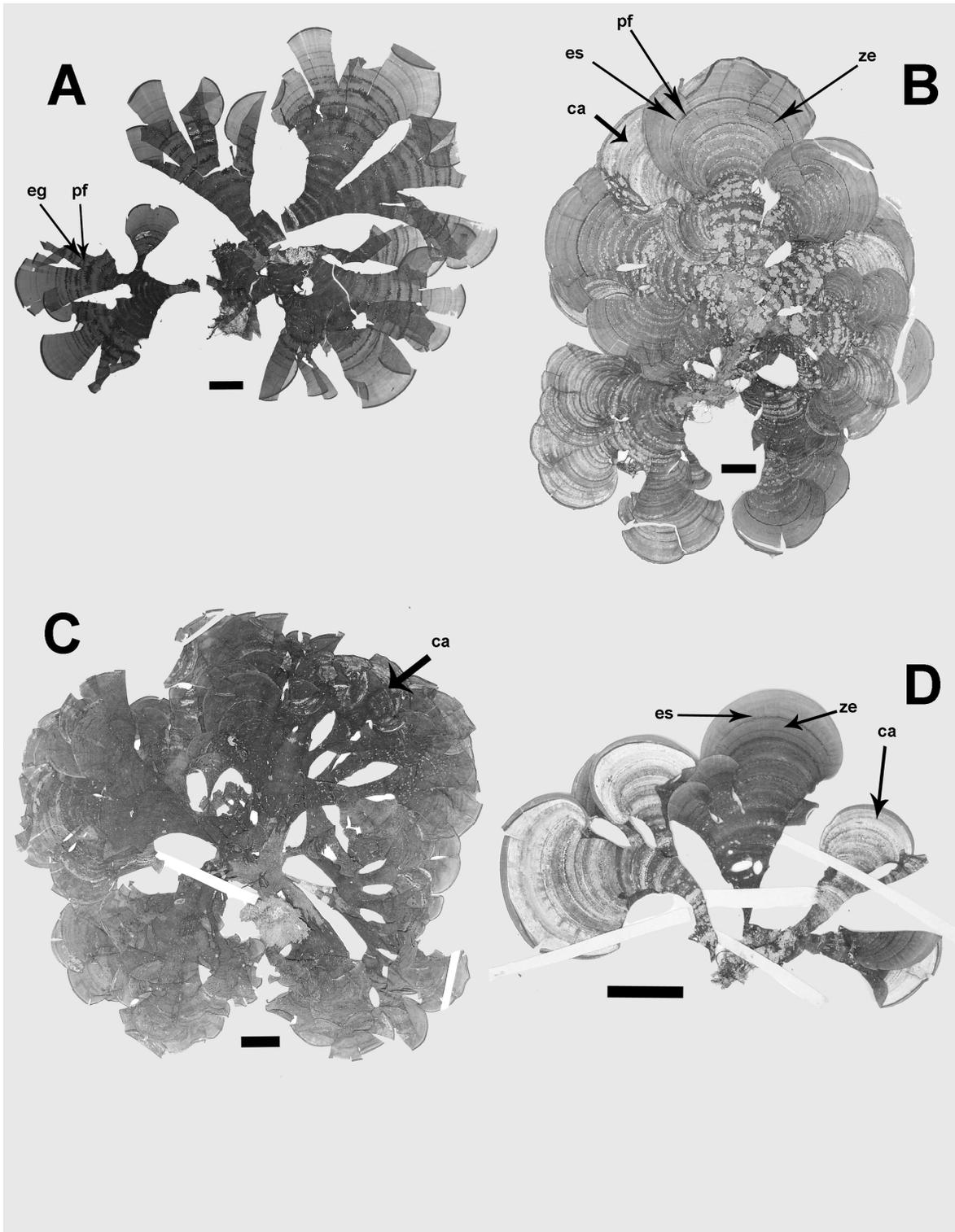


Lámina 1. A. *Padina antillarum*, presentando esporangios germinados en la cara interna (FEZA 708). Barra= 1cm.; B. *P. boergesenii*, presentando esporangios (es) en la cara externa, arriba de la línea de pelos feofoceos (pf) y alternando con zonas estériles (ze) y calcificación (ca) en la cara externa (FEZA 1745). Barra= 1 cm.; C. *P. gymnospora*, mostrando calcificación ligera (ca) en la cara interna (FEZA 1220). Barra 1cm.; D. *P. haitiensis*, presentando esporangios (es) en bandas arriba de la línea de pelos feofoceos en la cara externa y carbonato de calcio (ca) en la cara interna, alternando entre zonas estériles (ze) y fértiles (FEZA 1759). Barra=1 cm.

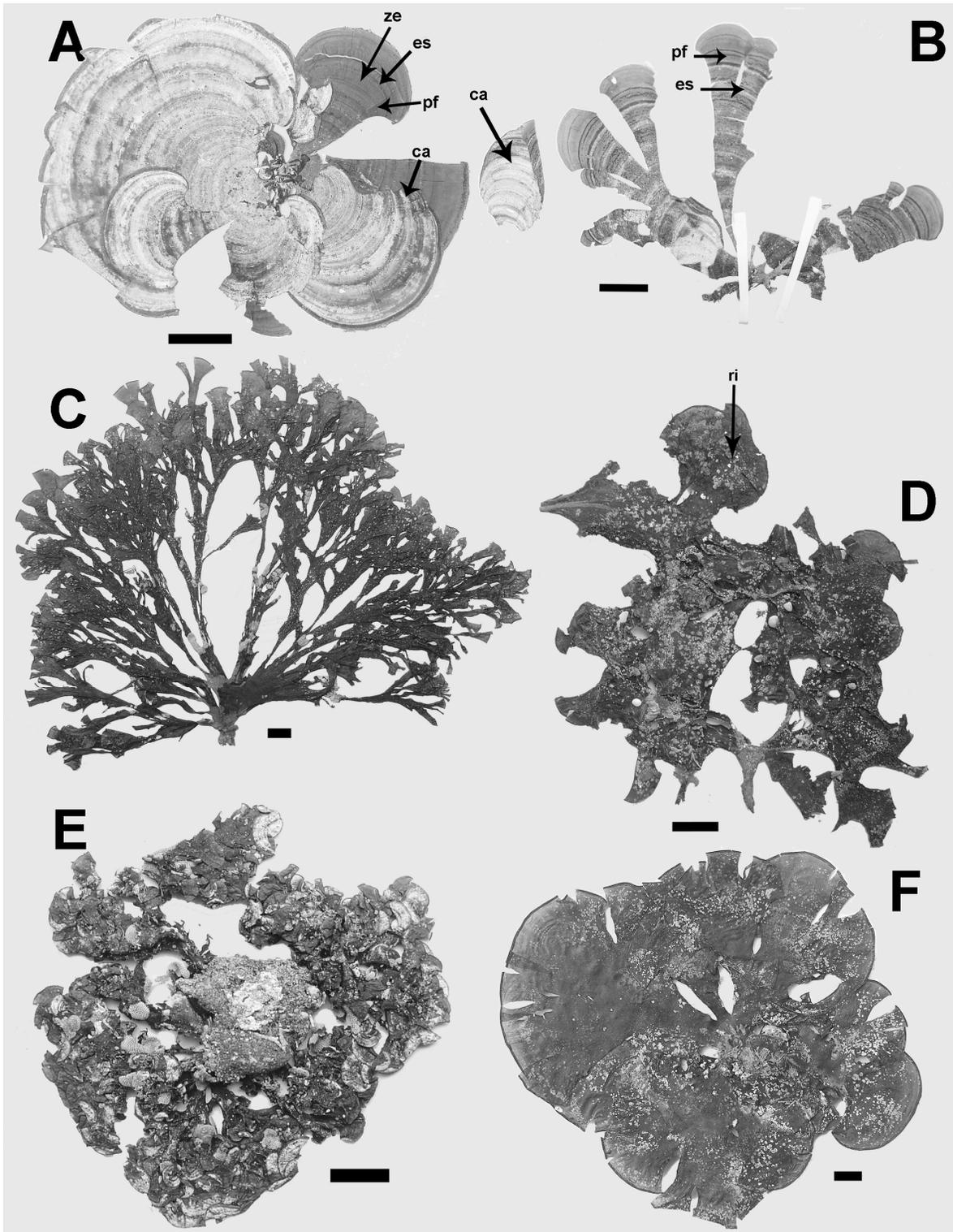


Lámina 2. A. *Padina sanctae-crucis*, presentando esporangios (es) en la cara externa arriba de los pelos feofíceos (pf) entre zonas estériles (ze) y carbonato de calcio (ca) en la cara interna (FEZA 1757). Barra=1 cm.; B. *Padina* sp. 1, presentando esporangios (es) en la cara interna y externa, en la externa formándose arriba de los pelos feofíceos (pf) (FEZA 1225). Barra= 1cm.; C. *P. caulescens*, (AGAO 33 (ENCB)). Barra =1 cm.; D. *P. concrescens*, lámina procumbente presentando rizoides en la cara externa (ri) (FEZA 1773). Barra=1 cm.; E. *P. crispata*, (AGAO 18 (ENCB)). Barra=1 cm.; F. *P. durvillei*, (FEZA 1773). Barra= 1 cm.

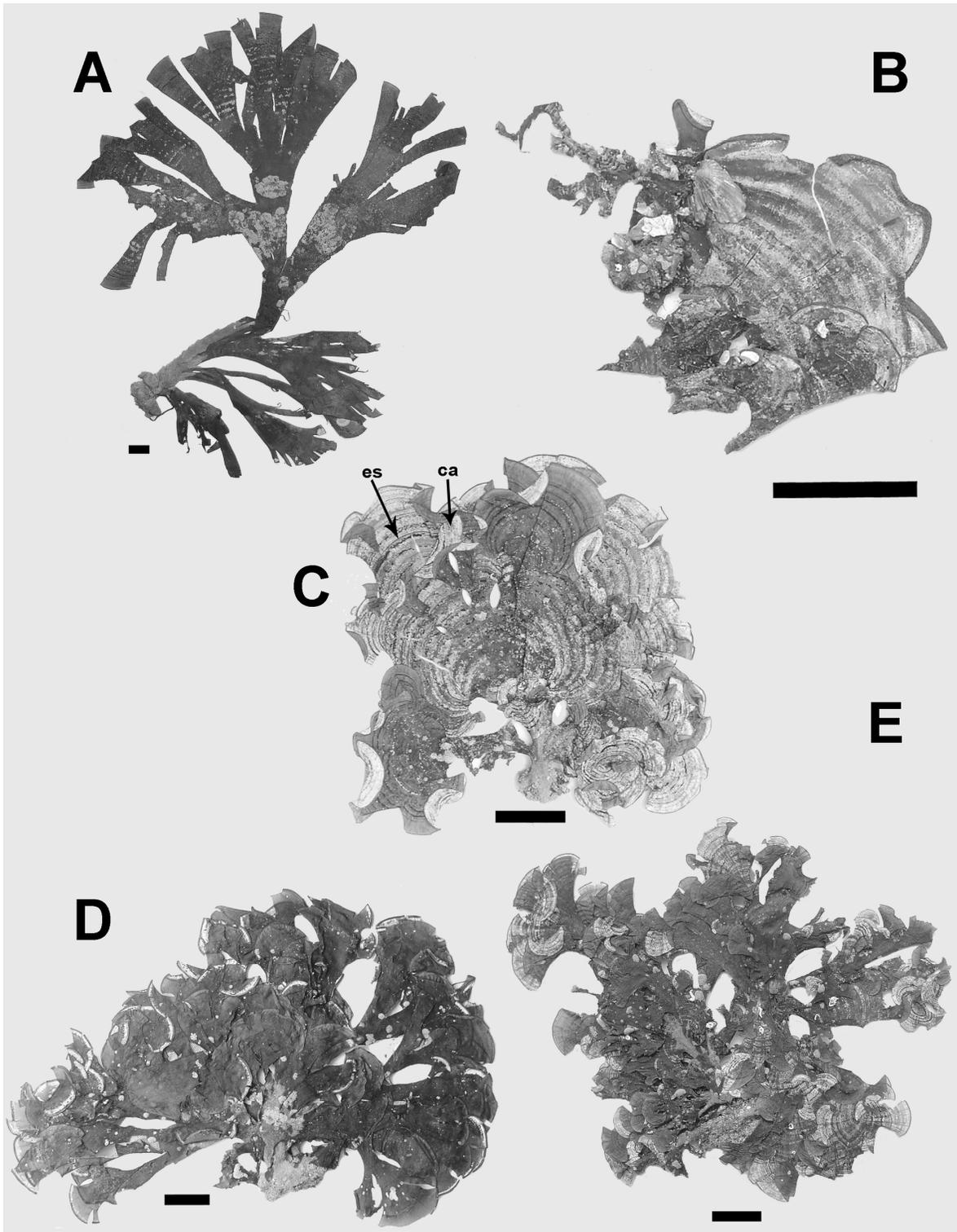


Lámina 3. A. *P.* aff. *durvillei*, presentando estípote grueso y lámina espatulada muy dividida (FEZA 1774). Barra=1 cm.; B. *P. mexicana* var. *mexicana*, talo postrado (FEZA 1761). Barra= 1 cm.; C. *P. mexicana* var. *erecta*, presentando esporangios (es) en líneas y calcificación (ca) en la cara interna (FEZA 1767). Barra= 1 cm.; D. "*P. ramonribae*", (FEZA 1783). Barra=1 cm.; E. *Padina*. sp. 2, (AGAO 1 (ENCB)) Barra= 1 cm.

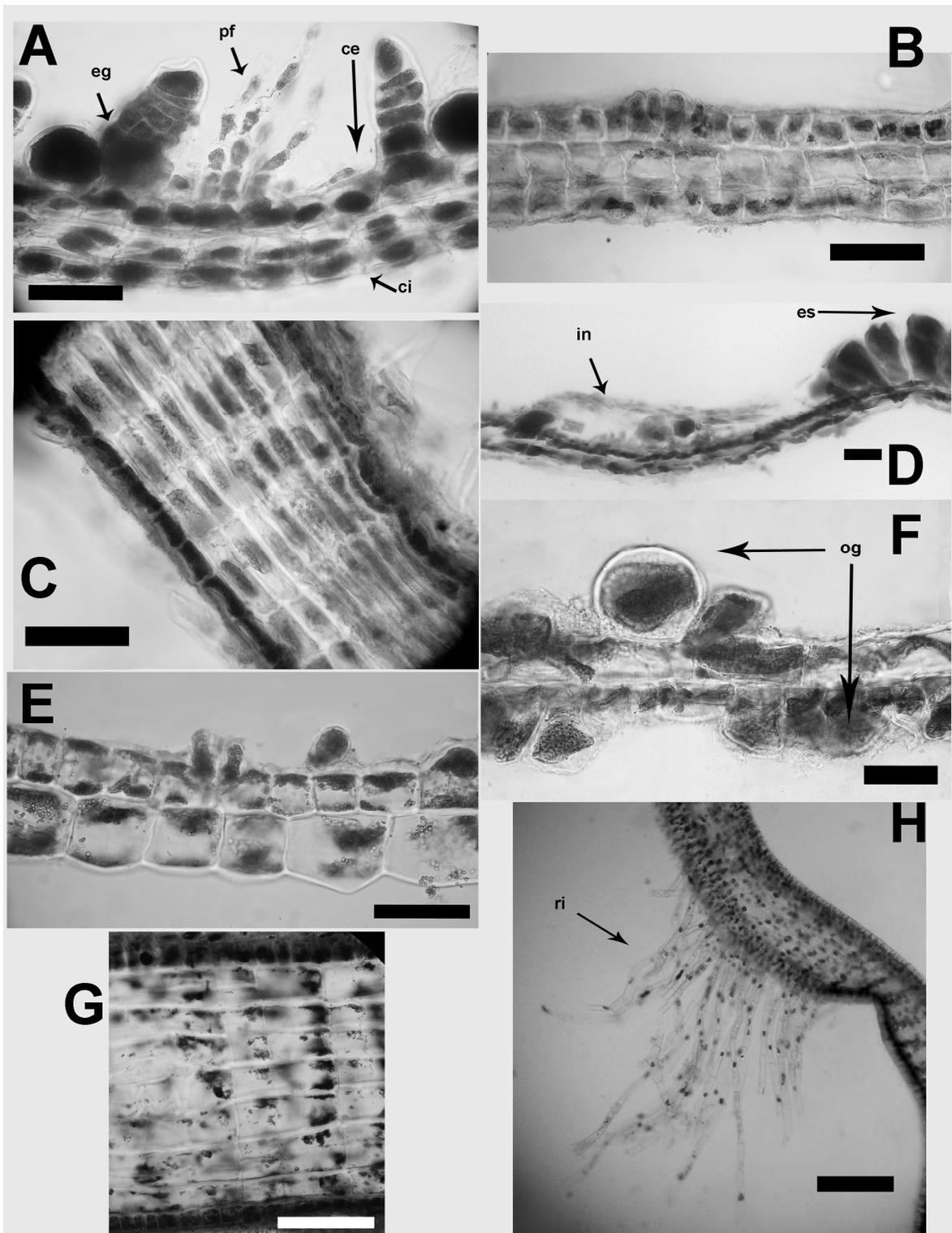


Lámina 4. A. *Padina antillarum*, con esporangios germinados (eg) en ambos lados de los pelos feofores (pf) en la cara externa (ce). (FEZA 708; tomado de García, 2007). Barra= 100 μ m.; B. *P. boergesenii*, con tres capas de células en la base (FEZA 1750). Barra=90 μ m.; C. *P. gymnospora*, hasta diez capas de células en la base (FEZA 776). Barra=100 μ m.; D. *P. haitiensis*, esporangios (es) en la cara externa, cubiertos por indusio (in) (FEZA 1759). Barra= 50 μ m.; E. *P. sanctae-crucis*, con dos capas de células (Tomado de García, 2007). Barra=50 μ m. F. *Padina* sp. 1, con dos capas de células y oogonios (og) en ambas caras de la lámina (FEZA 1225). Barra= 50 μ m.; G *P. caulescens*, con diez capas de células. (AGAO 33 (ENCB)). Barra= 100 μ m.; H. *P. conrescens* mostrando rizoides (ri) en la cara externa. Barra= 200 μ m. (FEZA 1773).

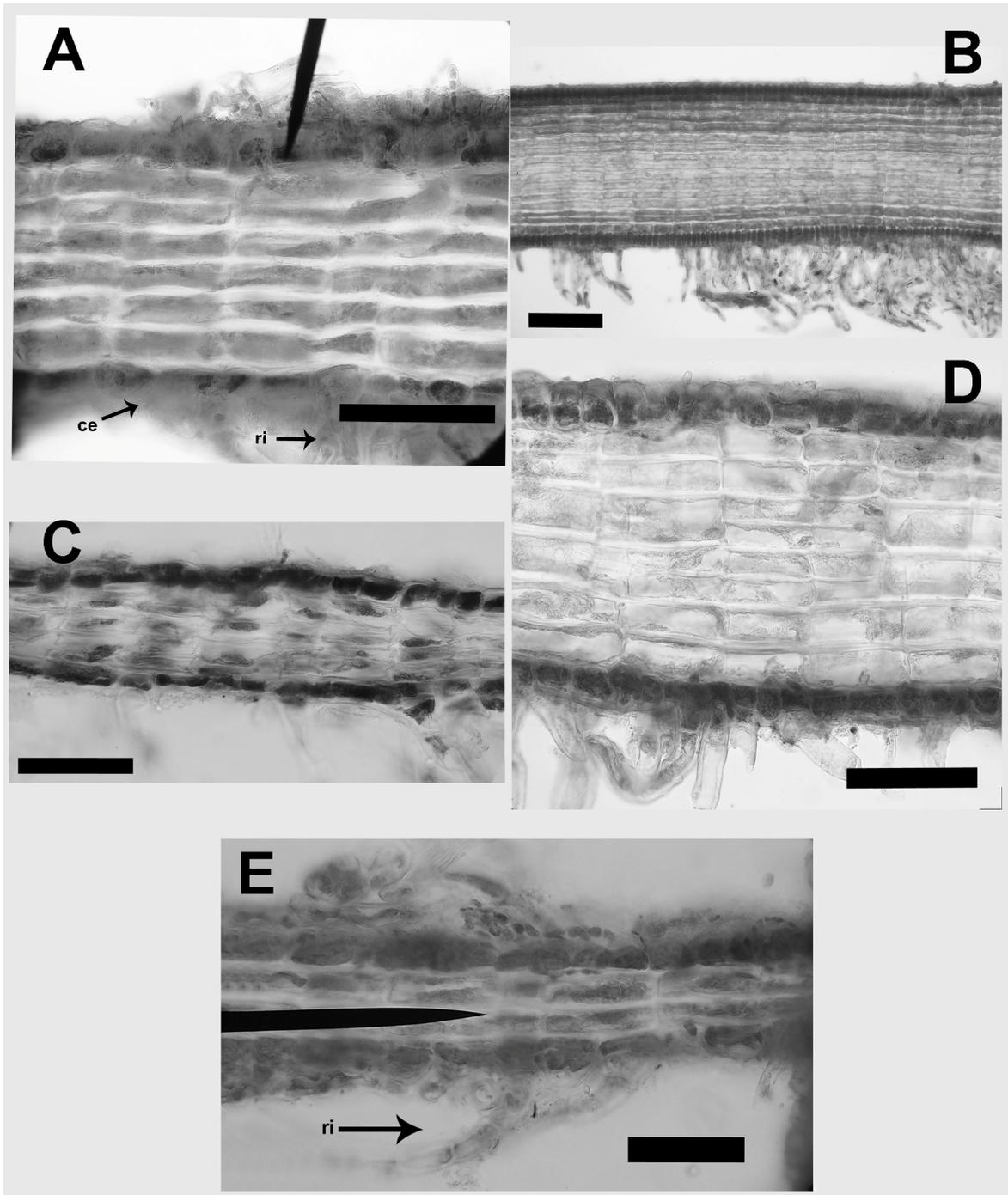


Lámina 5. A. *P. crispata*, mostrando ocho capas de células en la zona basal y rizoides (ri) en la cara externa (ce) cerca del estípite. (FEZA 1793). Barra=100 μm .; B. *Padina durvillei*, presentando 18 capas de células en la región basal (AGAO 15 (ENCB)). Barra=200 μm .; C. *P. mexicana*, mostrando hasta seis capas de células (1761 FEZA). Barra= 100 μm .; D. "*P. ramonribae*", mostrando diez capas de células. (FEZA 1783). Barra= 100 μm .; E. *Padina* sp. 2, mostrando hasta cuatro capas de células en la región basal. (AGAO 1 (ENCB)). Barra=100 μm .

7.2 Análisis cladísticos con secuencias de ADN

7.2.1 Secuencias obtenidas.

De los 107 ejemplares de *Padina* analizados en este trabajo, se obtuvieron 165 secuencias y se incluyeron ocho pertenecientes a ejemplares de otros géneros de la familia Dictyotaceae en México como grupo externo (*Dictyota* sp., *Lobophora variegata* (Lamouroux) Womersley ex Oliveira y *Stypopodium* sp.) (Anexo 1). Adicionalmente, se incluyeron las secuencias de GenBank de *Padina* con fines comparativos (siete en total) y 16 de otros géneros de Dictyotaceae para complementar el grupo externo en cada matriz (Anexo 1).

7.2.2 Análisis de parsimonia

Análisis de parsimonia del gen psbA- La matriz de *psbA* consistió de 952 pares de bases y 128 secuencias de las cuales, 112 fueron generadas en este trabajo. 724 (76%) caracteres fueron constantes, 49 (5%) variables no informativos y 179 (19%) informativos para parsimonia. El análisis de máxima parsimonia (MP) recuperó 16 420 árboles más parsimoniosos con una longitud de 614 pasos, índice de consistencia (IC) de 0.4463 e índice de retención (IR) de 0.8482. El consenso estricto de los cladogramas se muestra en la fig. 3.

El género *Padina* se recuperó como monofilético (porcentaje de bootstrap [PB] 100). En general, se recuperaron nueve clados que coinciden de con la mayoría de las morfoespecies reconocidas en este trabajo, aunque sus relaciones filogenéticas no se resolvieron completamente. *Padina sanctae-crucis*, *P. haitiensis* y *Padina* sp.1 formaron un clado (A; PB=72) cuyo grupo hermano fue *P. japonica* (AY430360). Dentro del primer clado (A) se forman dos subclados, uno que incluye a *P. sanctae-crucis* (FEZA 1222 y FEZA 1757)—*P. sp. 1* (FEZA 1225) (PB=67) pertenecientes a localidades de Quintana Roo, y otro que agrupa a ejemplares de *P. sanctae-crucis* recolectados en Campeche y Quintana Roo (PB=66).

Todos los ejemplares de *Padina boergesenii* se recuperaron en un grupo monofilético (B; PB=100). Dentro, se forma un subclado que agrupa ejemplares de Campeche (PB=64). Los especímenes de *P. antillarum* conformaron un clado (C; PB=100) cuyo grupo hermano fue *P. crassa* 1 (AY422643) con un PB = 72. Las dos variedades de *P. mexicana* se agruparon en un solo clado (D; PB=83). Su grupo hermano lo conforman las secuencias de *P. crassa* 2 (AY430359) y *P. crassa* 3 (AY430358) pero sin apoyo (PB<50).

Los ejemplares de *Padina gymnospora* formaron dos clados: el primero conformado por individuos recolectados principalmente en la parte central y norte de Veracruz (E; PB=98); y el segundo (F; PB=94) integrado por ejemplares provenientes, en su mayoría, de la Península de Yucatán, a excepción de dos ejemplares de Penacho de Indio, Veracruz (FEZA 829 y FEZA 951). Dentro de este último clado, se forma un subclado (PB=59) que incluye a los ejemplares de Penacho de Indio y una secuencia de *P. gymnospora* de Ilha Grande, Brasil.

Los ejemplares de *Padina crispata* se recuperan en un clado (G; PB=100) que incluye un ejemplar determinado como *P. mexicana* var. *erecta* (FEZA 1763), dos de *P. aff. crispata* (FEZA 1794 y FEZA 1795) y a *Padina* sp.2 (AGAO 1 [ENCB]).

Todos los ejemplares de "*Padina ramonribae*" se recuperaron en un clado (H; PB=98). Finalmente, los ejemplares determinados como *P. durvillei*, *P. aff. durvillei*, *P. caulescens*, *P. concrescens* y *P. arborescens* (AY430359) conformaron un clado (I; PB=84). Dentro de éste, se observó que [*P. caulescens* -- *P. concrescens* – *P. durvillei* – *P. aff. durvillei* (FEZA 1775)] conformaron un clado (PB=59), cuyos grupos hermanos fueron *P. arborescens* (PB=60) y posteriormente *P. aff. durvillei* (FEZA 1774; PB=84).

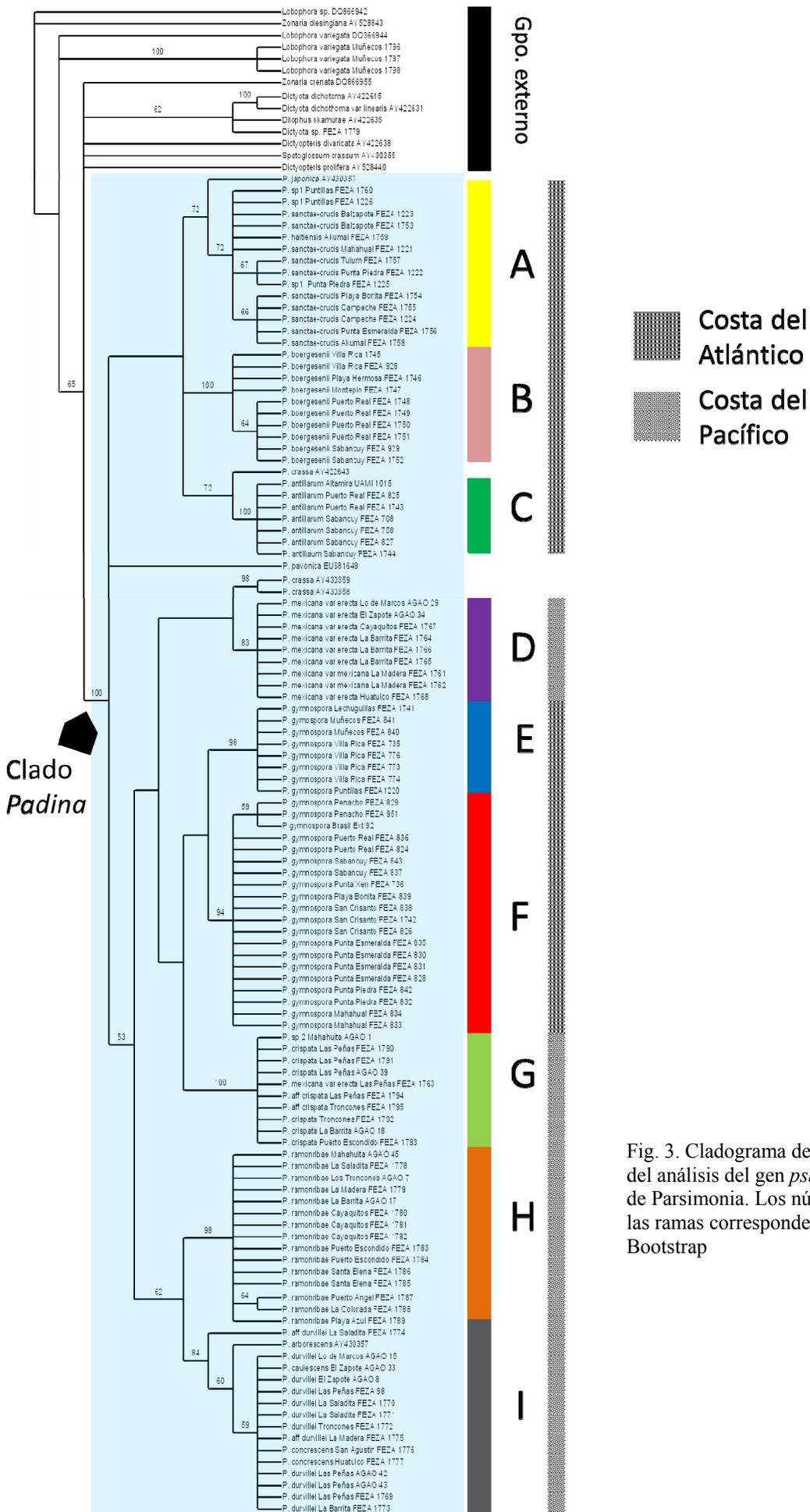


Fig. 3. Cladograma de consenso estricto del análisis del gen *psbA* con el criterio de Parsimonia. Los números asociados a las ramas corresponden al apoyo Bootstrap

Análisis de parsimonia del gen COI-La matriz del gen COI consistió de 664 pares de bases y 67 secuencias de las cuales, 59 fueron generadas en este trabajo. 379 (57%) caracteres fueron constantes, 30 (4.5%) variables no informativos y 255 (38.5%) informativos para parsimonia. El análisis recuperó 10 316 árboles más parsimoniosos con una longitud de 1366 pasos, IC = 0.3843 e IR = 0.7870. El consenso estricto de los árboles se muestra en la fig. 4.

Como primer diferencia con respecto a los análisis con *psbA*, se observa que el género no se recuperó como monofilético al posicionarse *Padina boergesenii*, *P. sanctae-crucis* y *P. haitiensis* con otros géneros de Dictyotaceae. El clado de *P. boergesenii* (B) se recuperó sin apoyo bootstrap y su grupo hermano es *P. haitiensis*. El grupo hermano de este último clado lo conforma *P. sanctae-crucis*, pero con relaciones filogenéticas confusas y no presentaron apoyo bootstrap.

Al igual que en el análisis de MP, la mayoría de las morfoespecies se recuperaron en clados con apoyos bootstrap mayores a 90 (C-I), pero con relaciones filogenéticas distintas. Uno de los clados de *P. gymnospora* (E) se recuperó como hermano de *Padina mexicana* (D; PB=63), que a su vez fue el grupo hermano del otro clado de *P. gymnospora* (F; PB=90). Este último grupo formó un clado con [*P. crispata*—*P. ramonribae*] (PB<50). Finalmente, el clado que incluye a todas las especies antes mencionadas se recuperó como el grupo hermano del clado conformado por *P. antillarum* (C) y *P. durvillei* (I) (PB<50).

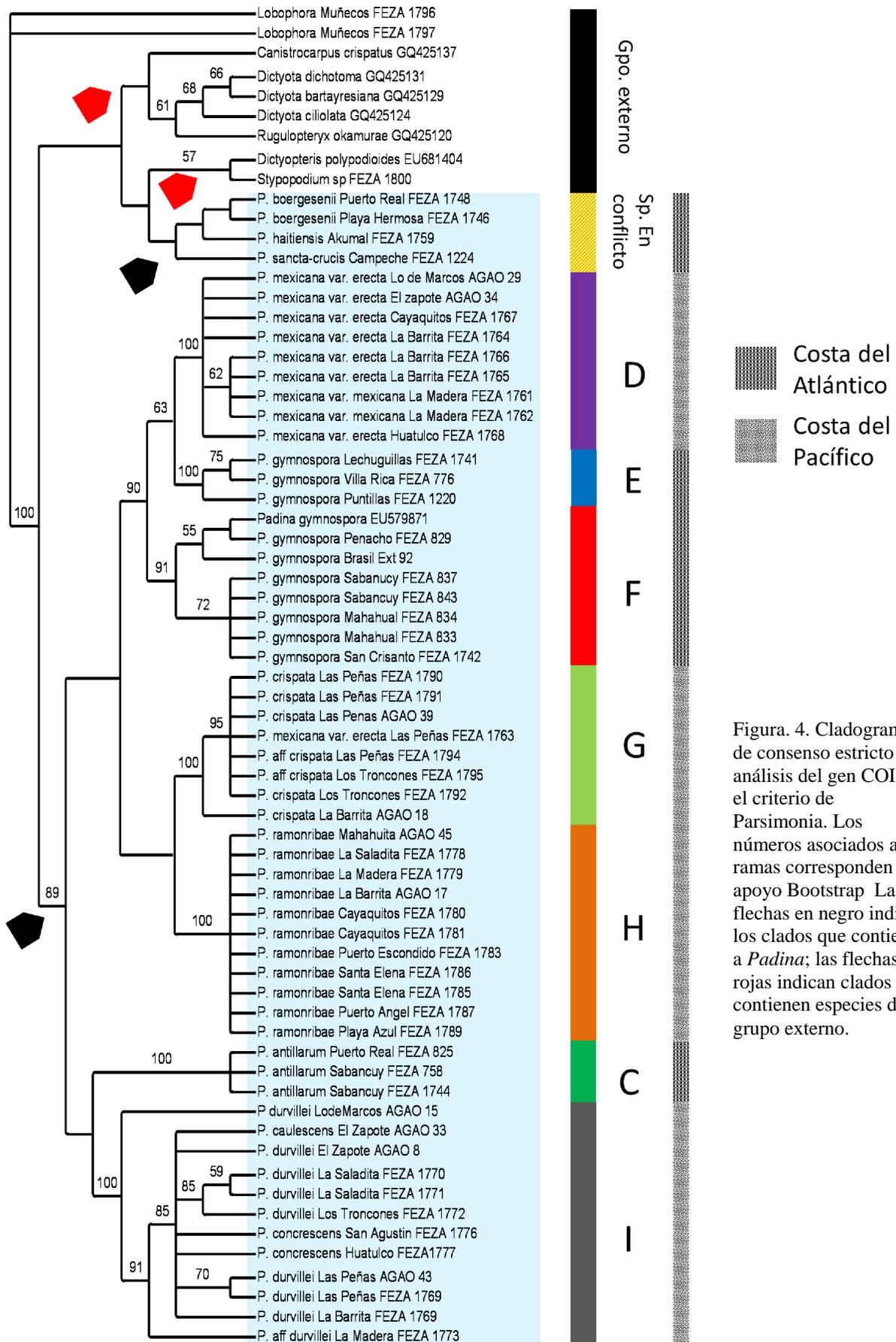


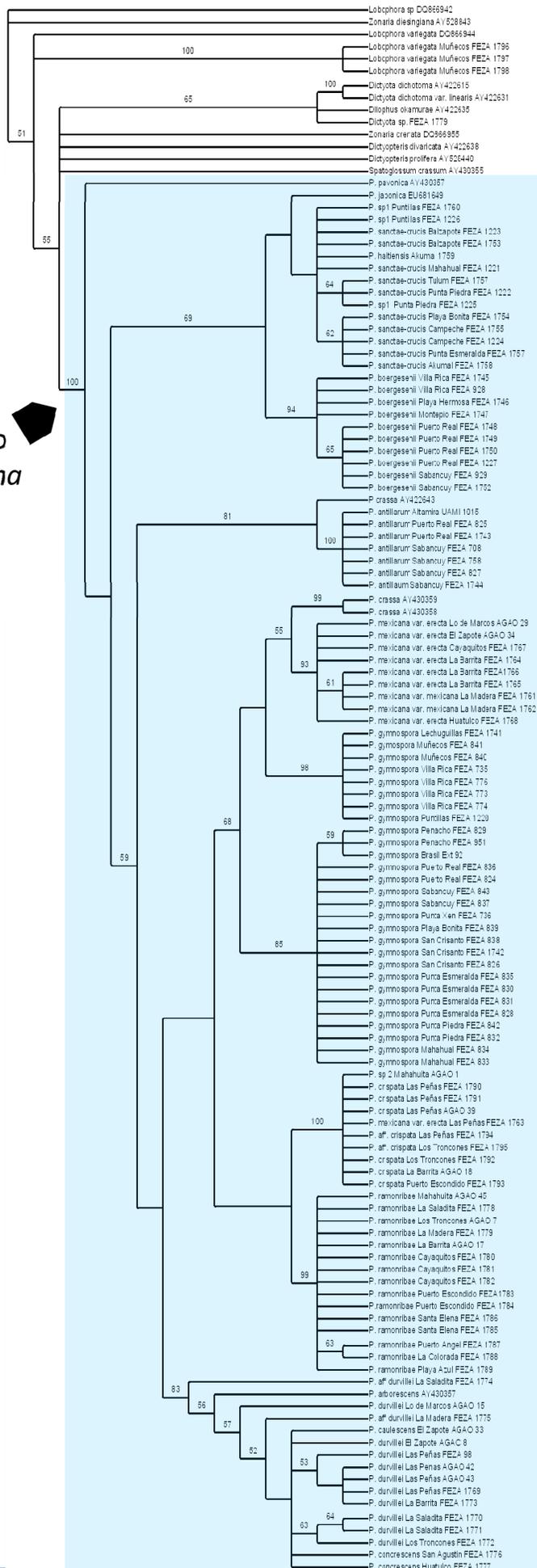
Figura 4. Cladograma de consenso estricto del análisis del gen COI con el criterio de Parsimonia. Los números asociados a las ramas corresponden al apoyo Bootstrap. Las flechas en negro indican los clados que contienen a *Padina*; las flechas rojas indican clados que contienen especies del grupo externo.

Análisis de parsimonia de los genes concatenados- Siguiendo la propuesta de Weins (1998) se procedió al análisis de las secuencias de *psbA* y COI concatenadas excluyendo algunas de las secuencias de COI descargadas de GenBank (grupo externo y *P. gymnospora* EU579871; ver Anexo 1).

Se observó que las topologías generadas para cada gen presentaron clados similares y las incongruencias correspondieron a clados sin soporte bootstrap. La matriz de consistió 1616 pares de bases y 128 terminales. 1117 (69.1%) caracteres fueron constantes, 90 (5.6%) variables no informativos y 409 (25.3%) informativos para parsimonia. El análisis recuperó 10480 árboles más parsimoniosos con una longitud de 1428 pasos, IC = 0.4979 e IR = 0.8629. El consenso estricto de los árboles se muestra en la fig. 5.

Este análisis recuperó todos los clados correspondientes a morfoespecies anteriormente descritos (A—I; figs. 3 y 4). Las relaciones filogenéticas entre las especies se resuelven mejor, aunque en el caso del clado que contiene a *Padina sanctae-crucis*, *P. haitiensis* y *P. sp.1* (clado A) carece de apoyo bootstrap, y en el de *P. boergesenii* baja un poco el apoyo (B; PB=94). En esta topología, y coincidiendo con el análisis de COI, uno de los clados de *P. gymnospora* (E) forman un grupo con el clado de *P. mexicana* y *P. crassa* 2 (AY430359)- *P. crassa* 3 (AY430359), pero sin apoyo bootstrap. Su grupo hermano lo conformó el otro clado de *P. gymnospora* (F; PB=68). Otros cambios corresponden a *P. antillarum* (C) que cambió su posición en el árbol; se recuperó a *P. crispata* (G) y “*P. ramonribae*” (H) como hermanas (PB<50); y finalmente *P. pavonica* se ubicó como el grupo más basal de *Padina*.

Clado
Padina



Gpo. externo

A

B

C

D

E

F

G

H

I

Costa del
Atlántico

Costa del
Pacífico

Figura 5. Cladograma de consenso estricto del análisis de los genes *psbA*+*COI* con el criterio de Parsimonia. Los números asociados a las ramas corresponden al apoyo Bootstrap

7.2.3. Análisis bayesiano.

Análisis bayesiano del gen psbA- A partir del análisis bayesiano (BS) se generó un filograma (fig. 6) que recuperó al género como monofilético con una Probabilidad Posterior (PP=1.0). A diferencia de la topología basada en Parsimonia (fig. 3) se obtuvo una mejor resolución de los clados. Por otro lado y de forma similar que en MP, las morfoespecies se recuperaron en clados exclusivos con PP mayores a 0.93 (B—I) con excepción del clado de *Padina haitiensis*, *P. sanctae-crucis* y *P. sp 1* que presentó una PP = 0.58 (A).

A diferencia de MP, *P. japonica* (AY430360) se posicionó como el grupo basal de *Padina*; los clados de *P. boergesenii* (B) y *P. antillarum* (C) se recuperaron mejor resueltos; y *P. pavonica* se ubicó entre los clados de *P. antillarum* (C) y *P. mexicana* (D). Descartando dichos cambios, el resto de las morfoespecies presentaron relaciones filogenéticas similares al análisis de éste gen con MP.

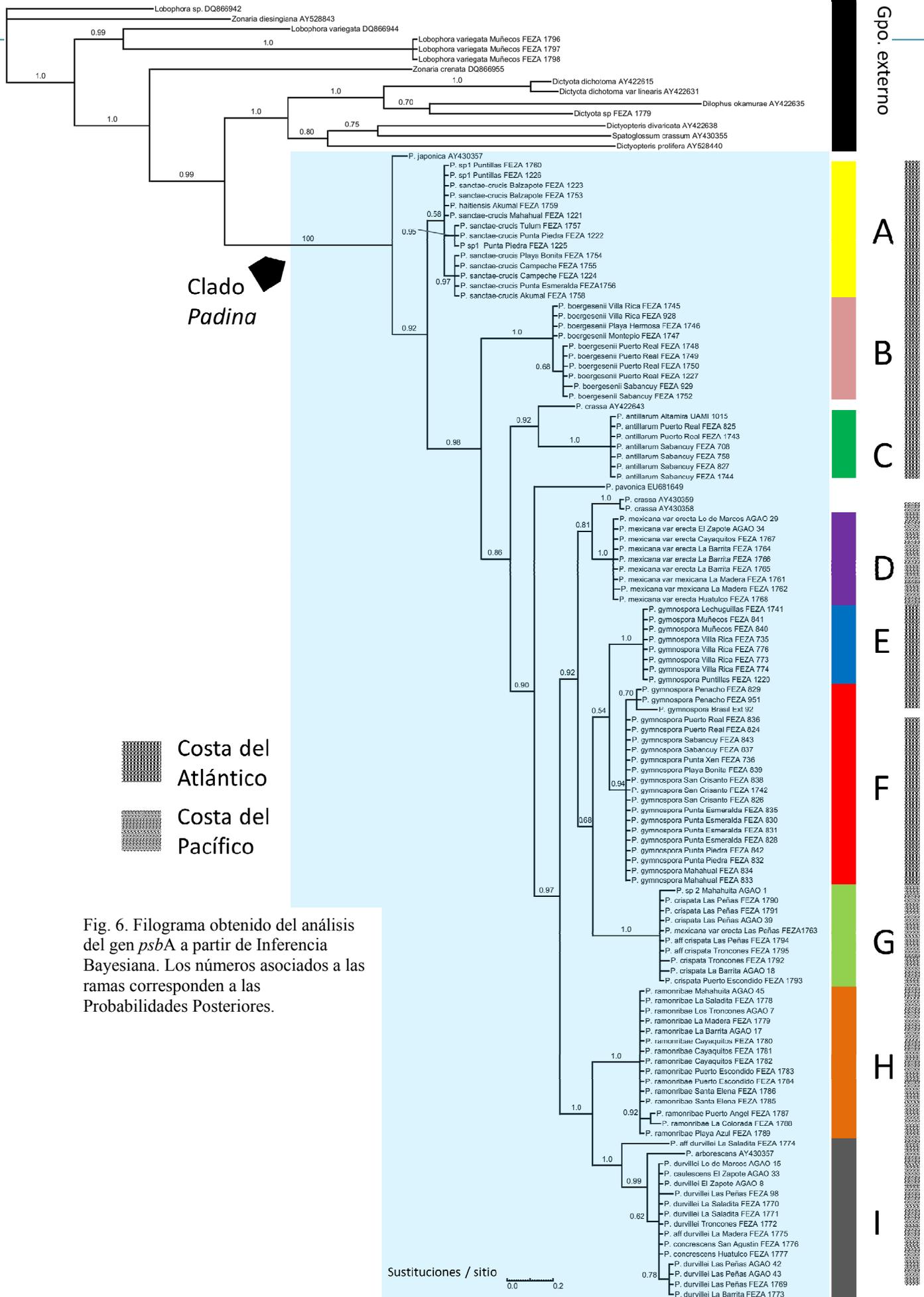


Fig. 6. Filograma obtenido del análisis del gen *psbA* a partir de Inferencia Bayesiana. Los números asociados a las ramas corresponden a las Probabilidades Posteriores.

Análisis bayesiano del gen COI- El filograma obtenido en este análisis se muestra en la fig. 7. Al igual que en el análisis de MP de este gen (fig. 4), no se recuperó al género como monofilético y se observó la agrupación de las morfoespecies dentro de clados exclusivos (C-D) con PP mayores a 0.91. El clado que contiene a *Padina boergesenii* fue recuperado (PP = 0.56) y forma un grupo con *P. sanctae-crucis* (FEZA 1224), que muestra una rama muy larga (PP=0.55), y posteriormente con *P. haitiensis* (PP=1.0). Las principales diferencias en este análisis fueron las distintas relaciones filogenéticas entre morfoespecies, con respecto a las que se presentaron en el análisis de MP del mismo gen (fig. 4) y BS de *psbA* (fig. 6).

Análisis bayesiano de los genes concatenados- El filograma obtenido del análisis bayesiano de los genes concatenados (fig. 8) recuperó a las morfoespecies en clados muy similares a los obtenidos en MP y BS de los genes separados y MP de los genes concatenados (clados A—I). Estos clados recibieron PP=1 a excepción del que incluye a *Padina haitiensis*, *P. sanctae-crucis* y *P. sp. 1* (clado A) que recibió una PP=0.79. A diferencia del análisis combinado utilizando el criterio de MP, se observó que los dos clados de *P. gymnospora* (E y F) se agrupan (PP=0.67), teniendo como grupo hermano al clado de [*P. mexicana* (D) — *P. crassa* 2 y *P. crassa* 3] (PP=0.98), coincidiendo con el análisis de MP y BS de *psbA*. Finalmente, esta topología es muy similar a la obtenida del análisis bayesiano de *psbA* (fig. 6) con la excepción de que en este análisis cambia la posición de *P. crispata* (G), y *P. boergesenii* (B) se recupera como la especie hermana del clado integrado por *P. haitiensis*, *P. sanctae-crucis*, *P. sp. 1* (clado A) y *P. japónica*.

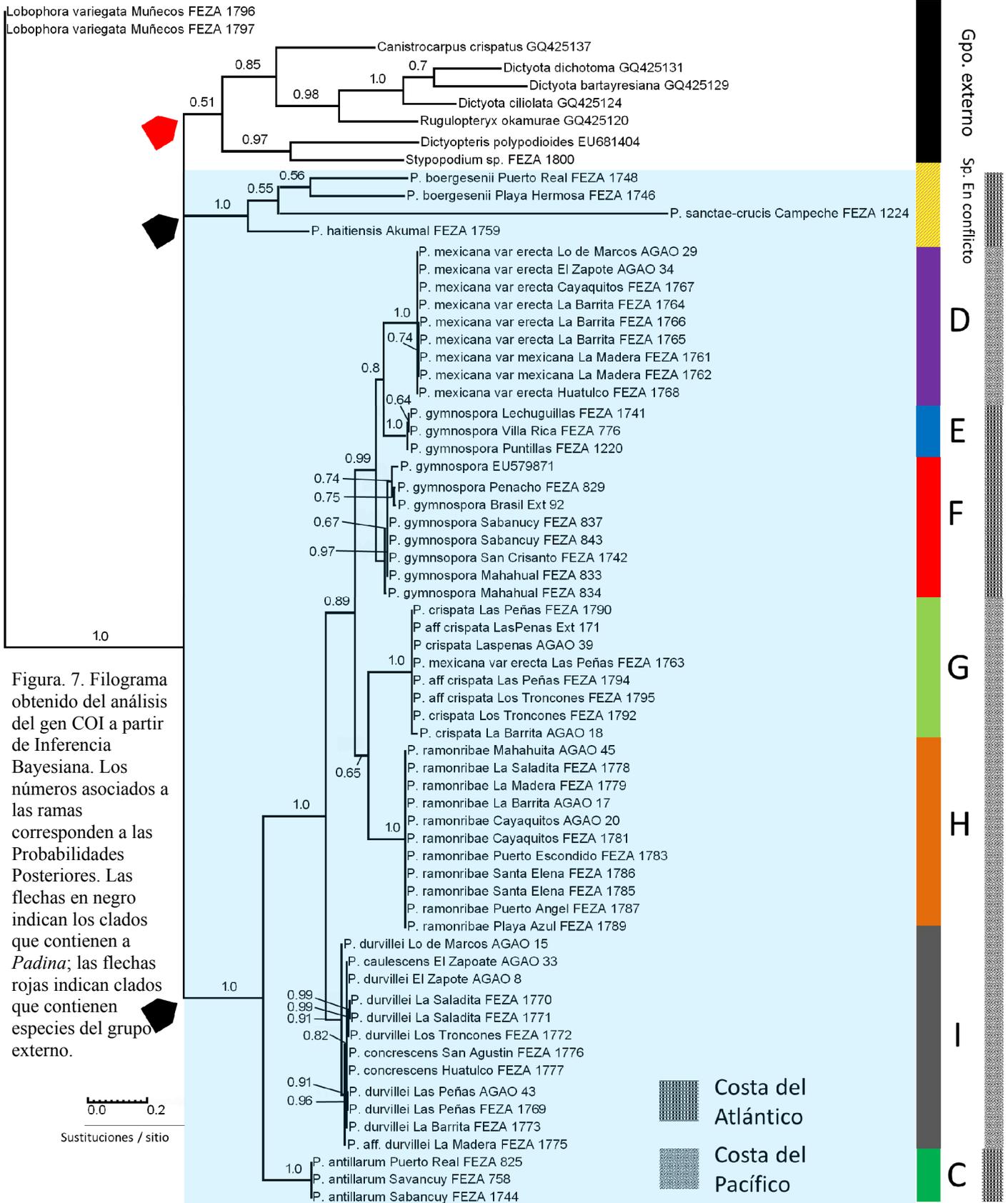


Figura. 7. Filograma obtenido del análisis del gen COI a partir de Inferencia Bayesiana. Los números asociados a las ramas corresponden a las Probabilidades Posteriores. Las flechas en negro indican los clados que contienen a *Padina*; las flechas rojas indican clados que contienen especies del grupo externo.

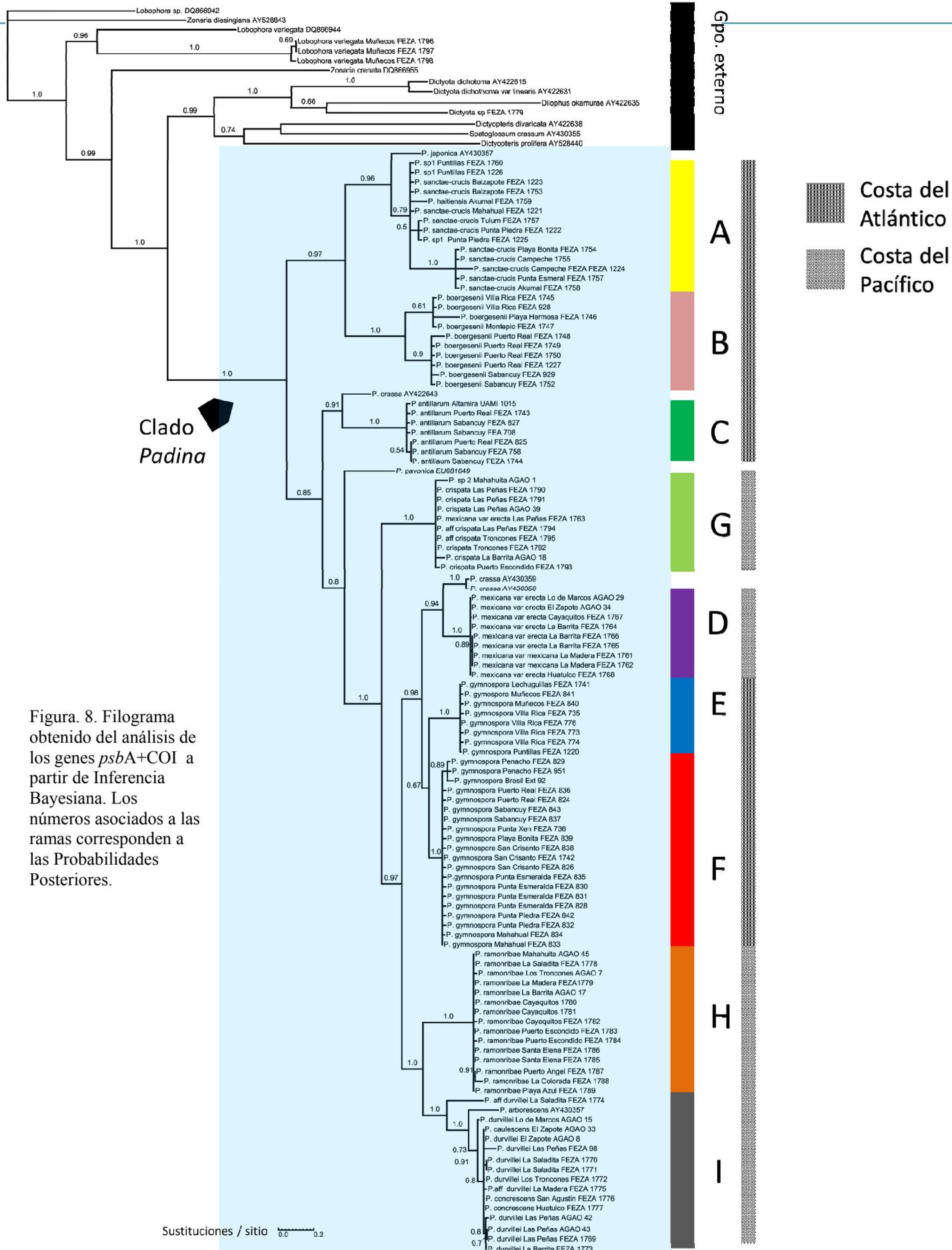


Figura. 8. Filograma obtenido del análisis de los genes *psbA*+*COI* a partir de Inferencia Bayesiana. Los números asociados a las ramas corresponden a las Probabilidades Posteriores.

7.2.4 Exploración de las distancias genéticas.

Para el gen *psbA* se observó que la diferencia mínima entre dos morfoespecies reconocidas fue de 0.8% (equivalente a 8 bases distintas) entre *Padina mexicana* con respecto a los ejemplares de *P. gymnospora*. La distancia máxima entre clados que incluyen morfoespecies mexicanas fue 3.7% (35-36 bases distintas) correspondiente a *P. boergesenii* y el ejemplar *P. aff. durvillei* (FEZA 1774). El promedio de diferencias fue 2.1% (20 cambios de base). La tabla de distancias entre las morfoespecies para *psbA* se encuentra en el Anexo 2. Descartando ejemplares conflictivos, la variación intraespecífica mostró valores que van de 0.0 a 0.3 % (equivalente a 3 bases diferentes).

En el gen COI la distancia mínima entre clados coincidentes con morfoespecies reconocidas, fue 8.6% (50 bases distintas) entre *P. mexicana* y *P. gymnospora*. La variación intraespecífica por lo general fue menor de 1.7% (15 pares de bases) excepto en *P. gymnospora* (7.4 a 7.8 %; 43 a 51 cambios de base) y *P. boergesenii*, que mostró un valor de 17.9 % (117 cambios de base). Las diferencias entre las morfoespecies encontradas en COI se encuentran en el Anexo 3.

8. Discusión

8.1 Concepto de especie y criterio de delimitación de especies en este trabajo.

Dada la naturaleza, los recursos y los datos que analizaron en este trabajo (secuencias de ADN), se decidió utilizar el “Concepto Filogenético de Especie” *sensu* Mishler y Theriot (2000), un criterio de delimitación de especies basado en una topología (Weins y Penkrot, 2002; Sites y Marshal, 2003, 2004) apoyado en “monofilia recíproca” (Avice, 1994). En este contexto, la mayoría de las morfoespecies reconocidas en este trabajo se recuperaron como especies distintas al coincidir con los clados exclusivos obtenidos en los análisis filogenéticos.

Sin embargo, no se debe de perder de vista que, entre algunas de las críticas posibles al concepto de especie y criterio de delimitación de especies aplicados en este trabajo, se encuentra que: a) las hipótesis filogenéticas generadas pueden estar incompletas o erróneas, resultando en la asignación inadecuada de especies (Willmann y Meier, 2000); b) la decisión de reconocer una especie como monofilética es arbitraria; y c) en algunos casos, bajo la estricta monofilia, las especies podrían descomponerse si se encuentran grupos parafiléticos (Crisp y Chanddler, 1996) o si no se observa “monofilia recíproca” (Knowles y Carstens, 2007).

En este sentido, *Padina gymnospora*, *P. sanctae-crucis*, *P. haitiensis*, *Padina* sp.1, *Padina* sp. 2 y el ejemplar *P. aff. durvillei* (FEZA 1774) al no recuperarse como monofiléticos o en clados exclusivos entran en conflicto con los criterios de delimitación utilizados. La problemática individual de dichos taxones se discutirá más adelante en la evaluación de las morfoespecies.

8.2 Genes utilizados e hipótesis filogenéticas generadas.

El gen de plástido *psbA* posee la ventaja de que, al ser codificante, no presentó deleciones e inserciones, fue de fácil alineamiento y se amplificó sin mayores problemas en una sola pieza. Por otro lado, se reporta que presenta una tasa de mutación baja y se ha considerado un gen adecuado para inferir filogenias a niveles profundos en dinoflagelados (Morden y Sherwood, 2002). Sin embargo, este gen fue utilizado satisfactoriamente por Hwang *et al.* (junto con *psaA* y *rbcl*; 2005) para el reconocimiento de una variedad de *Dictyota dichotoma* (Dictyotaceae). En este estudio, la mayoría de las morfoespecies reconocidas coincidieron con clados recuperados a partir de los datos generados de este gen, aunque las relaciones filogenéticas entre morfoespecies fueron confusas y distintas dependiendo del análisis.

El gen mitocondrial COI es codificante y, al igual que *psbA*, no presentó deleciones e inserciones y fue de fácil alineamiento. En éste gen se observó una mayor variabilidad con respecto a *psbA* si comparamos los caracteres informativos para parsimonia (38.5% del total contra 19% en *psbA*). La mayoría de las morfoespecies correspondieron a clados exclusivos recuperados en los análisis de este gen, coincidiendo con los obtenidos con *psbA*, a excepción de *P. sanctae-crucis*, *P. haitiensis* y *P. boergesenii*. A pesar de que se observaron topologías mejor resueltas que en *psbA*, no recuperó a *Padina* como monofilético. Esto puede deberse a la alta tasa de variación observada, presentándose homoplasias con otros taxones al perderse la señal filogenética por sustituciones múltiples en un sitio (Page y Holmes, 1998). Adicionalmente, se observa una rama muy larga en *P. sanctae-crucis* (FEZA 1224). De considerar las topologías generadas por este gen correctas, implicaría la aparición del margen meristemático enrollado y calcificación del talo (sinapomorfías propuestas para el género; Bold y Wynne, 1985) en dos eventos evolutivos independientes. Cabe mencionar que durante la fase de laboratorio se presentaron problemas en la amplificación y secuenciación, principalmente con las especies distromáticas (*Padina sanctae-crucis* y *P. haitiensis*) y con *P. boergesenii*, razón por la cual no se obtuvieron las secuencias

de todos los ejemplares. Este trabajo apoya el uso de este gen como “Código de Barras” dentro del género (McDevit y Saunders, 2009) ya que permitió la distinción de las morfoespecies de *Padina*. Sin embargo, los problemas en su amplificación y secuenciación deben tomarse en consideración.

A partir de los análisis de genes concatenados se obtuvieron topologías mejor resueltas que en los análisis por separado, incrementándose incluso el IC e IR en el análisis de MP (Tabla 6). La hipótesis producto del análisis de inferencia bayesiana fue seleccionada para la evaluación de las morfoespecies, ya que se consideró como aquella que mejor representa la señal filogenética contenida en ambos genes (Wiens, 1998), presenta mayor resolución (fig. 8; Tabla 6) y teóricamente es más precisa al corregir sustituciones múltiples en un mismo sitio (Huelsenbeck y Ronquist, 2001)

Tabla 6. Resumen de características conjuntas de datos moleculares.

gen	General		parsimonia				bayesiano	
	No. De terminales	No. de caracteres	No. de caracteres variables/informativos para la parsimonia (proporción)	No. de árboles más cortos	No. de pasos	Índice de Consistencia / Índice de Retención	Clados con apoyo $\geq 85\%$	Clados con PP ≥ 95
<i>psbA</i>	128	952	228(24.00%)/ 179(19.00%)	5048	614	0.4463/ 0.8482	10	23
COI	67	664	285(43.00%)/ 255(38.50%)	10316	1366	0.3843/ 0.7870	14	15
<i>psbA</i> +COI	128	1616	499(30.90%)/ 409(25.30%)	10480	1428	0.4979/ 0.8629	11	24

8.3 Evaluación de las morfoespecies.

Las morfoespecies *Padina antillarum*, *P. boergesenii*, *P. gymnospora*, *P. crispata*, *P. mexicana* y “*P. ramonribae*” fueron recuperadas en clados exclusivos y únicamente se presentaron conflictos en ejemplares particulares (p.e. *Padina mexicana* var. *erecta* [FEZA 1763]). Es posible que dichos conflictos se deban a una mala determinación, consecuencia de la sobreposición de caracteres diagnósticos y variación morfológica mayor a la actualmente registrada para cada especie. Por otro lado, algunas morfoespecies se agruparon dentro de los mismos clados, lo que indica posibles casos de sinonimia y coinciden con observaciones morfológicas previas (p. e. *Padina concrescens* y *P. caulescens* como sinónimos de *P. durvillei*; Taylor, 1945; Avila-Ortiz, 2002).

De forma operativa, se asumió *a priori* que las morfoespecies analizadas corresponden a la misma especie que el ejemplar Tipo. Sin embargo, convendría analizar ejemplares Tipo o de la localidad Tipo a fin de confirmar de forma más directa si las entidades recuperadas pertenecen o no a su respectiva especie.

8.3.1 Especies del Golfo de México y Mar Caribe

8.3.1.1 *Padina antillarum*

Padina antillarum es considerado como un nuevo registro para las costas mexicanas (García, 2007; Avila-Ortiz com. pers.). En términos generales, los individuos reconocidos como pertenecientes a esta morfoespecie fueron relativamente constantes en sus caracteres (número de capas celulares, disposición de los soros esporangiales y oogoniales y su relación con la línea de pelos) y presentaron la particularidad de manifestar esporangios germinados en el talo, característica reportada por Wynne y De Clerk (1999) en los ejemplares de Florida, EU. En los análisis cladísticos se recuperaron en un solo clado (A) que no presentó variación intraespecífica según las distancias calculadas (fig. 9, Anexo 2 y 3).

Es posible que esta morfoespecie haya sido confundida con *Padina pavonica* debido a que la descripción de la combinación propuesta por Thivy en Taylor (1960) es bastante amplia e incluye caracteres de *P. antillarum* (p. e. esporangios dispuestos a ambos lados de la línea de pelos feofíceos en la cara externa y de tres a cuatro capas de células en la región basal). *Padina pavonica* es una especie que originalmente fue descrita para los mares de Europa y es posible que los registros en México correspondan a *P. antillarum*. En este sentido, los ejemplares de *P. pavonica* del Herbario FEZA incluidos en este trabajo, fueron reexaminados y determinados como *P. antillarum*. Adicionalmente, la secuencia de *P. pavonica* (EU681649) no se agrupa dentro de ninguna especie mexicana.

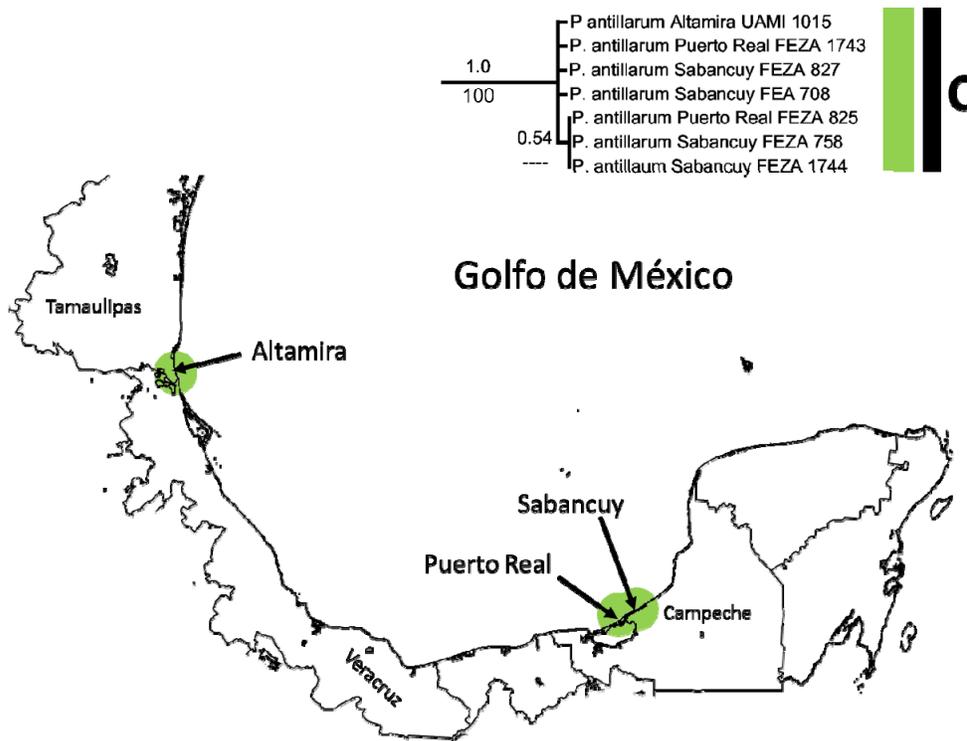


Figura 9. Correlación del clado *Padina antillarum* (C) con la distribución de los ejemplares. Arriba) clado obtenido a partir del análisis de inferencia bayesiana de *psbA*+*COI*, los números en la parte superior indican la Probabilidad Posterior y en la parte inferior Porcentaje Bootstrap; Abajo) mapa de distribución.

8.3.1.2 *Padina boergesenii*

Los ejemplares determinados como *Padina boergesenii* presentaron gran variación morfológica de la lámina y grado de calcificación, pero se reconocieron gracias a que es la única especie tristromática y por la presencia de los soros (oogoniales y esporangiales) sobre la cara externa, alternando zonas fértiles y estériles. Los ejemplares de esta morfoespecie se recuperaron en el clado “B” en los análisis de *psbA* y *psbA*+COI (figs. 3, 5, 6 y 8), pero en COI se agruparon con especies de otros géneros (figs. 4 y 7) quizá debido a un fenómeno de convergencia de las secuencias por la alta variación del gen (Page y Holmes, 1998). En la hipótesis en la que se basó la evaluación (BS de *psbA*+COI; fig.8), se observó la formación de dos subclados que coinciden a dos poblaciones con distinta distribución geográfica (fig. 10). De forma coincidente, la distancia observada en COI para dichos subclados fue de 17.9% (117 cambios de base).

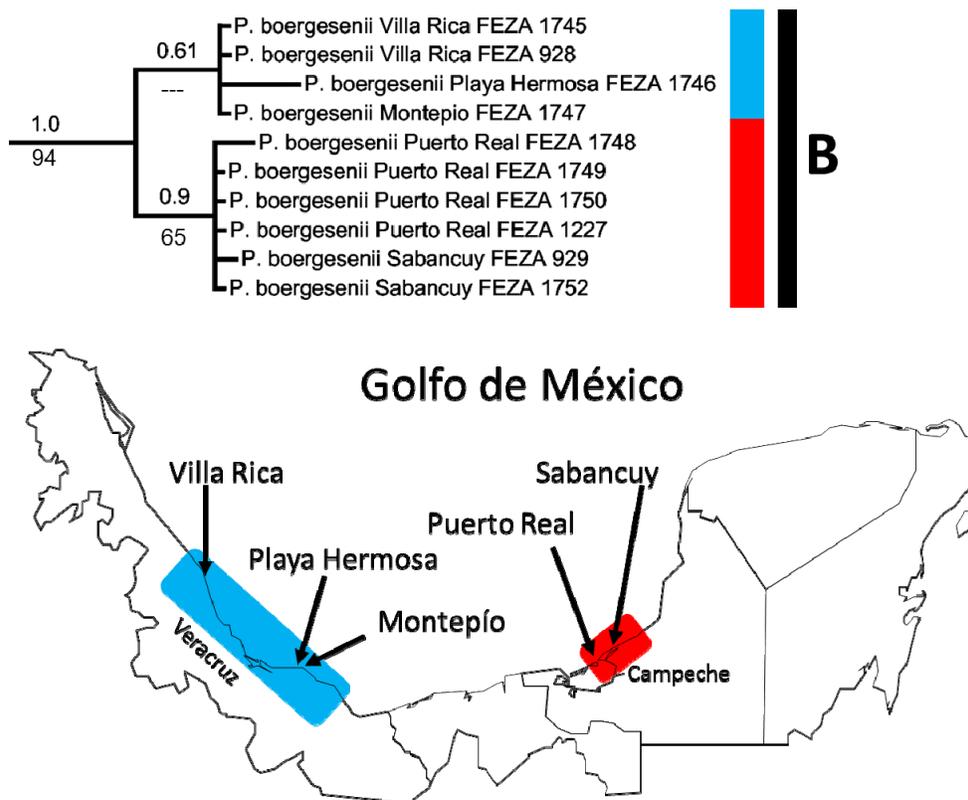


Figura 10. Correlación del clado *Padina boergesenii* (B) con la distribución de los ejemplares. Arriba) clado obtenido a partir del análisis de inferencia bayesiana de *psbA*+COI, los números en la parte superior indican la Probabilidad Posterior y en la parte inferior Porcentaje Bootstrap; Abajo) mapa de distribución.

8.3.1.3 *Padina gymnospora*

Padina gymnospora se reconoció por poseer seis o más capas de células en la región basal, siendo la especie de mayor grosor en el Golfo de México y Mar Caribe. Esta morfoespecie entra en conflicto con el concepto de especie y el criterio de delimitación empleado en este trabajo, ya que los ejemplares analizados se agrupan en dos clados (E y F; Figs. 3 a 8) que se recuperaron como monofiléticos en MP y BS para *psbA* (figs. 3 y 6) y BS de *psbA*+COI (fig. 8), pero como parafiléticos en MP y BS para COI (figs. 4 y 7) y MP de *psbA*+COI (fig. 5) ubicándose *Padina mexicana* (clado D) dentro de *P. gymnospora*. La variación genética observada entre los clados de *P. gymnospora* fue de 0.8-0.9% (de 8 a 9 cambios) en el gen *psbA* y en COI es de 7.5-7.6% (43 a 49 cambios), lo que corresponde casi a la misma variación encontrada entre los individuos de estos clados y *Padina crispata* (clado G). Asimismo, la variación genética interna entre los ejemplares de cada clado es baja (Anexo 2 y 3). Basándose en la hipótesis filogenética de trabajo (BS de *psbA*+COI), y el criterio de monofilia, *Padina gymnospora* se recuperó como un sola especie. Sin embargo, las distintas relaciones filogenéticas encontradas en otros análisis la variación genética observada, sugieren la posible existencia de especies distintas bajo el criterio de monofilia recíproca.

Si se compara con su distribución geográfica (fig. 11), se observa que los ejemplares se agrupan de acuerdo a un patrón geográfico definido, como lo menciona Díaz-Martínez (2008). Finalmente, se descartó la presencia de esta especie para el Pacífico Mexicano (como anteriormente se había registrado) al no encontrarse ejemplares que coincidan completamente con la descripción de *P. gymnospora* y que estén cercanamente relacionadas en los análisis cladísticos. La situación de *P. gymnospora* con respecto a *P. mexicana* se discutirá más adelante.

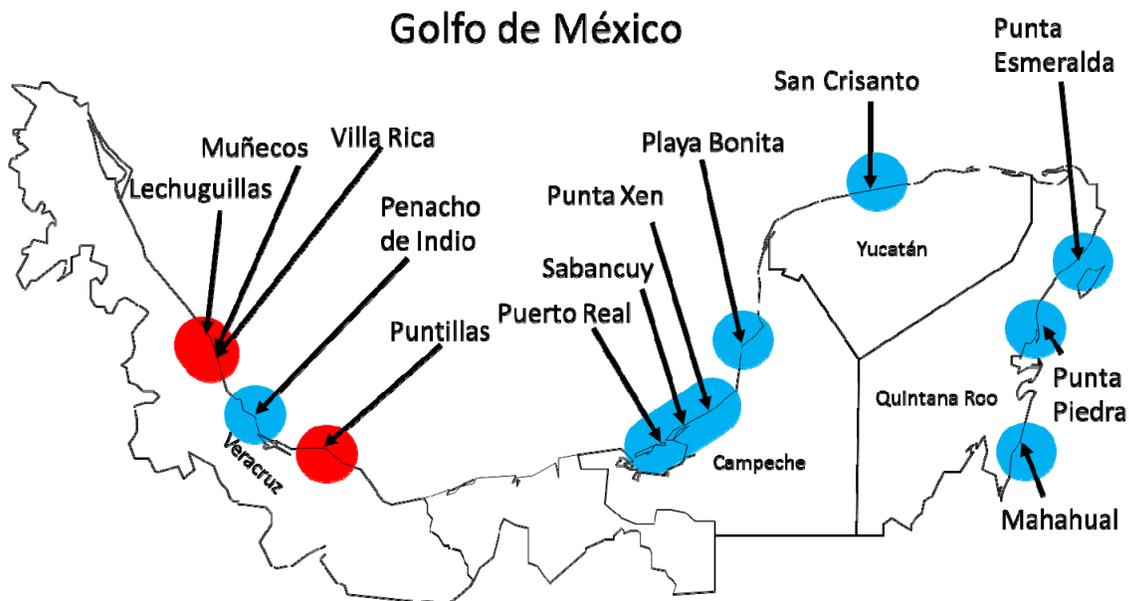
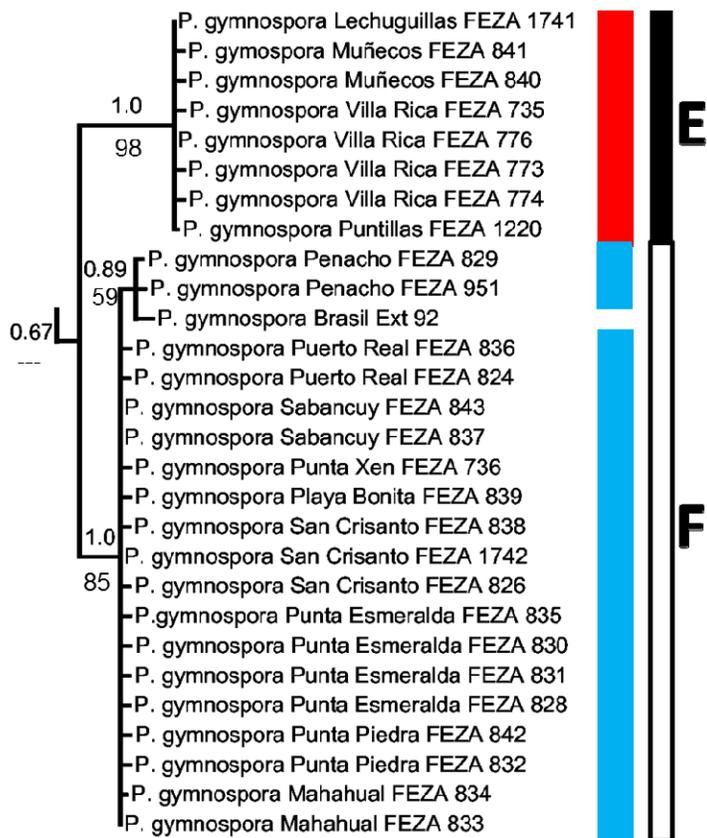


Figura 11. Correlación de los clados *Padina gymnospora* (E y F) con la distribución de los ejemplares. Arriba) clado obtenido a partir del análisis de inferencia bayesiana de *psbA*+*COI*, los números en la parte superior indican la Probabilidad Posterior y en la parte inferior Porcentaje Bootstrap; Abajo) mapa de distribución.

8.3.1.4 *Padina sanctae-crucis*, *P. haitiensis* y *Padina* sp. 1

La mayor parte de los ejemplares distromáticos se determinaron como *Padina sanctae-crucis* y únicamente fue asignado un ejemplar como *P. haitiensis* (FEZA 1759) y tres como *P. sp. 1* (FEZA 1225, 1226 y 1760). Las similitudes entre *P. sanctae-crucis* y *P. haitiensis* provocan confusión en su delimitación e incluso se han propuesto como sinónimas por Gaillard (1975), Abbot y Huisman (2003) y Geraldino *et al.* (2005). Por otro lado, *Padina* sp. 1 presenta características muy similares con *P. sanctae-crucis* excepto por la presencia de soros oogoniales en la cara interna del talo. Esta característica no se encuentra registrada para las especies distromáticas mexicanas. Por este motivo, estos ejemplares son de gran importancia, ya que implicarían una nueva especie para las costas mexicanas o características antes no descritas para *P. sanctae-crucis* o *P. haitiensis*.

Todos los ejemplares de *Padina haitiensis*, *P. sanctae-crucis* y *P. sp.1* se agruparon en un solo clado (A). En cuanto a la diferencias genéticas observadas, *psbA* presentó de 0 a 0.2 % (0-2 bases) dentro del clado. En COI se observaron cambios mayores, ya que la diferencia entre *P. sanctae-crucis* y *P. haitiensis* fue 19.6% (116 cambios totales). Basándose en la hipótesis filogenética de trabajo (fig. 12) y bajo el criterio de monofilia, estas morfoespecies deben tratarse como *P. sanctae-crucis*, hasta efectuar una revisión de los caracteres diagnósticos y obtener secuencias de material proveniente de las localidades tipo de cada morfoespecie, tomando en cuenta que Ni-Ni-Win *et al.* (2008, 2010) han develado una mayor diversidad de especies distromáticas en Japón.

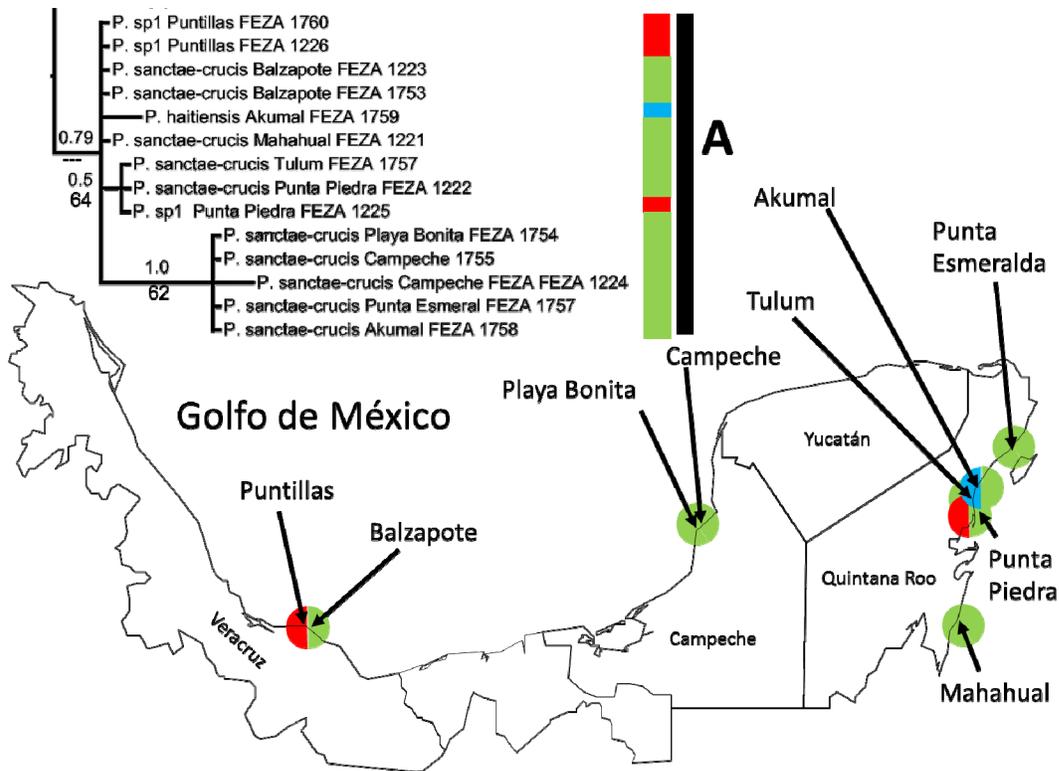


Figura 12. Correlación de *P. sanctae-crucis*, *P. haitiensis* y *Padina* sp, 1 (A) con la distribución de los ejemplares. Arriba) clado obtenido a partir del análisis de inferencia bayesiana de *psbA*+*COI*, los números en la parte superior indican la Probabilidad Posterior y en la parte inferior Porcentaje Bootstrap; Abajo) mapa de distribución.

8.3.2 Especies del Pacífico tropical mexicano

8.3.2.1 *Padina crispata*

En *Padina crispata* el característico margen crispado y la calcificación abundante en la cara interna fueron los caracteres importantes en el reconocimiento de esta morfoespecie. Sin embargo, también se reconocieron dos ejemplares afines que presentaban variación en el número de capas celulares, por lo que se debe evaluar límites de este carácter en la delimitación taxonómica. Adicionalmente, esta especie presentó similitudes con *P. mexicana* var. *erecta* (que puede presentar márgenes ligera o moderadamente crispados) y con "*P. ramonribae*" (que presenta márgenes ligeramente crispados y su número de capas celulares es de diez). A pesar de las semejanzas, *P. crispata* puede reconocerse por el grado de calcificación, ya que en esta especie es de moderada a abundante en la mayor

parte de la cara interna y en "*P. ramonribae*" se presenta principalmente ligera o moderada en forma de una banda angosta cerca del margen en la cara interna. Por otra parte, *Padina* sp. 2 (AGAO 1 [ENCB]) es una morfoespecie muy similar a *P. crispata* pero posee hasta cuatro capas de células en la región cercana al estípite y por lo tanto, el único ejemplar que presentó esta característica.

Los ejemplares reconocidos como *Padina crispata* se agruparon en un clado (G). Sin embargo los ejemplares denominados *P. aff crispata* (FEZA 1794, 1795), uno de *P. mexicana* var. *erecta* (FEZA 1763) y *Padina* sp. 2 se posicionaron dentro del mismo clado. Las características morfológicas de dichos ejemplares manifiestan que se presenta sobreposición de caracteres y variación de consideración con respecto a los límites específicos establecidos en la literatura (se registra que *P. crispata* tiene de siete a nueve capas de células en la región basal; Avila-Ortiz y Pedroche, 2005). En el ejemplar de *P. mexicana* var. *erecta* (FEZA 1763) se trató de un talo de lámina dividida y lobulada con seis capas de células en la región basal, por lo que se asignó a esa morfoespecie. En el caso de *P. aff crispata* (FEZA 1794) se presentó un incremento en la región basal a doce capas celulares, lo que supera el número descrito para esta especie. En *P. aff crispata* (FEZA 1795) se observó una reducción de capas celulares en la región basal llegando a ser de seis, coincidiendo con *P. mexicana* var. *erecta*. Para *Padina* sp. 2 el análisis indicó que no es distinguible de *P. crispata* y desafortunadamente no se obtuvo la secuencia de COI, de tal manera que se pudiera tener otro criterio para esclarecer su situación taxonómica.

Con respecto a la variación genética, las diferencias intraespecíficas fueron muy bajas: de 0 a 2 cambios en *psbA* (0.2%) y hasta 15 cambios en COI (2.2%). En el caso de *Padina* sp. 2 presentó hasta 3 cambios (3%) en *psbA* y *P. aff. crispata* (FEZA 1794) y (FEZA 1795) no presentaron cambios considerables (Anexo 2 y 3).

Finalmente, los ejemplares en conflicto fueron considerados como ejemplos de variación morfológica de la especie, tomando en cuenta que algunos provienen de las mismas localidades (fig. 13). Por estos motivos, se deben evaluar nuevamente

los caracteres diagnósticos, sobre todo para evitar confusión con respecto a otras especies y particularmente con *Padina mexicana* var. *erecta*.

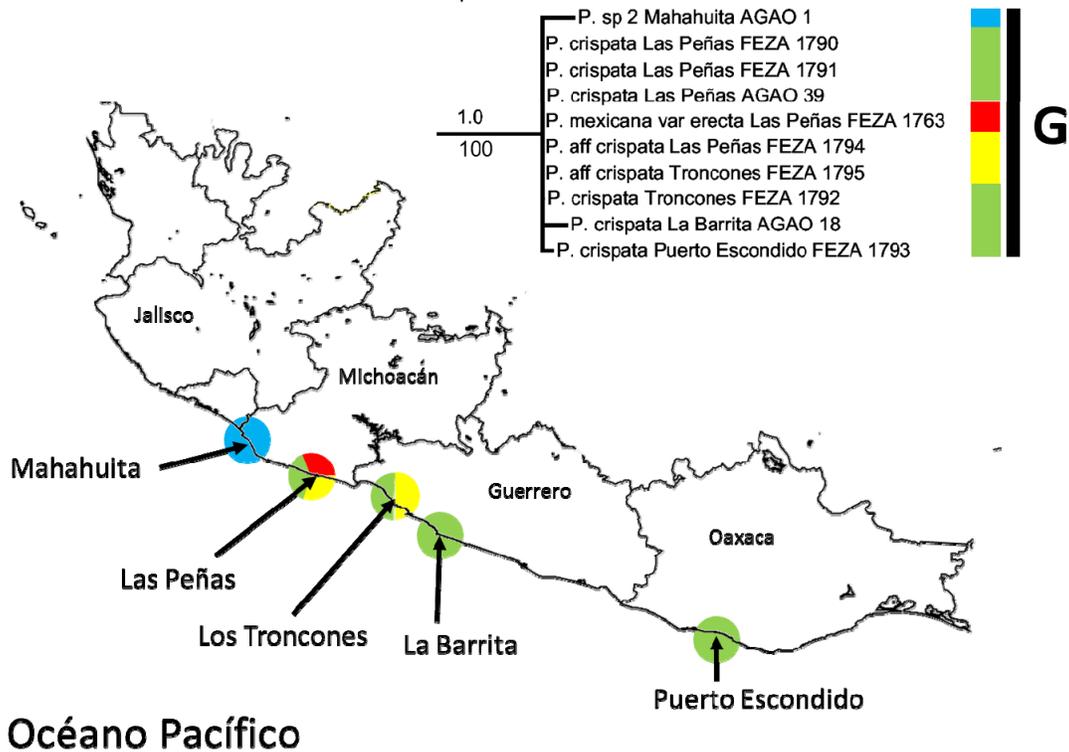


Figura 13. Correlación del clado *Padina crispata* (G) con la distribución de los ejemplares. Arriba) clado obtenido a partir del análisis de inferencia bayesiana de *psbA*+*COI*, los números en la parte superior indican la Probabilidad Posterior y en la parte inferior Porcentaje Bootstrap; Abajo) mapa de distribución.

8.3.2.2 *Padina durvillei*

Se reconoció el complejo *Padina durvillei* según Avila-Ortiz (2002) integrado por *Padina caulescens*, *P. concrescens* y *P. durvillei*. Estas especies presentan características muy similares entre sí y en algunos casos los caracteres que los distinguen son sutiles. Siguiendo las descripciones encontradas en la literatura, la morfoespecie *Padina durvillei* presentó pocos problemas para su determinación taxonómica. Los únicos casos de consideración corresponden a los ejemplares *P. aff. durvillei* (FEZA1774) y (FEZA 1775). En el primero el talo llega a ser de diez capas de células (característica presente en "*P. ramonribae*"), lámina de forma espatulada y estípote muy grueso; en el segundo se observó que los soros

esporangiales presentan indusio, distribuidos en la cara externa y el número de capas no fue mayor a diez. Únicamente se asignó a un ejemplar con el nombre de *Padina caulescens* (AGAO 33 [ENCB]). Para ello se recurrió principalmente al número de capas celulares (hasta 10) y la forma dividida de la lámina. Descartando estas características, este individuo es muy similar a *P. durvillei*. Cabe destacar que *P. caulescens* es una especie con problemas en su delimitación taxonómica, debido a su distribución posiblemente restringida a la Isla María Magdalena en Nayarit (Pedroche *et al.*, 2008) y a que la descripción original se refiere a gametofitos inmaduros (Taylor, 1945). Por otro lado, *Padina conrescens* fue reconocida en este trabajo principalmente por su característico crecimiento procumbente. Sin embargo, y al igual que mencionan Taylor (1945) y Avila-Ortiz y Pedroche (2005), esta especie es muy similar a *P. durvillei*.

Padina durvillei, *P. caulescens*, *P. conrescens*, *P. arborescens* (AY430357) y dos ejemplares reconocidos como *P. aff. durvillei* (FEZA 1774, 1775) se recuperaron en un clado (H). Dentro *P. caulescens*, *P. conrescens*, *P. durvillei* y *P. aff. durvillei* (FEZA 1775) integraron un clado y presentaron muy baja variación genética (hasta 0.3% en *psbA* y 1.6% en COI; Anexos 2 y 3) (fig. 14) motivos por los cuales es posible que sean la misma especie. Considerando lo anterior, las variaciones morfológicas y algunos caracteres diagnósticos descritos (p.e. forma de la lámina y crecimiento procumbente) podrían estar ligados a condiciones microambientales y no a discontinuidades entre especies. De esta forma, se consideró que *P. caulescens* y *P. conrescens* son sinónimos de *P. durvillei* como lo indicó Avila-Ortiz y Pedroche (2005).

Por otro lado, se presenta un conflicto con el ejemplar *P. aff. durvillei* (FEZA1774) de “La Saladita”, Guerrero. Este ejemplar se posicionó en las topología como el grupo hermano del clado formado por *P. arborescens*, *P. caulescens*, *P. conrescens* y *P. durvillei*, y presentó una variación genética mayor con respecto al resto de las secuencias de *P. durvillei* del gen *psbA* (1.2 a 1.5%; Anexo 2).

Las diferencias son más notorias considerando que los otros ejemplares de *P. durvillei* de “La Saladita” están más relacionados filogenéticamente con los ejemplares de otras localidades (fig. 14). De esta manera, es posible que se trate de una especie distinta dada su morfología y los datos moleculares analizados. De considerar a este ejemplar como perteneciente a *Padina durvillei*, conllevaría a una evaluación de la situación de *P. arborescens* como un posible sinónimo de *P. durvillei* (Avila-Ortiz com. pers).

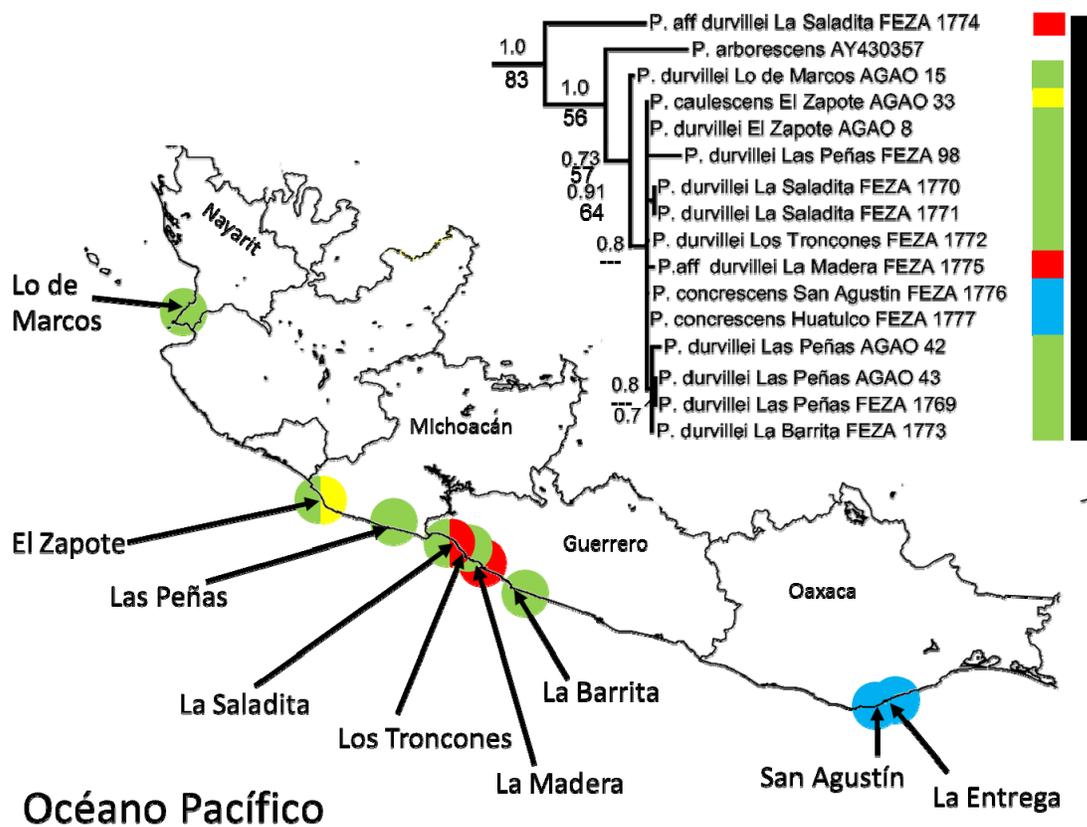


Figura 14. Correlación de *Padina durvillei*, *P. caulescens*, *P. concrescens* (I) con la distribución de los ejemplares. Arriba) clado obtenido a partir del análisis de inferencia bayesiana de *psbA*+*COI*, los números en la parte superior indican la Probabilidad Posterior y en la parte inferior Porcentaje Bootstrap; Abajo) mapa de distribución.

8.3.2.3 *Padina mexicana*

Para el reconocimiento de *Padina mexicana* se recurrió principalmente al número de capas de células (que es de seis en la región basal), a la forma del talo (láminas generalmente enteras o poco divididas) y la forma de crecimiento: procumbente en *Padina mexicana* var. *mexicana* y erecta en *P. mexicana* var. *erecta*. Sin embargo, se presentó confusión con respecto a *P. crispata*, principalmente debido a que un ejemplar de esa especie presentó seis capas de células en la región basal (FEZA 1763; ver discusión en el apartado *Padina crispata*) y ejemplares de *P. mexicana* var. *erecta* exhibieron láminas ligeramente crispadas. Por este motivo, se deben revisar los caracteres diagnósticos y asignar nuevos para lograr el reconocimiento adecuado y delimitación de estas especies.

Los ejemplares de ambas variedades de *Padina mexicana* (a excepción del conflicto ya mencionado) se recuperaron en un clado (D; fig. 15). Este resultado confirma la afinidad entre las dos variedades. Adicionalmente, las diferencias genéticas observadas fueron nulas en el gen *psbA* y de 0.0 a 0.3 % (0 a 3 cambios) para COI.

Cabe destacar que en las topologías generadas por MP y BS de COI y MP de *psbA*+COI (figs. 4, 5 y 6) ésta especie forma un grupo con un clado de *Padina gymnospora* (E), que a su vez tienen como grupo hermano al otro clado de *P. gymnospora* (F). Bajo esta hipótesis se podrían considerar dos opciones: 1) cambiar el estatus taxonómico de *P. mexicana* como sinónimo de *P. gymnospora*; o 2) *P. gymnospora* en realidad es una especie críptica y se requiere un estudio más detallado a fin de reconocer cual es la que debe portar el nombre y cual debe describirse. Sin embargo, la topología sobre la cual se basó esta discusión (fig. 8) recuperó a *P. gymnospora* en un mismo clado.

Por otra parte, se debe notar la afinidad de esta morfoespecie (clado D) con dos secuencias correspondientes a *Padina crassa* 2 y 3 (AY430358 y AY430359). *Padina crassa* posee características muy similares a *P. gymnospora* y *P. mexicana* como margen entero, presenta de seis a ocho capas en la región basal

y esporangios con indusio que se desarrollan entre las líneas de pelos (Yamada, 1931). De confirmarse la pertenencia de las secuencias a dicha especie, se podría confirmar su estatus independiente, ya que actualmente se le considera un sinónimo de *P. gymnospora*.

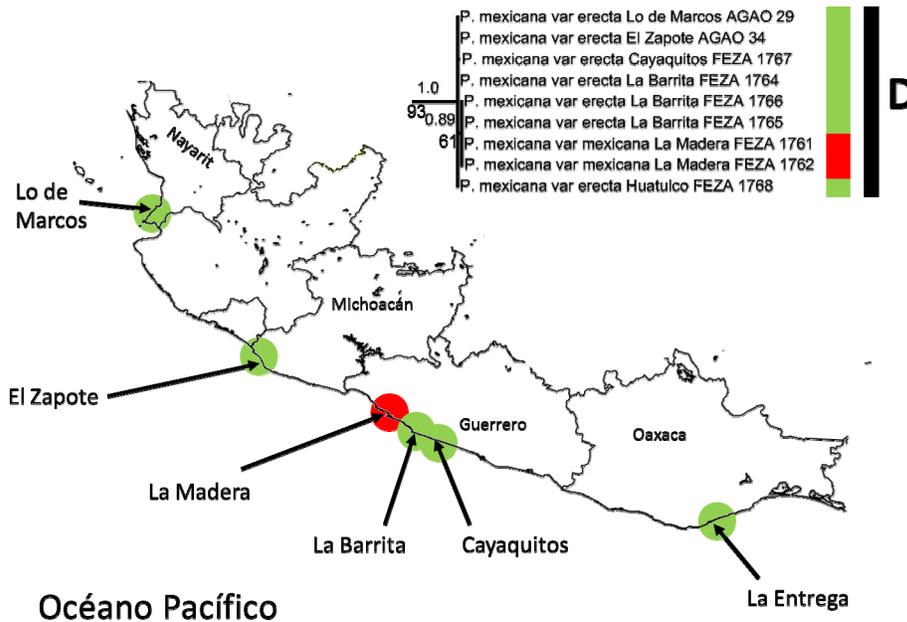


Figura 15. Correlación del clado *Padina mexicana* (D) con la distribución de los ejemplares. Arriba) clado obtenido a partir del análisis de inferencia bayesiana de *psbA*+*COI*, los números en la parte superior indican la Probabilidad Posterior y en la parte inferior Porcentaje Bootstrap; Abajo) mapa de distribución.

8.3.2.4 *Padina ramonribae*

Esta especie fue una de las mejor representadas para las costas del Pacífico tropical (fig. 16). Los individuos pertenecientes a esta morfoespecie se reconocieron por presentar diez capas de células en la región basal, carbonato de calcio en la cara interna cerca del margen y soros en líneas en la cara interna. Sin embargo, en algunos ejemplares se observaron características muy similares *P. durvillei* (cuando las láminas son poco divididas y la calcificación es muy ligera) y con *P. crispata* (cuando las láminas son muy divididas, ligeramente crispadas y no se aprecia que el número de capas celulares en la región basal llegue a diez).

Los ejemplares reconocidos como *P. ramonribae* formaron un clado exclusivo (I) y presentaron una variación genética intraespecífica muy baja (de 0 a 2 cambios en ambos genes). De esta forma y dado que se cuenta con la revisión de Avila-Ortiz, se corrobora la existencia de “*Padina ramonribae*” como un taxón distinto.

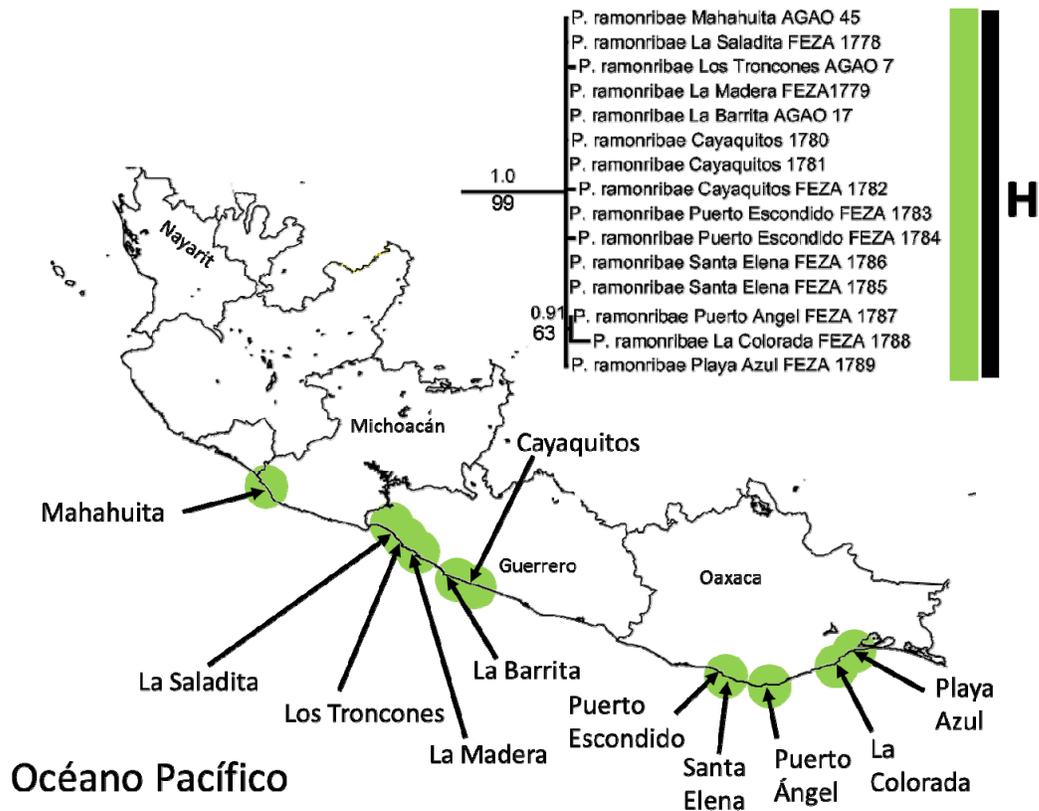


Figura 16. Correlación del clado *Padina ramonribae* (H) con la distribución de los ejemplares. Arriba) clado obtenido a partir del análisis de inferencia bayesiana de *psbA*+*COI*, los números en la parte superior indican la Probabilidad Posterior y en la parte inferior Porcentaje Bootstrap; Abajo) mapa de distribución.

9. Conclusiones

Los marcadores moleculares (secuencias de ADN de plástido *psbA* y mitocondria COI) fueron de gran utilidad en la evaluación de las morfoespecies registradas actualmente en México. Los datos generados aportaron nueva información en el reconocimiento de las especies y ayudarán a esclarecer su estatus taxonómico. En el caso particular de COI, los resultados apoyan su uso como “código de barras” para la identificación de especies (McDevit y Saunders, 2009). Sin embargo, su uso en análisis filogenéticos debe ser evaluado ya que no recuperó a *Padina* como monofilético, contrario a las propuestas morfológicas tradicionales (Bold y Wynne, 1985), los resultados obtenidos en este estudio con el gen *psbA* y los trabajos realizados previamente en Dictyotaceae (Lee y Bae, 2002; Hoshina *et al.*, 2004; De Clerck *et al.*, 2006; Bittner, *et al.*, 2008).

Aunque se deben evaluar los límites de variación establecidos en algunos caracteres diagnósticos, los resultados de esta investigación avalan a la mayoría de las morfoespecies. Finalmente, las coincidencias entre patrones morfológicos (interpretados como morfoespecies) y genéticos (clados recuperados de análisis filogenéticos) son líneas de evidencia que apoyan la identidad independiente de estas especies, considerando que cada una de ellas es únicamente una hipótesis que debe ser sometida a prueba por información adicional y diversos métodos, a fin de corroborarse o refutarse (de Queiroz, 2005, 2007).

10. Consideraciones finales

Este estudio es uno de los primeros acercamientos desde el enfoque molecular a las especies de *Padina* en México, teniendo como antecedente el trabajo de Díaz-Martínez (2008). Los resultados de estos trabajos permiten detectar y resolver algunos de los conflictos taxonómicos para cada especie y abordarlos de forma particular. En este sentido, se requiere una evaluación más fina de las especies distromáticas (*Padina haitiensis*, *P. sanctae-crucis* y *Padina* sp. 1) ya que la información obtenida en este trabajo no permitió resolver su situación taxonómica. Del mismo modo, *Padina gymnospora* requiere de un estudio más detallado a fin de aclarar el estatus taxonómico de los dos clados en los que se recupera esta especie. Debido a que los resultados obtenidos apoyan la distinción taxonómica a nivel de especie de "*P. ramonribae*", se recomienda su publicación válida a fin de que sea reconocida. Este estudio apoya la sinonimia de *Padina caulescens* y *P. conrescens* como *P. durvillei*, tal y como lo propuso Avila-Ortíz (2002). Para el ejemplar de *Padina* aff. *durvillei* (FEZA 1774) de "La Saladita", Guerrero, se recomienda realizar un estudio morfológico e incluir más individuos afines para esclarecer su estatus taxonómico, ya sea como perteneciente a *P. durvillei* o a una especie distinta.

11. Literatura citada

Abbott I.A. y J.M. Huisman. (2003). New species, observations, and a list of new records of Brown algae (Phaeophyceae) from the Hawaiian Island. *Phycological Research* 51: 173-185.

Akaike H. (1974). A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control* 19: 716-723.

Allender, B.M. y G.T., Kraft. (1983). The marine algae of Lord Howe Island (New South Wales): the Dictyotales and Cutleriales (Phaeophyta). *Brunonia* 6:73-130.

Avila-Ortiz. A. (2002). Estudio taxonómico del género *Padina* Adanson, (Dictyotaceae Phaeophyceae) en las costas del pacífico tropical mexicano. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, UNAM. México. 125 pp.

Avila-Ortiz. A. (2003). Una variedad nueva de *Padina mexicana* (Dictyotaceae) para el Pacífico tropical Mexicano. *Hidrobiológica* 13: 69-74.

Avila-Ortiz, A. y F.F. Pedroche. (2005). El género *Padina* (Dictyotaceae, Phaeophyceae) en la región tropical del Pacífico mexicano. En: Senties, A. y K.M Dreckman (Eds.) *Monografías Ficológicas*. Vol. 2. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México. pp. 139-171.

Avila-Ortiz, A., L.E., Mateo-Cid, y A.C., Mendoza-González. (2011). Caracterización morfológica de *Padina boergesenii* (Dictyotaceae, Phaeophyceae) en la costa mexicana del Golfo de México y Mar Caribe. *Polibotánica* 31:75-94.

Avise, J. C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall. New York. 684 pp.

Bittner L., C.E., Payri, A. Couloux, C. Cruaud, B. de Reviers y F. Rousseau. (2008). Molecular phylogeny of the Dictyotales and their position within the Phaeophyceae, based on nuclear, plastid and mitochondrial DNA sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49: 211-226.

Bold H. C. y M. J. Wynne. (1985). Introduction to the Algae. Structure and reproduction. 2a ed. Prentice-Hall. New Jersey. 720 pp.

Børgesen, F. (1914). The marine algae of the Danish West Indies. Part 2. Phaeophyceae. *Dansk Botanisk Arkiv* 2(2): 68.

Bory de Saint-Vincent, J.B.G.M. (1827). Padine. En: *Dictionnaire Classique d'Histoire Naturelle*. (Eds) 12: 589-591.

Bowler C. y A. E. Allen. (2007). The contribution of genomics to the understanding of algal evolution. En Brodie J. y J. Lewis (Eds.) *Unravelling the algae: Past, present, and future of algal systematics*. Taylor & Francis, Inc. Pp. 331-340

Crisp M. D. y G. T. Chandler. (1996). Paraphyletic species. *Telopea* 6: 813-844.

Dawson, E.Y. (1944). The marine algae of the Gulf of California. Allan Hancock Pacific Expeditions 3: i-v +189-432.

De Clerck, O., F. Leliaert, H. Verbruggen, C.E. Lane, J.C. de Paula, D. I. Payo y E. Coppejans. (2006). A revised classification of the Dictyoteae (Dictyotales, Phaeophyceae) based on rbcL and 26S ribosomal DNA sequence analyses. *Journal of Phycology* 42: 1271-1288.

De Queiroz, K. (2005). Different species problems and their resolution. *BioEssays* 27: 1263-1269.

De Queiroz, K. (2007). Species Concepts and Species Delimitation. *Systematic Biology* 56: 879-886.

Díaz-Martínez, S. (2008). Estudio morfométrico y genético-molecular de *Padina gymnospora* (Kützinger) Sonder. Tesis de Licenciatura. FES- Zaragoza, UNAM. México. 48 pp.

Doyle J.J. y J. L. Doyle. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*. 19: 11-15.

-
- Dreckmann K. M. (1998). Clasificación y Nomenclatura de las Macroalgas Marinas Bentónicas del Atlántico Mexicano. CONABIO. México D.F. 140 pp.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- Fitch, W. M. (1971). Toward defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology. *Systematic Zoology*. 20: 406-416.
- Gaillard J. (1975). *Padina sanctae-crucis* Boergesen, *Padina japonica* Yamada, *Padina haitiensis* Thivy et leurs affinités. *Botaniste* 57: 85-103.
- García U. (2007). Análisis de caracteres morfológicos de las especies del genero *Padina* Adanson, distribuidas en el Golfo de México. Tesis de Licenciatura. FES-Zaragoza, UNAM. México. 69 pp.
- Geraldino P.J.L., L. M. Liao y S. M. Boo. (2005). Morphological study of the marine algal Genus *Padina* (Dictyotales, Phaeophyceae) from southern Philippines: 3 species new to Philippines. *Algae* 20: 99-112.
- González González, J., M. Gold Morgan, H. Leon Tejera, C. Candelaria, D. León Álvarez, E. Serviere Zaragoza y D. Fragoso. (1996). Catálogo onomástico (nomenclator) y bibliografía indexada de las algas bentónicas marinas de México. Instituto de Biología, UNAM. 492 pp.
- Guiry, M.D. y G.M. Guiry. (2011). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>
- Hebert, P.D.N., A., Cywinska, S. Ball, y J.R.de Waard, (2003a). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B* 270: 313-322.
- Hebert, P.D.N., S. Ratnasingham. y J.R. de Waard. (2003b). Barcoding animal life; cytochrome *c* oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London B* 270 (Suplemento), 1-4.
- Holder, M y P. O. Lewis. (2003). Phylogeny estimation: traditional and Bayesian approaches. *Nature Reviews Genetics*. 4: 275-284-

-
- Hoshina, R., K. Hasegawa, J. Tanaka y Y. Hara. (2004). Molecular phylogeny of the Dictyotaceae (Phaeophyceae) with emphasis on their morphology and its taxonomic implication. *Japanese Journal of Phycology* (Suplemento) 52: 189-194.
- Huelsenbeck J.P. y F. Ronquist. (2001). MrBayes: Bayesian inference of Phylogeny. *Bioinformatics* 17: 754-775.
- Hwang I.K., H.S. Kim y W. J. Lee. (2005). Polymorphism in the brown alga *Dictyota dichotoma* (Dictyotales, Phaeophyceae) from Korea. *Marine Biology*. 147: 999-1015.
- Knowles L.L. y B. C. Carstens (2007). Delimiting species without monophyletic gene trees. *Systematic Biology*. 56: 400-411.
- Kraft, G. T., G. W Saunders, I. A. Abbott y R. J. Haroun. (2004). A uniquely calcified brown alga from Hawaii: *Newhousia imbricata* gen. et sp. nov. (Dictyotales, Phaeophyceae). *Journal of Phycology* 40: 383-94.
- Kucera, H. y G.W. Saunders. (2008). Assigning morphological variants of *Fucus* (Fucales, Phaeophyceae) in Canadian waters to recognized species using DNA barcoding. *Botany* 86:1065-1079.
- Kützing, F. T. (1859). 'Tabulae Phycologicae.' Vol. 9. (Nordhausen.)
- Lane, C. E., S. C. Lindstrom y G. W. Saunders (2007). A molecular assessment of northeast Pacific *Alaria* species (Laminariales, Phaeophyceae) with reference to the utility of DNA barcoding. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 44: 634-648.
- Lee, W. J., y K. S. Bae. (2002). Phylogenetic relationship among several genera of Dictyotaceae (Dictyotales, Phaeophyceae) based on 18S rRNA and partial *rbcl* gene sequences. *Marine Biology* 140: 1107-1115.
- Lewis, S. M., J. N. Norris y R. B. Searles. (1987). The Regulation of Morphological Plasticity in Tropical Reef Algae by Herbivory. *Ecology* 68: 636-641.
- Littler, D.S. & M.M. Littler. (2000). Caribbean reef plants. An identification guide to the reef plants of the Caribbean, Bahamas, Florida and Gulf of Mexico. Washington: Offshore Graphics. 542 pp.

Mateo-Cid L.E., A.C. Mendoza-Gonzales, L. Huerta-Muzquiz, R. Aguilar-Rosas y L.E. Aguilar-Rosas. (2000). La familia Dictyotaceae (Dictyotales, Phaeophyta) en la Península de Baja California, México. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Mexico*.

Mayden R.L. (1997). A hierarchy of species concepts: the denouement in the saga of the species problem. En: Claridge M.F., Dawah H.A., Wilson M.R. (Eds.) *Species: The units of Biodiversity*. London: Chapman and Hall. pp 381-424.

McDevit, D. C. y G. W. Saunders. (2009). On the utility of DNA barcoding for species differentiation among brown macroalgae (Phaeophyceae) including a novel extraction protocol. *Phycological Research*. 57: 131–141.

Mishler B. D. y E. C. Theriot. (2000). The Phylogenetic Species Concept: Monophyly, apomorphy, and phylogenetic species concepts. En: Wheeler y Meier (Eds.) *Species Concepts and Phylogenetic Theory, A debate*. Columbia University Press. New York. pp 44-54.

Morden, C. W. y A. R. Sherwood. (2002). Continued evolutionary surprises among dinoflagellates. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 99:11558–11560.

Nichols, R. (2001). Gene trees and species trees are not the same. *Trends in Ecology & Evolution* 16: 358-364.

Ni-Ni-Win, T. Hanyuda, S. Arai, M. Uchimura, A. Prathep, G. A. S. Draisma, Soe-Htun y H. Kawai. (2010). Four new species of *Padina* (Dictyotales, Phaeophyceae) from the western Pacific Ocean, and reinstatement of *Padina japonica*. *Phycologia* 49: 136-153.

Ni-Ni-Win, T. Hanyuda, S. Arai, M. Uchimura, I.A. Abbott y H. Kawai (2008). Three new records of *Padina* in Japan based in morphological and molecular markers. *Phycological Research* 56: 288-300.

Norris, J.N. (2010). Marine algae of the Northern Gulf of California: Chlorophyta and Phaeophyceae. *Smithsonian Contributions to Botany* 94: i-x, 1-276.

Ortega M., J. L. Godínez y G. Garduño. (2001). Catálogo de algas bénticas de las costas mexicanas del Golfo de México y Mar Caribe. Cuadernos 34. Instituto de Biología. UNAM. México D.F. 594 pp.

Page, R. D. M. y E. C. Holmes. (1998). Molecular evolution: A phylogenetic approach. Wiley-Blackwel. USA. 352 pp.

Pedroche, F. F. y A. Sentíes G. (2003). Ficología marina mexicana. Diversidad y Problemática actual. *Hidrobiológica* 13: 23-32.

Pedroche, P.F., P.C. Silva, L.E. Aguilar-Rosas, K.M. Dreckmann, y R. Aguilar-Rosas (2008). Catálogo de las algas bentónicas del Pacífico de México II. Phaeophycota. Universidad Autónoma Metropolitana, Universidad Autónoma de Baja California y University of California, Berkeley. México. 146 pp.

Piccone, A. (1886). Alge del viaggio di circumnavigazione della Vettor Pisani. : *Tipografia del Reale Istituto Sordo-Muti*. pp. [1]-97.

Posada, D. y K. A. Crandall. (1998). Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-818.

Robba L., S.J. Russel, G.L. Barker y J. Brodie (2006). Assesing the use of the mitochondrial *cox1* marker for use in DNA barcoding of red algae (Rhodophyta). *American Journal of Botany*. 93:1101-1108.

Saunders, G.W. (2005) Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 360: 1879-1888

Silberfeld T., J.W. Leigh, H. Verbruggen, C. Cruaud, B. de Reviers, y F. Rousseau. (2010). A multi-locus time-calibrated phylogeny of the brown algae (Heterokonta, Ochrophyta, Phaeophyceae): Investigating the evolutionary nature of the “brown algal crown radiation”. *Molecular phylogenetics and Evolution* 56: 659-674.

Sites Jr J. W. y J. C. Marshall. (2003). Delimiting species: a Renaissance issue in systematic biology. *Trends in Ecology and Evolution*. 18: 462-470.

Sites Jr J. W. y J. C. Marshall. (2004). Operational Criteria for Delimiting Species. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 35: 199-227.

Sonder, O.G. (1871). Die Algen des tropischen Australiens. *Abhandlungen aus dem Gebiete der Naturwissenschaften herausgegeben von dem Naturwissenschaftlichen Verein in Hamburg* 5: 33-74.

Swofford , D. L. (2003). PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), version 4.0b. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA.

Taylor, W.R. (1945). Pacific marine algae of the Allan Hancock Expeditions to the Galapagos Islands. *Allan Hancock Pacific Expeditions* 12: iv + 528.

Taylor, W.R. (1960). Marine algae of the eastern tropical and subtropical coasts of the Americas. The University of Michigan Press. Ann Arbor, Michigan. xi + 870 pp.

Weins J.J. (1998) Combining data sets with different phylogenetic histories. *Systematic Biology* 47: 568-581.

Wiens J.J. y T. A. Penkrot. (2002). Delimiting species using DNA and morphological variation and discordant species limits in spiny lizards (Sceloporus). *Systematic Biology* 51: 69-91.

Willmann, R. y R. Meier. (2000). A critique from the Hennigian species concept perspective. En: Wheeler y Meier (Eds.) *Species Concepts and Phylogenetic Theory, A debate*. Columbia University Press. New York. Pp 101-118.

Wynne M.J. y O. De Clerck (1999). First reports of *Padina antillarum* and *P. glabra* (Phaeophyta-Dityotaceae) from florida, with a Key to the Western Atlantic Species of the Genus. *Caribbean Journal of Science* 35: 286-295.

Yamada, Y. (1931). Notes on some Japanese algae II. *Journal of the Faculty of Science, Hokkaido Imperial University Ser.* 5: 65-76.

Yoon H. S., J. D. Hackett y D. Bhattacharya. (2002). A single origin of the peridinin- and fucoxanthin-containing plastids in dinoflagellates through tertiary endosymbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 99:11724-11729.

Anexo 1. Ejemplares incluidos en el estudio. El número de la matriz de datos corresponde a 1) *psbA*, 2) COI y 3) *psbA*+COI

Especie	Voucher	Referencia <i>psbA</i>	GenBank COI	Localidad	Matriz De datos
<i>P. antillarum</i>	UAMI 1015			Altamira, Tamaulipas, México.	1, 3
	FEZA 825			Puerto Real, Campeche, México.	1, 2, 3
	FEZA 1743			Puerto Real, Campeche, México.	1, 3
	FEZA 827			Sabancuy, Campeche, México.	1, 3
	FEZA 758			Sabancuy, Campeche, México.	1, 2, 3
	FEZA 708			Sabancuy, Campeche, México.	1, 3
	FEZA 1744			Sabancuy, Campeche, México.	1, 2, 3
<i>P. boergesenii</i>	FEZA 928			Villa Rica, Veracruz, México.	1, 3
	FEZA 1745			Villa Rica, Veracruz, México.	1, 3
	FEZA 1746			Playa Hermosa, Veracruz, México.	1, 2, 3
	FEZA 1747			Montepío, Veracruz, México.	1, 3
	FEZA 1748			Puerto Real, Campeche, México.	1, 2, 3
	FEZA 1749			Puerto Real, Campeche, México.	1, 3
	FEZA 1750			Puerto Real, Campeche, México.	1, 3
	FEZA 1227			Puerto Real, Campeche, México.	1, 3
	FEZA 929			Sabancuy, Campeche, México.	1, 3
	FEZA 1752			Sabancuy, Campeche, México.	1, 3
<i>P. gymnospora</i>	FEZA 1741			Lechuguillas, Veracruz, México.	1, 2, 3
	FEZA 840			Muñecos, Veracruz, México.	1, 3
	FEZA 841			Muñecos, Veracruz, México.	1, 3
	FEZA 735			Villa Rica, Veracruz, México.	1, 3
	FEZA 776			Villa Rica, Veracruz, México.	1, 2, 3
	FEZA 773			Villa Rica, Veracruz, México.	1, 3
	FEZA 774			Villa Rica, Veracruz, México.	1, 3
	FEZA 829			Penacho de Indio, Veracruz, México.	1, 2, 3
	FEZA 951			Penacho de Indio, Veracruz, México.	1, 3
	FEZA 1220			Puntillas, Veracruz, México.	1, 2, 3

	FEZA 836	Puerto Real, Campeche, México.	1, 3
	FEZA 824	Puerto Real, Campeche, México.	1, 3
	FEZA 843	Sabancuy, Campeche, México.	1, 2, 3
	FEZA 837	Sabancuy, Campeche, México.	1, 2, 3
	FEZA 736	Punta Xen, Campeche, México.	1, 3
	FEZA 839	Playa Bonita, Campeche, México.	1, 3
	FEZA 838	San Crisanto, Yucatán, México.	1, 3
	FEZA 1742	San Crisanto, Yucatán, México.	1, 2, 3
	FEZA 826	San Crisanto, Yucatán, México.	1, 3
	FEZA 835	Punta Esmeralda, Quintana Roo, México.	1, 3
	FEZA 830	Punta Esmeralda, Quintana Roo, México.	1, 3
	FEZA 831	Punta Esmeralda, Quintana Roo, México.	1, 3
	FEZA 828	Punta Esmeralda, Quintana Roo, México.	1, 3
	FEZA 842	Punta Piedra, Quintana Roo, México.	1, 3
	FEZA 832	Punta Piedra, Quintana Roo, México.	1, 3
	FEZA 834	Mahahual, Quintana Roo, México.	1, 2, 3
	FEZA 833	Mahahual, Quintana Roo, México.	1, 2, 3
<i>P. haitiensis</i>	FEZA 1759	Akumal, Quintana Roo, México.	1, 2, 3
<i>P. sanctae-crucis</i>	FEZA 1223	Balzapote, Veracruz, México.	1, 3
	FEZA 1753	Balzapote, Veracruz, México.	1, 3
	FEZA 1754	Playa Bonita, Campeche, México.	1, 3
	FEZA 1755	Playa Bonita, Campeche, México.	1, 3
	FEZA 1224	Campeche, Campeche, México.	1, 2, 3
	FEZA 1756	Punta Esmeralda, Quintana Roo, México.	1, 3
	FEZA 1757	Tulum, Quintana Roo, México.	1, 3
	FEZA 1222	Punta Piedra, Quintana Roo, México.	1, 3
	FEZA 1758	Akumal, Quintana Roo, México.	1, 3
	FEZA 1221	Mahahual, Quintana Roo, México.	1, 3
<i>P. sp 1</i>	FEZA 1760	Puntillas, Veracruz, México.	1, 3
	FEZA 1226	Puntillas, Veracruz, México.	1, 3
	FEZA 1225	Punta Piedra, Quintana Roo, México.	1, 3

<i>P. caulescens</i>	ENCB AGAO33	El Zapote, Michoacán, México.	1, 2, 3
<i>P. conrescens</i>	FEZA 1776	San Agustín, Oaxaca, México.	1, 2, 3
	FEZA 1777	La Entrega, Oaxaca, México.	1, 2, 3
<i>P. crispata</i>	FEZA 1790	Las Peñas, Michoacán, México.	1, 2, 3
	AGAO 39	Las Peñas, Michoacán, México.	1, 2, 3
	FEZA 1791	Las Peñas, Michoacán, México.	1, 2, 3
	FEZA 1792	Los Troncones, Guerrero, México.	1, 2, 3
	AGAO 18	La Barrita, Guerrero, México.	1, 2, 3
	FEZA 1793	Puerto Escondido, Oaxaca, México.	1, 3
<i>P. aff crispata</i>	FEZA 1794	Las Peñas, Michoacán, México.	1, 2, 3
	FEZA 1795	Los Troncones, Guerrero, México.	1, 2, 3
<i>P. durvillei</i>	ENCB AGAO 15	Lo de Marcos, Nayarit, México	1, 2, 3
	ENCB AGAO 8	El Zapote, Michoacán, México.	1, 2, 3
	FEZA 98	Las Peñas, Michoacán, México.	1, 3
	AGAO 42	Las Peñas, Michoacán, México.	1, 3
	AGAO 43	Las Peñas, Michoacán, México.	1, 2, 3
	FEZA 1769	Las Peñas, Michoacán, México.	1, 2, 3
	FEZA 1770	La Saladita, Guerrero, México	1, 2, 3
	FEZA 1771	La Saladita, Guerrero, México	1, 2, 3
	FEZA 1772	Los Troncones, Guerrero, México.	1, 2, 3
	FEZA 1773	La Barrita, Guerrero, México.	1, 2, 3
<i>P. aff. durvillei</i>	FEZA 1774	La Saladita, Guerrero, México	1, 3
	FEZA 1775	La Madera, Guerrero, México	1, 2, 3
<i>P. mexicana var. mexicana</i>	FEZA 1761	La Madera, Guerrero, México	1, 2, 3
	FEZA 1762	La Madera, Guerrero, México	1, 2, 3
<i>P. mexicana var. erecta</i>	ENCB AGAO 29	Lo de Marcos, Nayarit, México	1, 2, 3
	ENCB AGAO 34	El Zapote, Michoacán, México.	1, 2, 3
	FEZA 1763	Las Peñas, Michoacán, México.	1, 2, 3
	FEZA 1764	La Barrita, Guerrero, México.	1, 2, 3
	FEZA 1765	La Barrita, Guerrero, México.	1, 2, 3
	FEZA 1766	La Barrita, Guerrero, México.	1, 2, 3

	FEZA 1767	Cayaquitos, Guerrero, México	1, 2, 3
	FEZA 1768	La Entrega, Oaxaca, México.	1, 2, 3
<i>P. ramonribae</i>	ENCB AGAO 45	Mahahuita, Michoacán, México.	1, 2, 3
	FEZA 1778	La Saladita, Guerrero, México	1, 2, 3
	ENCB AGAO 7	Los Troncones, Guerrero, México.	1, 3
	FEZA 1779	La Madera, Guerrero, México	1, 2, 3
	ENCB AGAO17	La Barrita, Guerrero, México.	1, 2, 3
	FEZA 1780	Cayaquitos, Guerrero, México	1, 2, 3
	FEZA 1781	Cayaquitos, Guerrero, México	1, 2, 3
	FEZA 1782	Cayaquitos, Guerrero, México	1, 3
	FEZA 1783	Puerto Escondido, Oaxaca, México.	1, 2, 3
	FEZA 1784	Puerto Escondido, Oaxaca, México.	1, 3
	FEZA 1785	Santa Elena, Oaxaca, México.	1, 2, 3
	FEZA 1786	Santa Elena, Oaxaca, México.	1, 2, 3
	FEZA 1787	Puerto Ángel, Oaxaca, México.	1, 2, 3
	FEZA 1788	La Colorada, Oaxaca, México.	1, 3
	FEZA 1789	Playa Azul, Oaxaca, México.	1, 2, 3
<i>P. sp 2</i>	ENCB AGAO 1	Mahahuita, Michoacán, México.	1, 3

Secuencias de *Padina* descargadas de GenBank y generadas a partir de material extranjero

<i>P. crassa 1</i>	AY422643	Isla Ishigaki, Japón.	1, 3
<i>P. crassa 2</i>	AY430359	Seongsan, Corea del Sur.	1, 3
<i>P. crassa 3</i>	AY430358	Guryoungpo, Corea del Sur.	1, 3
<i>P. japonica</i>	AY430360	Gyokpo, Corea del Sur.	1, 3
<i>P. arborescens</i>	AY430357	Jukbyun, Corea del Sur.	1, 3
<i>P. pavonica</i>	EU681649	Île des Embiez, Francia.	1, 3
<i>P. gymnospora</i>	Ext 92	Ilha Grande, Brasil.	1, 2, 3
<i>P. gymnospora</i>	EU579871	Arrecife Ricaudy, Noumea, Nueva Caledonia.	2,

Grupo Externo

<i>Lobophora</i> sp		DQ866942	-	Kenting, Wanlitung, Kaisung, Taiwan.	1, 3
<i>Lobophora variegata</i>	FEZA 1796			Muñecos, Veracruz, México.	1, 2, 3
<i>Lobophora variegata</i>	FEZA 1797			Muñecos, Veracruz, México.	1, 2, 3
<i>Lobophora variegata</i>	FEZA 1798			Muñecos, Veracruz, México.	1, 3
<i>Lobophora variegata</i>		DQ866944	-	Sea View, Australia.	1, 3
<i>Dictyota dichotoma</i>		AY422615		Anin, Corea del Sur.	1, 3
<i>Dictyota dichotoma</i> var. <i>linearis</i>		AY422631		Gyokpo, Corea del Sur.	1, 3
<i>Dictyota</i> sp.	FEZA 1799			Punta Esmeralda, Quintana Roo, México.	1, 3
<i>Zonaria crenata</i>		DQ866955		Nora Creina Bay, Australia.	1, 3
<i>Zonaria diesingiana</i>		AY528843		Ishigaki Island, Okinawa, Japan.	1, 3
<i>Stypopodium</i> sp.	FEZA 1800			Akumal, Quintana Roo, México.	2
<i>Dictyopteris divaricata</i>		AY422638		Anin, Corea del Sur.	1, 3
<i>Dictyopteris Prolifera</i>		AY528440		Hachuja, Corea del Sur.	1, 3
<i>Spatoglossum crassum</i>		AY430355		Anin, Corea del Sur.	1, 3
<i>Dilophus okamuræ</i>		AY422635		Daebyoungmaedo, Corea del Sur	1, 3
<i>Canistrocarpus crispatus</i>			GQ425137	----	2
<i>Dictyota dichotoma</i>			GQ425131	----	2
<i>Dictyota bartayresiana</i>			GQ425129	----	2
<i>Dictyota ciliolata</i>			GQ425124	----	2
<i>Rugulopteryx okamuræ</i>			GQ425120	----	2
<i>Dictyopteris polypodioides</i>			EU681404	----	2

Anexo 2 Distancias genéticas del gen *psbA* entre las distintas morfoespecies y ejemplares. %de divergencia (distancia total)

	<i>P. antillarum</i>	<i>P. boergesenii</i>	<i>P. caulescens</i>	<i>P. conrescens</i>	<i>P. crispata</i>	<i>P. durvillei</i>	<i>P. aff durvillei</i> (FEZA 1774)	<i>P. gymnospora</i> (Clado E)	<i>P. gymnospora</i> (Clado F)	<i>P. gymnospora</i> Brasil
<i>P. antillarum</i>	/									
<i>P. boergesenii</i>	2.7-2.9 (26-28)	0.0-0.2 (0-2)								
<i>P. caulescens</i>	2.9 (28)	2.7-2.8 (26-27)	/							
<i>P. conrescens</i>	2.9 (28)	2.7-2.8 (26-27)	0 (0)	0 (0)						
<i>P. crispata</i>	3.2-3.3 (31-32)	3.0-3.2 (29-31)	2.6-2.7 (25-26)	2.6-2.7 (25-26)	0-0.2 (0-2)					
<i>P. durvillei</i>	2.9-3.2 (28-30)	2.7-3.0 (26-29)	0.0-0.2 (0-2)	0.0-0.2 (0-2)	2.6-2.9 (25-28)	0.0-0.3 (0-3)				
<i>P. aff durvillei</i> (FEZA 1774)	3.4 (33)	3.7 (35-36)	1.4 (13)	1.4 (13)	2.7-2.8 (26-27)	1.2-1.5 (12-15)	/			
<i>P. gymnospora</i> (Clado E)	3.0 (29)	2.6-2.7 (25-26)	2.0 (19)	2.0 (19)	1.5 (14-15)	2.0-2.2 (19-21)	2.3 (22)	0 (0)		
<i>P. gymnospora</i> (Clado F)	2.9-3.0 (28-29)	2.4-2.6 (24-25)	1.8-1.9 (17-18)	1.8-1.9 (17-18)	1.5-1.7 (14-16)	1.8-2.1 (17-20)	1.9-2.0 (18-19)	0.8-0.9 (8-9)	0.0-0.1 (0-1)	
<i>P. gymnospora</i> Brasil	3.3 (32)	2.7 (26)	2.2 (21)	2.2 (21)	1.9-2.0 (18-19)	2.2-2.3 (21-23)	2.3 (22)	1.3 (12)	0.3-0.4 (3-4)	/
<i>P. haitiensis</i>	2.9 (28)	2.1-2.3 (20-22)	2.11 (20)	2.11 (20)	2.8-2.9 (27-28)	2.1-2.3 (20-22)	2.8 (27)	2.2 (21)	2.3-2.4 (22-23)	2.7 (26)
<i>P. mexicana</i> var. <i>erecta</i>	3.0 (29)	2.6-2.7 (25-26)	1.8 (17)	1.8 (17)	1.5-1.6 (14-15)	1.8-2.0 (17-19)	2.1 (20)	1.0 (10)	0.8-0.9 (8-9)	1.3 (12)
<i>P. mexicana</i> var. <i>mexicana</i>	3.1 (29)	2.6-2.7 (25-26)	1.8 (17)	1.8 (17)	1.5-1.6 (14-15)	1.8-2.0 (17-19)	2.1 (20)	1.0 (10)	0.8-0.9 (8-9)	1.3 (12)
" <i>P. ramonribae</i> "	3.4-3.5 (32-33)	3.0-3.3 (29-31)	1.7-1.8 (16-17)	1.7-1.8 (16-17)	2.3-2.4 (22-23)	1.7-2.0 (17-19)	2.0-2.1 (19-20)	1.6-1.7 (15-16)	1.8-2.0 (17-19)	2.2-2.3 (21-22)
<i>P. sanctae crucis</i>	3.0 (29)	2.2-2.4 (21-23)	2.2 (21)	2.2 (21)	2.9-3.0 (28-29)	2.2-2.4 (21-23)	2.9 (28)	2.3 (22)	2.4-2.5 (23-24)	2.8 (27)
<i>Padina</i> sp. 1 (FEZA 1226, 1760)	3.0 (29)	2.2-2.4 (21-23)	2.2 (21)	2.2 (21)	2.9-3.0 (28-29)	2.2-2.4 (21-23)	2.9 (28)	2.3 (22)	2.4-2.5 (23-24)	2.8 (27)
<i>Padina</i> sp. 1 (FEZA 1225)	3.0 (29)	2.2-2.4 (21-23)	2.2 (21)	2.2 (21)	2.9-3.0 (28-29)	2.2-2.4 (21-23)	2.9 (28)	2.3 (22)	2.4-2.5 (23-24)	2.8 (27)
<i>Padina</i> sp.2 (AGAO 1 ENCB)	3.5 (33)	3.2-3.4 (31-33)	2.8 (27)	2.8 (27)	0.2-0.3 (2-3)	2.8-3.0 (27-29)	2.7 (26)	1.7 (16)	1.8-1.9 (17-18)	2.2 (21)

Anexo 2. Distancias genéticas del gen *psbA* entre las distintas morfoespecies y ejemplares. Continuación.

	<i>P. haitiensis</i>	<i>P. mexicana</i> var. <i>erecta</i>	<i>P. mexicana</i> var. <i>mexicana</i>	" <i>P.</i> <i>ramonribae</i> "	<i>P.</i> <i>sanctae-</i> <i>crucis</i>	<i>Padina</i> sp. 1 (FEZA 1226, 1760)	<i>Padina</i> sp. 1 (FEZA 1225)	<i>Padina</i> sp.2 (AGAO 1 ENCB)
<i>P. haitiensis</i>	/							
<i>P. mexicana</i> var. <i>erecta</i>	2.2 (21)	0 (0)						
<i>P. mexicana</i> var. <i>mexicana</i>	2.2 (21)	0 (0)	0 (0)					
" <i>P. ramonribae</i> "	2.2-2.3 (21-22)	1.6-1.7 (15-16)	1.6-1.7 (15-16)	0.1 (1)				
<i>P.</i> <i>sanctae-crucis</i>	0.1 (1)	2.3 (22)	2.3 (22)	2.3-2.4 (22-23)	0.0-0.2 (0-2)			
<i>Padina</i> sp. 1 (FEZA 1226, 1760)	0.1 (1)	2.3 (22)	2.3 (22)	2.3-2.4 (22-23)	0.0-0.2 (0-2)	0 (0)		
<i>Padina</i> sp. 1 (FEZA 1225)	0.1 (1)	2.3 (22)	2.3 (22)	2.3-2.4 (22-23)	0.0-0.2 (0-2)	0.2 (2)	/	
<i>Padina</i> sp.2 (AGAO 1 ENCB)	3.0 (29)	1.7 (16)	1.7 (16)	2.4-2.5 (23-24)	3.1 (30)	3.1 (30)	3.1 (30)	/

**Anexo 3. Distancias genéticas del gen COI entre las distintas morfoespecies y ejemplares.
%de divergencia (distancia total)**

	<i>P. antillarum</i>	<i>P. boergesenii</i>	<i>P. caulescens</i>	<i>P. conrescens</i>	<i>P. crispata</i>	<i>P. durvillei</i>
<i>P. antillarum</i>	/					
<i>P. boergesenii</i>	20.9-23.0 (137-152)	17.9 (117)				
<i>P. caulescens</i>	14.8 (98)	19.3 (127-129)	/			
<i>P. conrescens</i>	14.8 (98)	19.3 (127-129)	0.1 (1)	0 (0)		
<i>P. crispata</i>	16.4-16.7 (109-111)	19.5-22.2 (128-147)	12.3-12.8 (82-85)	12.5-12.9 (83-86)	0.1-2.2 (1-15)	
<i>P. durvillei</i>	14.6-14.9 (96-99)	19.1-19.6 (125-130)	0.6-1.2 (1-8)	0.4-1.3 (2-9)	12.0-12.9 (79-86)	0.0-1.6 (0-11)
<i>P. gymnospora</i> (Clado E)	18.3 (120)	19.3-20.6 (127-135)	12.8 (84)	12.9 (85)	13.8-14.3 (91-94)	12.4-13.1 (82-86)
<i>P. gymnospora</i> (Clado F)	17.6-18.3 (106-115)	18.1-20.7 (105-135)	10.1-10.6 (62-66)	10.2-10.8 (63-67)	11.9-12.7 (73-80)	9.7-11.0 (60-68)
<i>P. gymnospora</i> Brasil	17.5 (112)	19.3-21.2 (124-136)	10.4 (67)	10.6 (68)	12.5-12.8 (80-82)	10.0-10.7 (64-69)
<i>P. haitiensis</i>	20.5 (133)	15.7 (102)	18.2 (118)	18.2 (118)	19.1-19.4 (124-126)	18.0-18.5 (117-119)
<i>P. mexicana</i> var. <i>erecta</i>	17.3-17.5 (105-115)	19.9-21.8 (119-144)	11.6-12.0 (72-77)	11.7-12.1 (73-78)	13.8-14.1 (87-94)	11.1-12.3 (69-79)
<i>P. mexicana</i> var. <i>mexicana</i>	17.4 (116)	20.0-21.8 (131-144)	11.4 (76)	11.6 (77)	14.0-14.3 (93-95)	11.3-11.9 (75-78)
" <i>P. ramonribae</i> "	18.2-18.6 (121-122)	19.8-20.4 (130-135)	11.3-11.4 (74-76)	11.4-11.6 (75-77)	11.1-11.6 (73-76)	10.8-11.7 (72-78)
<i>P. sanctae-crucis</i>	25.6 (151)	22.5-23.2 (133-136)	23.5 (139)	23.3 (138)	23.1-23.5 (137-140)	23.1-23.5 (137-140)

Anexo 3. Distancias genéticas del gen COI entre las distintas morfoespecies y ejemplares. Continuación.

	<i>P.</i> <i>gymnospora</i> (Clado E)	<i>P.</i> <i>gymnospora</i> (Clado F)	<i>P.</i> <i>gymnospora</i> Brasil	<i>P. haitiensis</i>	<i>P. mexicana</i> var. <i>erecta</i>	<i>P. mexicana</i> var. <i>mexicana</i>	" <i>P.</i> <i>ramonribae</i> "	<i>P. sanctae-</i> <i>crucis</i>
<i>P. gymnospora</i> (Clado E)	0 (0)							
<i>P. gymnospora</i> (Clado F)	7.4-7.8 (43-51)	0.0-2.3 (0-14)						
<i>P. gymnospora</i> Brasil	7.6 (49)	1.4-2.5 (9-15)	/					
<i>P. haitiensis</i>	18.7 (122)	18.5-19.1 (107-124)	18.4 (117)	/				
<i>P. mexicana</i> var. <i>erecta</i>	8.8 (53-58)	8.6-9.4 (50-60)	8.8-8.5 (52-55)	18.1-18.7 (112-118)	0.0-0.3 (0-2)			
<i>P. mexicana</i> var. <i>mexicana</i>	8.9 (59)	8.8-9.3 (51-61)	8.7 (56)	18.1 (118)	0.1-0.3 (1-2)	0 (0)		
" <i>P. ramonribae</i> "	11.7-11.9 (77-79)	11.0-11.5 (65-73)	11.4-11.5 (73-74)	19.2-19.5 (125-126)	12.4-12.8 (75-85)	12.5-12.8 (83-85)	0-0.3 (0-2)	
<i>P. sanctae-crucis</i>	24.3 (144)	22.8-23.8 (131-141)	23.2 (137)	19.6 (116)	23.7-24.2 (133-143)	24.2 (143)	22.9-23.1 (135-136)	/