



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

**El género *Dictyota* (Phaeophyceae: Dictyotales) en el Atlántico
mexicano: análisis molecular y morfológico.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

P R E S E N T A

M. EN C. JORGE GREGORIO LOZANO OROZCO

DIRECTOR:

Dr. Abel Senties Granados

ASESORES:

Dra. Jhoana Díaz Larrea

Dr. José Francisco Flores Pedroche

MÉXICO, CDMX.

MARZO, 2016.

**El Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma
Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACyT y
además cuenta con apoyo del mismo Consejo, con el convenio “PFP-20-93”.**

El jurado designado por las Divisiones de Ciencias Biológicas y de la Salud de las Unidades Cuajimalpa, Iztapalapa y Xochimilco aprobó la tesis que presentó:

M. en C. Jorge Gregorio Lozano Orozco

El día 30 de Marzo del año 2016.

Jurado:

Dr. Abel Sentíes Granados (Presidente)



Dra. Jhoana Díaz Larrea (Secretaria)



Dr. José Francisco Flores Pedroche (Vocal)



Dra. Alejandrina Graciela Ávila Ortiz (Vocal)



Dr. Kurt Martin Dreckmann Estay (Vocal)



A mi madre **Irma Orozco Escalona** y mi padre **José Tomás Lozano Cortés**

A mis hermanos **Celia, Yuli, Iraís, Enrique y Saíd**

Por ser el pilar de todo lo que soy en mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo a través del tiempo.

A mis **sobrinos**

Espero les sirva de ejemplo para que no claudiquen en los objetivos que tracen en sus vidas

A mi **Pok**



Gracias por apoyarme en todo momento y en este viaje llamado Doctorado

Agradecimientos

Al **Dr. Abel Senties**, que me abrió la puertas de su laboratorio, brindándome la oportunidad de realizar mis estudios de Doctorado y que a lo largo de este tiempo me ha apoyado para culminar este objetivo. Por todo esto y muchas cosas mas **GRACIAS.**

A la **Dra. Jhoana Díaz** que desde el inicio de mis estudios de Doctorado mi enseñó e impulso a llevar a buen termino esta meta.

Al **Dr. José Francisco F. Pedroche** que me orientó en todos mis tutorales para poder comprender y dirigir bien esta tesis.

A el **Dr. Olivier De Clerck** de la Universidad de Gent, Bélgica y al **Dr. Juan López Bautista** de la Universidad de Alabama, E.U.A., por permitirme realizar estancias en sus laboratorios y llevar a cabo parte de la investigación de este proyecto.

A mis **compañeros de laboratorio** que el tiempo que estuve ahí me hicieron pasar buenos momentos.

A la **UAM** que me dió la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado en su institución.

A los profesores de la **FESC, FESI, Facultad de Ciencias y Cinvestav** que me ayudaron en mi formación académica.

A todos mis amigos, de vida o trayectoria académica, que de una u otra manera estuvieron pendientes de que todas las cosas me salieran bien y me acompañaron

en lo largo de todo este proceso, gracias por compartir conmigo buenos y malos momentos y por ser parte complementaria de este logro.

A el **Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud UAM** y a el **Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología** (CONACyT; CVU 218084), por el apoyo para la realización de actividades académicas (Becas, congresos y estancias) relacionadas con el doctorado

		Pág.
	Resumen	1
	Abstract	3
	Introducción general	5
Capítulo 1	Filogenia de <i>Dictyota</i> en el Atlántico mexicano (Phaeophyceae). Evidencias con secuencias nucleotídicas del plasto y mitocondria	15
<i>Chapter 1</i>	<i>Dictyota phylogeny in the Mexican Atlantic (Phaeophyceae). Evidence from chloroplast and mitochondrial genes</i>	
Capítulo 2	Ocurrencia de <i>Dictyota canariensis</i> (Dictyotales: Phaeophyceae) en el Golfo de México	65
<i>Chapter 2</i>	<i>The occurrence of Dictyota canariensis (Dictyotales, Phaeophyceae) in the Gulf of Mexico</i>	
Capítulo 3	Dos nuevas especies del género <i>Dictyota</i> (Phaeophyceae: Dictyotales) en el Caribe mexicano	71
<i>Chapter 3</i>	<i>Two New Species of the Genus Dictyota (Phaeophyceae: Dictyotales) from the Mexican Caribbean</i>	
Capítulo 4	<i>Dictyota chalchihcuyecanensis</i> sp. nov. (Dictyotales; Phaeophyceae) en el Golfo de México: Evidencias moleculares y morfológicas	79
<i>Chapter 4</i>	<i>Dictyota chalchihcuyecanensis</i> sp nov. (Dictyotales; Phaeophyceae) in the Gulf of Mexico: Molecular y morphological evidence.	
	Conclusiones generales	99

Bibliografía	101
Anexos	113
Trabajos derivados de la Tesis Doctoral	129

El género *Dictyota* posee aproximadamente 78 especies descritas, distribuidas en una gran variedad de ambientes templados, subtropicales y tropicales. Como en la mayoría de las algas, la sistemática de *Dictyota* se ha construido principalmente bajo el enfoque del concepto morfológico de especie. Sin embargo, la alta plasticidad fenotípica que acompaña a las especies que conforman a éste género, por un lado dificulta el reconocimiento de características diagnósticas, por la sobreposición de caracteres, generando así la asignación de epítetos erróneos cuando se realiza el trabajo de identificación. Y por el otro, se hacen evidentes o se reconocen las especies crípticas. En México se han registrado 12 especies en el Atlántico mexicano. Cabe mencionar que estas especies se han determinado con trabajos que compilan solo registros o con obras en las cuales solo se realiza una breve descripción morfológica. En el presente trabajo se realizaron recolectas de especímenes de *Dictyota* en la zona intermareal, las cuales fueron hechas en 9 localidades del estado de Veracruz y 6 localidades del estado de Quintana Roo. Se obtuvieron 33 secuencias del gen *psbA* y 20 para el gen *cox1*, las cuales fueron incluidas en el análisis de filogenia molecular junto con secuencias de *Dictyota* procedentes del GenBank. Como resultado de estos análisis se evidenció la presencia de 12 entidades taxonómicas, complementadas con análisis morfológicos, de las cuales, seis tienen correspondencia con nombres válidos (*Canistrocarpus*

cervicornis, *D. ciliolata*, *D. guineensis*, *D. jamaicensis* *D. mertensii* y *D. pinnatifida*). Se reporta a *D. canariensis* como un nuevo registro para el Atlántico mexicano. Se describen 3 nuevas especies: *D. mayae*, *D. pedrochei* y *D. chalchihcuyecanensis*. Además se reportan dos nuevas entidades taxonómicas: *Dictyota* sp. 2 y *Dictyota* sp. 3, quedando pendiente su circunscripción. Del presente estudio se derivaron los primeros resultados que abordan al género *Dictyota* en el Atlántico mexicano con la intención de contribuir a la comprensión y conocimiento de su filogenia con evidencias moleculares y morfológicas.

Dictyota owns approximately 78 described species, distributed in a wide range of temperate, subtropical and tropical environments. As in most of the algae, the systematic of *Dictyota* is constructed mainly from the standpoint of morphological species concept. However, high phenotypic plasticity accompanying species that conform to this genus, difficult to recognize characteristics diagnostic for overlaying of characters, generating erroneous allocation epithets when the identification work is performed. In Mexico there have been 12 species in the Mexican Atlantic. It is noteworthy that these species have been determined only in compiling records or works in which only a brief morphological description is made. In this paper collecting *Dictyota* specimens were conducted in the intertidal zone, which were made in 9 localities in the state of Veracruz and 6 localities in the state of Quintana Roo. 33 *psbA* gene sequences and 20 for *cox1* gene were obtained, which were included in the analysis of molecular phylogeny together with *Dictyota* sequences from GenBank. As a result of these analyzes the presence of 12 taxa was evident, complemented by morphological analysis, of which six have correspondence with valid names (*Canistrocarpus cervicornis*, *D. ciliolata*, *D. guineensis*, *D. jamaicensis*, *D. mertensii* and *D. pinnatifida*). *D. canariensis* is reported as a new record for the Mexican Atlantic. 3 new species are described. *D. mayae*, *D. pedrochei* and *D. chalchihucueyecanensis*. In addition two new taxa are reported: *Dictyota* sp.2 and *Dictyota* sp.3, pending their circumscription. From this study we have the first results

that address to *Dictyota* genus in the Mexican Atlantic with the intention of contributing to the understanding and knowledge of their phylogeny with molecular and morphological evidence.

Las especies del género *Dictyota* son componentes comunes en floras marinas tropicales o templadas, y posee aproximadamente 78 especies legítimas (Guiry & Guiry, 2015) distribuidas en una gran variedad de ambientes templados, subtropicales y tropicales (Solé & Foldats, 2003; Tronholm *et al.*, 2010a-b). Las especies de este género, son un componente clave de muchos ecosistemas costeros ya que constituyen el refugio de varios copépodos, sirven de sustrato para el desarrollo de diversas algas epífitas que se fijan en la superficie de sus talos, y constituyen una fuente importante de alimento para pequeños organismos y peces. Tienen un eficiente sistema químico de defensa, el cual involucra a diferentes metabolitos secundarios y gases volátiles, y poseen además la capacidad de propagarse exitosamente por fragmentación (Tronholm *et al.*, 2010b). Recientemente se ha descubierto su potencial en la industria farmacéutica ya que son productores de diferentes diterpenos que presentan actividad antiviral *in vitro* (Vallim *et al.*, 2010). Desempeñan un papel importante en la estructura de comunidades bénticas, tanto en ecosistemas tropicales como templados.

En general, sus representantes se caracterizan por presentar un talo aplanado, en forma de cinta, erecto o postrado, con margen liso, dentado, crenulado o con cilios; adherido al sustrato por rizoides basales o marginales dispersos a lo largo de los

bordes del talo o restringidos a la base, disco de fijación o estolones presentes o ausentes; ramificación dicotómica, anisotómica o alterna, rara vez no ramificado; ápices obtusos, redondeados, apiculados o agudos; pelos feofíceos y proliferaciones superficiales presentes o ausentes. Talo diferenciado en corteza y médula, número variable de capas. Esporangios aislados, agrupados en soros o alrededor de un mechón de pelo central, que carecen de un involucro visible de células estériles, sostenidos por una célula. Anteridios soportados por una célula, dispuestos en soros, rodeados de capa hialina; paráfisis unicelulares. Oogonios sustentados por una célula, dispuestas en soros vegetativos y presencia de alternancia de fases reproductivas del tipo isomórfico (Figs. 1-3) (Lamouroux, 1809; Dawes, 1991; Horning *et al.*, 1992a-b; Nunes & De Paula, 2001; Solé & Foldats, 2003; De Clerck, 2003).

La combinación de caracteres morfológicos, anatómicos y reproductivos, tradicionalmente han sido usados para separar especies de este género y debido a la alta plasticidad fenotípica, entendida como la propiedad de un genotipo de producir más de un fenotipo para un organismo como respuesta a diferentes condiciones ambientales (Schilling & Pigliucci, 2004), y que es evidente entre los diferentes individuos que conforman a las especies de *Dictyota*, en últimos años Tronholm *et al.*, (2010a-b), han incorporado caracteres moleculares para reconocer especies. Desde esta perspectiva, la presente tesis abordó la taxonomía de *Dictyota* en el Atlántico Mexicano, basándose en caracteres moleculares y morfológicos para

crucuncscribir de manera más completa y detallada posible, a las especies existentes en esta región.

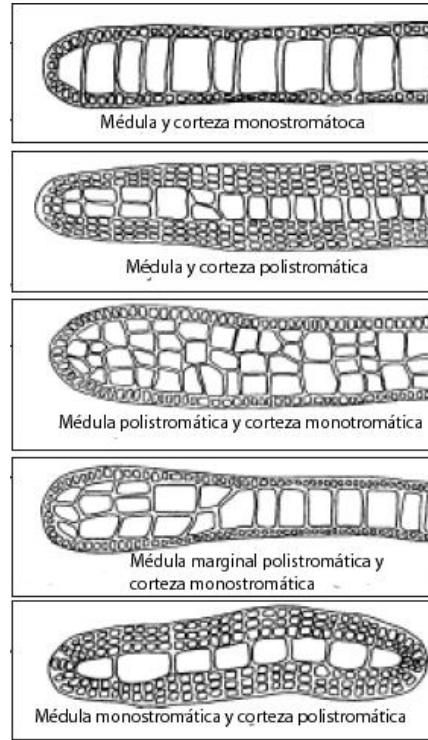
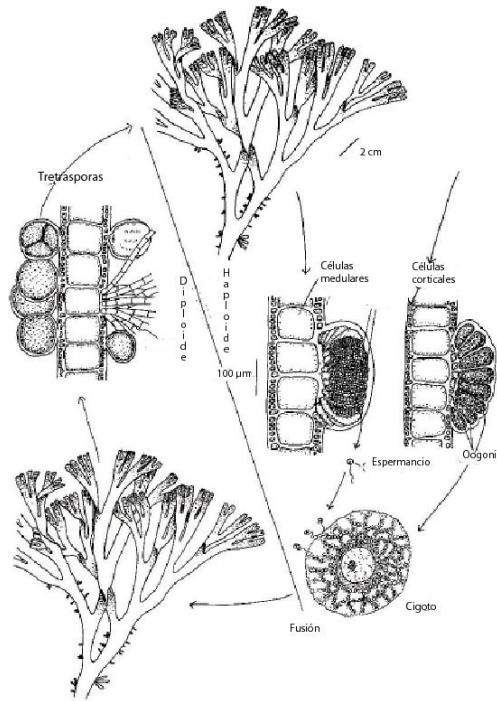


Figura 1*. Ciclo de vida de *Dictyota dichotoma* (Hudson)
J.V. Lamouroux

Figura 2*. Representación esquemática de la corteza y médula en especies del género *Dictyota*

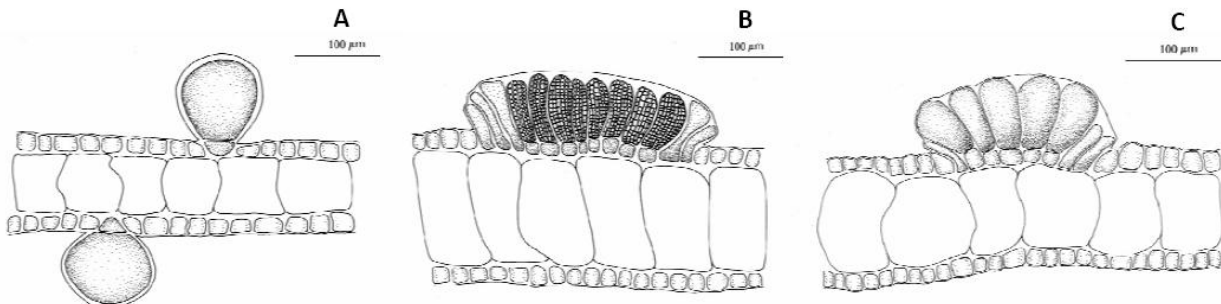


Figura 3*. Estructuras reproductivas de *Dictyota* en un corte transversal. A: Esporangios solitarios en ambas superficies del talo; B: Anteridios maduros; C: oogonios maduros.

*Modificadas de Tronholm, 2010a

Historia taxonómica del género *Dictyota*

Desde su creación en 1809 por J.V. Lamouroux, el género *Dictyota*, ha pasado por distintos cambios nomenclaturales, debido a que dentro de este, existían especies correspondientes al género de *Padina* Adanson, o especies que habían sido descritas bajo los géneros de *Fucus* Linnaeus o *Ulva* Linnaeus. Posteriormente a su creación, C. Agardh lo sinonimiza con el género *Zonaria* C. Agardh y Kützinger (1843) cambia el nombre del género a *Dichophyllum* Kützinger. Y no es hasta que Trevisan (1849) ayuda a circunscribir al género. Más tarde, C. Agardh (1882) lo dividió en 4 géneros *Dictyota sensu stricto*, *Dilophus* J. Agardh, *Glossophora* J. Agardh y *Pachidictyon* J. Agardh basándose únicamente en el número de capas de células medulares y corticales. Posteriormente, fue hasta el trabajo de Setchell & Gardner (1925) donde no se reconoce esta división, señalando que presenta ciertas tendencias hacia el incremento en la complejidad y ciertas dificultades para poder encontrar los límites entre los grupos. Dentro de estos cuatro géneros, *Dictyota* y *Dilophus*, son los que principalmente demuestran la falta de circunscripción entre ellos, debido a que el carácter para separarlos, es el número de capas de células medulares (una o más de una, respectivamente). Por lo que, Taylor (1945) señala que es más difícil distinguir *Dilophus* de *Dictyota* en la flora del Pacífico que en el Caribe. Por su parte, Norris (1975) menciona que el género *Dilophus*, está estrechamente relacionado con *Dictyota*, aunque separados en su anatomía vegetativa. Phillips (1992) en su evaluación del género *Dilophus* para las costas de Australia, menciona que ambos géneros pueden fusionarse debido a sus

características morfológicas y anatómicas reproductivas, aunque prefiere retener a *Dilophus* como un género separado hasta que la taxonomía de *Dictyota* sea más clara. En ese mismo año, Hörning *et al.*, (1992a) mencionan que los numerosos problemas taxonómicos entre *Dilophus* y *Dictyota*, son debidos a las diversas manifestaciones de morfologías presentes en los ambientes (pleomorfismo), que presentan ambos géneros. Señalan también que la característica del número de capas de células en la médula utilizada por J. Agardh, no es aplicable para diferenciar entre ambos géneros, ya que se ha observado esta característica en especies de *Dictyota* tanto en material de herbario como en ejemplares en cultivo y campo. Debido a lo anterior, sinonimizan a todas las especies asignadas a *Dilophus* en *Dictyota*, sin tener la precaución de revisar material tipo o material adicional de muchas de ellas. Silva *et al.* (1996) incluyen a *Dilophus* en *Dictyota* para las especies reportadas en el Océano Índico, basándose en el trabajo de Hörning *et al.* (1992a-b) señalando que muchas de estas pueden ser nombres mal aplicados, sin hacer nuevamente la revisión del material tipo. Surgiendo así, el problema de que existen muchas especies asignadas a un género (*Dilophus*), pero que bien podrían ser solo variantes de una misma especie asignada a otro género (*Dictyota*) y que la controversia radique en la pobre circunscripción genérica (De Clerck & Coppejans 1999). Finalmente De Clerck *et. al.*, (2006) resuelven mediante análisis moleculares, empleando los genes *rbcL* y 26s ribosomal, incluir dentro de *Dictyota* a los géneros *Dilophus*, *Glossophora* J. Agardh, *Glossophorella* M. Nizamuddin & A.C.Campbell y *Pachydictyon* J. Agardh.

Antecedentes

La taxonomía de *Dictyota* en general se ha basado en análisis morfológicos y cronológicamente se han ido incorporando nuevos caracteres para diferenciar especies. Por ejemplo, Jaasund (1970), incluyó la presencia de un involucreo alrededor de los esporangios y la presencia de proliferaciones en la superficie para diferenciar especies de *Dictyota* de las costas del este de África. Posteriormente, Weber-Peukert (1985) y Hornig *et al.* (1992b) usaron dimensiones celulares. Por otro lado, Phillips (1992) combinó los caracteres: esporangios, número de capas medulares, morfología de la superficie y estructuras reproductivas. Mas tarde, De Clerck (2003) empleó caracteres, anatómicos, morfológicos y reproductivos para circunscribir a las especies de *Dictyota* del océano Índico.

Recientemente, existen estudios publicados que han abordado la taxonomía a nivel interespecífico, conjuntando caracteres bioquímicos, morfológicos y moleculares. De Paula *et al.*, (2007), describieron a *D. dolabellana* De Paula, Yoneshigue-Valentin & Teixeira, basándose en análisis morfológicos y datos químicos; Tronholm *et al.*, (2008; 2010 a-b) han descrito cuatro nuevas especies (*D. canariensis* (Grunow) Tronholm, *D. cyanoloma* Tronholm, De Clerck, Gómez Garreta & Rull Lluch, *D. cymatophila* Tronholm, M. Sansón & Afonso-Carrillo, y *D. pleiacantha* Tronholm) conjuntado caracteres moleculares y morfológicos. Particularmente para este género Tronholm *et al.*, (2008; 2010 a-b) han empleado los genes *psbA* que codifica para la proteína D1 del PSII del tilacoides (Morden & Sherwood, 2002), ya que se ha visto que resuelve las relaciones taxonómicas a nivel de especie en

diversos grupos de algas (Seo *et al.*, 2003; Cho *et al.*, 2004; Yang & Boo, 2004; Broom *et al.*, 2008; Hwang *et al.*, 2009; Draisma *et al.*, 2010b) y el gen *cox1*, ya que este gen es una pieza relativamente corta de ADN que puede ser fácilmente amplificado y secuenciado, además se ha visto que este gen es útil para revelar diversidad críptica, así como proporcionar información adicional de las relaciones de las especies de algas rojas y pardas (Saunders, 2005; Robba *et al.*, 2006; Bittner *et al.*, 2008; Kucera & Saunders, 2008; Yang *et al.*, 2008; Clarkston & Saunders 2010; Geraldino *et al.*, 2010; Matio & Payri, 2010; Tronholm *et al.*, 2010a-b).

De las 78 especies de *Dictyota* reconocidas actualmente a nivel mundial (Guiry & Guiry, 2015), se tienen secuencias para 52 especies publicadas en el GenBank (NCBI 2015), de estas sólo existen dos secuencias de especies pertenecientes al Pacífico mexicano y ninguna para el Atlántico mexicano (NCBI 2015).

Las aproximaciones al género en el Atlántico americano, han sido principalmente obras florísticas y en algunos casos nos dan breves descripciones morfológicas (Taylor, 1960; Dawes, 1991; Littler & Littler, 2000). En México se han registrado 16 especies, 12 de las cuales están presentes en el Atlántico mexicano (tabla 1), sin embargo, los trabajos existentes en México son básicamente listados florísticos (Ortega & Garduño, 2001; Mendoza *et al.*, 2007; Altamirano *et al.*, 2007; Cetz *et al.*, 2008; Pedroche *et al.*, 2008), y esto ha conllevado no sólo a cometer errores taxonómicos, sino también al desconocimiento del número real de las especies del género.

Basados en lo anteriormente expresado, se hace imprescindible la necesidad de obtener datos moleculares para las especies mexicanas que puedan ser confrontados con los datos morfológicos y a partir de esta evidencia total sea posible circunscribir correctamente a las especies mexicanas del género *Dictyota*. Así mismo, se hace apremiante la necesidad de contar con trabajos ficoflorísticos en los cuales se describan los caracteres morfológicos de las especies mexicanas del género, y si es posible, se ilustren los caracteres diagnósticos o críticos para su identificación.

Tabla 1. Especies de *Dictyota* presentes en el Atlántico Mexicano.

Especies	Distribución
<i>Dictyota bartayresiana</i> J.V. Lamouroux	GM &CM
<i>D. crenulata</i> J. Agardh	GM
<i>D. menstrualis</i> (Hoyt) Schnetter, Horning <i>et</i> Weber-Peukert	GM &CM
<i>D. implexa</i> (Desfontaines) J.V. Lamouroux	GM &CM
<i>D. guineensis</i> (Kützinger) P. Crouan <i>et</i> H. Crouan	GM &CM
<i>D. mertensii</i> (Martius) Kützinger	GM &CM
<i>D. pinnatifida</i> Kützinger	CM
<i>D. fasciola</i> (Roth) Lamouroux	GM
<i>D. dichotoma</i> (Hudson) J.V.Lamouroux	CM
<i>D. caribaea</i> Horning <i>et</i> Schenetter	CM
<i>D. pulchella</i> Horning <i>et</i> Schenetter	CM
<i>D. hamifera</i> Setchell	CM

GM: Golfo de México

CM: Caribe mexicano

GM &CM: Golfo de México y Caribe mexicano

Objetivos

General

Determinar las especies del género *Dictyota* presentes en el Atlántico mexicano (Veracruz y Quintana Roo), a partir de evidencias moleculares y morfológicas.

Específicos

- ✓ Obtener las secuencias de los genes *cox1* del ADN mitocondrial y *psbA* del ADN del cloroplasto.
- ✓ Realizar análisis filogenéticos con los datos moleculares.
- ✓ Describir los caracteres vegetativos y reproductivos de las especies de *Dictyota*.
- ✓ Contrastar la información molecular y morfológica obtenida de las especies del género *Dictyota*.

Para alcanzar los objetivos mencionados anteriormente, se presentan a continuación trabajos en forma de capítulos, en ellos se expresa un capítulo inicial (1) que de forma general aborda la filogenia del grupo, el cual permitió reconocer e identificar las entidades taxonómicas encontradas en la zona de estudio. En los siguientes capítulos se expresan los resultados que derivaron en la presencia de un nuevo registro (capítulo 2) y tres nuevos taxa (capítulos 3 y 4).

Resumen

Se obtuvieron secuencias parciales de los marcadores moleculares *psbA* y *cox1*, se identificaron 12 entidades taxonómicas, esto fue determinado por los valores de “p” de distancia no corregida que se encuentran dentro de los límites intra e interespecíficos de este género. De ellas en siete hay correspondencia con nombres legítimos (*Canistrocarpus cervicornis*, *D. canariensis*, *D. ciliolata*, *D. guineensis*, *D. jamaicensis*, *D. mertensii* y *D. pinnatifida*) y cinco corresponden a posibles nuevas especies (*Dictyota* sp. 1-5). A su vez, *Dictyota* sp. 1 y *Dictyota* sp. 2 difieren en valores de divergencia nucleotídica (DN) a nivel intraespecífico pero coinciden en sus caracteres morfológicos, por lo que se les consideró especies crípticas. La situación taxonómica de *D. pleiacantha* debe de ser reevaluada ya que la DN y los caracteres morfológicos de esta especie se sobreponen con *D. jamaicensis*. Adicionalmente se incluyen análisis morfológicos de las 12 entidades taxonómicas y una clave de identificación.

Palabras clave: *Dictyota*, Filogenia molecular, Taxonomía, Atlántico mexicano.

Abstract

Partial sequences of *psbA* and *cox1* molecular markers were obtained, and 12 taxa were identified, it was determined because the uncorrected 'p distances values found within the limits intra and interspecific for this genus. Seven of them are correspondence with valid names (*Canistrocarpus cervicornis*, *D. canariensis*, *D. ciliolata*, *D. guineensis*, *D. jamaicensis*, *D. mertensii* and *D. pinnatifida*) and five correspond to possible new species (*Dictyota* sp. 1-5). In turn, *Dictyota* sp. 1 and *Dictyota* sp. 2, differ in nucleotide divergence (DN) at the intraspecific level but agree in their morphological characters, so they are considered cryptic species. The taxonomic status of *D. pleiacantha* should be reassessed as the DN and morphological characters of this species they overlap with *D. jamaicensis*. Additionally morphological analysis of 12 taxa and an identification key included.

Keywords: *Dictyota*, molecular phylogeny, taxonomy, Atlantic Mexican

Introducción

El género *Dictyota* J.V. Lamouroux posee aproximadamente 78 especies descritas, distribuidas en una gran variedad de ambientes templados, subtropicales y tropicales (Solé & Foldats, 2003; Tronholm, 2010a; Guiry & Guiry, 2015).

La alta plasticidad fenotípica exhibida entre los diferentes individuos que conforman a las especies de *Dictyota*, aunado a la falta de estudios ficoflorísticos en los que se describe dicha variabilidad morfológica, ha generado una problemática interespecífica que ha devenido en la sobreposición de caracteres morfológicos, dejando como resultado un género con especies difícilmente identificables entre sí, provocando la asignación errónea de epítetos a éstas.

El empleo de herramientas moleculares ha dado resultados positivos en numerosos grupos de algas, ya que ha posibilitado disponer de una nueva fuente de caracteres con los cuales se han podido generar hipótesis filogenéticas para circunscribir especies (Liu *et al.*, 2006; Lim *et al.*, 2007; Hwang *et al.*, 2009; Buchanan *et al.*, 2010; Vis & Oliveira, 2010; Krienitz *et al.*, 2011).

La mayoría de los trabajos basados en caracteres moleculares, que han incluido a las especies de *Dictyota*, han abordado los niveles intergenéricos y supraespecíficos (Draisma *et al.*, 2001; Lee & Bae, 2002; Hoshina *et al.*, 2004; Hwang *et al.*, 2005; De Clerck *et al.*, 2006; Bittner *et al.*, 2008; Hwang *et al.*, 2009; Silberfeld *et al.*, 2010). Actualmente, sólo existen 4 estudios publicados (Tronholm *et al.*, 2008; 2010 a-b;

2013) que han abordado la taxonomía a nivel interespecífico, conjuntando caracteres moleculares y morfológicos, delimitando e incluso proponiendo nuevas especies.

Es por ello que en el presente estudio, se analizaron los caracteres moleculares de dos genes (*cox1* y *psbA*) para determinar las especies de *Dictyota* en el Atlántico mexicano, complementándose y contrastándose con caracteres morfológicos.

Materiales y métodos

Área de estudio

Las localidades que se seleccionaron para incluir en este estudio se encuentran en los estados de Veracruz y Quintana Roo, ubicadas en el Golfo de México y Mar Caribe, respectivamente (Figura 4). La recolecta de los ejemplares se llevó a cabo en 15 localidades del Atlántico mexicano, nueve correspondientes al estado de Veracruz (Villa Rica, Playa Escondida, Playa Hermosa, El Morro, Punta Puntillas, Playa Muñecos, Montepío, Punta Delgada y Balzapote) y seis al estado de Quintana Roo (Tulum, Akumal, Playa Caracol, Isla Mujeres, Punta Brava y Puerto Morelos), seleccionadas con base en que en estos sitios habían sido registradas con anterioridad las 12 especies de *Dictyota* presentes en el Atlántico mexicano (Ortega & Garduño, 2001; Mendoza *et al.*, 2008; Cetz *et al.*, 2008).

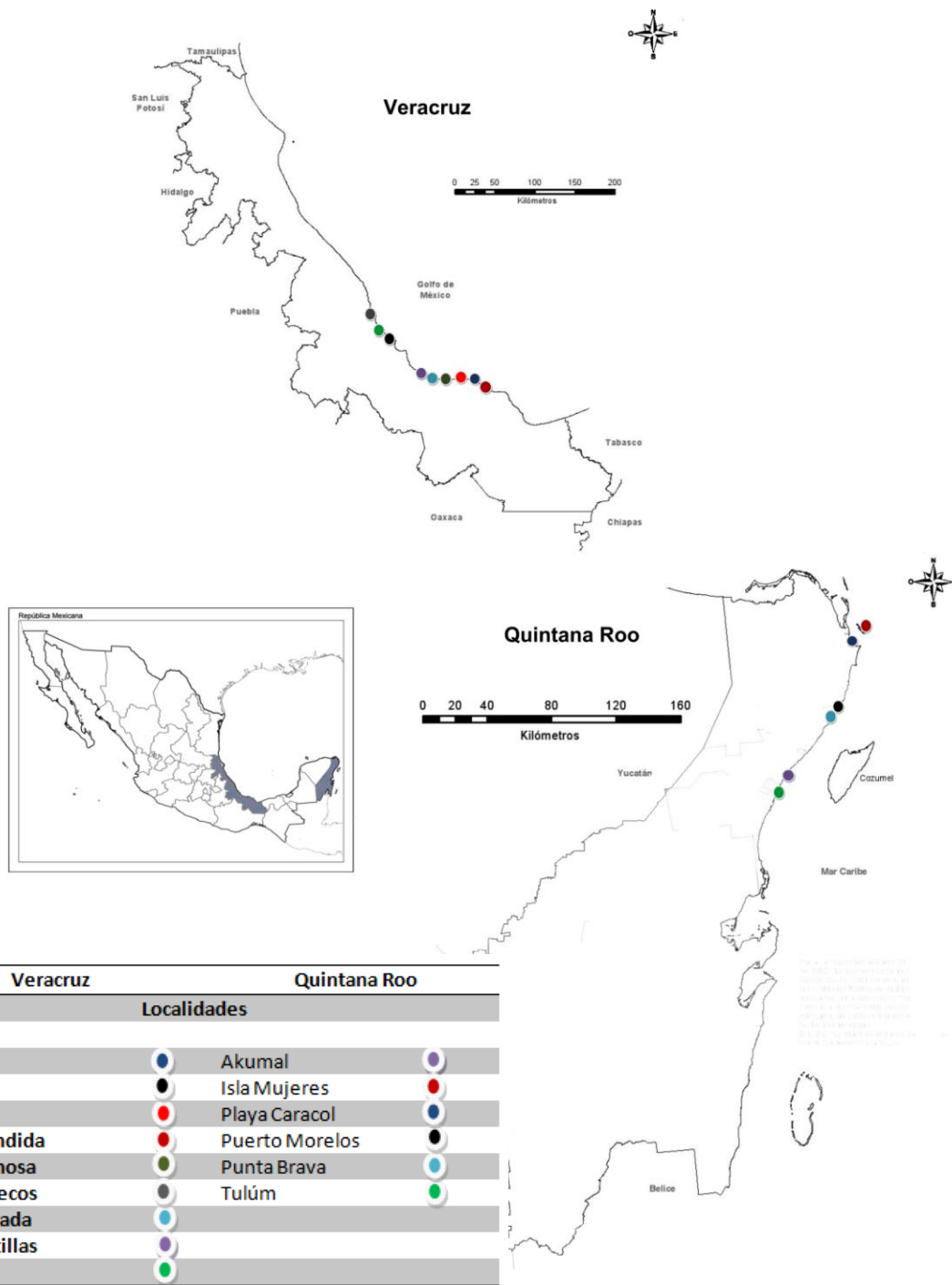


Figura 4. Sitios de Recolecta.

Recolecta de ejemplares

Los muestreos se realizaron en Marzo y Diciembre del 2011; y en Marzo del 2012, en la zona litoral y/o submareal. Los especímenes recolectados de cada población, se limpiaron de epífitas y otros organismos marinos. Los especímenes recolectados se fijaron en sílica gel y en formaldehído al 4% para realizar los análisis moleculares y morfológicos, respectivamente. Ejemplares adicionales fueron herborizados, para posteriormente, ser depositados en la colección de algas del herbario metropolitano-UAMIZ. Los especímenes recolectados fueron etiquetados con los siguientes datos: localidad, recolector, fecha de recolecta y hábitat.

Análisis molecular

Extracción y amplificación del ADN

El ADN genómico total se obtuvo utilizando el DNeasy Plant Mini Kit (Quiagen, Valencia, California, USA), de acuerdo con el protocolo del fabricante. La amplificación vía PCR de los genes *cox1* y *psbA* se realizó según lo descrito por Lozano *et al.*, (2015), y Silberfeld *et al.*, (2010) respectivamente, con el kit Taq Polimerasa de Qiagen. Los primers y condiciones de los ciclos de PCR que fueron utilizados se muestran en la tabla 3. Todos los productos de extracción y amplificación fueron visualizados en un gel de agarosa al 1%.

Tabla 3. Primers y condiciones utilizadas para la amplificación y secuenciación en *Dictyota*.

Región	Nombre	Primer	DI	D	A	E	EF	Referencia
cox1	Cox1F_di	5'-AAC CCT ATA TTT GTT ATT CGG TGG- 3'	94° C	94° C	52° C	72° C	72° C	Lozano <i>et al.</i> , (2014)
	Cox1R	5'-ACT TCT GGA TGT CCA AAA AAY CA- 3'	por 5'	por 30''	por 1'	por 2'	por 7'	Lozano <i>et al.</i> , (2014)
			1 ciclo	34 ciclos			1 ciclo	
psbA	psbA F	5'- ATGACTGCTACTTTAGAAAGAC G -3'	94° C Por 3'	94° C Por 45''	56° C Por 1'	72° C Por 2'	72° C Por 5'	Silberfeld <i>et al.</i> , (2010)
	psbA R	5'- TCATGCATWACTTCCATACCTA -3						Silberfeld <i>et al.</i> , (2010)
			1 ciclo	35 ciclos			1 ciclo	

DI: Desnaturalización inicial; D: Desnaturalización; A: Alineación; E: Extensión; EF: Extensión Final.

Secuenciación

De los productos de PCR obtenidos, las reacciones para producir secuencias marcadas, para el gen *psbA* (*psbA* = 959 pares de base) se empleó el kit de la compañía Perkin Elmer (ABI PRISM® BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Reaction Kit). Estas reacciones fueron leídas automáticamente por un secuenciador 3100 Avant (Applied Biosystems™) en la División de CBS, UAM-Iztapalapa. En el caso del gen *cox1* (*cox1* = 694 pares de base), los productos de PCR fueron enviados a Macrogen (Gasan-dong, Seoul, Korea) para su secuenciación.

Finalizado este proceso, las lecturas (electrofenogramas) se transfirieron a un archivo de computadora. Con la ayuda del paquete de cómputo MEGA versión 5

(Tamura *et al.*, 2011) las secuencias fueron alineadas a simple vista o empleando el algoritmo de CLUSTAL (Thompson *et al.*, 1997).

Divergencia nucleotídica

Se calcularon los intervalos de valores de divergencia nucleotídica interespecíficos para los genes *cox1* y *psbA*, utilizando distancia no corregida “p” con el programa MEGA versión 5 (Anexo 1 y 2).

Los datos de recolecta y números de acceso de GenBank de las secuencias empleadas en los análisis se encuentran en el anexo 3.

Análisis filogenéticos de los datos moleculares

Análisis de máxima parsimonia

Los análisis de máxima parsimonia (MP) fueron inferidos con el programa Winclada ver.1.00.08 software (Nixon, 1999) usando la opción de búsqueda Ratchet, caracteres sin ordenar y con igual peso. Las inserciones y deleciones en las secuencias fueron tratados como datos ausentes. Se evaluó el soporte de las ramas internas mediante el análisis de Bootstrap (Felsenstein, 1985) implementado en Winclada. Para el análisis de bootstrap se realizaron 1000 réplicas.

Análisis de máxima verosimilitud y bayesiano

El análisis bayesiano se realizó usando el programa MrBayes v.3.0 beta 4 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) empleando el modelo GTR+I+G (general time-reversible model of nucleotide substitution with Invariant sites and gamma-distributed rates for the variables sites). Este modelo fue seleccionado con el programa jModeltest (Posada, 2008). Para el análisis bayesiano se corrieron cinco cadenas de Markov Monte Carlo (una caliente y cuatro frías), se muestreó un árbol cada 1000 generaciones para 5×10^6 generaciones. Finalmente el análisis de Máxima verosimilitud ML se realizó en el programa TOPALI v2 (Milne *et al.*, 2009) con el mismo modelo que el bayesiano. El soporte individual de las ramas internas en ML fue determinado con el análisis de bootstrap con 1000 réplicas.

Análisis concatenado

Las relaciones filogenéticas del análisis concatenado fue inferido usando una matriz de 1653 nucleótidos de los dos genes. *Scoresbyella profunda* Womersley, *Canistrocarpus cervicornis* (Kützing) J.C. De Paula & O. De Clerck y *C. crispatus* (Lamouroux) J.C. De Paula & O. De Clerck fueron incluidos como grupos externos en todos los arboles generados, basándose en los resultados obtenidos por De Clerck *et al.* (2006).

Análisis morfológico

Los especímenes recolectados se observaron bajo un microscopio estereoscópico con el fin de distinguir características morfológicas vegetativas y reproductivas a nivel macroscópico como son: tipo de ramificaciones, márgenes, forma de ápices, superficie, presencia de iridiscencia, entre otras. En el microscopio óptico se realizaron preparaciones semipermanentes de cortes histológicos transversales y longitudinales de la parte apical, media y basal del talo, para determinar características como: número de capas celulares en la médula, número de capas celulares en la corteza, forma de las células y medidas celulares. Todas las características estudiadas (Tabla 2), fueron confrontadas con las descritas por Taylor (1960), Hörning *et al.* (1992a y 1992b), Nunez & De Paula (2001), Solé & Foldats (2003), Littler & Littler (2000).

Tabla 2. Características morfológicas analizadas en los especímenes recolectados.

Caracter	Cualitativo	Cuantitativo
Hábito	Espiralado	Altura
	Plano	
	Monopodial	
	Simpodial	
Márgenes	Lisos	
	Dentados	Orientación
Ramificación	Dicotómico	
	Irregular	
	Dicotómico a irregular	
Forma de ápices	Redondeados	
	Agudos	
Iridiscencia	Ausente	
	Presente	
	Color	
Superficie	Lisa	
	Proliferaciones	
Bandas en las ramas	Presentes	
	Ausentes	
Ancho del eje principal	Mayor de 3mm	
	Menor de 3 mm	
Rizoides marginales	Presentes	
	Ausentes	
Células corticales		Largo
		Ancho
Células medulares		Sencilla o múltiple
		Largo y ancho
		Número de capas medulares
Gametofitos masculinos	Presencia de paráfisis.	Largo del soro
		Ancho del soro
Gametofitos femeninos		Largo soro
		Ancho soro
Esporangios		Número de esporas
		Diámetro del esporangio

Resultados

Divergencia Nucleotídica (DN)

Secuencias *cox1* (Anexo 1)

En el caso del gen *cox1*, 62 secuencias fueron analizadas, de las cuales 29 se obtuvieron en este estudio y el resto pertenecen al GenBank. Se incluyeron los grupos externos *Canistrocarpus cervicornis*, *C. crispatus* y *Scoresbyella profunda*.

De los 33 especímenes trabajados en este estudio, para el gen *cox1*, se incluyeron 20 secuencias ya que el resto no se logró amplificar (Anexo 3). Con base a los valores de divergencia interespecíficos se determinaron nueve grupos (Tabla 4), donde podemos ver que los morfos se agruparon con cinco entidades taxonómicas reconocidas (Guiry & Guiry, 2015) y cuatro que no corresponden con alguna especie previamente registrada.

Los valores de divergencia intergenérica de los grupos externos con respecto a *Dictyota* fue mayor a 17%. Los valores de divergencia interespecíficos para el género *Dictyota* oscilaron de 6.1 a 16.9%.

Tabla 4. Valores de divergencia nucleotídica de los morfotipos secuenciados para el gen *cox1*.

Especímenes	DN (%)	DN con otras especies (%)
Morfos 2, 3 y 5	0	> 6.2
Morfos 6, 8, 9 y 13 <i>D. jamaicensis (D. pleiacantha)</i>	< 4.6	>6.2
Morfos 12 y 17 <i>D. pinnatifida</i>	< 0.5	>13.1
Morfo 14 <i>D. mertensii</i>	0	>11.3
Los morfos 15, 16, 19 Gent 1	< 1.5	>8.2
Morfo 20	NA	> 6.3
Morfo 23	NA	>16
Morfos 25, 27, 29 y 30 <i>D. ciliolata</i>	< 4.1	>11.3
Morfo 28 <i>D. canariensis</i>	< 1.5	>9.7

DN = Divergencia nucleotídica

NA = No aplica

Secuencias *psbA* (Anexo 2)

En este gen un total de 70 secuencias fueron analizadas, incluyendo los mismos grupos externos que en *cox1*.

En este gen todos los especímenes recolectados fueron amplificados. Con base a los valores de divergencia interespecíficos se determinaron doce grupos (Tabla 5), donde se puede observar que los morfos se agruparon con siete entidades

taxonómicas reconocidas (Guiry & Guiry, 2015) y tres que no corresponden con alguna especie previamente citada.

Los valores de divergencia intergenérica fueron por encima de 6.4% entre los grupos externos y *Dictyota*. Los valores de divergencia interespecíficos para el género *Dictyota* oscilaron de 1.1 a 6.4%.

Tabla 5. Valores de divergencia nucleotídica de los morfotipos secuenciados para el gen *psbA*.

Especímenes	DN (%)	DN con otras especies (%)
Morfo 1	NA	>3.2
Morfos 2, 3 y 5	0	>1.3
Morfos 4, 7, 26, 27, 31-33 <i>C. cervicornis</i>	< 0.3	> 6.4
Morfos 6, 8, 9, 13 Gent 2, <i>D. jamaicensis</i> (<i>D. pleiacantha</i>)	< 0.5	>1.1
Morfos 10, 11, 18 y 21 <i>D. guineensis</i>	< 0.5	>2.9
Morfos 12 y 17 <i>D. pinnatifida</i>	0	>2.6
Morfo 14 <i>D. mertensii</i>	0	>2.9
Los morfos 15, 16, 19 y 22 Gent 1	< 0.8	>6.3
Morfo 20	NA	> 6.3
Morfo 23	NA	>2.9
Morfos 25, 27, 29 y 30 <i>D. ciliolata</i>	< 0.3	>2.9
Morfo 28 <i>D. canariensis</i>	< 0.3	>1.1

DN = Divergencia nucleotídica

NA = No aplica

Análisis filogenéticos

Región *cox1*

Análisis de máxima parsimonia

En el análisis de MP que incluyeron 694 caracteres, de los cuales 407 son constantes, 49 caracteres variables son parsimoniosamente no informativos y 238 son parsimoniosamente informativos. Se encontraron 59 árboles más parsimoniosos. El Índice de Consistencia fue de 0.7544, el Índice de Retención fue de 0.5582. Los valores de bootstrap muestran un alto soporte de clados en donde se encuentran los especímenes trabajados en este estudio. La topología del árbol consenso estricto con sus valores de bootstrap se muestran en la figura 5.

Para este gen encontramos que el género *Dictyota* forma un clado monofilético con respecto a los grupos externos. Dentro de este clado se encuentran todas las muestras del estudio, en este árbol podemos observar que nuestras muestras se agrupan en 9 clados.

En el clado 1, encontramos al morfo 20 formando un clado monofilético con *D. acutiloba*; en el clado 2 los morfos 25, 27, 29 y 30 se agrupan con *D. ciliolata*; en el clado 3 podemos observar que el morfo 23 se agrupa con *D. mediterránea* y *D. fasciola*; en el clado 4 el morfotipo 14 conforma un clado monofilético con *D. mertensii*; en el 5 los morfos 12 y 17 se agrupan con *D. pinnatifida*; en el 6 el morfo 28 forma un clado monofilético con *D. canariensis*; el clado 7 agrupa a los morfos 15, 16 y 19 con la muestra Gent I; el clado 8 está comprendido por los morfos 2, 3 y 5.

Finalmente en el clado 9 se agrupan los morfos 8, 9 y 13 con *D. jamaicensis* y este grupo forma un clado monofilético con el morfo 6.

Análisis bayesiano y máxima verosimilitud

El análisis Bayesiano y de máxima verosimilitud se llevaron a cabo con el modelo evolutivo de sustitución de nucleótidos GTR+I+G, este modelo fue obtenido mediante el programa jModel test (Posadas, 2008).

En la topología resultante (Figura 6) se puede ver que se recuperaron todos los clados del análisis de MP donde están agrupados todos los morfotipos trabajados.

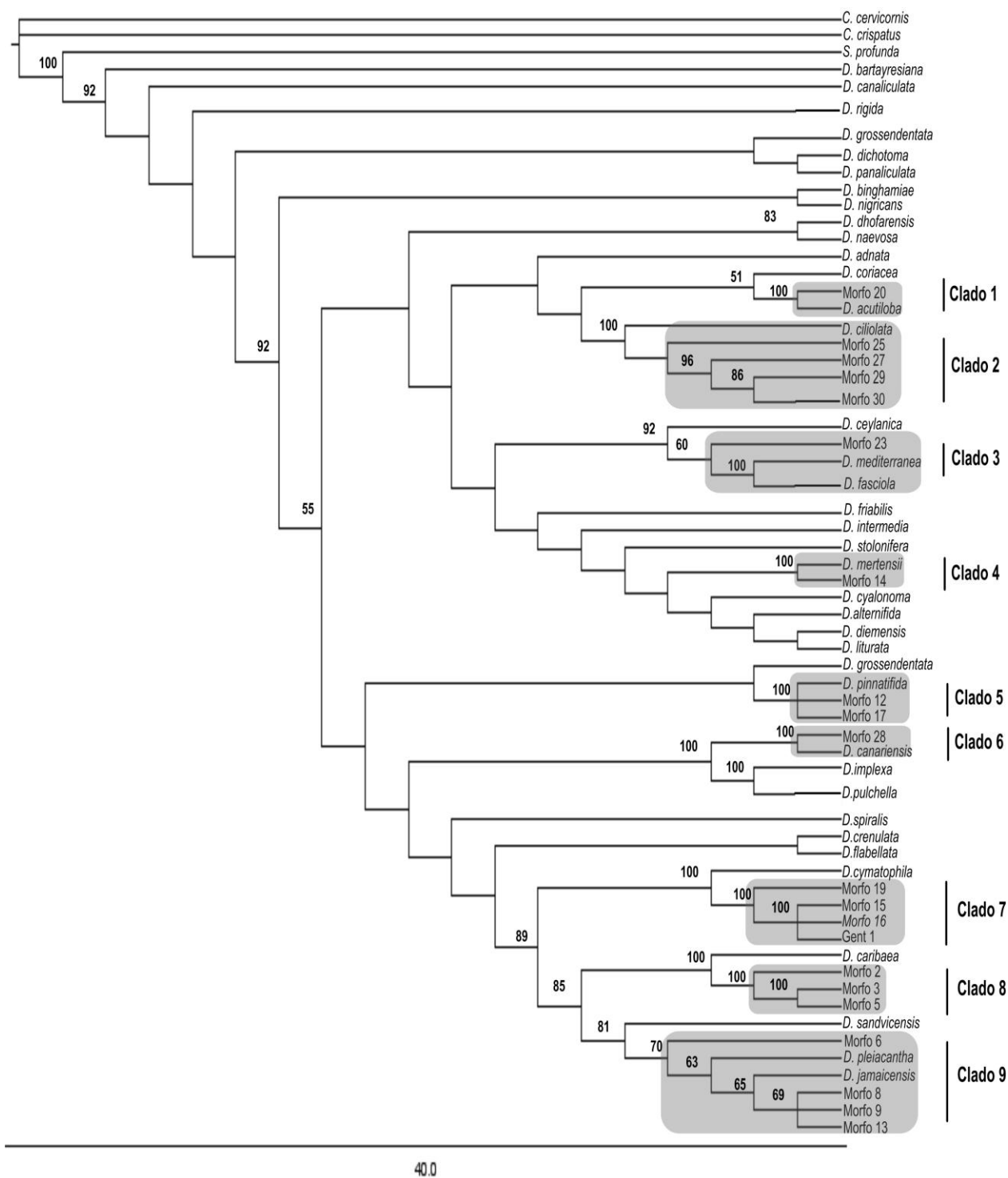


Figura 5. Consenso estricto de los 59 arboles más parsimonios del gen *cox1*. Los números sobre los nodos indican los valores de bootstrap con 1000 réplicas.

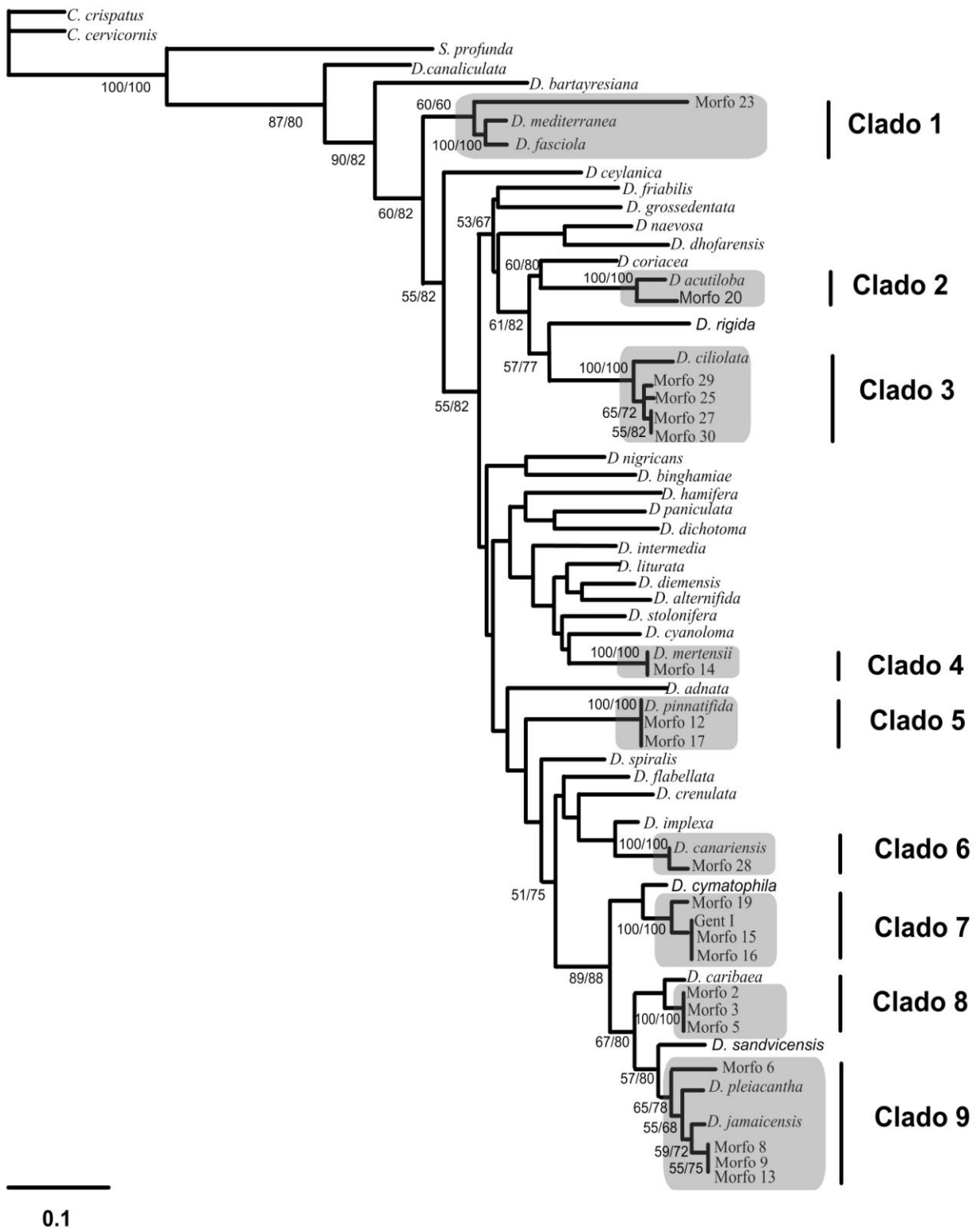


Figura 6. Relaciones filogenéticas de las especies del género *Dictyota* basado en análisis Bayesiano de secuencias del gen *cox1*. Los valores de probabilidad posterior bayesiana (derecha) y bootstrap de ML (izquierda) se indican en los nodos.

Región *psbA*

Análisis de máxima parsimonia

El análisis de MP incluyó 959 caracteres, de los cuales 673 son constantes, 101 caracteres variables son parsimoniosamente no informativos y 185 son parsimoniosamente informativos. Se encontraron 3822 árboles más parsimoniosos. El Índice de Consistencia fue de 0.5938, el Índice de Retención fue de 0.7582. Los valores de bootstrap muestran un alto soporte de clados en donde se encuentran los especímenes trabajados en este estudio. La topología del árbol consenso estricto con sus valores de bootstrap se muestran en la figura 7.

Como resultado de este análisis, se encontró que el género *Dictyota* forma un clado monofilético con respecto a los grupos externos sustentando por sus valores de bootstrap. Asimismo, encontramos que nuestras muestras se agrupan en 11 clados.

El clado 1 conforma un clado monofilético con el grupo externo *Canistrocarpus cervicornis* a los morfos 4, 7, 24, 26, 31, 32 y 33 sustentado con altos valores de bootstrap. En el clado 2 los morfos 12 y 17 forman un clado monofilético con *D. pinnatifida*; el clado 3 conforma un clado monofilético con *D. canariensis*; en el clado 4 encontramos que los morfos 15 y 16 constituyen un clado monofilético con la muestra Gent I y los morfos 19 y 22 formaron un clado hermano del anterior; el clado 5 esta formado por el morfo 1 que tiene un clado hermano formado por *D. caribaea* y a los morfos 2, 3, y 5; en el clado 6 podemos observar que el morfo 6 y la muestra Gent II tienen un clado hermano formado por *D. pleiacantha*, los morfos 8, 9, 13 y

D. jamaicensis; en el clado 7 encontramos a 2 subclados formados por los morfos 21, 10 y *D. guineensis* y los morfos 11 y 18; el morfo 23 se agrupó con *D. ceylanica* formando el clado 8; en el clado 9 el morfo 14 forma un clado monofilético con *D. mertensii*; el clado 10 lo forman el morfo 20 y *D. acutiloba*. Por último en el clado 11 encontramos que los morfos 25, 27, 29 y 30 se agrupan y forman un clado monofilético con *D. ciliolata*.

Análisis bayesiano y máxima verosimilitud

El análisis Bayesiano y de máxima verosimilitud se llevaron a cabo con el modelo evolutivo de sustitución de nucleótidos GTR+G, este modelo fue obtenido mediante el programa jModel test (Posadas, 2008). Ambas topologías fueron similares y la resultante de ambas se muestra en la figura 7, en la que se puede observar que se recuperaron todos los clados del análisis de MP en donde se encuentran los morfotipos trabajados, presentando valores de bootstrap con un alto soporte de clados.

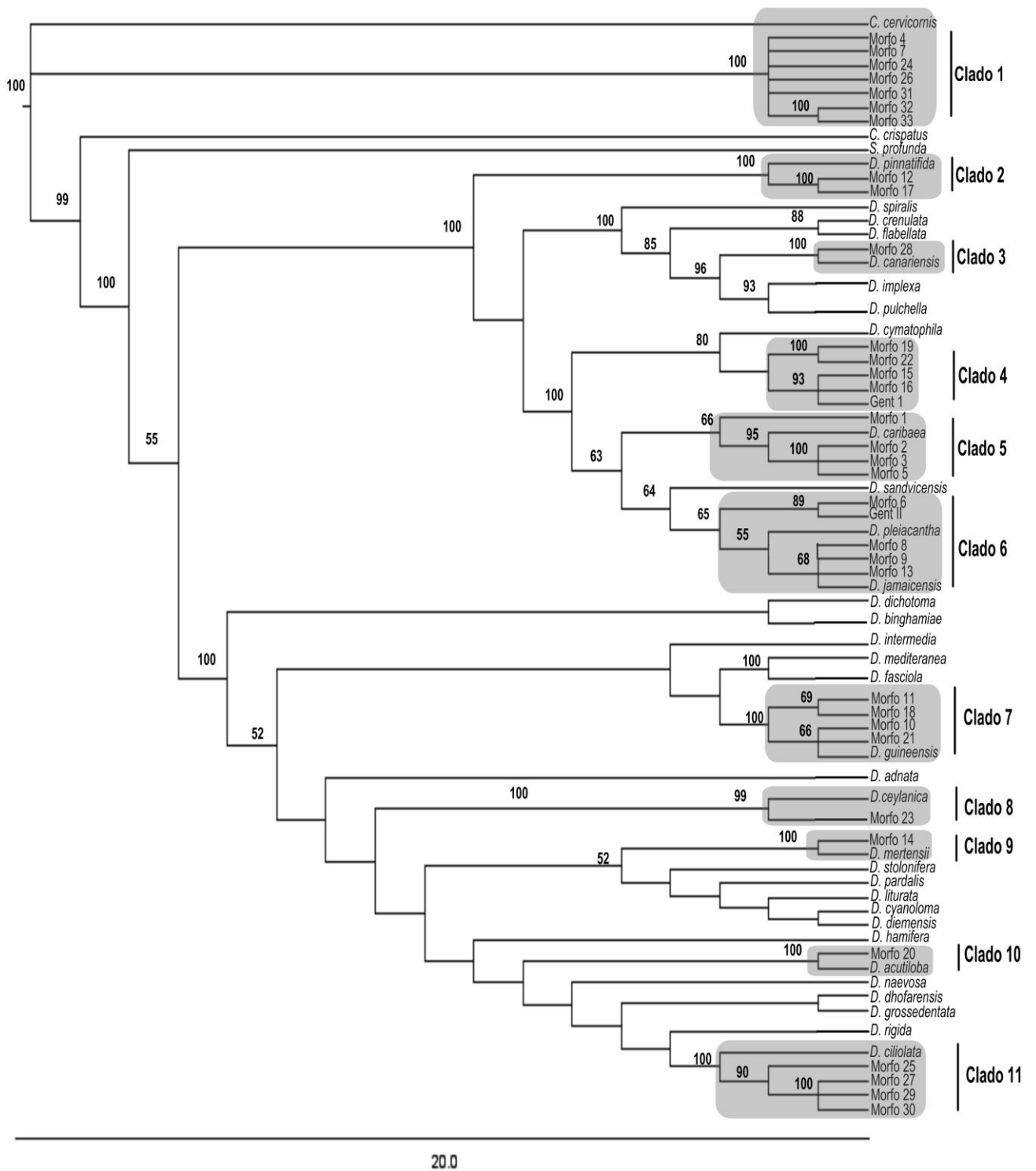


Figura 7. Consenso estricto de los 3822 arboles más parsimonios del gen *psbA*. Los números sobre los nodos indican los valores de bootstrap con 1000 réplicas.

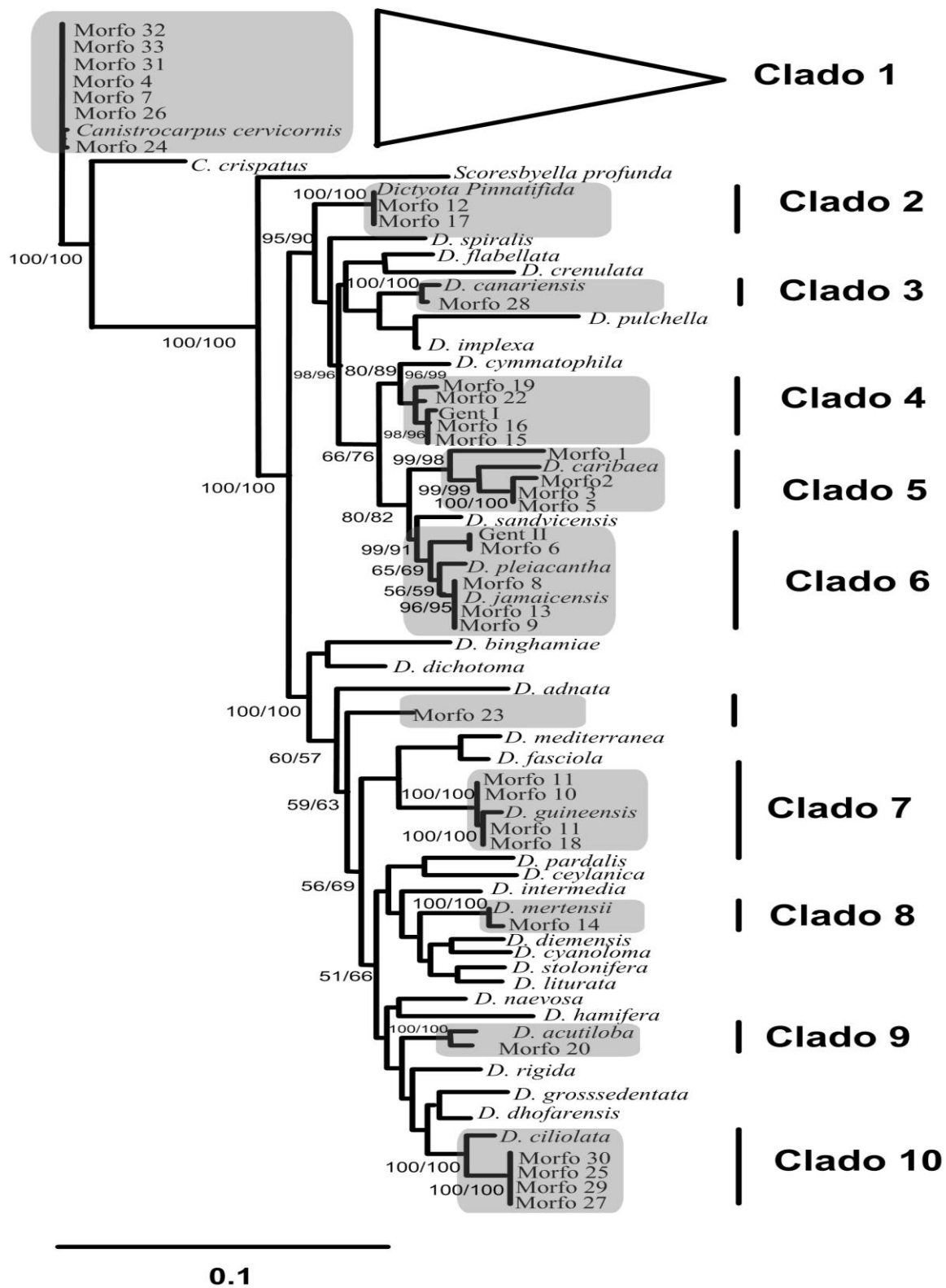


Figura 8. Relaciones filogenéticas de las especies del género *Dictyota* basado en análisis Bayesiano de secuencias del gen *psbA*. Los valores de probabilidad posterior bayesiana (derecha) y bootstrap de ML (izquierda) se indican en los nodos.

Análisis concatenado

Análisis de máxima parsimonia

Para el análisis concatenado de MP se incluyeron 959 caracteres de *psbA* y 694 caracteres que nos dio una matriz de 1653 caracteres, de los cuales 1119 son constantes, 119 caracteres variables son parsimoniosamente no informativos y 410 son parsimoniosamente informativos. Se encontraron 46 árboles más parsimoniosos. El Índice de Consistencia fue de 0.6893, el Índice de Retención fue de 0.6027. Los valores de bootstrap muestran un alto soporte de clados en donde se encuentran los especímenes trabajados en este estudio. La topología del árbol consenso estricto con sus valores de bootstrap se muestran en la figura 9.

El resultado que nos dio este análisis muestra una topología muy similar al árbol consenso estricto del gen *cox1*.

Análisis bayesiano y máxima verosimilitud

El análisis Bayesiano y de máxima verosimilitud se llevaron a cabo con el modelo evolutivo de sustitución de nucleótidos HKY+G, este modelo fue obtenido mediante el programa jModel test (Posadas, 2008).

Como resultado nuevamente encontramos que ambas topologías fueron similares, el resultado de ambas lo podemos ver en la figura 10, en la que se puede observar que se recuperaron todos los clados del análisis de MP en donde se encuentran los

morfotipos trabajados presentando nuevamente de valores de bootstrap con un alto soporte de clados.

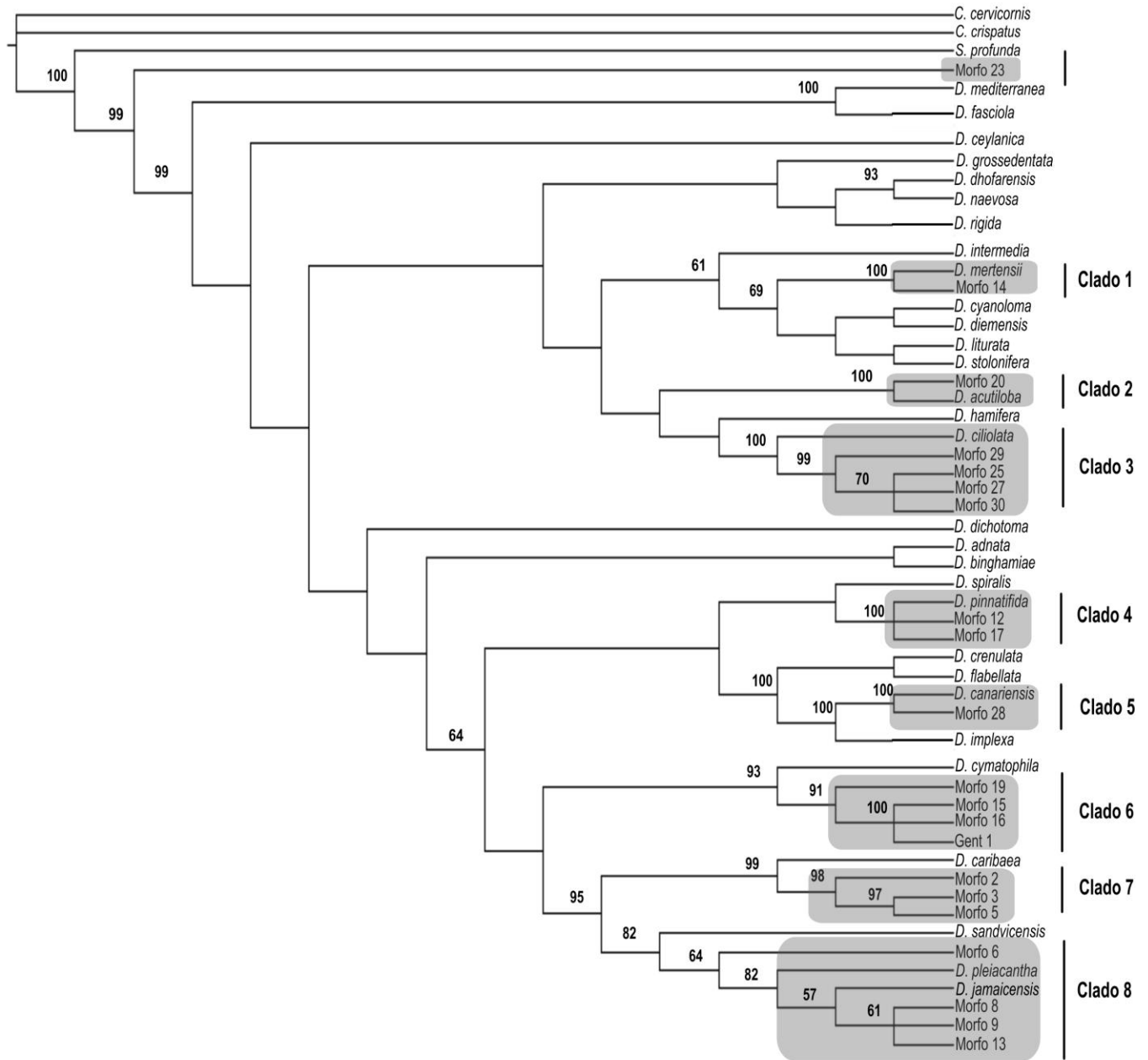


Figura 9. Consenso estricto de los 46 arboles más parsimoniosos de un concatenado formado por secuencias del gen *psbA* y *cox1*. Los números sobre los nodos indican los valores de bootstrap con 1000 réplicas.

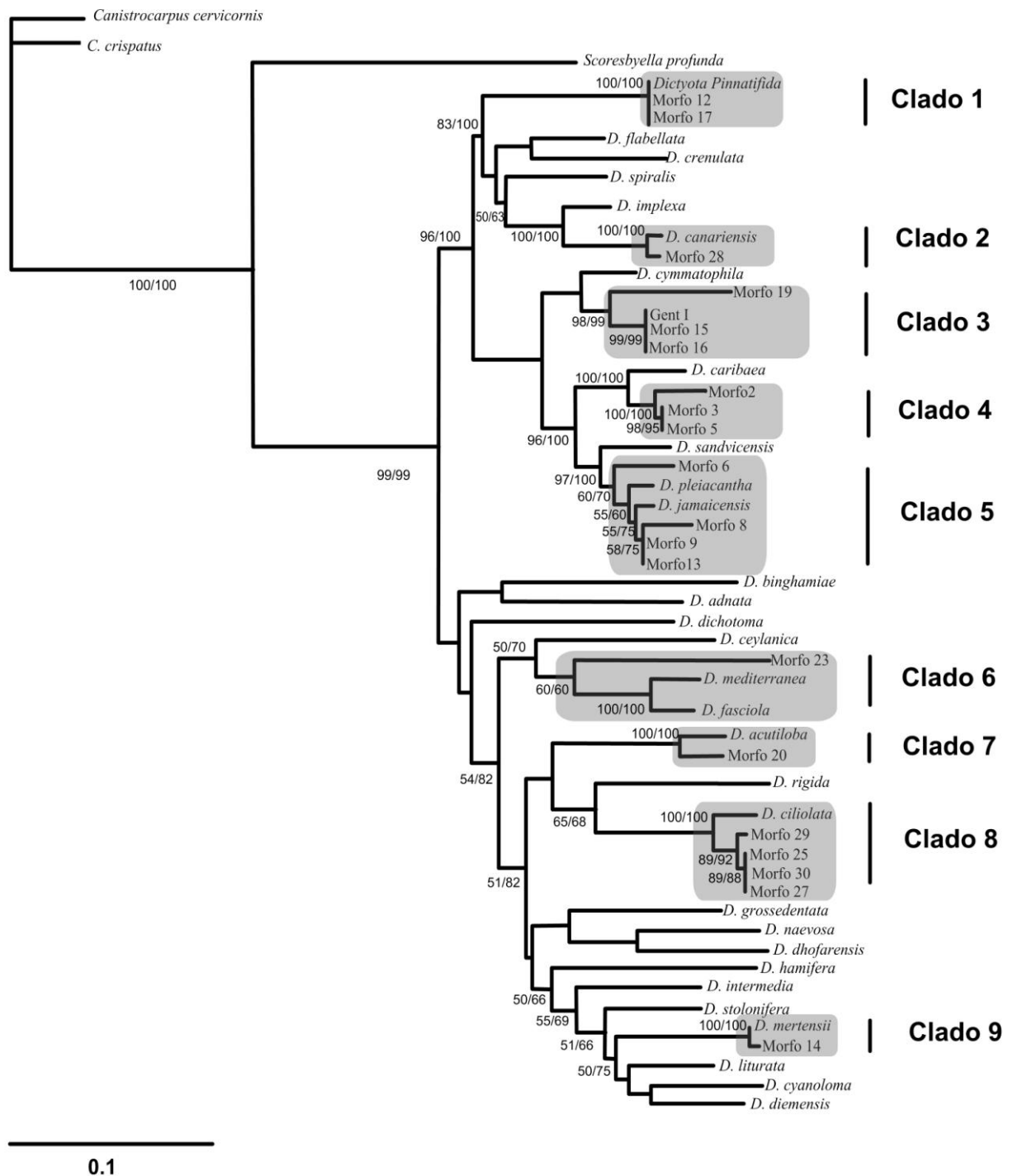


Figura 10. Relaciones filogenéticas de las especies del género *Dictyota* basado en análisis Bayesiano de un concatenado formado por secuencias del gen *psbA* y *cox1*. Los valores de probabilidad posterior bayesiana (derecha) y bootstrap de ML (izquierda) se indican en los nodos.

Análisis morfológicos

Como resultado de la recolecta en las localidades, se identificaron inicialmente 33 morfotipos del género *Dictyota* (Detalles ver Anexo 4), estos fueron determinados con base en los caracteres morfológicos cualitativos citados en la tabla 2.

Posteriormente se realizaron análisis sumando los caracteres cuantitativos, donde los morfotipos formaron 11 grupos, los cuales se describen a continuación:

Grupo 1: Morfos 4, 7, 24, 26, 31, 32 y 33. Talo que forma arbustos, color verde olivo de hasta 13 cm de alto, ramificación dicotómica irregular, espiralada, con ápices agudos a redondeados. Células medulares monostromáticas de 140-180 μm de largo y 45-80 μm de ancho. Células corticales de 15-20 μm de largo y 12-15 μm de ancho, con presencia de pelos feofíceos. No se encontraron estructuras reproductoras (Lámina 1).

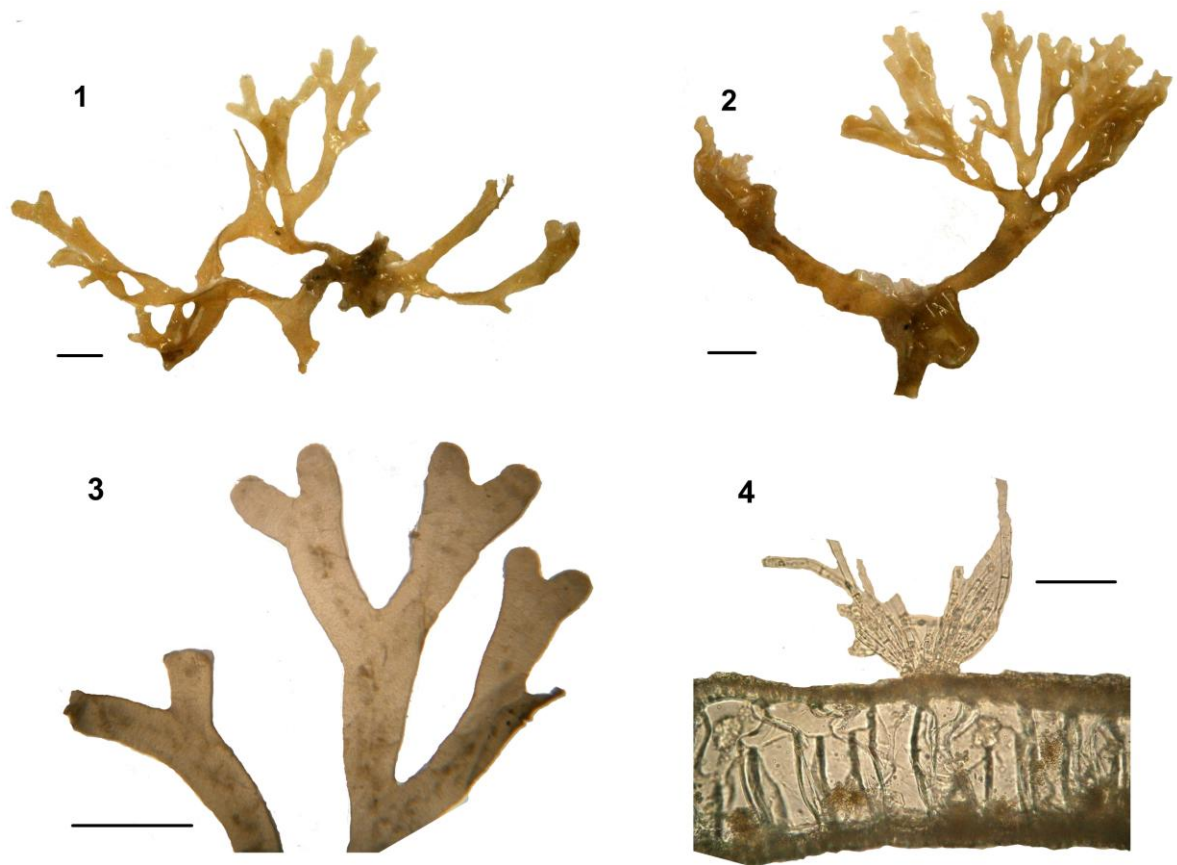


Lámina 1. *Canistrocarpus cervicornis*. (1-2). Hábitos de los morfo 4 y 26, respectivamente. Escala = 5 mm.

(3). Detalle de los ápices. Escala = 200 μ m.

(4). Sección transversal del talo, presentando la presencia de pelos feofíceos. Nótese la medula monostromática. Escala = 100 μ m.

Grupo 2: Morfos 1, 2, 3 y 5. Talos de hasta 14 cm de largo, erectos, color café claro, de consistencia rígida al tacto. Los ápices son redondeados. Con ramificación dicotómica. Los márgenes son dentados, los dientes son de forma triangular a espinosa dirigidos hacia los ápices. Los esporangios se encuentran regularmente en las porciones interdicotómicas basales del talo. La corteza con células de 24-60 μm de largo, 14-22 μm de ancho. Células medulares monostromáticas de 100-200 de largo μm , 47-83 μm de ancho. Los esporangios se encuentran aislados o agrupados en ambos lados del talo, de color café teniendo 50-60 μm de diámetro (Lámina 2).

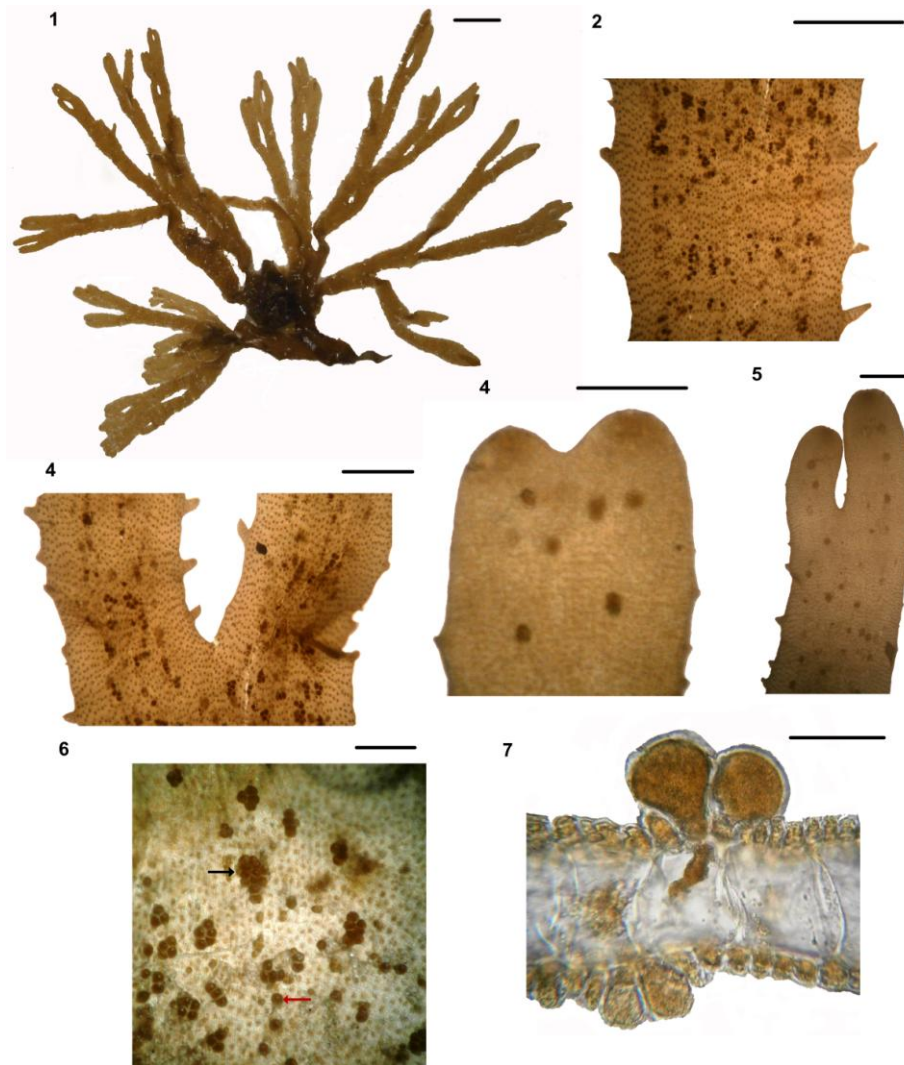


Lámina 2. *Dictyota* sp. 1. (1) Hábito del morfo 2. Escala = 1 cm.

(2) Vista superficial de esporangios en segmentos basal de un talo. Escala = 2 mm.

(3) Dicotomía de un segmento basal, obsérvense los esporangios en esta zona. Escala = 1 mm.

(4-5) Ápices redondeados de segmentos distales. Escala = 500 μ m y 1 mm, respectivamente.

(6) Detalle de esporangios en la superficie de un talo. Nótese los esporangios agrupados (Flecha negra) y solitarios (Flecha roja). Escala = 200 μ m.

(7) Sección transversal de un talo presentando esporangios provenientes de una célula, nótese medula monostromática. Escala = 50 μ m.

Grupo 3: Morfos 6, 8, 9 y 13. Talos erectos de hasta 19 cm de largo, color café claro, de consistencia rígida al tacto. Los ápices son espatulados. Con ramificación dicotómica ligeramente espiralados. Los márgenes son dentados, los dientes son pequeños de forma espinosa a triangular. Los esporangios se encuentran solitarios o agrupados regularmente en las porciones interdicotómicas. Células corticales de 20-40 μm de largo, 13-20 μm de ancho. Células medulares monostromáticas de 75-100 μm de largo, 40-80 μm de ancho. Los esporangios se encuentran aislados o agrupados regularmente en lado del talo, de color café oscuro teniendo 50-100 μm de diámetro (Lámina 3).



Lámina 3. *Dictyota jamaicensis*. (1-2). Habito del morfo 8 y 6 respectivamente. Escala = 1 cm.

(3) Detalle de ramificación dicotómica con ápices redondeados. Escala = 5 mm.

(4) Ápices espatulados, nótese los márgenes dentados. Escala = 2 mm.

(5) Sección transversal de un talo presentando esporangios provenientes de una célula y presencia de pelos feofíceos, nótese medula monostromática. Escala = 100 μm.

Grupo 4: Morfos 15, 16, 19 y 22. Talos erectos de 17 cm de largo, color café, a veces con iridiscencia verde azulada, de consistencia suave al tacto. Los ápices son agudos. Con ramificación alternada, plana. Células corticales de 13-22 μm de largo, 11-24 μm de ancho. Células medulares monostromáticas de 85-105 de largo μm , 40-80 μm de ancho. Los anteridios son de 40-70 μm de alto, están agrupados en un soro de 50-60 μm de largo (Lámina 4).

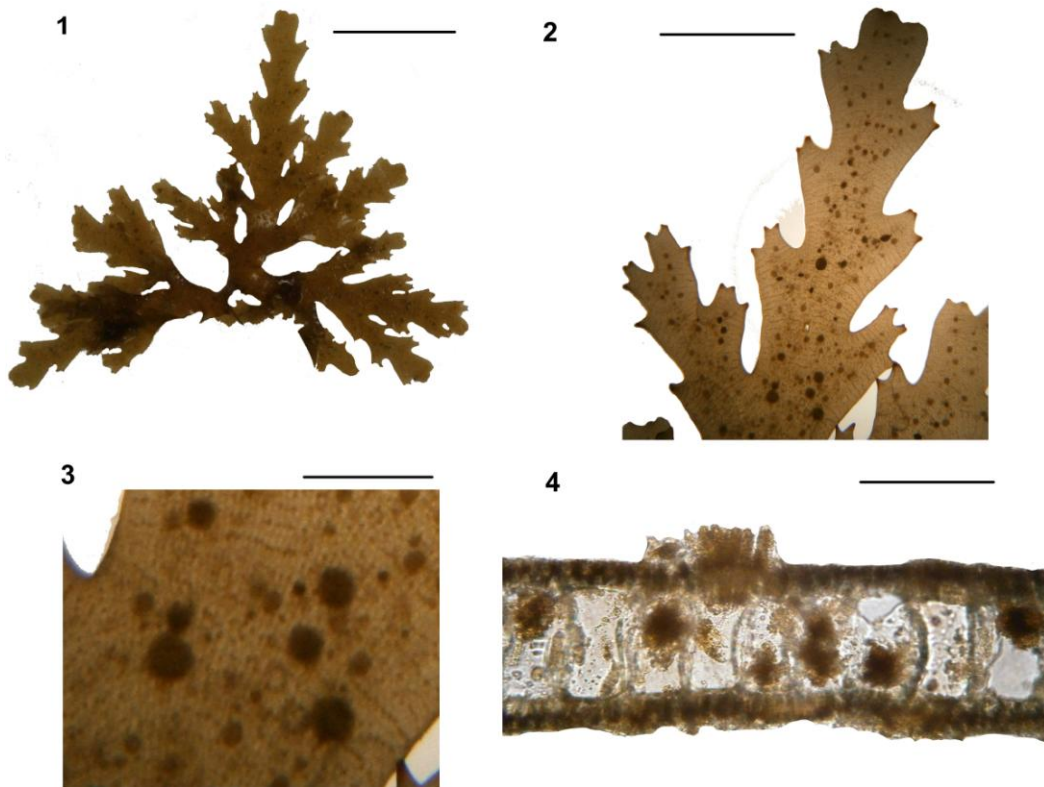


Lámina 4. *Dictyota* sp. 3. (1) Habito del morfo 19. Escala = 1cm.

(2) Detalle de ramificación alternada, nótese los ápices agudos. Escala = 3 mm.

(3) Detalle de zona interdicotómicas, nótese zona de anteridios. Escala = 5 mm.

(4) Sección transversal de un talo presentando anteridios, nótese medula monostromática. Escala = 100 μm .

Grupo 5: Morfo 28. Talos erectos de hasta 13 cm de largo, color café, con presencia de bandas pigmentadas rectangulares cerca de los ápices de color verde claro, de consistencia rígida al tacto. Los ápices redondeados, con ramificación dicotómica. Los márgenes son dentados, los dientes son triangulares, perpendiculares o ligeramente orientados hacia el ápice. De superficie lisa, a veces con proliferaciones. Los esporangios se encuentran solitarios en ambas superficies del talo. Células corticales de 22-60 μm de largo, 10-22 μm de ancho. Células medulares monostromáticas de 117-162 de largo μm , 45-70 μm de ancho. Los anteridios son de 55-79 μm de alto, están agrupados en un soro de 50-80 μm de largo. Los esporangios son de color café teniendo 74-109 μm de diámetro (Lámina 5).

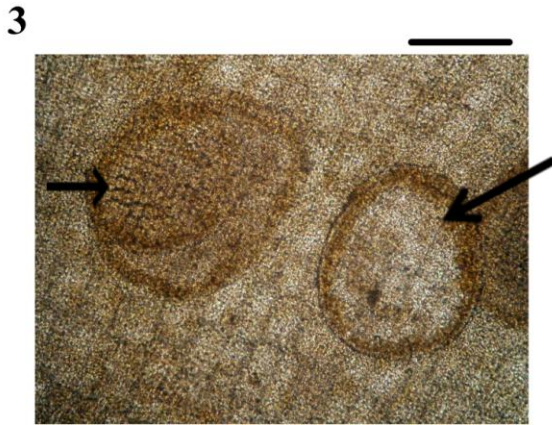
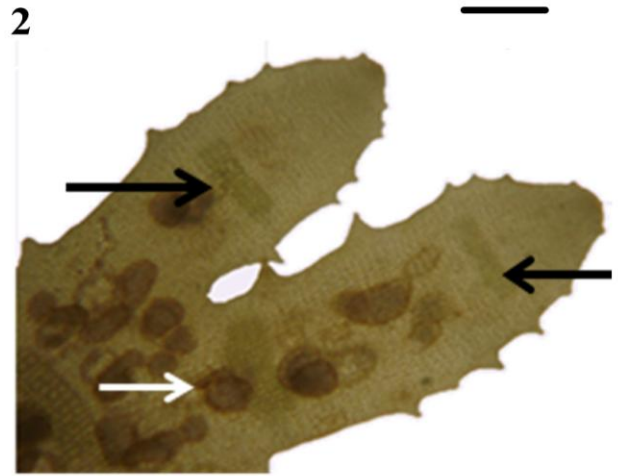


Lámina 5. *Dictyota canariensis*. (1) Habito de morfo 28. Obsérvese la ramificación dicotómica a irregular. Escala = 5 mm.

(2) Detalle de ápices con márgenes dentados. Nótese los rectángulos pigmentados (flechas negras) y soro anteridial (Flecha blanca). Escala = 1 mm.

(3) Vista superficial de soros anteridiales (Flechas negras). Escala = 100 μ m.

(4) Sección transversal de un talo presentando médula monostromática y anteridios. Escala = 50 μ m.

Grupo 6: Morfos 12 y 17. Talos erectos de hasta 15 cm de largo que forman arbustos, color café amarillento, de consistencia rígida al tacto. Los ápices son redondeados a obtusos, con márgenes lisos. La ramificación es alternada a irregular. De superficie lisa. Células corticales de 25-50 μm de largo, 10-20 μm de ancho. Presentan dos capas de celular medulares hacia los márgenes del talo y una capa hacia el centro (monostromática), de 100-120 de largo μm , 50-80 μm de ancho (Lámina 6).

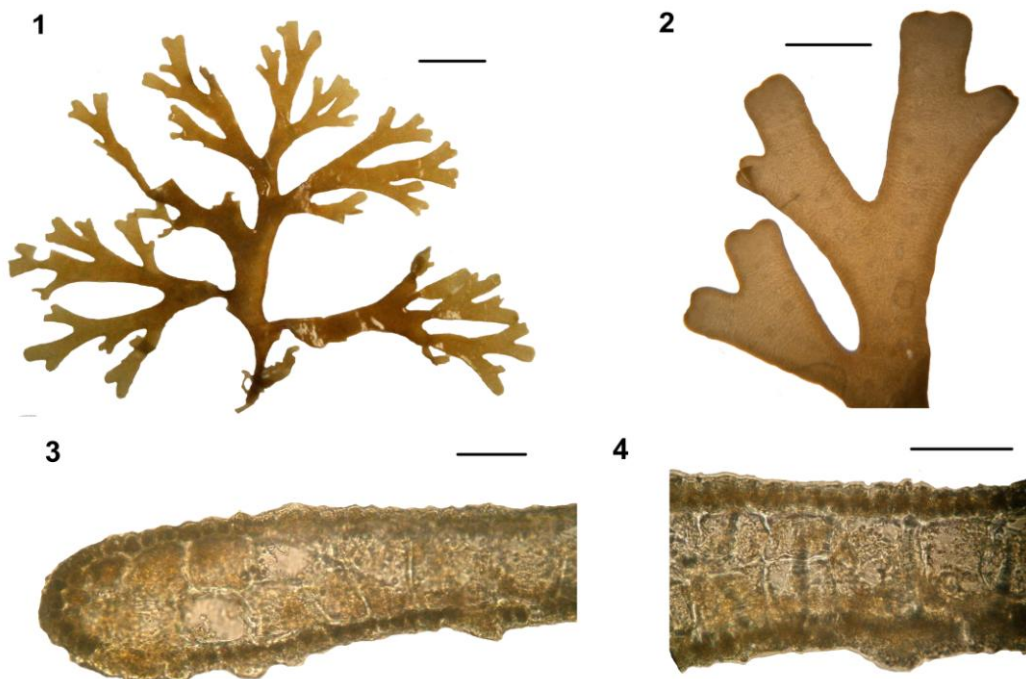


Lámina 6. *Dictyota pinnatifida*. (1) Habito del morfo 12. Escala = 1 cm.

(2) Detalle de ramificación alternada a irregular, nótese los ápices redondeados a obtusos. Escala = 2 cm.

(3) Sección transversal del margen de un talo, nótese dos capas de células medulares en el margen. Escala = 100 μm .

(4) Sección transversal de la zona media de un talo, nótese la zona de transición en la medula, de dos capas de células medulares a una. Escala = 100 μm .

Grupo 7: Morfos 10,11, 18 y 21. Talos erectos de hasta 18 cm de largo que forman densos arbustos, color café amarillento, de consistencia rígida al tacto. Los ápices son agudos u obtusos, con márgenes lisos. La ramificación es dicotómica a alternada, espiraladas. De superficie lisa. Células corticales de 25-45 μm de largo, 15-20 μm de ancho. Células medulares polistromáticas, presentando de 2 a 4 capas, de 95-120 de largo μm , 50-85 μm de ancho (Lámina 7).

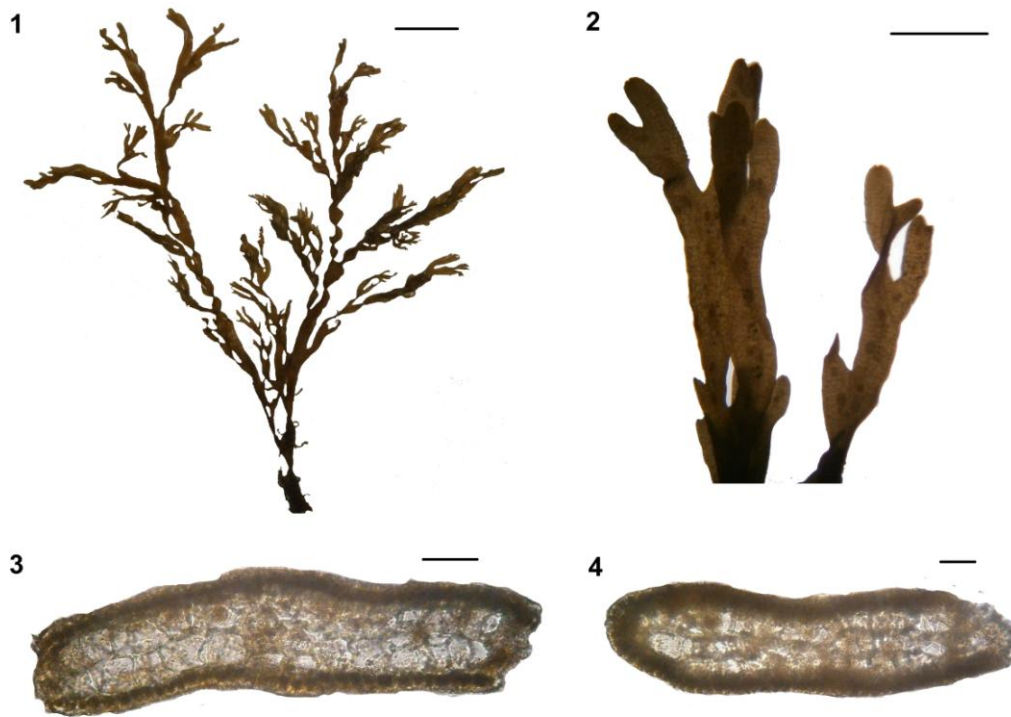


Lámina 7. *Dictyota guineensis*. (1) Habito del morfo 18. Escala = 1 cm.

(2) Detalle de ramificación dicotómica a alternada, nótese los ápices agudos a obtusos. Escala = 2 cm.

(3) Sección transversal de un talo en la porción distal, nótese dos capas de células medulares. Escala = 100 μm .

(4) Sección transversal de la zona media de un talo, nótese tres capas de células medulares. Escala = 100 μm .

Grupo 8: Morfos 25,27, 29 y 30. Talos erectos de hasta 15 cm de largo, color café, de consistencia rígida al tacto. Los ápices redondeados a agudos, con ramificación dicotómica a irregular. Los márgenes son dentados, en ocasiones hay porciones que pueden estar lisas, los dientes son triangulares diminutos, orientados perpendicularmente hacia el ápice. De superficie lisa. Los esporangios se encuentran solitarios en ambas superficies del talo. Células corticales de 25-65 μm de largo, 10-25 μm de ancho. Células medulares monostromáticas de 100-155 de largo μm , 60-125 μm de ancho. Los esporangios son de color café oscuro, teniendo 100-180 μm de diámetro (Lámina 8).

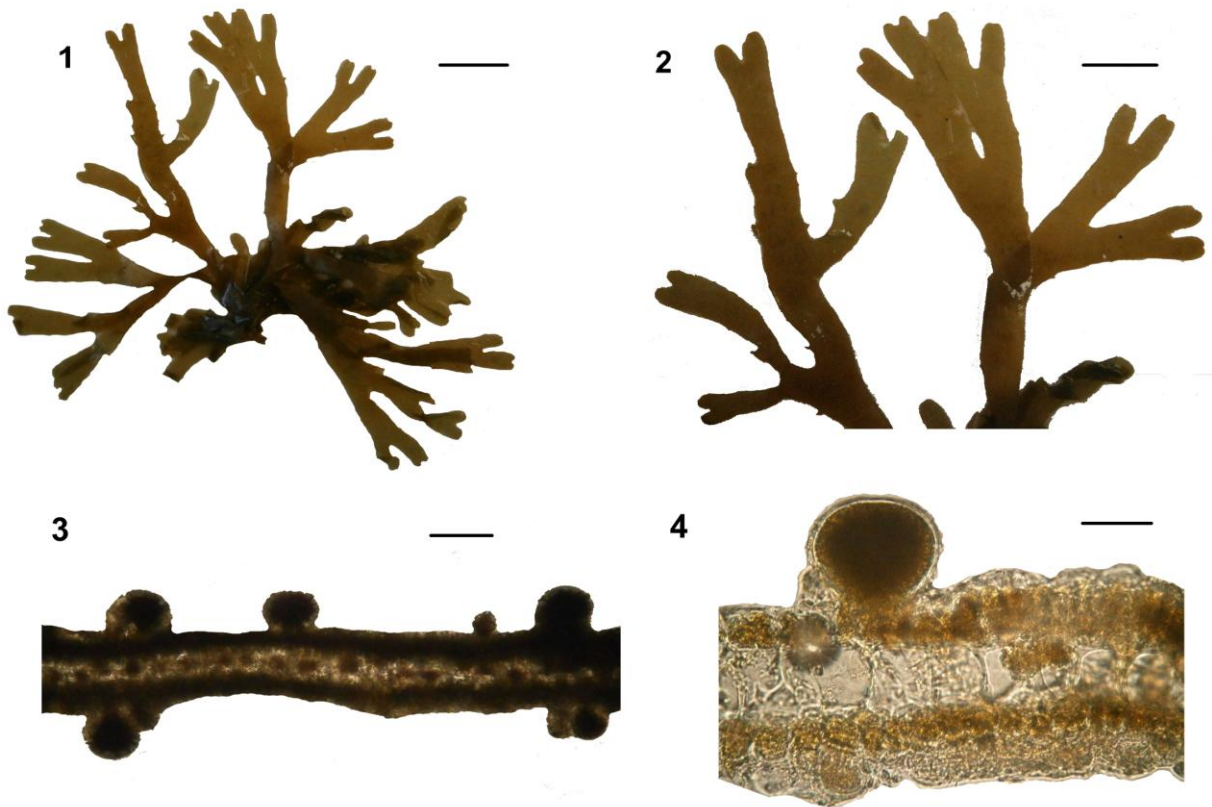


Lámina 8. *Dictyota ciliolata*. (1) Habito del morfo 29. Escala = 1 cm.

(2) Detalle de ramificación dicotómica a irregular, nótese los ápices redondeado y márgenes escasamente dentados. Escala = 5 mm.

(3) Sección transversal de un talo, nótese zona de esporangios en ambas superficies del talo. Escala = 100 μ m.

(4) Detalle de sección transversal de un talo presentando monosporangios proveniente de una célula, nótese medula monostromática. Escala = 50 μ m.

Grupo 9: Morfo 20. Talos erectos de hasta 5 cm de largo, color café claro, de consistencia suave al tacto. Los ápices son agudos, con ramificación dicotómica a irregular. De márgenes lisos con proliferaciones superficiales en la parte media del talo. Los esporangios se encuentran solitarios en la parte media del talo. Células corticales de 19-20 μm de largo, 9-10 μm de ancho. Células medulares monostromáticas de 80-103 de largo μm , 55-60 μm de ancho. Los esporangios son de color café oscuro, pueden estar en una o en ambas partes del talo, teniendo 90-95 μm de diámetro (Lámina 9).

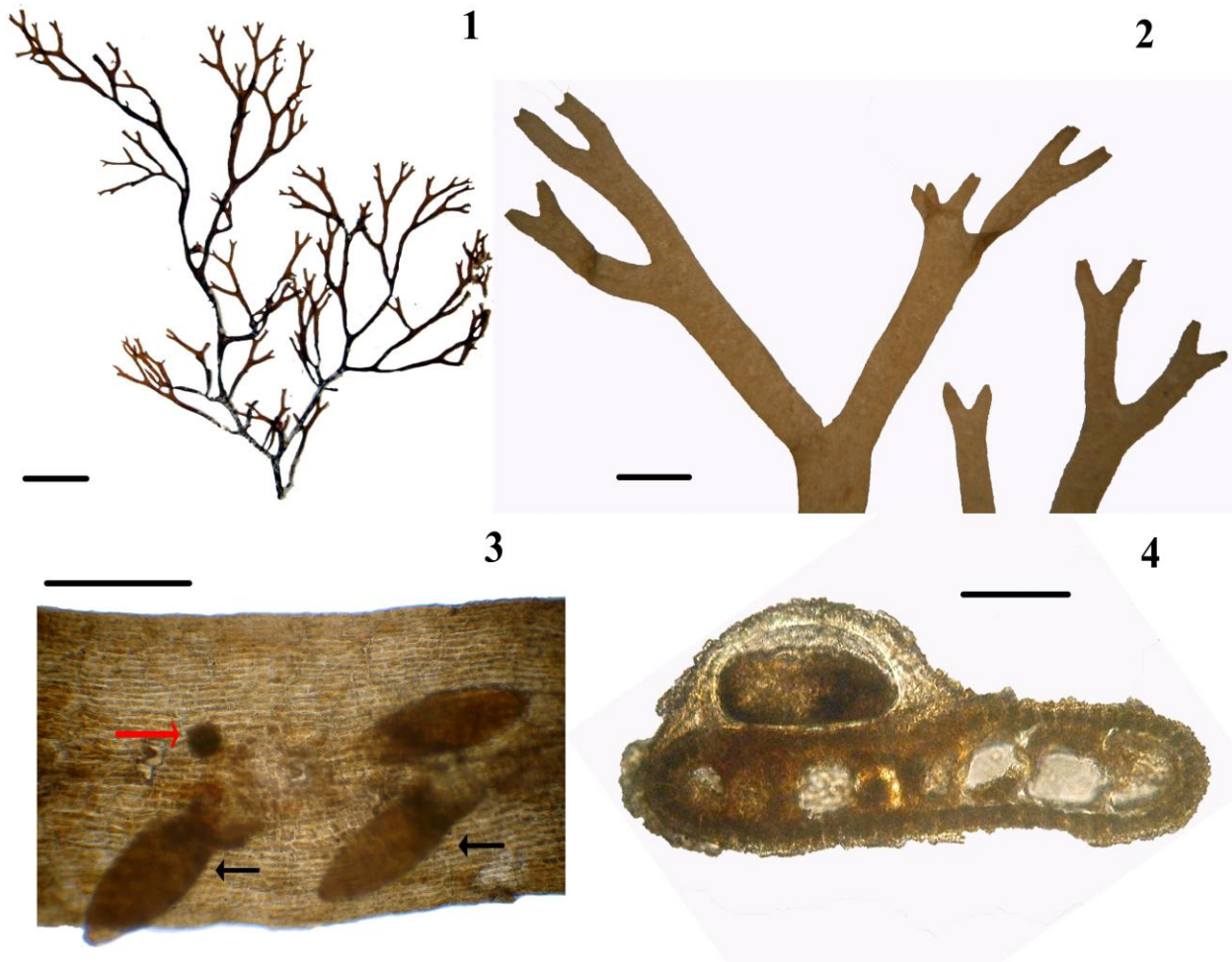


Lámina 9. *Dictyota* sp. 4. (1) Hábito del morfo 20. Escala = 1 cm.

(2) Detalle de ramificación dicotómica a irregular, nótese los ápices agudos y los márgenes lisos. Escala = 1 mm.

(3) Nótese las proliferaciones sobre el talo (flechas negras) y monosporangio (flecha roja). Escala = 400 μ m.

(4) Detalle de sección transversal de un talo presentando monosporangios proveniente de múltiples células, nótese medula monostromática. Escala = 50 μ m.

Grupo 10: Morfo 14. Talos erectos de 10 cm de largo, color café, con iridiscencia verde azulada, de consistencia rígida al tacto. Los ápices redondeados a obtusos. Con ramificación alternada, ligeramente espiraladas. Células corticales de 15-20 μm de largo, 10-25 μm de ancho. Células medulares monostromáticas de 80-100 de largo μm , 45-85 μm de ancho (Lámina 10).



Lámina 10. *Dictyota mertensii*. (1) Habito de morfo 14. Escala = 1 cm.

(2) Detalle de ramificación distal de un talo. Nótese los ápices redondeados a obtusos y los márgenes lisos. Escala = 4 mm.

(3) Detalle de ramificación alternada. Escala = 2 mm.

(4) Sección transversal de un talo, nótese medula monostromática. Escala = 100 μm .

Grupo 11: Morfo 23. Talos erectos de 4 cm de largo, color café, con iridiscencia verde azulada, de consistencia suave al tacto, con márgenes lisos. Los ápices son redondeados a obtusos. Con ramificación dicotómica, plana. Los esporangios están agrupados en la parte media del talo. Células corticales de 40-43 μm de largo, 17-19 μm de ancho. Células medulares monostromáticas de 190-200 μm de largo, 78-83 μm de ancho. Los esporangios son de color café oscuro, pueden estar en una o en ambas partes del talo, teniendo 95-100 μm de diámetro. Los anteridios son de 60-65 μm de alto, están agrupados en un soro de 360-380 μm de largo (Lámina 11).

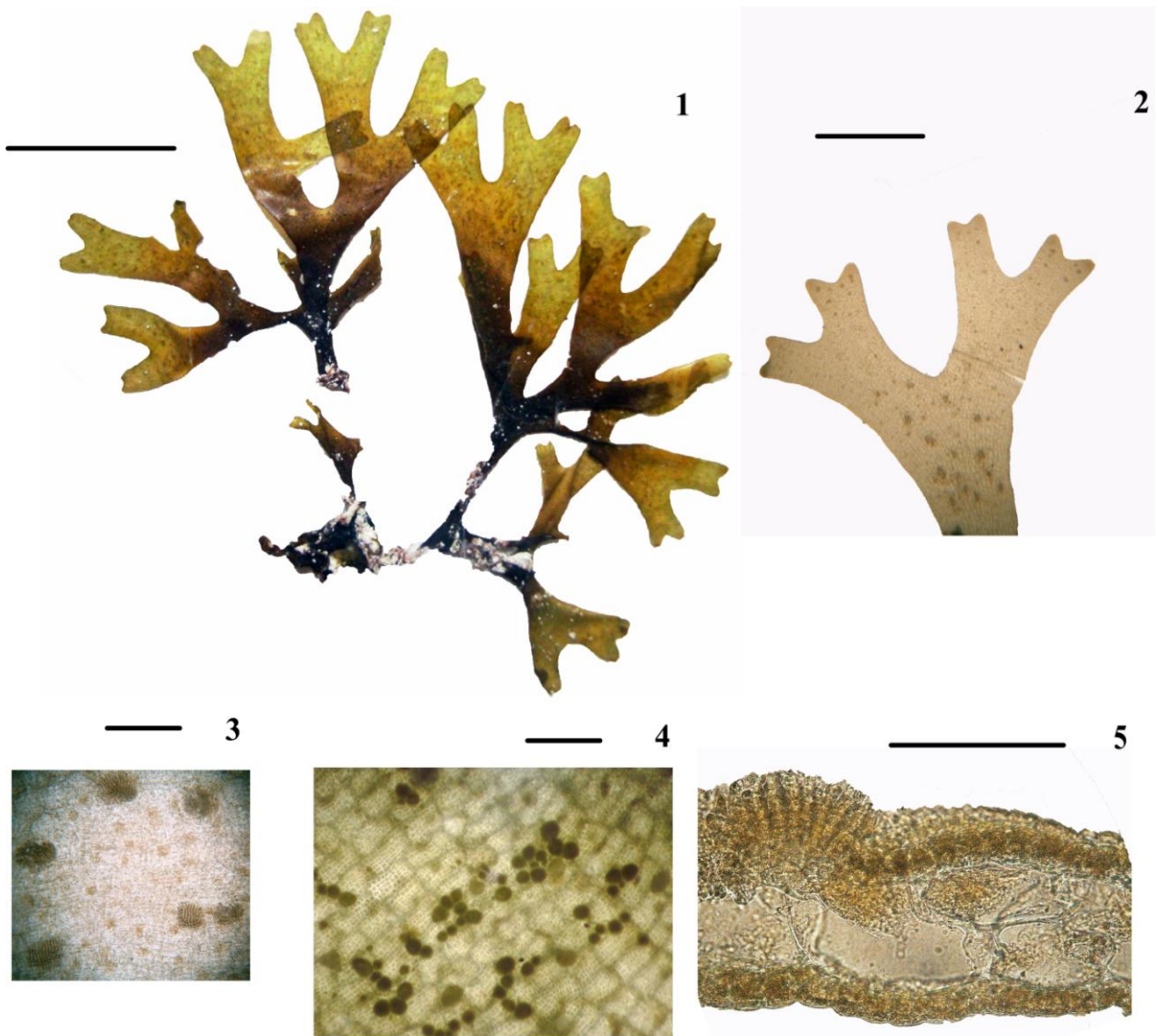


Lámina 11. *Dictyota* sp. 5. (1) Hábito de morfo 23.

(2) Detalle de ramificación dicotómica, nótese los ápices obtusos y márgenes lisos. Escala = 5 mm.

(3) Vista superficial de un talo, nótese zona de anteridios. Escala = 300 μ m.

(4) Vista superficial de un talo, nótese zona de esporangios. Escala = 500 μ m.

(5) Detalle de sección transversal de un talo soro anteridial, nótese medula monostromática. Escala = 100 μ m.

Discusión

De acuerdo a los resultados de los análisis filogenéticos, análisis morfológicos y los intervalos de valores de DN, (en los niveles interespecíficos e intergenéricos) de los genes *cox1* y *psbA* registrados por Tronholm *et al* (2010a-b), se sugiere que: los morfos 4, 7, 24, 26, 31, 32 y 33 corresponden con la especie de *Canistrocarpus cervicornis*. Esta especie anteriormente se conocía como *D. cervicornis*, pero los análisis moleculares realizados por De Clerck *et al.*, (2006) lo reubicaron en un nuevo género. De acuerdo a su distribución, como mencionan los autores Littler & Littler, (2000); Ortega & Garduño (2001); Wynne (2011), esta especie ya había sido registrada en el Atlántico mexicano.

Los morfos 2, 3 y 5 debido a sus valores de divergencia nucleotídica altos (Tabla 4 y 5), al alto soporte de clados resultado de los análisis filogenéticos y a los análisis morfológicos, se podrían considerar una nueva entidad taxonómica, a la que se nombró *Dictyota* sp. 1. Al ser una especie dentada se comparó morfológicamente con las especies dentadas *D. canariensis*, *D. ciliolata* y *D. jamaicensis* (Littler y Littler, 2000; Ortega & Garduño, 2001; Wynne, 2011; Lozano *et al.*, 2014) que se encuentran en el Atlántico mexicano, y se pudo observar que estos morfos tienen como característica que los hace diferenciarse de las demás especies, el no presentar iridiscencia y pigmentaciones en el talo, los “dientes” son triangulares pequeños, a espinosos, la superficie de las ramas es lisa y carecen de pelos feofíceos. Basándonos en los criterios tomados por Tronholm *et al.* (2008, 2010a-b,

2013); determinamos que estos morfos constituyen una nueva especie del género *Dictyota*.

El morfo 1, al que se citó como *Dictyota* sp. 2, procedente de Villa Rica Veracruz, obtuvo más de 3.2 % de DN con respecto a las demás especies de *Dictyota* para el gen *psbA*, con este dato se podría considerar inicialmente como una nueva entidad taxonómica, sin embargo esta muestra no se logró amplificar para el gen *cox1*. Como se observó en este trabajo, este gen tiene un éxito de amplificación del 60 % con los primers empleados (Tabla 3), por lo que para obtener la secuencia faltante se tendría que intentar con diferentes primers o incluso amplificar con otros genes para poder tener más información que nos pueda corroborar si efectivamente es una nueva entidad taxonómica o pudo haber un error al secuenciar la muestra. Morfológicamente coincide con los morfos 2, 3 y 5 que constituyen una nueva entidad taxonómica, por lo que podría tratarse de una especie críptica y es imperante realizar más estudios en este morfo.

Los morfos 15, 16, 19 y 22 al tener una DN en los genes *psbA* y *cox1* dentro de los límites interespecíficos (Tronholm *et al.*, 2010a-b) y observar un alto soporte de clados en los análisis filogenéticos, se considera que estas muestras representan una nueva entidad taxonómica, a la que se denominó *Dictyota* sp. 3. Esta muestra tiene la característica de que a simple vista es cf. *D. mertensii*, debido a su dicotomía alternada y a la presencia de iridiscencia verde azulada por lo que estos especímenes probablemente han sido confundidos con esta especie, pero al hacer los análisis morfológicos el carácter más marcado que se observa para hacer la

diferenciación entre *D. mertensii* y los morfos es la forma de los ápices, ya que en estos últimos son de forma aguda y en *D. mertensii* son ampliamente redondeados.

De acuerdo a los datos obtenidos determinamos que los morfos 6, 8, 9 y 13 junto con *D. jamaicensis* y *D. pleiakantha*, conforman una misma entidad taxonómica: *D. jamaicensis*, ésta se ha determinado con base en que la DN para ambos genes se encuentra dentro de los niveles interespecíficos según lo mencionado por Tronholm *et al.* (2010a-b). En los análisis filogenéticos se encontró un alto soporte del clado en donde se agruparon estos especímenes. Tronholm *et al.*, (2012, 2013) propusieron como nueva especie a *Dictyota pleiakantha*, aunque en estas publicaciones no citan la DN con respecto a las demás especies y en sus análisis filogenéticos podemos observar una topología similar a la encontrada en este estudio. Morfológicamente no quedan claras las diferencias entre esta y *D. jamaicensis*, ya que los caracteres que emplea para diferenciarlos son: que ambas no tienen iridiscencia, que *D. jamaicensis* “a veces” puede tener pigmentaciones en forma de triangulo invertido en la dicotomías y *D. pleiakantha* “regularmente”, la forma de los ápices en *D. jamaicensis* es de forma “espatulada” y en *D. pleiakantha* es “espatulada”, redondeada o elongada y que los esporangios se encuentran en *D. jamaicensis* solitarios o agrupados “principalmente” en una sola superficie y en *D. pleiakantha* en ambas superficies. Claramente se puede ver que los caracteres empleados para diferenciar estas especies son subjetivos ya que se sobreponen, esto producto de la plasticidad fenotípica de este género (Tronholm *et al.*, 2010a-b). Con lo anteriormente citado se requiere reevaluar la circunscripción de *D. pleiakantha*.

En lo que corresponde a los morfos 20 y 23, al tener su DN dentro de los límites interespecíficos, pero no coincidir con ninguna especie del género en el plano intraespecífico y no tener caracteres morfológicos que lo ubiquen con otras especies del género, se considera ubicarlas como nuevas entidades taxonómicas.

En los análisis filogenéticos el morfo 20, al que se denominó *Dictyota* sp. 4, se ubicó con *D. acutiloba* teniendo un alto soporte de clado, sin embargo no coinciden en sus caracteres morfológicos, asimismo *D. acutiloba* tiene una distribución exclusiva del Océano Pacífico. *Dictyota* sp. 4 tiene como caracteres morfológicos particulares, el presentar un talo de tamaño de 4 a 5 cm de largo, un ancho de ramas de 4 a 5 mm, sin iridiscencia y con proliferaciones en la mitad del talo.

Por otro lado el morfo 23 (*Dictyota* sp. 5.) en los análisis filogenéticos se relacionó con *D. ceylanica*, *D. mediterranea* y *D. fasciola*, no obstante la primera tiene una distribución en el Océano Pacífico y las últimas en el Atlántico europeo y Mar mediterráneo respectivamente. *Dictyota* sp. 5 en su morfología se caracteriza por tener un tamaño de 2 a 5 cm de largo y presentar iridiscencia verde azulada en los márgenes, sin presencia de pelos feofíceos.

En el caso del morfo 28 en todos los análisis filogenéticos se agrupa con *D. canariensis* con un alto soporte de clados, en la DN se ubica dentro de los límites intraespecíficos con esta especie y morfológicamente comparte en su mayoría los caracteres de *D. canariensis*, la variación que se encontró fue que en la especie mexicana la orientación de los dientes esta dirigida hacia los ápices y en *D.*

canariensis están orientados perpendicularmente al talo. También en este morfo se observaron por primera vez estructuras reproductoras para el género, ya que en la publicación de Tronholm et al. (2013) donde se describe esta especie, no se encontraron. *Dictyota canariensis* solo se había registrado en Islas canarias y Cabo Verde, por lo que este estudio representa el primer registro para el Atlántico mexicano.

Los morfos 10, 11, 18 y 21 a pesar de que sólo se pudieron amplificar con el gen *psbA*, al relacionar los análisis filogenéticos, morfológicos y DN, se encontró que corresponden con *D. guineensis*. Esta especie no tiene secuencias en el GenBank para ningún gen, las que se incluyeron en este trabajo fueron las proporcionadas por el Doctor Olivier De Clerck del grupo de Investigación de Ficología, Departamento de Biología, Universidad de Gent, Bélgica. *Dictyota guineensis* se caracteriza por presentar una distribución en el Caribe mexicano (Littler & Littler, 2000; Ortega & Garduño, 2001; Wynne, 2011), mismo lugar donde se encontraron estos morfos.

En cuanto a los morfos 12 y 17, tomando en cuenta los análisis filogenéticos y valores de DN, se considera que pertenecen a la especie *D. pinnatifida*. Esta especie se caracteriza por tener color café amarillento, ramificación alternada a irregular presentar dos capas de celular medulares hacia los márgenes del talo (Littler & Littler, 2000), caracteres que tienen los morfos citados anteriormente.

Los morfos 25, 27, 29 y 30, como resultado de los análisis filogenéticos y valores de DN, se determinó pertenecen a la especie *D. ciliolata*. Los morfos se caracterizan por

ser de color café, consistencia rígida al tacto, tener márgenes son dentados, los dientes son triangulares diminutos que son caracteres que tiene *D. ciliolata* (Tronholm *et al.*, 2013). Además su distribución coincide con lo citado por Ortega & Garduño (2001) y Wynne (2011).

Finalmente el morfo 4 se agrupa en los análisis filogenéticos con *D. mertensii* con un alto soporte de clados, y los valores de DN se ubican dentro de los límites intraespecíficos con esta especie. El morfo 4 posee color café, con iridiscencia verde azulada y ápices redondeados a obtusos, con ramificación alternada que son característicos de *D. mertensii* (Littler & Littler, 2000).

Conclusiones

Por medio de los análisis de filogenia molecular y los valores de DN se determinó la presencia de 12 entidades taxonómicas, de las cuales en siete hay correspondencia con nombres válidos (*Canistrocarpus cervicornis*, *D. canariensis*, *D. ciliolata*, *D. guineensis*, *D. jamaicensis*, *D. mertensii* y *D. pinnatifida*) y cinco corresponden a posibles nuevas especies (*Dictyota* sp. 1-5).

De las doce entidades taxonómicas propuestas a partir de los análisis de filogenia molecular, solo *Dictyota* sp. 1 y *Dictyota* sp. 2 coinciden en sus caracteres morfológicos, por lo que se les considera especies crípticas.

La situación taxonómica de *D. pleiakantha* debe de ser reevaluada ya que los valores de DN y los caracteres morfológicos de esta especie se traslapan con *D. jamaicensis*.

Con lo anterior y a manera de complementar la información taxonómica y florística, se generó una clave de identificación de las entidades propuestas, la cual se muestra a continuación:

Clave de identificación para las especies del género *Dictyota* del Atlántico mexicano.

1a. Talo con márgenes dentados	2
1b. Talo con márgenes lisos	3
2a. Dientes triangulares orientados hacia el ápice, con banda rectangulares pigmentadas de color verde cerca de los ápices	<i>D. canariensis</i>
2b. Dientes espinosos a irregulares con ápices espatulados	<i>D. jamaicensis</i>
2c. Dientes triangulares a espinosos, con ápices redondeados.	<i>Dictyota</i> sp. 1
2d. Dientes triangulares diminutos, orientados perpendicularmente hacia el ápice, márgenes con porciones lisas.	<i>D. ciliolata</i>
3a. Células medulares polistromáticas, presentando de 2 a 4 capas.	<i>D. pinnatifida</i>
3b. Células medulares polistromáticas, presentando 2 capas en los márgenes.	<i>D. guineensis.</i>
3c. Células medulares monostromáticas con ramificación dicotómica a irregular	<i>Dictyota</i> sp. 4
3d. Células medulares monostromáticas con ramificación dicotómica e iridiscencia verde azulada.	<i>Dictyota</i> sp. 5
3e. Células medulares monostromáticas con ramificación alternada e iridiscencia	4
4a. Borde de los ápices agudos	<i>Dictyota</i> sp. 3
4b. borde de los ápices redondeados	<i>D. mertensii</i>

Abstract: The brown alga *Dictyota canariensis* (Grunow) Tronholm has so far been reported only from the eastern Atlantic Ocean (Canary Islands, Cape Verde, Madeira). In the present work, we record the species for the first time from the shores of the Gulf of Mexico, occurring in Montepío, Veracruz. The specimens were collected in December 2011 and October 2013, growing in the intertidal zone on moderately exposed rocky shores. To confirm the identification, we conducted phylogenetic analyses, combining the partial sequences of *psbA* and *cox1* genes of 17 taxa. The low uncorrected “p” distance values obtained between Mexican and Canary Island specimens for each gene (0.3% for *psbA* and 1.8% for *cox1*) are indicative that these specimens most likely belong to the same species. The low genetic divergence is corroborated by morphological observations, which show that the Mexican specimens share the presence of rectangular pigmented patches near the rounded to obtuse apices, margins with triangle-shaped teeth, and a monostromatic medulla with *D. canariensis*. Additionally, male reproductive structures are described for the first time for this species.

Keywords: *cox1*; *Dictyota canariensis*; Mexican Atlantic; *psbA*; taxonomy.

Introduction

As is the case for many algal genera, delimiting species in the brown algal genus *Dictyota* J.V. Lamouroux based on morphological characters alone is a challenging undertaking. Our inability to distinguish morphological plasticity from fixed diagnostic traits that separate the various species resulted in a long and troubled taxonomic history (De Clerck 2003, Tronholm et al. 2010a). Approximately 76 species, distributed in temperate to tropical environments, are currently recognized (Solé and Foldats 2003, Tronholm et al. 2010a, Guiry and Guiry 2014). In Mexico, 19 species of *Dictyota* have been reported, 12 of which are present in the Mexican Atlantic region (Ortega et al. 2001, Mendoza-González et al. 2011, Cetz-Navarro et al. 2008, Pedroche et al. 2008).

Recent studies combining DNA-based species delimitation techniques with detailed morphological observations (Tronholm et al. 2010a,b, 2012, 2013) have greatly advanced our understanding of species diversity in the genus and have consequently refined biogeographic ranges of the individual species. For example, Tronholm et al. (2012, 2013) largely clarified the taxonomy of Atlantic and Pacific *Dictyota* species with dentate margins, which were traditionally assigned to either *Dictyota crenulata* J. Agardh or *Dictyota ciliolata* Sonder ex Kützinger. *Dictyota crenulata* J. Agardh, although frequently reported from Pacific Central America and both the western and the eastern Atlantic Ocean, was shown to consist of a complex of species, most of which were thought to be geographically restricted to specific regions. Consequently, the authors concluded that genuine *D. crenulata* is confined to the Central American Eastern Pacific shores, while the Atlantic species segregate into the amphi-Atlantic *Dictyota jamaicensis* W.R. Taylor, *Dictyota canariensis* (Grunow) Tronholm and *Dictyota pleiacantha* Tronholm. The latter two species were reported to be restricted to Macaronesia.

In this study, we focus on a number of specimens, collected along the Gulf shores of Mexico, which are morphologically close to *D. canariensis*. The latter has, so far, been reported only from the Canary Islands, Cape Verde, and Madeira in the Eastern Atlantic (Tronholm et al. 2013). The

*Publicado como: Lozano-Orozco, J.G. Sentiés, A., Diaz-Larrea, J., Pedroche, F. y De Clerck, O. 2014. The occurrence of *Dictyota canariensis* (Dictyotales, Phaeophyceae) in the Gulf of Mexico. *Botanica Marina*. 57: 359-365.

species is morphologically very similar to other Atlantic dentate species formerly considered as *D. crenulata* but is characterized by rectangular or square-like pigmented patches near the apices, regularly dentate margins, these with triangle-shaped teeth, rounded to obtuse apices, and the frequent occurrence of surface proliferations. We use gene sequence data as well as morphological observations to investigate the relationships of the Mexican specimens to Macaronesian thalli.

Materials and methods

The two specimens sequenced in the present study were collected at Montepío, Veracruz (18.6457°N, 95.0954°W), in December 2011 by J.G. Lozano-M.L. Núñez and in October 2013 by H. Leon-L. Gonzalez, and fixed in a 4% formalin solution. The collected thalli were examined using a Leica stereomicroscope (Leica MZ 12.5, Wetzlar, Germany). Transverse sections of the apical, middle, and basal portions were made by hand with a stainless steel razor blade under a stereomicroscope to observe microscopic features. Photomicrographs were taken with an Olympus Vg-160 digital camera (Tokyo, Japan) coupled to a Nikon Eclipse E200 microscope (Tokyo, Japan). The voucher specimens were deposited in UAMIZ Herbarium with number UAMIZ1226 (samples collected in 2011) and UAMIZ1227 (samples collected in 2013).

Total DNA was extracted from silica gel-preserved material using a DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) following the manufacturer's instructions. A total of 956 base pairs of the *psbA* gene were amplified with the primers *psbA* F and *psbA* R (Silberfeld et al. 2010), and 672 base pairs were amplified for *cox1* with the primers Gaz 1 R and Gaz 1 F (adapted from Saunders 2005), using the AmpliTaq kit of Applied Biosystems (Lincoln Centre Drive Foster City, CA, USA). All PCR products were checked for their correct length by electrophoresis on a 1% agarose gel. The PCR products were purified and sequenced by Macrogen (Gasan-dong, Seoul, Korea). Alignments for *psbA* and *cox1* sequences were constructed using MEGA version 5 (Tamura et al. 2011). The new sequences and collection details of the specimens used in the phylogenetic analysis are provided in Table 1.

Phylogenetic relationships were inferred using a concatenated matrix (1626 nt) of both genes including 17 taxa (*psbA*=956 bp; *cox1*=670 bp; Table 1). *Scoresbyella profunda* Womersley, *Canistrocarpus cervicornis* (Kützting) J.C. De Paula et O. De Clerck and *C. crispatus* (Lamouroux) J.C. De Paula et O. De Clerck were included as outgroup

taxa based on results obtained by De Clerck et al. (2006). The range of uncorrected "p" distances of *psbA* and *cox1* sequences within and among species was calculated using MEGA 5 (Tamura et al. 2011). Phylogenetic trees were inferred using Bayesian and traditional maximum likelihood analyses. A Bayesian tree was generated with MrBayes v.3.0 beta 4 software (Ronquist and Huelsenbeck 2003) using the general time-reversible model of nucleotide substitution with invariant sites and γ -distributed rates for the variable sites (GTR+I+G). This model was selected based on a maximum likelihood (ML) ratio test implemented in jModelTest 0.1.1 (Posada 2008). For the Bayesian analysis, we ran five chains of the Markov chain Monte Carlo (one hot and four cold), sampling one tree every 1000 generations for 5×10^6 generations starting with a random tree. A maximum likelihood (ML) tree was inferred using TOPALI v2 (Milne et al. 2009) with the GTR+I+G model. Nonparametric bootstrap analyses (Felsenstein 1985) were conducted with 100 replicates.

Results

Morphological analyses: *Dictyota canariensis* (Grunow) Tronholm (Figure 1–8)

Type locality

Canary Islands, Spain (see De Clerck 2003: 166).

Dictyota canariensis displays a blue-greenish iridescence *in vivo*; rectangular pigmented patches are often present near the apices; margins are dentate with triangular teeth; apices are rounded to obtuse; surface proliferations are frequently observed. The medulla is monostromatic over the whole thallus length, and sporangia are scattered on both thallus surfaces. Antheridial sori are surrounded by unicellular paraphyses (Table 2).

Specimens were collected from low-intertidal pools and the shallow sublittoral of a moderately exposed shore. Thalli grew either epilithically or were attached to rock covered with coarse sand.

Phylogenetic analysis

A total of 17 sequences were analyzed. Maximum likelihood and Bayesian trees of the *psbA* and *cox1* genes were virtually identical (results not shown). Additionally, we carried out phylogenetic analyses, combining the partial sequences of *psbA* and *cox1* genes of 17 taxa (Figure 9).

Table 1 Taxa used in this study for phylogenetic analysis.

Samples	Collection sites		GenBank accession numbers	
	<i>psbA</i>	<i>cox1</i>	<i>psbA</i>	<i>cox1</i>
<i>Canistrocarpus cervicornis</i> (Kützing) De Paula et De Clerck	Tenerife, Canary Islands, Spain	Negros Oriental, Philippines	GQ425187	n.a.
<i>Canistrocarpus crispatus</i> (J.V. Lamouroux) De Paula et De Clerck	Tiwi, Kenya	Negros Oriental, Philippines	GU265787	GQ425137
<i>Dictyota canariensis</i> (Grunow) Tronholm	Tenerife, Canary Islands, Spain	Tenerife, Canary Islands, Spain	JQ061018	JQ061098
<i>D. canariensis</i> (Grunow) Tronholm	Veracruz, Mexico (UAMIZ1226)	Veracruz, Mexico (UAMIZ1226)	KF322229	KF322228
<i>D. canariensis</i> (Grunow) Tronholm	Veracruz, Mexico (UAMIZ1227)	Veracruz, Mexico (UAMIZ1227)	n.a.	n.a.
<i>Dictyota caribaea</i> Hörnig et Schnetter	Santa Cruz del Sur, Cuba	Jamaica	JQ061059	EU395608
<i>Dictyota crenulata</i> J. Agardh	Baja California, Mexico	Baja California, Mexico	JU265782	JQ061032
<i>Dictyota cymatophila</i> Tronholm, M. Sanson et Afonso-Carrillo	Tenerife, Canary Islands, Spain	Tenerife, Canary Islands, Spain	GQ425193	GQ425128
<i>Dictyota flabellata</i> (Collins) Setchell et N.L. Gardner	Bahia de Los Angeles, Baja California, Mexico	Bahia de Los Angeles, Baja California, Mexico	n.a.	n.a.
<i>Dictyota jamaicensis</i> W.R. Taylor	St. Ann Parish, Jamaica	Punta Cana, Dominican Republic	EU395608	JQ061099
<i>Dictyota implexa</i> (Desfontaines) J.V. Lamouroux	Provence Cassis, France	Provence Carry-le-Rouet, France	GU255800	GQ425135
<i>Dictyota mertensii</i> (Martius) Kützing	Punta Cana, Dominican Republic	Punta Cana, Dominican Republic	JQ061065	GQ425130
<i>Dictyota pinnatifida</i> Kützing	Isla de Margarita, Venezuela	St. Ann Parish, Jamaica	JQ061073	GQ425126
<i>Dictyota pleiacantha</i> Tronholm	Tenerife, Canary Islands, Spain	Tenerife, Canary Islands, Spain	JQ061052	JQ061100
<i>Dictyota sandvicensis</i> Sonder ex Kützing	Oahu, Hawaii, USA	Oahu, Hawaii, USA	JQ061078	GU290239
<i>Dictyota spiralis</i> Montagne	Algarve, Portugal	Languedoc-Roussillon, France	JQ061079	GU290235
<i>Scoresbyella profunda</i> Womersley	Western Australia, Australia	Western Australia, Australia	EU395620	GQ425121

n.a., data not available.

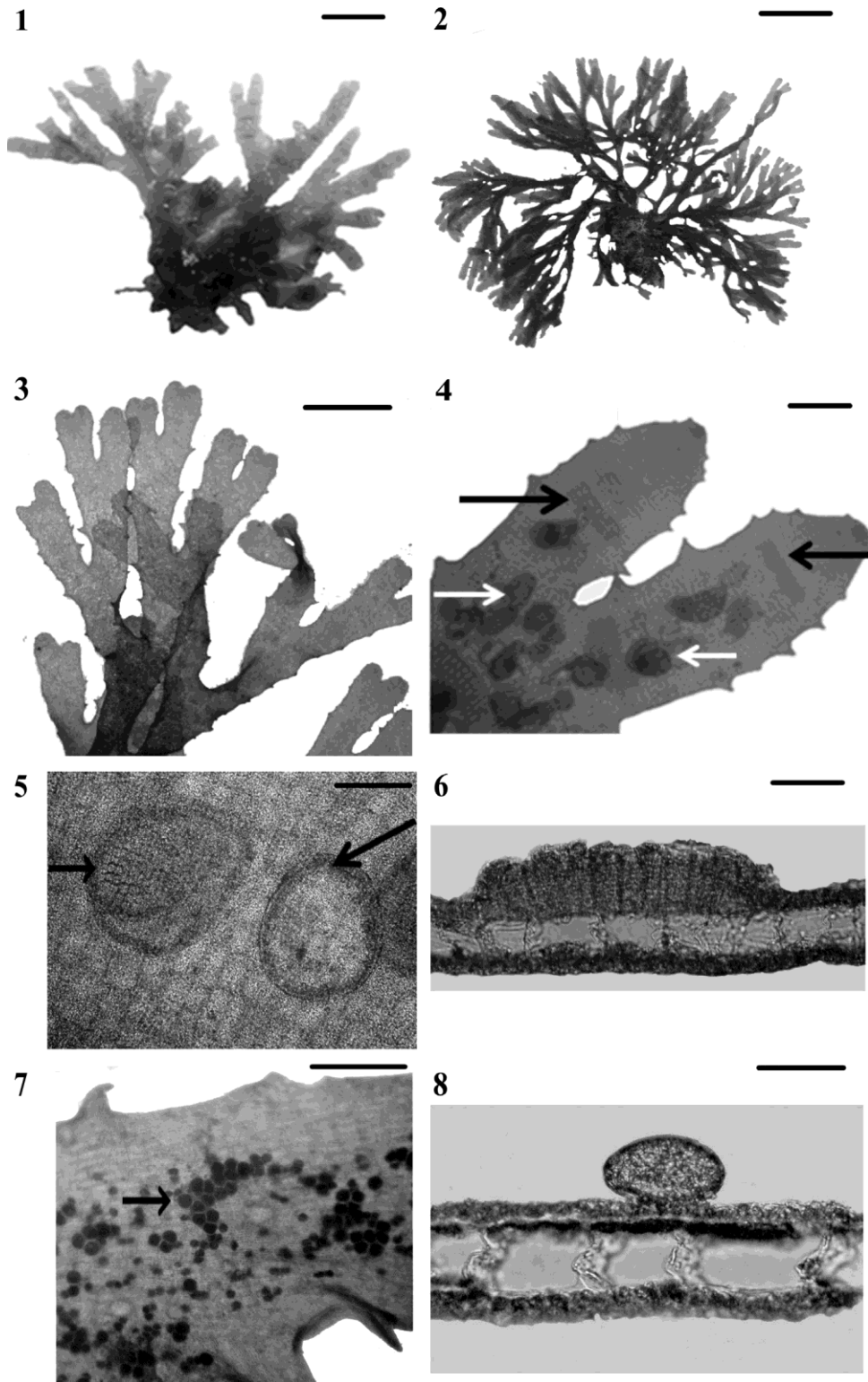
The topology obtained showed that our Mexican specimens formed a fully supported monophyletic clade with the Mexican algal flora, *D. canariensis* can be confused with the *Dictyota canariensis* sequence from the Canary Islands. The low uncorrected “p” distances obtained from the comparison of *D. canariensis* specimens from Mexico and the Canary Islands showed low levels of genetic variation (0.3% for *psbA* and 1.8% for *cox1*), suggesting that both specimens represent the same taxonomic entity.

Discussion

Although *Dictyota canariensis* has until now been reported only from Macaronesia (Tronholm et al. 2013), the morphological characters reported for this species agree with our results (Table 2). The shape of the apices, the presence and the shape of the marginal teeth, and the occurrence of pigmented patches near the apices serve as diagnostic morphological characters, distinguishing *D. canariensis* from morphologically similar species (Tronholm et al. 2013). Additionally, we report for the first time male reproductive structures in this species that complement information on its vegetative morphology and can serve as characters to

differentiate it from other species. Being a new report for the Mexican algal flora, *D. canariensis* can be confused with the *Dictyota ciliolata* and *Dictyota jamaicensis* (Ortega et al. 2001, Mendoza-González et al. 2011, Cetz-Navarro et al. 2008), but unlike *D. canariensis*, these species have differently shaped apices and teeth. Also, *D. ciliolata* often displays a transverse banding pattern (De Clerck 2003), which is absent in *D. canariensis* (Tronholm et al. 2013). Although the marginal teeth of *D. jamaicensis* may be similar to those observed in *D. canariensis*, the shape of these is usually larger, and the species lacks surface proliferations on the thallus surface. Furthermore, *D. jamaicensis* sometimes has inverted triangular dark patches at the branch dichotomies. These have never been observed for *D. canariensis*.

The phylogenetic results clearly ally the Mexican samples with GenBank sequences of *D. canariensis* (Figure 9). The uncorrected distances separating the Mexican specimens from the Macaronesian specimens were 0.3% for *psbA* and 1.8% for *cox1* gene. These values are considered within the range of intraspecific distances reported in the literature for Dictyotales (Hwang et al. 2004, Tronholm et al. 2012). In accordance with current



Figures 1–8 *Dictyota canariensis*.

(1) Habit of a specimen with dichotomous to somewhat irregular branching (UAMIZ1226). Scale bar=5 mm. (2) Habit (UAMIZ1227). Scale bar=15 mm. (3) Subdichotomous branching of distal portion of the thallus (UAMIZ1227). Scale bar=5 mm. (4) Detail of apices with dentate margins and triangular teeth. Note, rectangular pigmented patches and antheridial sori (black arrows and white arrows respectively; UAMIZ1226). Scale bar=1 mm. (5) Surface view of antheridial sorus (arrows; UAMIZ1226). Scale bar=100 μm . (6) Transverse section showing monostromatic medulla and detail of an antheridial sorus (UAMIZ1226). Scale bar=50 μm . (7) Surface view of sporangia (arrow; UAMIZ1227). Scale bar=1 mm. (8) Transverse section of the thallus showing sporangia (UAMIZ1227). Scale bar=20 μm .

Table 2 Morphological comparison of *Dictyota canariensis* from Macaronesian and Mexican specimens.

Character	<i>D. canariensis</i> (Macaronesia)	<i>D. canariensis</i> (Mexico)	Character	<i>D. canariensis</i> (Macaronesia)	<i>D. canariensis</i> (Mexico)
Thallus length (cm)	(3.5-) 6–7.4 (-13)	(4-) 6.2–7.0 (11-)	Medullary cells		
Branches from main axes	(8-) 12–13 (-19)	(7-) 10–12 (-16)	Layers	Single	Single
Texture	Crisp	Crisp	Thickenings	Absent	Absent
Habit	Erect, basal parts, forming tufts	Erect	Length (µm)	(120-) 159–167 (-225)	(117-) 155–162 (-220)
Iridescence	Blue-greenish; often square or rectangular patches in apical parts	Blue-greenish; with rectangular patches in apical parts	Width (µm)	(45-) 67–69 (-75)	(45-) 65–66 (-70)
Apices			Height (µm)	(71-) 84–87 (-105)	(55-) 75–85 (100)
Shape	Rounded to obtuse	Rounded to obtuse	Sporangia		
Width (mm)	(0.5-) 1.1–1.2 (-2)	(0.4-) 0.9–1.1 (-1.8)	Arrangement	Solitary both surfaces	Solitary both surfaces
Dentition			Diameter (µm) Number	(76-) 93–97 (-114)	(74-) 94–98 (-109)
Shape	Minute, triangular	Triangular	of stalk cells	1	1
Orientation	Perpendicular	Perpendicular, slightly directed toward the apices	Stalk cell height (µm)	(10-) 11–12 (-14)	(9-) 10–11 (-13)
Position	Over whole thallus length	Over whole thallus length	Male gametophytes		
Surface	Smooth leaf-like proliferation	Smooth, sometimes leaf-like proliferation	Sori length (µm)	n.a.	(300-) 448–462 (-550)
Branches			Sori width (µm)	n.a.	(180-) 270–300 (-380)
Length (µm)	(5-) 7.2–7.5 (-10)	(4-) 7–7.4 (-9)	Rows of antheridia (number)	n.a.	(8-) 10–12 (15)
Width (µm)	(2-) 2.7–2.8 (-4)	(1-) 2.5–2.7 (-3.8)	Rows of paraphyses (number)	n.a.	1–3
Cortical cells			Central antheridia length (µm)	n.a.	(12-) 20–23 (-25)
Length (µm)	(24-) 45–47 (-67)	(22-) 44–46 (-60)	Central antheridia width (µm)	n.a.	(17-) 24–25 (-27)
Width (µm)	(12-) 17–18 (-24)	(10-) 16–18 (-22)	Antheridia height (µm)	n.a.	(55-) 66–69 (-79)
Height (µm)	(12-) 16–17 (-24)	(12-) 15–17 (-22)	Antheridia stalk cell height (µm) Paraphyses	n.a.	(11-) 13–14 (-18)
			height (µm)	n.a.	(62-) 76–70 (-90)
			References	Tronholm et al. (2013)	This study

n.a., data not available.

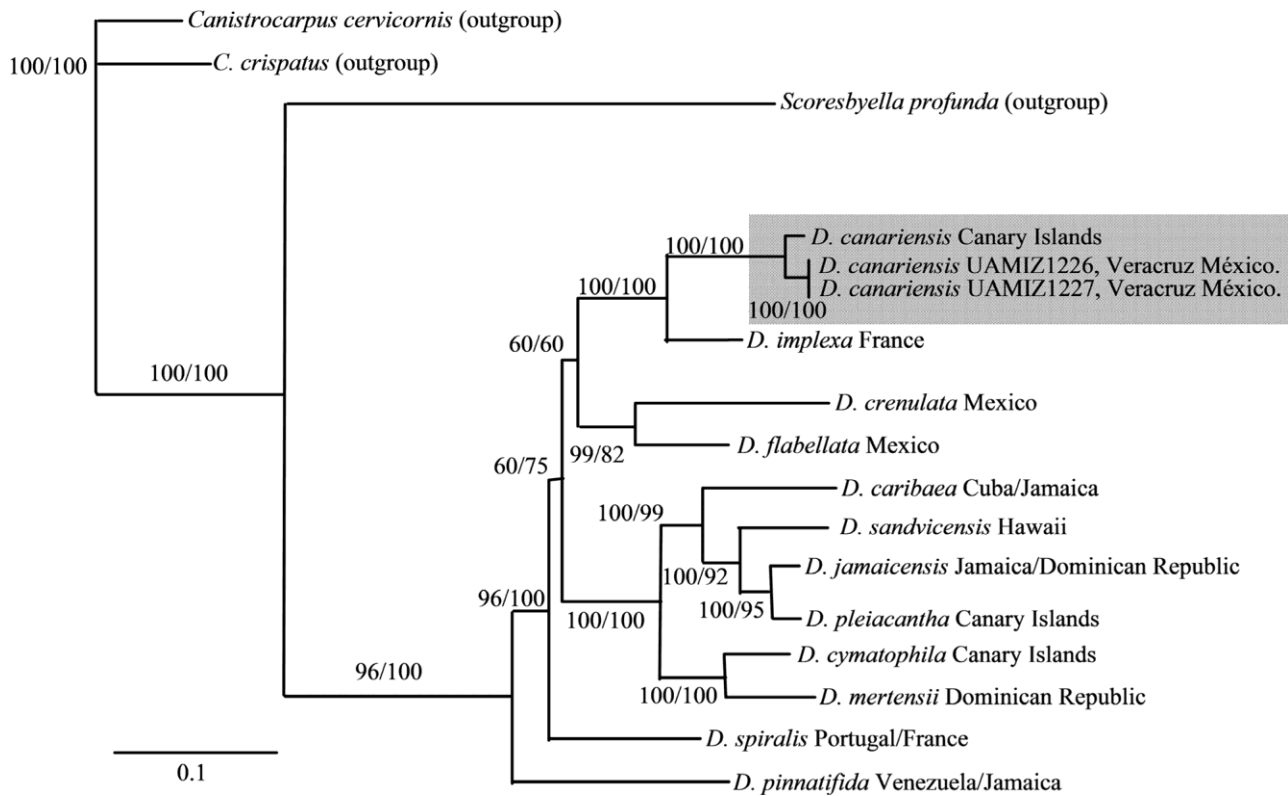


Figure 9 Phylogenetic relationship of *Dictyota* representatives based on concatenated Bayesian analysis of *psbA* and *cox1* DNA sequences. Bayesian posterior probability (left) and ML bootstrap (right) values are indicated at the nodes.

practices in algal species delimitation (reviewed in Leli-aert et al. 2014), we, therefore, consider the Mexican samples to be conspecific with *D. canariensis*. Further research, which preferentially would include extensive sampling of populations from both sides of the Atlantic, should shed light on the amount as well as the directionality of gene flow between populations and eventually refine species boundaries.

Even though accumulating molecular data provide evidence for the prevalence of geographically restricted species, there is strong support that at least some sea-weeds are characterized by large geographical ranges. For example, species like *Bryopsis pennata* J.V. Lamouroux (John et al. 2004, Wynne 2011), *Cottoniella filamentosa* (M. Howe) Børgesen (John et al. 2004, Wynne 2011), *Digenea simplex* (Wulfen) C. Agardh (John et al. 2004, Wynne 2011), *Dudresnaya crassa* M. Howe (Haroun et al. 2002, Guimaraes and Amado-Filho 2008), *Feldmannia paradoxa* (Montagne) G. Hamel (John et al. 2004, Wynne 2011), *Laurencia caduciramulosa* Masuda et Kawaguchi (Cassano et al. 2008), *Laurencia catarinensis* Cordeiro-Marino et M.T. Fujii (Machín-Sánchez et al. 2012), and *Laurenciella marilzae* (Gil-Rodríguez, Sentíes,

Díaz-Larrea, Cassano et M.T. Fujii) Gil-Rodríguez, Sentíes, Díaz-Larrea, Cassano et M.T. Fujii (Cassano et al. 2012) all appear to be characterized by amphi-Atlantic distributions, and several of them are also present in Macaronesia. Likewise, in the genus *Dictyota*, *D. jamaicensis* and *Dictyota implexa* (Desfontaines) J.V. Lamouroux, both of which are relatively closely related to *D. canariensis*, are known from the eastern as well as the western Atlantic Ocean (Tronholm et al. 2010a, 2013). Increased sampling in combination with barcoding efforts will most likely reveal additional species with broad geographic ranges and ultimately provide a more accurate and complete view of algal biogeography

Abstract

During a molecular characterization of the genus *Dictyota* J. V. Lamouroux (Phaeophyceae, Dictyotales) along the Mexican coasts of the Gulf of Mexico and the Mexican Caribbean, using *psbA* and *cox1* genes, it was found that two particular collections did not match with the sequences published for a total of 39 species of *Dictyota*. For each gene, both collections diverged in high-uncorrected “p” distance values with respect to other related species. This high genetic divergence was corroborated by morphological analysis. Hence, we proposed *Dictyota mayae* J. Lozano-Orozco & Senties and *Dictyota pedrochei* J. Lozano-Orozco & Senties as new species.

Keywords

Mexican Caribbean, *Dictyota mayae* sp. nov., *Dictyota pedrochei* sp. nov., Molecular Phylogeny, Taxonomy

Introduction

Floristic identification of species belong to the genus *Dictyota* J. V. Lamouroux (Phaeophyceae, Dictyotales), it has been a controversial issue among the community of Dictyotales specialists for at least the past two decades (De Clerck, 2003; De Clerck & Coppejans, 2003; Tronholm et al., 2010a). This scenario was the consequence of that

*Publicado como: Lozano-Orozco, J.G., Senties, A., De Clerck, O., Dreckmann, K.M. and Díaz-Larrea, J. (2015) Two New Species of the Genus *Dictyota* (Phaeophyceae: Dictyotales) from the Mexican Caribbean. *American Journal of Plant Sciences*, **6**, 2492-2501.

nineteenth-century phycological school which saw the least minimal morphological difference as a diagnostic feature (the classical algorithm for that is: *if one cell, then species A; if two, then species B*), which in turn was the consequence of a very low morphological variability and phenotypic plasticity, both intra and inter species. Today, 77 specific names are recognized within the genus worldwide (Guiry & Guiry, 2015). For the American Atlantic, for example, we recognize 15 species (Winne, 2011), and 11 for the Mexican Caribbean alone (Ortega et al., 2001; Mendoza et al., 2007; Cetz et al., 2008, Lozano Orozco et al., 2014). Fortunately, methods of modern molecular phylogenetics have allowed us to solve the problems resulting from the lack of reliable morphological characters. As an instance for genus *Dictyota*, molecular characters have been used in order to redefine intraspecific and interspecific taxonomy (Draisma et al., 2001; Lee & Bae, 2002; Hoshina et al., 2004; Hwang et al., 2005; Bitnner et al., 2008; Hwang et al., 2009; Silberfeld et al., 2010). Recently, several authors studied the taxonomic relationships of *Dictyota* species at the interspecific level, combining morphological and molecular data (Tronholm et al., 2010a; Tronholm et al., 2008; Tronholm et al., 2010b; Tronholm et al., 2012; Tronholm et al., 2013). As a result of these studies, new species had been described within *Dictyota* (Tronholm et al., 2010a; Tronholm et al., 2010b; Tronholm et al., 2013). Because of the above, we started a molecular characterization of genus *Dictyota* along the Mexican coasts of the Gulf of Mexico and the Mexican Caribbean. During the research, however, it was found that two particular sample collections did not match the sequences published for a total of 39 species of *Dictyota*. A high genetic divergence, together with morphological analyses, convinced us of the presence of two new species, which here we formally described.

Materials and Methods

The specimens studied in the present study were collected at Punta Brava and Puerto Morelos, Quintana Roo, in March 2012, by J.G. Lozano-Orozco and A. Sentías. Voucher samples were fixed in 4% formalin solution for morphological analysis.

The specimens were examined using a Leica stereomicroscope (Leica MZ 12.5, Wetzlar, Germany). Transverse hand sections in the apical, middle and basal regions of the thallus were made with a stainless steel razor blade under a dissecting scope. Photomicrographs were taken with an Olympus Vg-160 digital camera (Tokyo, Japan) coupled to a Nikon Eclipse E200 microscope (Tokyo, Japan). Voucher specimens were deposited at UAMIZ Herbarium (UAMIZ1231, UAMIZ1232, UAMIZ1233 and UAMIZ1234).

Total DNA was extracted from silica gel-preserved material using a Dneasy Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) following the manufacturers' instructions. A total of 956 bp from the *psbA* gene were amplified using the *psbA* F and *psbA* R primers (Silberfeld et al., 2010), and 672 bp were amplified for *cox1* with Gaz1R and Gaz1F primers (adapted from Saunders 2005), using the AmpliTaq kit of the Applied Biosystems (Lincoln Centre Drive Foster City, CA, USA). All PCR products were checked for their correct length by electrophoresis on 1% agarose gel. The PCR products were sent to Macrogen (Gasan-dong, Seoul, Korea) to be purified and sequenced. Alignments for *psbA* and *cox1* sequences were constructed using MEGA version 5 (Tamura et al., 2011). Collection sites and GenBank Accession Numbers of the specimens used in the phylogenetic analysis are provided in **Table 1**.

Phylogenetic relationships were inferred using a concatenated matrix (1703 nt) of two genes from 39 taxa (*psbA* = 1031 bp; *cox1* = 672 bp; **Table 1**). *Canistrocarpus crispatus* (J. V. Lamouroux) De Paula & De Clerck, *Dictyopteris polypodioides* (A. P. De Candolle) J. V. Lamouroux, *Rugulopteryx okamurae* (E. Y. Dawson) I. K. Hwang, W. J. Lee & H. S. Kim and *Scoresbyella profunda* Womersley were included as outgroup taxa based on previous results obtained by De Clerck et al., 2003. The intraspecific and interspecific divergence values obtained for *psbA* and *cox1* were calculated using uncorrected "p" distances implemented in MEGA version 5 (Tamura et al., 2011). The Bayesian phylogenetic analysis was inferred with MrBayes v.3.0 beta 4 software (Ronquist & Huelsenbeck 2003) using the general time-reversible model of nucleotide substitution with invariant sites and Gamma-distributed rates for the variable sites (GTR + I + G). This model was selected based on Maximum Likelihood (ML) ratio test implemented by the software ModelTest 0.1.1 (Posada 2008). For the Bayesian analysis, five chains of the Markov chain Monte Carlo (one hot and four cold) were run, sampling one tree every 1000 generations for 5×10^6 generations starting with a random tree. Maximum likelihood analysis was performed using TOPALI v2 software (Milne et al., 2009) with the GTR + I + G model. The ML bootstrap analyses were conducted with 100 replicates. Support values (Felsenstein 1985) were computed, as implemented in TOPALI v2.

Results

Morphological Analysis

Dictyota mayae: J. Lozano-Orozco & Sentías sp. nov. (**Figures 1(A)-(H)**).

Table 1. Taxa used in this study for phylogenetic analysis.

Samples	Collection Sites		GenBank Accession Numbers	
	<i>psbA</i>	<i>cox1</i>	<i>psbA</i>	<i>cox1</i>
<i>Canistrocarpus crispatus</i> (J. V. Lamouroux) De Paula & De Clerck	Tiwi, Kenya	Negros Oriental, Philippines	GU265787	GQ425137
<i>Dictyopteris polypidioides</i> (A. P. De Candolle) J. V. Lamouroux	France	France	EU681639	EU681404
<i>Dictyota acutiloba</i> J. Agardh	Hawaii, USA Raja Ampat, Indonesia	Hawaii, USA Raja Ampat, Indonesia	EU395602	GU290236
<i>Dictyota adnata</i> Zanardini	Indonesia	Indonesia	GU265788	GQ425134
<i>Dictyota bartayresiana</i> J. V. Lamouroux	Zanzibar, Tanzania	Punta Cana, Dominican Republic	GQ425129	GQ466071
<i>Dictyota binghamiae</i> J. Agardh	Baja California, Mexico	British Columbia, Canada	JQ061015	FJ409140
<i>Dictyota canaliculata</i> O. De Clerck & E. Coppejans	Siquijor, Philippines	Raja Ampat, Indonesia	GQ425190	GQ425132
<i>Dictyota canariensis</i> (Grunow) Tronholm	Veracruz, Mexico	Veracruz, Mexico	KF322229	KF322228
<i>D. caribaea</i> Hörmig & Schnetter	St. Ann Parish, Jamaica	St. Ann Parish, Jamaica Tahiti,	EU395608	JQ061097
<i>D. ceylanica</i> Kützing	Tahiti, French Polynesia	French Polynesia Olango	EU395607	GQ425122
<i>D. ciliolata</i> (Kützing) Sonder	Canary Islands, Spain Baja	Island, Philippines Oaxaca,	GQ425192	GQ425124
<i>D. crenulata</i> J. Agardh	California, Mexico	Mexico	GU265782	JQ061089
<i>D. cyanoloma</i> Tronholm, De Clerck, Gomez Garreta & Rull Lluch	Canary Islands, Spain	Algarve, Portugal	GU255590	JQ061101
<i>D. cymathophila</i> Tronholm, M. Sanson & Afonso-Carrillo	Canary Islands, Spain	Canary Islands, Spain	GQ425193	GQ425128
<i>D. dhofarensis</i> (Nizamuddin) A. C. Campbell & De Clerck	Dhofar, Oman	Dhofar, Oman.	JQ061037	JQ061102
<i>D. dichotoma</i> (Hudson) J. V. Lamouroux	Walney Island, England	Languedoc-Rousillon, France	GU255542	GQ425131
<i>D. fasciola</i> (Roth) J. V. Lamouroux	Languedoc-Rousillon, France	Languedoc-Rousillon, France	FJ869847	GQ425133
<i>D. fastigiata</i> Sonder	Esperance Bay, Australia Tahiti,	Esperance Bay, Australia Saba,	EU395614	GQ425125
<i>D. friabilis</i> Setchell	French Polynesia	Netherlands Antilles	GU265786	GU290237
<i>D. grossedentata</i> De Clerck & E. Coppejans	Zanzibar, Tanzania	Zanzibar, Tanzania	JQ061043	JQ061103
<i>D. hamifera</i> Setchell	Tahiti, French Polynesia	Tahiti, French Polynesia	GQ425213	GQ425123
<i>D. humifusa</i> Hörmig, Schnetter & Coppejans	Raja Ampat, Indonesia	Gazi, Kenia	JQ061046	JQ061104
<i>D. implexa</i> (Desfontaines) J. V. Lamouroux	Provence Cassis, France	Provence Carry-le-Rouet, France	GQ466076	GQ425135
<i>D. intermedia</i> Zanardini	Lord Howe Island, Australia	Queensland, Australia Punta Cana,	EU395615	GQ425127
<i>D. jamaicensis</i> W. R. Taylor	Punta Cana, Dominican Republic	Dominican Republic	JO061055	JO061099
<i>Dictyota mayae</i> sp. nov.	Puerto Morelos, Quintana Roo, Mexico		KT445275	KT445273
<i>D. mediterranea</i> (Schiffner) G. Furnari	Siracusa, Italy	Sicily, Italy	GU255569	GQ290236
<i>D. mertensii</i> (Martius) Kützing	Punta Cana, Dominican Republic	Punta Cana, Dominican Republic	GQ425215	GQ425130

Continued

<i>D. naevosa</i> (Suhr) Montagne	Kwazulu-Natal, South Africa	Kwazulu-Natal, South Africa	EU395609	JQ061105
<i>D. nigricans</i> J. Agardh	Perth, Australia	Perth, Australia	JQ061068	JQ061106
<i>Dictyota pedrochei</i> sp. nov.	Punta Brava, Quintana Roo, Mexico		KT445276	KT445274
<i>D. pinatifida</i> Kützing	St. Ann Parish, Jamaica	St. Ann Parish, Jamaica	EU395612	GQ425126
<i>D. rigida</i> De Clerck & Coppejans	Mombasa, Kenya Hawaii,	Mombasa, Kenya Hawaii,	GQ466077	GQ425138
<i>D. sandvicensis</i> Sonder	USA	USA	JQ061078	GU290239
<i>D. spiralis</i> Montagne	Madeira, Portugal Luzon,	Languedoc-Roussillon, France	GQ466078	GU290235
<i>D. stolonifera</i> E. Y. Dawson	Philippines	Zanzibar, Tanzania	GQ425222	GQ425139
<i>Rugulopteryx okamurae</i> (E. Y. Dawson) I. K. Hwang, W. J. Lee & H. S. Kim	Choshi, Japan	Languedoc-Roussillon, France	AY748322	GQ425120
<i>Scoresbyella profunda</i> Womersley	Western Australia, Australia	Western Australia, Australia	EU395620	GQ425121

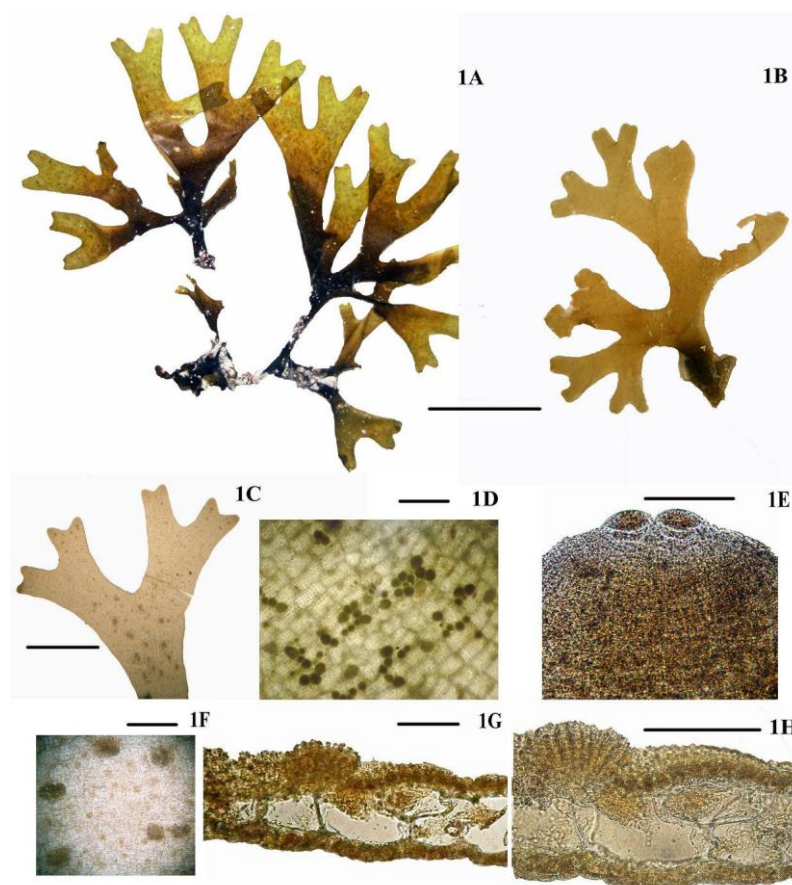


Figure 1. *Dictyota mayae* J. Lozano-Orozco & Senties sp. nov. (1A) Habit of sporophyte, Puerto Morelos, Quintana Roo, designated as holotype (UAMIZ1231). Scale bar = 2 cm; (1B) Sporophyte (UAMIZ1232). Scale bar = 2 cm; (1C) Detail of dichotomous branching (UAMIZ1231). Scale bar = 5 mm; (1D) Note sporangial zone on the surface of the thallus (UAMIZ1231). Scale bar = 500 μ m; (1E) Detail of the apical cells UAMIZ1231. Scale bar = 500 μ m; (1F) Antheridial zone of the thallus (UAMIZ1233). Scale bar = 300 μ m; (1G) Cross section of the middle portion of a branch (UAMIZ1233). Scale bar = 100 μ m; (1H) Cross section of the thallus, note spermatangia (UAMIZ1233). Scale bar = 100 μ m.

Description: Thalli 22 - 40 mm long, erect, attached to the substrate by rhizoids. Sympodial and strictly dichotomous branching. Color *in situ* brown with iridescence, obtuse apices, smooth margins. Solitary or grouped sporangia in the middle of thalli. The width of the axes is uniform throughout the thalli 3 - 4 mm, apical cell protruding. Cortex unilayered, cells 40 - 43 μm long, 17 - 19 μm wide. Medulla unilayered, cells 190 - 200 μm long, 78 - 83 μm wide. Sporangia scattered singly on both thallus surfaces, dark brown. 95 - 100 μm in diameter, borne on a single stalk cells 15 - 18 μm high. Antheridia grouped in ellipsoidal sori 360 - 380 μm long and 220 - 240 μm wide. The antheridia 60 - 65 μm high borne on a single stalk cell 9 - 10 μm high.

Etymology: The specific epithet honors the Mayans, a well known ethnic group in the history of southeastern Mexico and Central America.

Holotype: Voucher POK80, housed at UAMIZ under the code 1231. Material collected by J. Lozano and A. Sentías, 12-03-2012, sporophyte.

Type locality: Puerto Morelos (18°36'22" N, 103°30'05" W), Quintana Roo, Mexican Caribbean.

Isotypes: UAMIZ1232 and UAMIZ1233.

Distribution and habitat: The species is known only from the type locality. Usually growing on coral or sand in shallow water (1 - 2 m at low tide).

***Dictyota pedrochei*:** J. Lozano-Orozco & Sentías sp. nov. (Figures 2(A)-(F)).

Description: Thalli 40 - 50 mm long, erect, attached to the substrate by rhizoids. Sympodial and dichotomous branching to irregular. Color *in situ* dark brown. Iridescence absent, obtuse apices, smooth margins, with surface proliferations in middle segments. The width of the axes is uniform throughout the thallus 3 - 4 mm, apical cell protruding. The sporangia common on middle parts of the thallus. Cortex unilayered, cells 19 - 20 μm long, 9 - 10 μm wide. Medulla unilayered, cells 98 - 103 μm long, 55 - 60 μm wide. Sporangia scattered singly on both thallus surfaces, dark brown. 90 - 95 μm in diameter, borne on a multiple stalk cells 40 - 45 μm high.

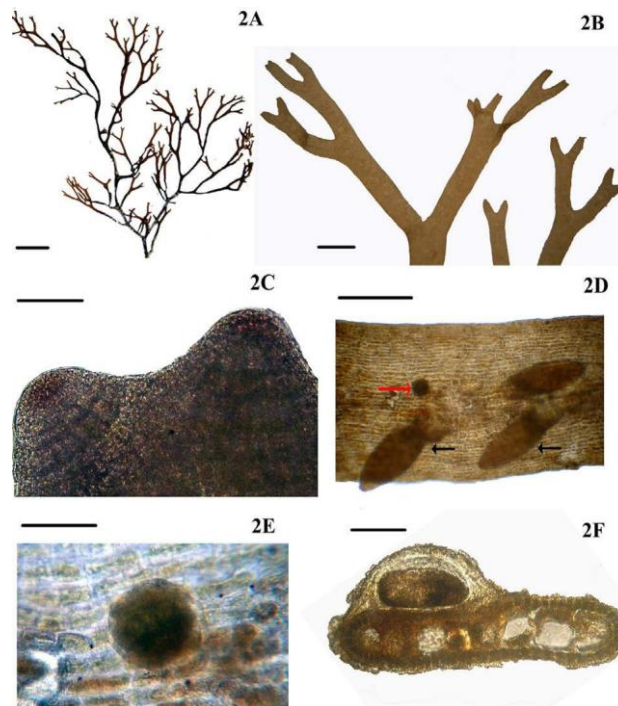


Figure 2. *Dictyota pedrochei* J. Lozano-Orozco & Sentías sp. nov. (2A) Image of sporophyte from Punta Brava, Quintana Roo, designated as holotype (UAMIZ1234). Scale bar = 1 cm; (2B) Specimen from Punta Brava, Quintana Roo. Detail of dichotomy (UAMIZ1235). Scale bar = 1 mm; (2C) Apical portion of thallus (UAMIZ1235). Scale bar = 150 μm ; (2D) Note proliferations on the thallus and monosporangia (black arrows and red arrow, respectively; UAMIZ1235). Scale bars = 400 μm ; (2E) Detail of the monosporangia. (UAMIZ1235). Scale bar = 70 μm ; (2F) Monosporangia on the cortical cells in transverse sections (UAMIZ1235). Scale bar = 50 μm .

Etymology: The specific epithet honors the Mexican phycologist Francisco F. Pedroche.

Holotype: Voucher POK82, housed at UAMIZ under the code 1234. Material collected on by J. Lozano- Orozco and A. Senties, 11-03-2012, sporophytic.

Type locality: Punta Brava (18°36'22" N, 103°30'05" W), Quintana Roo, Mexican Caribbean.

Isotype: UAMIZ1234.

Distribution and habitat: The species is known only from the type locality, growing epilithically at this locality exposed in the shallow sublittoral.

Molecular Analysis

A total of 39 sequences were analyzed (Table 1). The Maximum Likelihood and Bayesian trees obtained for each marker were similar (not shown). Additionally, a phylogenetic analysis was carried out combining the partial sequences of *psbA* and *cox1* genes of the 39 correspondent taxa, analysis of ML and IB produced highly congruent trees, differing in some positions that had poor support clades, but where the two new species are located, both analyses produced excellent support clades (Figure 3). Both new species diverged in high-uncorrected p distances values from the rest of the *Dictyota* representatives (>0.8% *psbA* and >11% *cox1*), confirming that these two samples constitute new taxonomic entities, or evolutionary independent lineages.

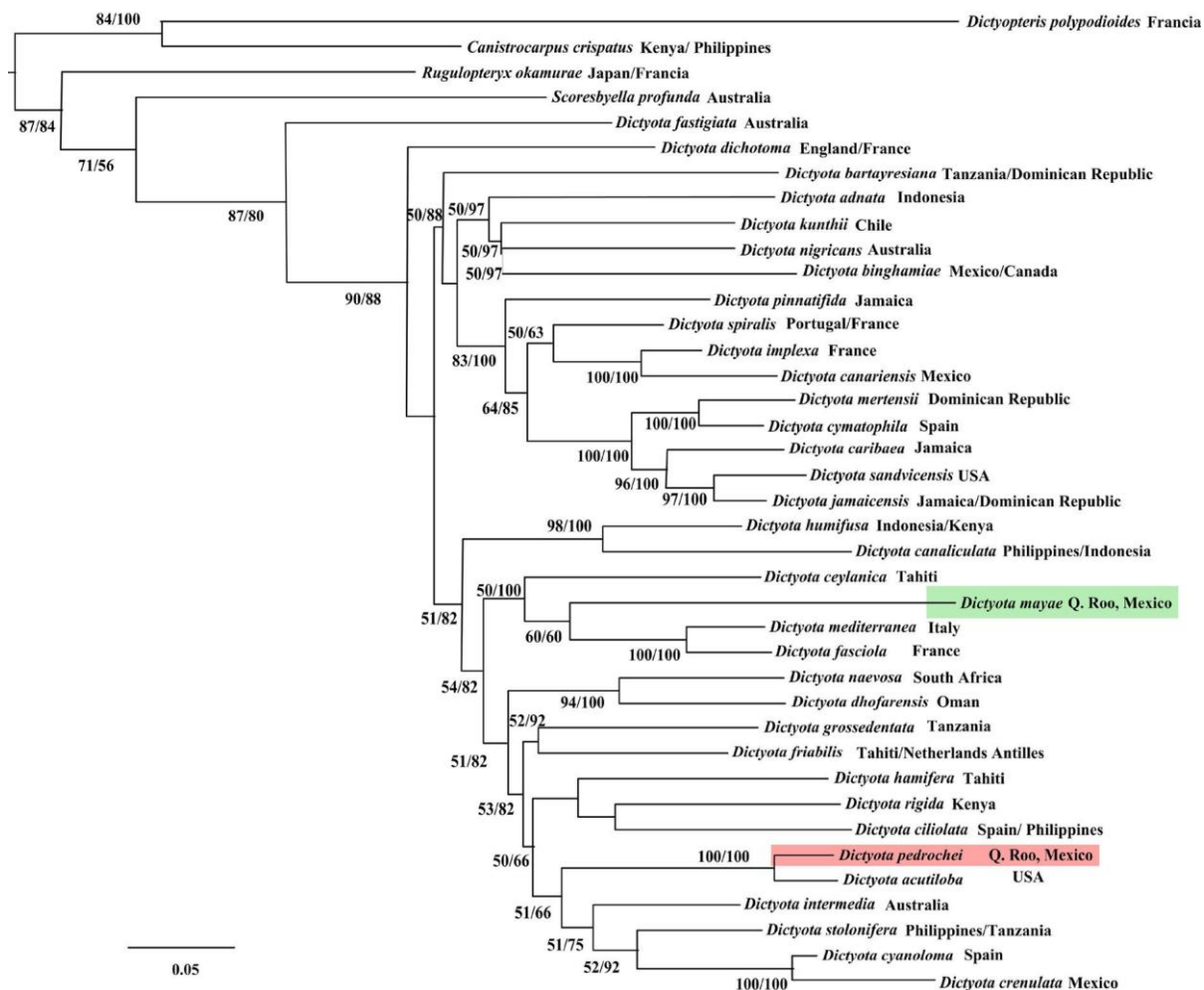


Figure 3. Phylogenetic relationship of *Dictyota* representatives based on concatenated Bayesian analysis of *psbA* and *cox1* DNA sequences. The GTR + I + G evolutionary model was used in the Bayesian Analysis, selected by a maximum-likelihood ratio test. Bayesian posterior probability (right) and ML bootstrap (left) values are indicated at the node. The localities are from the *psbA* sequences (right) and *cox1* (left); other dates are shown in Table 1.

Table 2. Morphological comparison of *D. mayae* and *D. pedrochei* with other *Dicryota* species reported for Mexican Atlantic.

	<i>D. mayae</i>	<i>D. pedrochei</i>	<i>D. bartayresiana</i>	<i>D. canariensis</i>	<i>D. caribaea</i>	<i>D. ciliolata</i>	<i>D. guineensis</i>	<i>D. hamifera</i>	<i>D. jamaicensis</i>	<i>D. menstrualis</i>	<i>D. merrisii</i>	<i>D. pinnatifida</i>	<i>D. pulchella</i>
Thallus length (cm)	2 - 4	4 - 7	5 - 20	4 - 11	20	15	30	12	12	15 - 35	20	15	10
Texture	Supple	Supple	Supple	Crisp	Crisp	Crisp	Crisp	Crisp	Crisp	Supple	Crisp	Supple	Supple
Branching	Dichotomous	Dichotomous to irregular	Dichotomous	Dichotomous	Dichotomous to irregular	Dichotomous	Dichotomous, rarely alternate	Dichotomous	Dichotomous	Dichotomous	Alternate	Alternate to irregular	Dichotomous
Habit	Erect	Erect	Erect	Erect, basal parts forming tufts	Tough, wiry, bushy.	Erect, bushy	Erect, bushy	Bushy in tangled clumps	Erect, bushy	Erect, bushy	Erect, large, bushy	Erect, bushy	Erect forming bushy tangled clumps
Iridescence	Blue-greenish	Absent	Blue and green	Sometimes blue-greenish	Absent	Sometimes yellow-greenish	Absent	Bright blue	Absent	Absent	Blue-green sheen	Absent	Green
Apices shape	Rounded	Acute	Broadly rounded	Rounded to obtuse	Acute	Rounded to acute	Acute	Blunt	Blunt	Blunt	Broadly rounded	Blunt or rounded	Blunt to pointed
Teeth	Absent	Absent	Absent	Present	Absent	Present	Absent	Absent	Present	Absent	Absent	Absent	Absent
Surface	Smooth	Smooth with leaf-like proliferations	Smooth	Smooth, leaf-like proliferations	Smooth	Smooth, sometimes leaf-like proliferations	Smooth	Smooth with lateral hooks or tendrils	Smooth	Smooth with marginal rizooids	Smooth	Smooth	Smooth with marginal rizooids
Surface hairs	Ausent	Ausent	Present	Ausent	Present	Present	Present	Present	Present	Present	Present	Present	Present
Layers of medullary cells	Single	Single	Single	Single	Single	Single	2-4	Single	Single	Single, occasional and multiple near the base	Single	2-5	Single
Distribution	Puerto Morelos, Quintana Roo, Mexico.	Punta Brava, Quintana Roo, Mexico	Campeche, Quintana Roo, Tamaulipas, Mexico; Southern and Western Caribbean	Macaronesian Islands and Veracruz	Florida, USA; Greater Antilles, Lesser Antilles, Southern Caribbean, Gulf of Mexico	Campeche, Quintana Roo, Tamaulipas, Veracruz, Yucatan, Mexico; Pantropical	Quintana Roo, Bahamas, Greater Antillas, Southern and Western Caribbean, Gulf of Mexico	Cozumel, Mexico; Greater Antilles and Lesser Antilles	Campeche, Quintana Roo, Veracruz, Mexico; Greater Antilles, Lesser Antilles, Cape Verde	Campeche, Quintana Roo, Veracruz, Yucatan, Mexico; Greater Antilles, Lesser Antilles, Southern and Western Caribbean	Quintana Roo, Veracruz, Yucatan, Mexico; Greater Antilles, Lesser Antilles, Southern and Western Caribbean	Quintana Roo, Yucatan, Mexico; Florida, USA; Bahamas, Greater Antilles, Lesser Antilles, Southern and Western Caribbean	Cozumel, Mexico; Florida, USA; Bahamas, Greater Antilles, Lesser Antilles, Southern and Western Caribbean
References	This study	This study	[5] [6] [28]	[13] [20]	[5] [28]	[5] [6] [20]	[5] [6] [28]	[5] [7] [28]	[5] [6] [20]	[5] [6] [20]	[5] [6] [20]	[5] [6] [20]	[5] [7] [20]

Discussion

Phylogenetic Analysis

Considering the problems with the identification from the majority of *Dictyota* species based solely on morphological, anatomical or reproductive characters, we performed a phylogenetic analysis based on *psbA* and *cox1* partial sequences. Two clades representing two undescribed species become apparent. These taxa, *Dictyota mayae* and *D. pedrochei*, are clearly delineated by long and highly supported branches. The divergence of *psbA* and *cox1* sequences within the new species and the other *Dictyota* species was high (>0.8% *psbA* and >11% *cox1*). We determine that are new taxonomic entities because the divergence values obtained in the *psbA* gene are within intraspecific (<1%) and interspecific limits (<7%) previously reported in the literature for Dictyotales (Tronholm et al., 2010; Hwang et al., 2005).

Morphological Comparison and Distribution

Table 2 shows character distribution for species previously reported, plus the two new species here proposed. The morphological comparison between *D. mayae* and the other species phylogenetically related reveal striking differences. One of the main features is that *D. mediterranea* (Schiffner) G. Furnari and *D. fasciola* (Roth) J. V. Lamouroux have a multilayered medullary layer, with no iridescence in coloration, while *D. mayae* has a single medullary layer, color *in situ* is brown, with clear iridescence. In addition, *D. fasciola* and *D. mediterranea* are distributed in the European Atlantic and Mediterranean Sea. In the case of *D. pedrochei*, it also has several discrepancies with *D. acutiloba* J. Agardh, a phylogenetically related species that has a spiraling thallus, with a height to 20 cm, tufts of hairs in centrally located irregular rows on both surfaces, while *D. pedrochei* has a flattened thallus, a height to 5 cm and, surface proliferation in the middle of thallus without hairs. Primarily, *D. acutiloba* has a greater height than that of *D. pedrochei*, which is from Mexican Caribbean while *D. acutiloba* is strictly from the Pacific Ocean.

Conclusion

In this study, we perform morphological and molecular analyses on several species belonging to the genus *Dictyota* with special reference to the Mexican Caribbean. Analyses of thallus construction and a concatenated matrix of two phylogenetic markers have been found successful in supporting our conclusion that *D. mayae* and *D. pedrochei* are two evolutionarily independent lineages, and consequently two different species for the science. The application of morphological and molecular tools is improving our understanding of the biodiversity in the Mexican Caribbean, and in particular, to develop a model to have a better understanding of global diversity of *Dictyota*.

***Dictyota chalchihcueyecanensis* sp nov. (Dictyotales; Phaeophyceae) en el Golfo de México: Evidencias moleculares y morfológicas**

Chapter 4

Dictyota chalchihcueyecanensis sp nov. (Dictyotales; Phaeophyceae) in the Gulf of Mexico: Molecular and morphological evidence*

Resumen.

En el presente trabajo se reporta una nueva especie del género *Dictyota* encontrada en tres localidades del estado de Veracruz, México (Playa Hermosa, Punta Puntillas y Villa Rica). Esto fue determinado mediante análisis moleculares de secuencias parciales de los genes *psbA* y *cox1*, en los que se obtuvo que las muestras de la nueva especie forman un clado monofilético bien soportado. Además, los índices de divergencia genética obtenidos, se encuentran dentro de los valores interespecíficos para el género, lo que nos permite segregar a *Dictyota chalchihcueyecanensis* sp nov. Lozano-Orozco & Sentíes de las demás especies del género. En los análisis morfológicos encontramos que esta nueva especie se caracteriza por ser un talo erecto, sin iridiscencia, de consistencia rígida al tacto, con pie de fijación al sustrato de forma discoide, el color *in situ* es café claro, ápices redondeados, ramificación dicotómica, con márgenes dentados de forma triangular a espinosa dirigidos hacia los ápices. Los esporangios se encuentran aislados o agrupados en ambos lados del talo y germinan regularmente en las porciones interdicotómicas basales del talo. Asimismo, se llevó a cabo una comparación con las especies ‘dentadas’ presentes en el Atlántico mexicano y se determinó que la iridiscencia es un carácter importante para diferenciar estas especies. Con todo lo anterior ampliamos la diversidad del género *Dictyota* a nivel mundial, incorporando a *D. chalchihcueyecanensis* como una especie de origen mexicano.

Palabras clave: *cox1*, *Dictyota*, filogenia molecular, *psbA*, taxonomía.

*Publicado como: Lozano-Orozco, J.G., Sentíes, A., Pedroche, F. y Diaz-Larrea, J. 2016. *Dictyota chalchihcueyecanensis* sp nov. (Dictyotales; Phaeophyceae) en el Golfo de México: Evidencias moleculares y morfológicas. *Hidrobiológica* No. especial SOFILAC (Aceptado)

Abstract

In this paper is recorded a new species to the science belonging to the *Dictyota* genus, it was found in three localities from the Veracruz state, Mexico (Playa Hermosa, Punta Puntillas y Villa Rica). The proposal was based on phylogenetics molecular analysis of partial sequences of the *psbA* and *cox1* genes, and we found that the samples of the new species form a well supported monophyletic clade. In addition, the genetic divergence values obtained are within interspecific values for genus, and this allows us to segregate the *Dictyota chalchicueyecanensis* sp nov. Lozano-Orozco & Sentías from the rest species of the genus. Morphologically this new species is characterized by an erect thallus, light brown without iridescence, stiff to the touch, with a discoid holdfast, rounded apices, dichotomous branching, margins dentate, with teeth minute triangular to spinose shape directed toward the apices. Sporangia are isolated or grouped on both sides of the thallus and germinate regularly in interdichotomous basal portions. Also we carried out a comparison with the 'toothed' species in the Mexican Atlantic and determined that iridescence constitute a relevant character to differentiate these species. With all this we expand the diversity of the genus *Dictyota* worldwide, incorporating *D. chalchicueyecanensis* as a new species of Mexican origin.

Keywords: *cox1*, *Dictyota*, molecular phylogeny, *psbA*, taxonomy.

Introducción

En el género *Dictyota* J.V. Lamouroux (1809: 38) se expresa en sus especies una alta plasticidad fenotípica que contrasta con escasos caracteres morfológicos diagnósticos, lo cual ha llevado a clasificar especies con una cierta incertidumbre que ha llevado a tener una serie de epítetos o nombres mal aplicados (De Clerck & Coppejans, 1999, De Clerck, 2003).

Uno de los caracteres ampliamente usados para diferenciar a las especies de *Dictyota*, es la presencia o ausencia de dientes en los márgenes del talo y se ha observado que la forma de los dientes tiene una marcada variación intraespecífica, en este sentido, Tronholm et al., 2013 reevaluó el estatus taxonómico de las especies dentadas realizando análisis morfológicos y moleculares donde logró determinar su distribución y describió dos nuevas especies: *D. canariensis* (Grunow) Tronholm y *D. pleiacantha* Tronholm, también pudo observar que entre las especies dentadas hay variaciones morfológicas casi imperceptibles a simple vista, por lo que la identificación exclusivamente con caracteres morfológicos es incierta debido a su alta plasticidad morfológica intraespecífica (Tronholm et al., 2010). De las especies dentadas reportadas a nivel mundial (Tronholm et al., 2013) se encuentran tres en las costas del Atlántico Mexicano: *D. canariensis* (Grunow) Tronholm (Lozano et al., 2014), *D. ciliolata* (Kützinger) Sonder y *D. jamaicensis* W. R. Taylor (Ortega & Garduño., 2001; Wynne, 2011).

Actualmente son reconocidas a nivel mundial 78 especies (Guiry & Guiry, 2015), de las cuales 12 están reportadas para el Atlántico Mexicano (Lozano et al., 2014).

En el presente estudio, describimos a *Dictyota chalchihcuyecanensis* Lozano-Orozco & Senties, como una nueva especie dentada del género *Dictyota* encontrada en las costas del Golfo de México. Esto se determinó mediante análisis moleculares y haciendo la diferenciación morfológica con las especies dentadas presentes en el Atlántico mexicano.

Materiales y Métodos

Los especímenes de *Dictyota chalchihcuyecanensis* fueron colectados en las localidades de Playa hermosa (18.3953° N, 95.0742° O), Punta Puntillas (18.4655° N, 95.1722° O) y Villa Rica (19.4057° N, 96.3752° O) y depositados en el Herbario de la Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa (UAMIZ1236, UAMIZ1237 y UAMIZ1238).

Para realizar los análisis morfológicos los especímenes fueron preservados en formol al 5 %. Estos especímenes fueron examinados usando el microscopio estereoscópico (Leica MZ 12.5, Wetzlar, Germany). Se hicieron cortes transversales en la parte apical, media y basal de los talos para observar caracteres microscópicos. Las microfotografías fueron tomadas con una cámara digital Olympus Vg-160 (Tokio, Japan) acoplada a un microscopio Nikon Eclipse E200 (Tokyo, Japan).

En los análisis filogenéticos se empleó material preservado en sílica gel, el ADN total fue extraído usando Dneasy Mini Kit (Quiagen, Valencia, CA, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se amplificaron secuencias parciales del gen *psbA* con los primers *psbA* F y *psbA* R (Silberfeld et al., 2010) y del gen *cox1* con los primers Gaz 1 R y Gaz1 F (Adaptados de Saunders, 2005) usando AmpliTaq kit of the Applied Biosystems (Lincoln Ventre Drive Foster City, CA, USA). Los productos de PCR fueron enviados a Macrogen (Gasan-dong, Seoul, Korea) para ser purificados y secuenciados.

De un total de 28 taxa (Tabla 1), se realizaron alineamientos de los genes *psbA*, *cox1* y una matriz concatenada teniendo ambos genes.

Las relaciones filogenéticas fueron inferidas empleando una matriz concatenada de 1703 nucleótidos (*psbA*= 1031 pb; *cox1* = 672 pb). Los valores de divergencia nucleotídicas fueron obtenidos por medio del programa MEGA versión 5 (Tamura et al., 2011) de acuerdo a Tronholm et al., 2010. Los análisis de inferencia bayesiana (IB) fueron obtenidos con el programa MrBayes v. 3.0 beta 4 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003), se corrieron 5 cadenas de Markov Monte Carlo (una caliente y 4 frías), muestreando un árbol cada 1000 generaciones de un total de $5 \cdot 10^6$ generaciones. El análisis de máxima Verosimilitud (ML) y sus valores de bootstrap (100 réplicas) fueron obtenidos por medio del programa TOPALI v2 (Milne et al. 2009). Para ambos análisis se usó el modelo GTR+I+G que fue seleccionado empleando el programa jModelTest 0.1.1 (Posada 2008).

Resultados

Análisis moleculares.

Del alineamiento de la secuencia parcial del gen *psbA*, la divergencia genética entre las muestras de *D. chalchihcuyecanensis* fue de 0 % y los valores de estas con respecto a las demás muestras osciló entre 1.3 y 7.4 %. En *cox1* fue de 0% entre las muestras de la nueva especie y de 17.4 a 21.0 % con las demás especies.

Los árboles filogenéticos de ML e IB de los genes *cox1* y *psbA* tuvieron topologías similares (datos no presentados). Asimismo del alineamiento concatenado en el análisis de ML e IB, se obtuvieron árboles altamente congruentes, difiriendo en algunas posiciones que tuvieron un pobre soporte de clados (Fig. 1), pero respecto al que contiene la nueva especie, tiene un excelente soporte de clado.

Análisis morfológico.

D. chalchihcuyecanensis sp. nov. J. Lozano-Orozco & Sentíes (Figs. 2-8)

Descripción: Talos de (6.5-) 8-12 (14) cm de largo, erectos, de consistencia rígida al tacto, con pie de fijación al sustrato de forma discoide. El color *in situ* es café claro, los especímenes deshidratados conservan el mismo color. El ancho de los ejes es uniforme a través del talo: (5-) 10-24 (-30) mm de largo y (2-) 4-5 (-6) mm de ancho entre dicotomías. Los ápices son redondeados (1-) 1.2-1.4 (1.7) mm de ancho, la célula apical es notable. Con ramificación dicotómica que se ramifica (10-) 14-18 (-22) veces, el ángulo de los ejes es agudo. Los márgenes son

dentados, los dientes son de forma triangular a espinosa dirigidos hacia los ápices. Los esporangios germinan regularmente en las porciones interdicotómicas basales del talo. De corteza monostromática con células de (24-) 35-40 (-60) de largo μm , (14-) 19-22 (-40) μm de ancho y (14) 20-22 (41) de alto. Células medulares de (100-) 180-200 (-300) de largo μm , (47-) 78-83 (-117) μm de ancho y (52) 100-206 (199) μm de alto. Los esporangios se encuentran aislados o agrupados en ambos lados del talo, de color café oscuro teniendo (50-) 52-56 (-60) μm de diámetro, proveniente de una célula con (8-) 15-17 (-23) μm de alto.

Etimología: Chalchiuh = Agua o jade; Cue = falda; Yeh = Poseer: Can = indica lugar. Palabra de origen náhuatl que significa: “El lugar de la que posee la falda de agua o jade”, que se refería al nombre que era dado a las costas del estado de Veracruz por los Mexihcas.

Holotipo: Punta Puntillas, Veracruz, México. Colectada en Diciembre del 2012 por J. Lozano Orozco. Depositada en UAMIZ1236.

Localidad tipo: Punta Puntillas, Veracruz, México. (18.4655° N, 95.1722° O)

Paratipos: UAMIZ1237 Playa hermosa (18.3953° N, 95.0742° O) leg. J.Lozano-Orozco, 2013 y UAMIZ1238 Villa Rica (19.4057° N, 96.3752° O) leg. J. Lozano-Orozco, 2013.

Distribución: esta especie solo se ha encontrado en las costas del estado de Veracruz.

Hábitat: Esta especie se encuentra creciendo sobre rocas en zonas protegidas a nivel intermareal.

Discusión

Análisis molecular

De acuerdo a los valores obtenidos en los índices de divergencia del gen *psbA* en *D. chalchihcuyecanensis* (0 % intraespecífico; 1.4-6.8 % interespecífico), podemos determinar que nuestros especímenes corresponden a una nueva entidad taxonómica. Se afirma esto con base a que los índices de divergencia obtenidos se encuentran dentro de los límites intraespecíficos (<1 %) e interespecíficos (< 7 %) reportados previamente en la literatura para Dictyotales (Hwang et al., 2004; Tronholm et al., 2012).

Igualmente, los análisis filogenéticos de ML y IB en los genes *psbA*, *cox1* y concatenado, nos demuestran que nuestros especímenes no se encuentran en clados monofiléticos a las especies dentadas. Como se puede ver en la fig. 1, se incluyeron secuencias de las especies dentadas reportadas al Atlántico Mexicano: *D. canariensis*, *D. ciliolata* y *D. jamaicensis* y se puede observar que no están en clados relacionados con *D. chalchihcuyecanensis*.

Análisis morfológico

Como se ve en la tabla 2, una de las características diagnósticas importantes para diferenciar las especies dentadas *D. canariensis*, *D. ciliolata* y *D. jamaicensis* con

nuestra nueva especie es la presencia de iridiscencia y su forma, ya que *D. chalchihcuyecanensis* carece de iridiscencia, *D. canariensis* y *D. ciliolata* si la presentan y *D. jamaicensis* no presenta iridiscencia pero presenta pigmentaciones más oscuras en forma de triángulo invertido en las dicotomías. Otro carácter importante es la distribución de esporangios, nuestros especímenes los presentan solitarios o agrupados en ambas superficies, *D. canariensis* y *D. ciliolata* los presentan solitarios y *D. jamaicensis* los presenta solitarios o agrupados generalmente en una superficie. También tenemos la forma y orientación de los dientes con respecto a los ápices, pero se ha visto que los dientes tienen una alta plasticidad morfológica intraespecífica (Hwang et al., 2005; Tronholm et al., 2008, 2010), por lo que nos pueden sugerir la identificación de las especies en primera instancia, pero por si solo este carácter no ayuda a realizar una correcta identificación. De igual manera otros caracteres que se emplean para hacer la diagnosis entre estas especies son la presencia de pelos feofíceos y forma de ápices. Conjugando estos caracteres morfológicos, podemos hacer una diferenciación de *D. chalchihcuyecanensis* con las demás especies dentadas del Atlántico mexicano.

Como se puede observar, los caracteres morfológicos nos pueden servir como una primera aproximación para hacer diferenciación en las especies dentadas, aunque debido a que estas diferencias son mínimas o pueden tener una marcada plasticidad morfológica, se recomienda realizar análisis minuciosos al hacer la diferenciación de estas especies. Por estas razones, *D. chalchihcuyecanensis*

se estuvo reportando de manera errónea como *D. ciliolata* o *D. jamaicensis* (Ortega & Garduño, 2001; Littler & Littler, 2000; Wynne, 2011), ya que *D. canariensis* fue recientemente reportada para el Atlántico mexicano (Lozano et al., 2014).

Debido a la información obtenida anteriormente, determinamos claramente que *D. chalchihcuyecanensis* corresponde a una nueva especie dentada del género *Dictyota*. También concluimos que los caracteres morfológicos en el caso de las especies dentadas del género *Dictyota*, nos sirven como una primera aproximación para la identificación de estas especies, pero como se observó en este estudio muchas veces pueden ser mal identificadas por hacer un análisis morfológico somero. Con esto demostramos, como se ha hecho en otros estudios (Mendoza-González et al., 2011; Senties et al., 2014; Tronholm et al., 2013; Lozano et al., 2014), que la asociación de análisis morfológicos y moleculares, es de suma importancia para identificar especies, su distribución o como en este caso, descubrir nuevas especies.

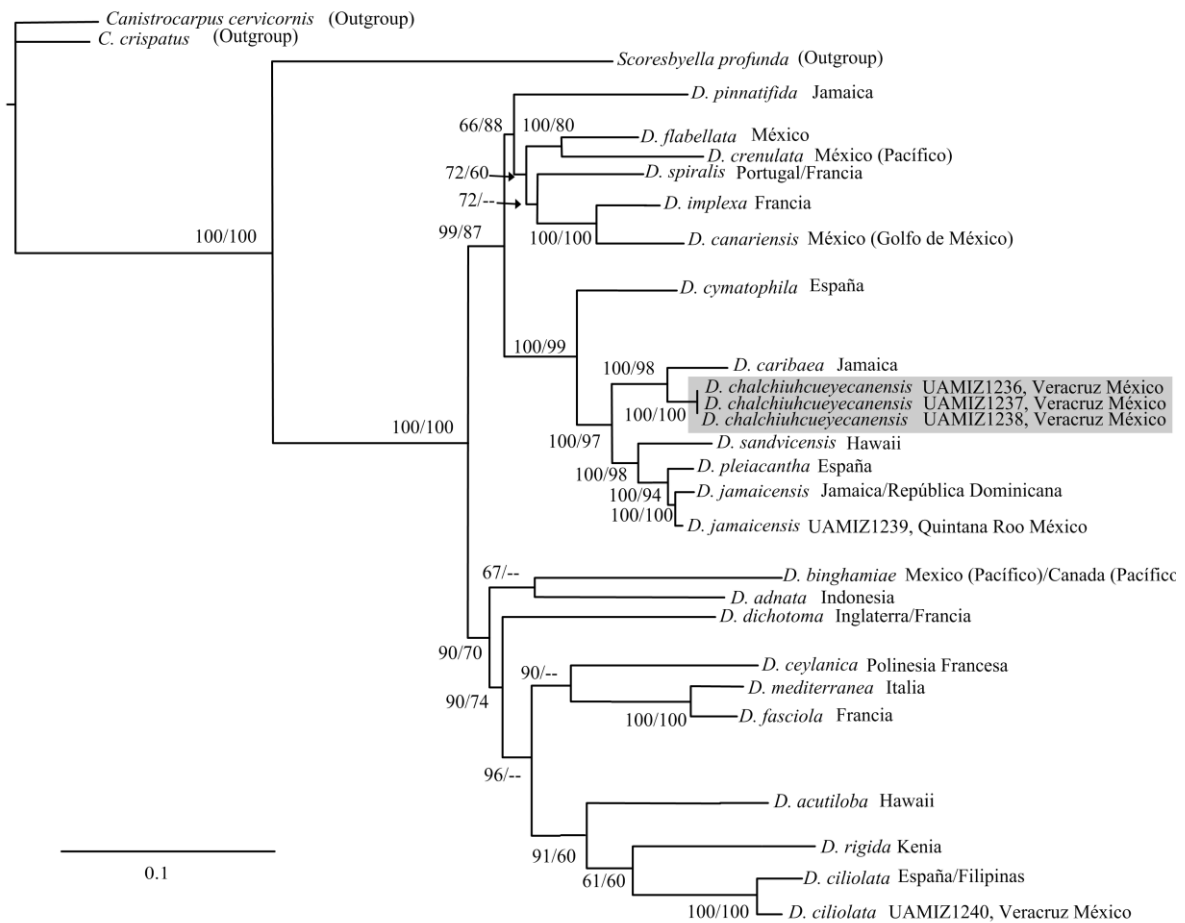
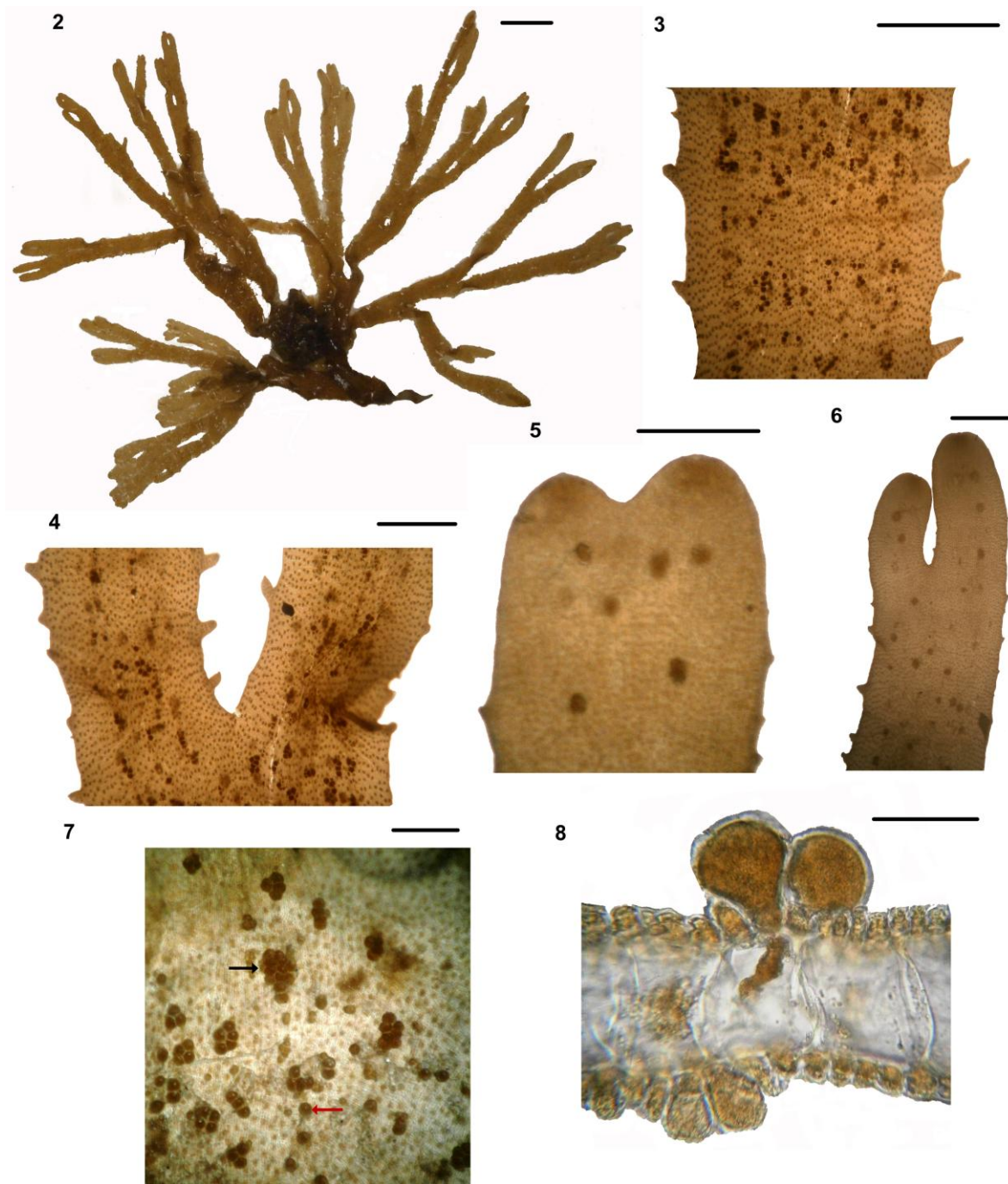


Figura 1: Relaciones filogenéticas de especies del género *Dictyota*, basados en análisis bayesiano de una matriz concatenada de las secuencias de los genes *psbA* y *cox1*. Los valores de probabilidad posterior bayesiana (derecha) y valores de Bootstrap de ML (izquierda) están indicados en los nodos. Las localidades son para el gen *psbA* (derecha) y *cox1* (Izquierda). Datos adicionales se encuentran en la tabla 1.



Figuras 2-8. *Dictyota chalchihcueyecanensis*

Fig. 2. Talo esporofito, espécimen de Punta Puntillas, Veracruz, México designado como holotipo (UAMIZ1236). Escala = 1 cm.

Fig. 3. Vista superficial de esporangios en segmentos basal de un talo (UAMIZ1237). Escala = 2 mm

Fig.4. Dicotomía de un segmento basal, obsérvense los esporangios en esta zona (UAMIZ1237). Escala = 1 mm

Figs. 5-6. Ápices redondeados de segmentos distales (UAMIZ1236). Escala = 500 μm y 1 mm, respectivamente

Fig. 7. Detalle de esporangios en la superficie de un talo (UAMIZ1238). Nótese los esporangios agrupados (Flecha negra) y solitarios (Flecha roja). Escala = 200 μm

Fig.8. Sección transversal de un talo presentando esporangios provenientes de una célula, nótese medula monostromática (UAMIZ1236). Escala = 50 μm

Tabla 1. Taxa usados en este estudio para los análisis moleculares

Samples	Collection sites		GenBank Accession Numbers.	
	<i>psbA</i>	<i>cox1</i>	<i>psbA</i>	<i>cox1</i>
<i>Canistrocarpus cervicornis</i> (Kützing) De Paula & De Clerck	Tenerife, Islas Canarias, España	Negros Oriental, Filipinas	GQ425187	N.A,
<i>C. crispatus</i> (J. V. Lamouroux) De Paula & De Clerck	Tiwi, Kenia	Negros Oriental, Filipinas.	GU26578	GQ42513
<i>Dictyota acutiloba</i> J. Agardh	Hawaii, EUA	Hawaii, EUA	EU395602	GU290236
<i>Dictyota adnata</i> Zanardini	Raja Ampat, Indonesia	Raja Ampat, Indonesia	GU265788	GQ425134
<i>Dictyota binghamiae</i> J.	Baja California,	British Columbia,	JQ061015	FJ409140

Agardh	Mexico	Canadá		
<i>Dictyota canariensis</i> (Grunow) Tronholm	Veracruz, Mexico	Veracruz, Mexico	KF322229	KF322228
<i>D. caribaea</i> Hörnig & Schnetter	St. Ann Parish, Jamaica	St. Ann Parish, Jamaica	EU395608	JQ061097
<i>D. ceylanica</i> Kützing	Tahiti, Polinesia Francesa	Tahiti, Polinesia Francesa	EU395607	GQ425122
<i>D. chalchihcuyecanensis</i> J. Lozano-Orozco & Sentías	Punta Puntillas, Veracruz (UAMIZ1236)	Punta Puntillas, Veracruz (UAMIZ1236)	N.D.	N.D.
<i>D. chalchihcuyecanensis</i> J. Lozano-Orozco & Sentías	Playa hermosa, Veracruz (UAMIZ1237)	Playa hermosa, Veracruz (UAMIZ1237)	N.D.	N.D.
<i>D. chalchihcuyecanensis</i> J. Lozano-Orozco &	Villa Rica, Veracruz (UAMIZ1238)	Villa Rica, Veracruz (UAMIZ1238)	N.D.	N.D.

Sentíes

<i>D. ciliolata</i> (Kützing) Sonder	Islas Canarias, España	Olango Island, Filipinas	GQ425192	GQ425124
<i>D. ciliolata</i>	Veracruz, México	Veracruz, México	N.D.	N.D.
<i>D. crenulata</i> J. Agardh	Baja California, Mexico	Oaxaca, Mexico	GU265782	JQ061089
<i>D. cymatophila</i> Tronholm, M. Sanson & Afonso- Carrillo	Tenerife, Islas Canarias, España	Tenerife, Islas Canarias, España	GQ425193	GQ425128
<i>D. dichotoma</i> (Hudson) J.V. Lamouroux	Walney Island, Inglaterra	Languedoc- Rousillon, Francia.	GU255542	GQ425131
<i>D. fasciola</i> (Roth) J. V. Lamouroux	Languedoc-Rousillon, Francia	Languedoc- Rousillon, Francia	FJ869847	GQ425133
<i>D. flabellata</i> (Collins)	Baja California,	Baja California,	N.D.	N.D.

Setchell & N. L. Gardner	México.	México.		
<i>D. implexa</i> (Desfontaines)	Provence Cassis,	Provence Carry-le-	GQ466076	GQ425135
J. V. Lamouroux	Francia	Rouet, Francia		
<i>D. jamaicensis</i> W. R. Taylor	Punta Cana, Jamaica.	Punta Cana, República Dominicana	JQ061055	JQ061099
<i>D. jamaicensis</i> W. R. Taylor	Quintana Roo, México	Quintana Roo, México	N.D.	N.D.
<i>D. mediterranea</i> (Schiffner)	Siracusa, Italia.	Sicilia, Italia.	GU255569	GQ290236
G. Furnari				
<i>D. pinnatifida</i> Kützing	St. Ann Parish, Jamaica	St. Ann Parish, Jamaica	EU395612	GQ425126
<i>D. pleiakantha</i> Tronholm	Tenerife, Islas Canarias, España	Tenerife, Islas Canarias, España	JQ061052	JQ061100

<i>D. rigida</i> De Clerck & Coppejans	Mombasa, Kenya	Mombasa, Kenya	GQ466077	GQ425138
<i>D. sandvicensis</i> Sonder	Oahu, Hawaii, EUA.	Oahu, Hawaii, EUA	JQ061078	GU290239
<i>D. spiralis</i> Montagne	Madeira, Portugal.	Languedoc- Roussillon, France.	GQ466078	GU290235
<i>Scoresbyella profunda</i> Womersley	Western Australia, Australia	Western Australia, Australia	EU395620	GQ425121

N.D. = Datos no disponibles

Tabla 2. Comparación morfológica de *D. chalchihcueyecanensis* con especies dentadas presentes en el Atlántico mexicano.

	<i>D. chalchihcueyecanensis</i>	<i>D. canariensis</i>	<i>D. ciliolata</i>	<i>D. jamaicensis</i>
Iridiscencia	Ausente	A veces azul grisáceo, regularmente con pigmentaciones rectangulares o cuadras más oscuras en la parte apical	A veces amarillo grisáceo, con un patrón e bandas transversales en el talo	Ausente, a veces con pigmentaciones más oscuras en forma de triángulo invertido en las dicotomías, especialmente visibles <i>in vivo</i>
Forma de ápices	redondeados	Redondeados a obtusos	Redondeados a agudos	espatulado
Dientes	Triangulares pequeños a espinosos	Triangulares pequeños	Ciliados pequeños	Espinosos a ciliados
Superficie	Lisa	Lisa, a veces con proliferaciones en forma de hoja	Lisa, a veces con proliferaciones en forma de hoja	Lisa
Pelos feofíceos	Ausentes	Ausentes	Presentes	Presentes
Esporangios	Solitarios o agrupados en ambas superficies	Solitarios en ambas superficies	Solitarios en ambas superficies	Solitarios o agrupados principalmente sobre una

				superficie
Distribución	Veracruz	Veracruz; Macaronesia	Campeche, Quintana Roo, Tamaulipas, Veracruz and Yucatán; Pantropical	Campeche, Quintana Roo, Veracruz; Cabo Verde
Referencias	Este estudio	Tronholm et al., 2013 ; Lozano et al., 2014	Ortega, 2001; Wynne, 2011; Tronholm, 2013	Ortega, 2001; Wynne, 2011; Tronholm, 2013

Conclusiones generales

Como se pudo observar a lo largo de los capítulos anteriores, la implementación de herramientas moleculares (usando marcadores cloroplástico y mitocondrial), complementadas con estudios morfológicos, nos brindan una estrategia adecuada para esclarecer la diversidad taxonómica del género.

Se obtuvieron valores de DN para los genes *cox1* y *psbA* utilizando distancia no corregida “p” que se muestran a continuación:

Gen	Intraespecífico	Interespecífico	Intergenérico
<i>cox1</i>	<6	6.1-16.9	>17
<i>psbA</i>	<1	1.1-6.3	>6.4

La diversidad de especies de *Dictyota* comprende 12 especies dentro de la zona de estudio, seis tienen correspondencia con nombres válidos (*Canistrocarpus cervicornis*, *D. ciliolata*, *D. guineensis*, *D. jamaicensis*, *D. mertensii* y *D. pinnatifida*). Se establece a *D. canariensis* como un nuevo registro para el Atlántico mexicano. Se describen 3 nuevas especies: *D. mayae* J. Lozano-Orozco et Sentías, *D. pedrochei* J. Lozano-Orozco et Sentías y *D. chalchihcuyecanensis* J. Lozano-Orozco et Sentías. Además se consideran dos nuevas entidades taxonómicas (*Dictyota* sp. 2 y *Dictyota* sp. 3). *Dictyota* sp. 2 y *D. chachicuyecanensis* comparten caracteres morfológicos y tienen una DN que esta por encima de los valores interespecíficos para el género, por lo que se sugiere complementar con análisis de otros marcadores moleculares y con estudios ecológicos (temporales y espaciales) para esclarecer su circunscripción. *Dictyota* sp. 3 presentó evidencias moleculares y morfológicas

particulares por lo cual se determinó es una nueva especie y queda pendiente su situación taxonómica y su posible publicación.

Se pone en duda la situación taxonómica de *D. pleiachanta*, dado que mostró coincidencia con *D. jamaicensis* y se recomienda reevaluar su situación actual.

Con los análisis morfológicos se lograron homogeneizar las descripciones de especies y se desarrolló una clave de indentificación en la región de estudio.

Finalmente con los marcadores moleculares utilizados en el presente estudio fue posible circunscripción de las especies, sin embargo se puede acceder a otros marcadores (espaciadoras RuBisCo y *cox2-3*, *rbcL*, COI e ITS1 ITS2) para la resolución de especies crípticas y complejos de taxa como: *D. ciliolata-crenulata*, *D. jamaicensis*, *D. mertensii*, entre otros. O bien para resolver problemas de distribución general o de filogeografía, que complementarían el estudio sistemático comparado de *Dictyota*. Asimismo, se deben de ampliar las áreas de recolecta con poblaciones del Golfo de México y Gran Caribe para lograr una visión mas precisa de la filogenia de este género.

- Agardh, J.G. 1882. Till algernes systematik. Nya bidrag. (Andra afdelningen.). *Lunds Universitets Års-Skrift, Afdelningen for Matematik och Naturvetenskap* 17(4): 1-134, 3 plates.
- Altamirano, M.C. & Riosmena, R. 2007. Vegetative and reproductive variability of *Dictyota crenulata* (Phaeophyta: Dictyotales) along the central and Southwestern Gulf of California, Mexico. *Pac. Sci.* 61(4): 575-586.
- Bittner, L., Payri, C., Couloux, A., Cruaud, C., Reviere, B. & Rousseau, F. 2008. Molecular phylogeny of the Dictyotales and their position within the Phaeophyceae, based on nuclear, plastid and mitochondrial DNA sequence data. *Mol. Phylogen. Evol.* 49: 211-226.
- Broom, J. E. S., Hart, D. R., Farr T. J., Nelson, W. A., Neill, K. F., Harvey, A. S. & Woelkerling, W. J. 2008. Utility of *psbA* and nSSU for phylogenetic reconstruction in the Corallinales based on New Zealand taxa. *Mol. Phylogenet. Evol.* 46: 958-73.
- Buchanan, J., Boo, S. & Lee, K. 2010. *Colpomenia bullosa* crust masquerading as *Ralfsia verrucosa* (Phaeophyceae) in southeast Australia. *Phycologia.* 49: 617-627.
- Cassano, V., Oliveira, M.C., Gil-Rodríguez, M.C., Senties, A., Díaz Larrea, J. & Fujii, M.T. 2012. Molecular support for the establishment of the new genus *Laurenciella* within the *Laurencia* complex (Ceramiales, Rhodophyta). *Bot. Mar.* 55: 349-357.

- Cassano, V., Gil-Rodríguez, M.C., Sentíes, A. & Fujii, M.T. 2008. *Laurencia caduciramulosa* (Ceramiales, Rhodophyta) from the Canary Islands, Spain: a new record for the eastern Atlantic Ocean. *Bot. Mar.* 51: 156-158.
- Cetz, N.P., Espinoza, J., Sentíes, A. & Quang, L.I. 2008. Nuevos registros de macroalgas para el Atlántico Mexicano y riqueza florística del Caribe Mexicano. *Hidrobiológica*. 18(1): 11-19.
- Cho, G. Y., Lee, S. H. & Boo, S. M. 2004. A new brown algal order, Ishigeales (Phaeophyceae), established on the basis of plastic protein-coding *rbcL*, *psaA*, and *psbA* region comparisons. *J. Phycol.* 40: 921-36.
- Clarkston, B. E. & Saunders, G. W. 2010. A comparison of two DNA barcode markers for species discrimination in the red algal family Kallymeniaceae (Gigartinales, Florideophyceae), with a description of *Euthora timburtonii* sp. nov. *Botany* 88: 119-31.
- Dawes, C.J. 1991. Capítulo 6: Feofitas. In *Botánica Marina*. Editorial Limusa, pp. 153-167.
- De Clerck, O. 2003. *The genus Dictyota in the Indian Ocean*. National Botanic Garden, Belgium, Meise, 205 pp.
- De Clerck, O., Leliaert, H., Verbruggen, H., Campos de Paula, D., Payo, A. & Coppejans, E. 2006. A revised classification of Dictyoteae (Dictyotales, Phaeophyceae) based on *rbcL* and 26S ribosomal DNA sequence analyses. *J. Phycol.* 42: 1271-1288.

- De Clerck, O. & Coppejans, E. 2003. Morphology and systematic of two aberrant species of *Dictyota* (Dictyotaceae, Phaeophyta), including a discussion on the generic boundaries in the tribe Dictyoteae. In Chapman, A.R.O. Anderson, R.J. Vreel, V.J. & Davison, I.R. eds. *Proc. 17th Int. Seaweed Symp.*, Cape Town. Oxford University Press, New York. p. 275-284.
- De Clerck, O. & Coppejans, E. 1999. Two new species of *Dictyota* (Dictyotales, Phaeophyta) from the Indo-Malayan region. *Phycologia*. 38: 184-94.
- De Paula, J.C., Bomeny Bueno, L., de Palmer Paixão Frugulhetti, I.C., Yoneshigue-Valentin, Y. & Teixeira, V.L. 2007. *Dictyota dolabellana* sp. nov. (Dictyotaceae, Phaeophyceae) based on morphological and chemical data. *Bot. Mar.* 50: 288-93.
- Draisma, S., Prud'homme van Reine, W., Stam, W. & Olsen, J. 2001. A reassessment of phylogenetic relationships within the Phaeophyceae based on RUBISCO large subunit and ribosomal DNA sequences. *J. Phycol.* 37: 586-603.
- Draisma, S. G. A., Ballesteros, E., Rousseau, F. & Thibaut, T. 2010. DNA sequence data demonstrate the polyphyly of the genus *Cystoseira* and other Sargassaceae genera (Phaeophyceae). *J. Phycol.* 46: 1329-45.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-91.

- Geraldino, P. J. L., Riosmena-Rodríguez, R., Liao, L. M. & Boo, S. M. 2010. Phylogenetic relationships within the genus *Hypnea* (Gigartinales, Rhodophyta) with a description of *H. caespitosa* sp. nov. *J. Phycol.* 46: 336-45.
- Guimaraes, S.M.P.B. & A. Amado-Filho. 2008. Deep-water gelatinous rhodophytes from southern Espírito Santo State, Brazil. *Bot. Mar.* 51: 378-387.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2015. Alga Base. World-wide electronic publication, National University of Ireland. Galway, Ireland. Available at: <http://www.algaebase.org/> (Diciembre, 2015).
- Haroun, R.J., Gil-Rodríguez, M.C. Díaz de Castro, J. & Prud'homme van Reine, W.F. 2002. A checklist of the marine plants from the Canary Islands (central eastern Atlantic Ocean). *Bot. Mar.* 45: 139-169
- Horning L., Schnetter, R. & Prud'homme van Reine, W. 1992a. The genus *Dictyota* (Phaeophyceae) in the north Atlantic. I. A new generic concept and new species. *Nova Hedwigia.* 54: 45-62
- Horning, L., Schnetter, R. & Prud'homme van Reine, W. 1992b. The genus *Dictyota* (Phaeophyceae) in the North Atlantic. II. Key to species. *Nova Hedwigia* 54: 397-402
- Hoshina, R., Hasegawa, K., & Tanaka, J. 2004. Molecular phylogeny of the Dictyotaceae (Phaeophyceae) with emphasis on their morphology and its taxonomic implication. *Jpn. J. Phycol.* 52 (suplement): 189-194.

- Hwang, I., Kim, S., & Lee, W. 2005. Polimorphism in the brown alga *Dictyota dichotoma* (Dictyotales, Phaepohycee) from Korea. *Mar. biol.* (Berl.) 147: 999-1015.
- Hwang, I.K., Kim, H.S. & Lee, W.J. 2004. Confirmation on taxonomic status of *Spatoglossum pacificum* Yendo (Dictyotaceae; Phaeophyceae) based on morphology and plastid protein coding *rbcL*, *rbcS*, *psaA*, and *psbA* gene sequences. *Algae*: 161-174.
- Hwang, I., Lee, W., Kim, H. & De Clerck, O. 2009. Taxonomic reappraisal of *Dilophus okamuræ* (Dictyotales, Phaeophyta) from the western Pacific Ocean. *Phycologia*. 48(1): 1-12
- Jaasund, E. 1970. Marine algae from Tanzania. IV. *Bot. Mar.* 13: 71-9.
- John, D.M., Prud'homme van Reine, W.F. Lawson, G.W. Kostermans T.B. & Price, J.H. 2004. A taxonomic and geographical catalogue of the seaweeds of the western coast of Africa and adjacent islands. *Nova Hedwigia* 127: 1-339.
- Krienitz, L., Bock, C., Dadheech, P.K. & Pröschold, T. 2011. Taxonomic reassessment of the genus *Mychonastes* (Chlorophyceae, Chlorophyta) including the description of eight new species. *Phycologia*. 50: 89-106.
- Kucera, H. & Saunders, G.W. 2008. Assigning morphological variants of *Fucus* (Fucales, Phaeophyceae) in Canadian waters to recognized species using DNA barcoding. *Botany*. 86: 1065-1079.
- Kützing, F.T. 1843. *Phycologia generalis* oder Anatomie, Physiologie und Systemkunde der

Tange. Mit 80 farbig gedruckten Tafeln, gezeichnet und gravirt vom Verfasser. pp. [part 1]: [i]-xxxii, [1]-142, [part 2:] 143-458, 1, err.], pls 1-80. Leipzig: F.A. Brockhaus.

Lamouroux, J.V.F. 1809. Exposition des caractères du genre *Dictyota*, et tableau des espèces qu'il renferme. *J. Bot. Desvaux* 2: 38-44.

Lee, W. & Bae, K. 2002. Phylogenetic relationship among several genera of Dictyotaceae (Dictyotales, Phaepohyceeae) based on 18s rRNA and partial *rbcl* gene sequences. *Mar. Biol.* (Berl.) 140: 1107-1115.

Leliaert, F., Verbruggen, H., Vanormelingen, P., Steen, F., López-Bautista, J.M., Zuccarello G.C. & De Clerck, O. 2014. DNA-based species delimitation in algae. *Eur. J. Phycol.* 49: 179-196.

Lim, P., Sakaguchi, M., Hanyuda, T., Kogame, K., Phang S. & Kawai, H. 2007. Molecular phylogeny of crustose brown algae (Ralfsiales, Phaeophyceae) Inferred from *rbcl* sequences resulting in the proposal for Neoralfsiaceae Fam. Nov. *Phycologia*. 46: 456-466.

Littler, D.S. & Littler, M.M. 2000. *Caribbean Reef Plants*. Offshore Graphics. Washington, D.C. 542 p.

Liu, C., Huang, X., Wang, X., Zhang X. & Li, G. 2006. Phylogenetic studies on two strains of Antarctic ice algae based on morphological and molecular characteristics. *Phycologia*. 45: 190-198.

- Lozano-Orozco, J.G., Senties, A., Díaz-Larrea, J., & Pedroche, F.F. 2016. *Dictyota chalchihucueyecanensis* sp. nov. (Dictyotales; Phaeophyceae) en el Golfo de México: Evidencias moleculares y morfológicas. *Hidrobiológica*. No. Especial SOFILAC. (Aceptado).
- Lozano-Orozco, J.G., Senties, A., De Clerck, O., Drekman, A. & Díaz-Larrea, J. 2015. Two new species of the genus *Dictyota* (Phaeophyceae: Dictyotales) from the Mexican Caribbean. *Am. J. Plant Sci.* 6: 2492-2501.
- Lozano-Orozco, J.G., Senties, A., Díaz-Larrea, J., Pedroche, F. & De Clerck, O. 2014. The occurrence of *Dictyota canariensis* (Dictyotales, Phaeophyceae) in the Gulf of Mexico. *Bot. Mar.* 57: 359-365.
- Machín-Sánchez, M., Cassano, V. Díaz-Larrea, J. Senties, A. Fujii M.T. & Gil-Rodríguez, M.C. 2012. Morphological and molecular evidence demonstrates the amphi-Atlantic distribution of *Laurencia catarinensis* (Ceramiales, Rhodophyta). *Bot. Mar.* 55: 241-252.
- Mattio, L. & Payri, C. 2010. Assesment of five markers as potential barcodes for identifying *Sargassum* subgenus *Sargassum* species (Phaeophyceae, Fucales). *Cryptogamie algol.* 31(4): 467-485
- Mendoza-González, A.C., Senties, A. Mateo-Cid, L.E. Díaz-Larrea, J. Pedroche F.F. & Alvarado, R. 2011. *Ochtodes searlesii* sp. nov. (Gigartinales, Rhodophyta), from the Pacific tropical coast of Mexico, based on morphological and molecular evidence. *Phycol. Res.* 59: 250-258.

- Mendoza, A.C., Mateo, L.E. & Searles, R.B. 2007. Yucatan seaweeds from the offshore waters of Isla Mujeres, Quintana Roo, México. *Bot. Mar.* 50: 280-287.
- Milne, I., Lindner D., Bayer, M., Husmeier, D., McGuire., G., Marshal, D. & Wright, F. 2009. TOPALi v2: a rich graphical interface for evolutionary analyses of multiple alignments on HPC clusters and multi-core desktops. *Bioinformatics.* 25: 126-12.
- Morden, C. W. & Sherwood, A. R. 2002. Continued evolutionary surprises among dinoflagellates. *PNAS* 99:11558-60.
- NCBI (Genebank). 2015. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>>.
- Nixon, K.C. 1999. The parsimony ratchet, a new method for rapid parsimony analysis. *Cladistics.* 15: 407-414.
- Norris, J.N. 1975. *Marine Algae of the Northern Gulf of California*. Tesis de Doctorado. University of California. Santa Barbara, E.U.A. p. 453.
- Nunes, J. & De Paula, E. 2001. O Genero *Dictyota* Lamouroux (Dyctyotaceae-Phaeophyta) no litoral do estado da Bahia, Brasil. *Acta Bot. Malacit.* 26: 5-18.
- Ortega, M., Godínez, J. & Garduño, G. 2001. *Catálogo de algas bénticas de las costas mexicanas del Golfo de México y mar Caribe*. UNAM-CONABIO. 594 p.
- Pedroche, P.F., Silva, P.C., Aguilar Rosas, L.E., Dreckmann, K.M. & Aguilar Rosas, R. 2008. *Catálogo de las algas bentónicas del Pacífico de México II. Phaeophyceae*. pp. [i-viii], i-vi, 15-146. Mexicali & Berkeley: Universidad Autónoma Metropolitana and University of California Berkeley.

- Phillips, J.A. 1992. Taxonomy and reproduction in Australian species of *Dilophus* (Dictyotales, Phaeophyta). *Aus. Syst. Bot.* 5: 657-94.
- Posada, D. 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Mol. Phylogenet. Evol.* 25: 1253-1256.
- Robba, L., Russell, S. J., Barker, J. L. & Brodie, J. 2006. Assessing the use of the mitochondrial *cox1* marker for use in DNA barcoding of red algae (Rhodophyta). *Am. J. Bot.* 93: 1101-8.
- Ronquist, E. & Huelsenbeck, J. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics.* 19: 1572-74.
- Saunders, G.W. 2005. Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. *Phil. Trans. R. Soc. B* 360: 1879-88.
- Seo, K. S., Cho, T. O., Park, J. S., Yang, E. C., Yoon, H. S. & Boo, S. M. 2003. Morphology, basiphyte range, and plastid DNA phylogeny of *Campylaephora borealis* stat. nov. (Ceramiaceae, Rhodophyta). *Taxon* 52: 9-19.
- Setchell, W.A. & Gardner N.L. 1925. The marine algae of the pacific Coast of North America. Part III. Maelanophyceae. *University of California Publications in Botany* 8: 383-898.
- Silberfeld, T., Leigh, J., Verbruggen, H., Cruaud C., de Reviers, B. & Rousseau, F. 2010. A multilocus time calibrated phylogeny of the brown algae (Heterokonta,

- Phaeophyceae): investigating the evolutionary nature of the "brown algal crown radiation". *Mol. Phylogenet. Evol.* 56: 659-74.
- Schilling L. & M. Pigliucci. 2004. Phenotypic plasticity. Phenotypic evolution: a reaction norm perspective, 1-18.
- Silva, P.C., Basson, P.W. & Moe, R. I. 1996 Catalogue of benthic marine algae of the Indian Ocean. *University of California Publications in Botany.* 79: 1-1259.
- Solé, M. & Foldats, E. 2003. El género *Dictyota* (Phaeophyceae, Dictyotales) en el Caribe venezolano. *Acta Bot. Venez.* 26 (1): 41-82.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. & Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using Maximum Likelihood, evolutionary distance, and Maximum Parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 28: 2731-2739.
- Taylor, W.R. 1960. *Marine algae of the Eastern tropical and subtropical coasts of the Americas.* The University of Michigan Press. Ann Arbor, Michigan. 870 pp.
- Taylor, W.R. 1945. *Pacific Marine Algae of Allan Hancock Expeditions to the Galapagos Islands.* *Allan Hancock Expeditions.* 12: 1-528.
- Thompson, J., Gibson, D., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgind, D. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by qualin analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 25: 4876-82.
- Trevisan [de Saint-Léon], V.B.A. (1849). *Caulerpearum sciagraphia.* *Linnaea* 22: 129-144.

- Tronholm, A., Afonso-Carrillo, J., Sansón, M., Leliaert, F., Fernandez-Garcia, C. & De Clerck, O. 2013. Taxonomy of the *Dictyota ciliolata-crenulata* complex (Dictyotales, Phaeophyceae). *Phycologia*. 52: 171-181.
- Tronholm, A., Leliaert, F., Sansón, M., Afonso-Carrillo, J., Tyberghein, L., Verbruggen H. & De Clerck, O. 2012. Contrasting geographical distributions as a result of thermal tolerance and long-distance dispersal in two allegedly widespread tropical brown algae. *Plos One*. 7: e30813.
- Tronholm, A., Sanson, M. & Alfonso, J. 2010a. Niche partitioning and the coexistence of two cryptic *Dictyota* (Dictyotales, Phaeophyceae) species from The Canary Islands. *J. Phycologia*. 46: 1075-1087.
- Tronholm, A., Steen, F., Tyberghein L., Leliaert, F., Verbruggen, H., Ribera, M. & De Clerck O. 2010b. Species delimitation, taxonomy and biogeography of *Dictyota* in Europe (Dictyotales, Phaeophyceae). *J. Phycol.* 46: 1301-1321.
- Tronholm, A., Sanson, M., Alfonso J. & De Clerck, O. 2008. Distinctive morphological features, Life-cycle phases and seasonal variations in subtropical populations of *Dictyota dichotoma* (Dictyotales, Phaeophyceae). *Bot. Mar.* 51: 132-144.
- Vallim, M.A., Barbosa, J.E., Cavalcanti, D.N., De-Paula, J.C., Silva, V.A. G.G., Teixeira, V. L., & Paixão, I.C.N.P. 2010. In vitro antiviral activity of diterpenes isolated from the Brazilian brown alga *Canistrocarpus cervicornis*. *J. Med. Plant Res.* 4: 2379-2382.

- Vis, O. & Oliveira, C. 2010. Phylogenetic relationships in *Kumanoa* (Batrachospermales, Rhodophyta) species in Brazil with the proposal of *Kumanoa amazonensis* sp. nov. *Phycologia*. 49: 97-103.
- Weber-Peukert, G. 1985. Ontogenetische, autökologische und taxonomische Untersuchungen an ausgewählten Arten der Gattung *Dictyota* (Dictyotales, Phaeophyceae). I. Cytologische Daten als Differenzierungsmerkmale. *Nova Hedwigia*. 42: 123-49.
- Wynne, M.J. 2011. A checklist of benthic marine algae of the tropical and subtropical western Atlantic: third revision. *Nova Hedwigia*. 140: 1-166.
- Yang, E. C., Kim, M. S., Geraldino, P. J. L., Sahoo, D. & Shin, J.-A. 2008. Mitochondrial *cox1* and plastid *rbcL* genes of *Gracilaria vermiculophylla* (Gracilariaceae, Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.* 20: 161-8.

Anexo 1. Distancia no corregida “p” para el gen cox1.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
[1] morfo_2																										
[2] morfo_3	0.000																									
[3] morfo_5	0.000	0.000																								
[4] morfo_6	0.062	0.062	0.062																							
[5] morfo_9	0.072	0.072	0.072	0.062																						
[6] morfo_11	0.072	0.072	0.072	0.062	0.000																					
[7] morfo_12	0.169	0.169	0.169	0.169	0.164	0.164																				
[8] morfo_13	0.072	0.072	0.072	0.062	0.000	0.000	0.164																			
[9] morfo_14	0.179	0.179	0.179	0.185	0.174	0.174	0.174	0.174																		
[10] morfo_15	0.097	0.097	0.097	0.108	0.108	0.108	0.179	0.108	0.164																	
[11] morfo_16	0.097	0.097	0.097	0.108	0.108	0.108	0.179	0.108	0.164	0.000																
[12] morfo_17	0.164	0.164	0.164	0.164	0.159	0.159	0.005	0.159	0.169	0.174	0.174															
[13] morfo_19	0.082	0.082	0.082	0.092	0.092	0.092	0.164	0.092	0.149	0.015	0.015	0.159														
[14] morfo_20	0.144	0.144	0.144	0.133	0.154	0.154	0.179	0.154	0.179	0.138	0.138	0.174	0.144													
[15] morfo_23	0.205	0.205	0.205	0.205	0.221	0.221	0.251	0.221	0.210	0.231	0.231	0.246	0.221	0.246												
[16] morfo_25	0.144	0.144	0.144	0.159	0.144	0.144	0.144	0.144	0.154	0.149	0.149	0.138	0.133	0.164	0.215											
[17] morfo_27	0.144	0.144	0.144	0.159	0.144	0.144	0.144	0.144	0.154	0.149	0.149	0.138	0.133	0.164	0.215	0.000										
[18] morfo_28	0.133	0.133	0.133	0.154	0.164	0.164	0.179	0.164	0.179	0.133	0.133	0.174	0.138	0.169	0.215	0.154	0.154									
[19] morfo_29	0.149	0.149	0.149	0.164	0.149	0.149	0.149	0.149	0.144	0.154	0.154	0.144	0.138	0.164	0.210	0.010	0.010	0.159								
[20] morfo_30	0.144	0.144	0.144	0.159	0.144	0.144	0.144	0.144	0.154	0.149	0.149	0.138	0.133	0.164	0.215	0.000	0.000	0.154	0.010							
[21] C. cervicornis	0.185	0.185	0.185	0.195	0.210	0.210	0.215	0.210	0.205	0.195	0.195	0.221	0.190	0.215	0.251	0.221	0.221	0.190	0.215	0.221						
[22] C. crispatus	0.174	0.174	0.174	0.185	0.205	0.205	0.221	0.205	0.200	0.179	0.179	0.226	0.185	0.200	0.246	0.226	0.226	0.185	0.221	0.226	0.062					
[23] D. acutiloba	0.138	0.138	0.138	0.164	0.154	0.154	0.174	0.154	0.159	0.154	0.154	0.169	0.159	0.062	0.215	0.138	0.138	0.138	0.138	0.138	0.205	0.205				
[24] D. adnata	0.133	0.133	0.133	0.149	0.138	0.138	0.195	0.138	0.179	0.138	0.138	0.190	0.123	0.149	0.241	0.154	0.154	0.149	0.159	0.154	0.205	0.195	0.154			
[25] D. alternifida	0.164	0.164	0.164	0.179	0.154	0.154	0.159	0.154	0.138	0.179	0.179	0.154	0.164	0.149	0.236	0.164	0.164	0.169	0.154	0.164	0.231	0.241	0.144	0.149		
[26] D. bartayresiana	0.185	0.185	0.185	0.164	0.190	0.190	0.210	0.190	0.190	0.144	0.144	0.205	0.149	0.174	0.215	0.159	0.159	0.195	0.159	0.159	0.215	0.221	0.179	0.174	0.226	
[27] D. binghamiae	0.133	0.133	0.133	0.149	0.164	0.164	0.200	0.164	0.169	0.128	0.128	0.195	0.113	0.164	0.241	0.144	0.144	0.164	0.138	0.144	0.200	0.200	0.174	0.149	0.185	0.174
[28] D. canaliculata	0.159	0.159	0.159	0.149	0.159	0.159	0.200	0.159	0.185	0.149	0.149	0.195	0.154	0.190	0.215	0.174	0.174	0.144	0.174	0.174	0.154	0.179	0.179	0.195	0.159	0.164
[29] D. canariensis	0.133	0.133	0.133	0.154	0.164	0.164	0.174	0.164	0.179	0.133	0.133	0.169	0.138	0.174	0.215	0.159	0.159	0.015	0.164	0.159	0.185	0.179	0.149	0.154	0.174	0.190
[30] D. caribaea	0.046	0.046	0.046	0.067	0.077	0.077	0.164	0.077	0.169	0.123	0.123	0.159	0.108	0.179	0.210	0.138	0.138	0.149	0.144	0.138	0.174	0.174	0.164	0.133	0.185	0.159
[31] D. ceylanica	0.154	0.154	0.154	0.159	0.164	0.164	0.205	0.164	0.164	0.154	0.154	0.200	0.149	0.190	0.215	0.164	0.164	0.169	0.159	0.164	0.205	0.210	0.169	0.164	0.179	0.190
[32] D. ciliolata	0.154	0.154	0.154	0.169	0.154	0.154	0.149	0.154	0.154	0.154	0.154	0.144	0.138	0.164	0.215	0.041	0.041	0.149	0.041	0.041	0.210	0.221	0.133	0.164	0.159	0.169
[33] D. coriacea	0.154	0.154	0.154	0.159	0.159	0.159	0.159	0.159	0.164	0.179	0.179	0.154	0.174	0.144	0.200	0.118	0.118	0.144	0.118	0.118	0.236	0.226	0.113	0.174	0.118	0.169

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
[34] <i>D_crenulata</i>	0.138	0.138	0.138	0.149	0.164	0.164	0.174	0.164	0.128	0.133	0.133	0.169	0.118	0.154	0.200	0.159	0.159	0.138	0.154	0.159	0.174	0.179	0.138	0.144	0.174	0.174
[35] <i>D_cyanoloma</i>	0.185	0.185	0.185	0.179	0.169	0.169	0.149	0.169	0.123	0.164	0.164	0.144	0.159	0.169	0.226	0.149	0.149	0.128	0.144	0.149	0.226	0.241	0.159	0.169	0.092	0.195
[36] <i>D_cymatophila</i>	0.108	0.108	0.108	0.103	0.113	0.113	0.169	0.113	0.169	0.082	0.082	0.164	0.067	0.159	0.205	0.144	0.144	0.159	0.138	0.144	0.185	0.169	0.179	0.149	0.169	0.149
[37] <i>D_dhofarensis</i>	0.154	0.154	0.154	0.159	0.169	0.169	0.179	0.169	0.174	0.169	0.169	0.174	0.154	0.179	0.210	0.128	0.128	0.164	0.128	0.128	0.221	0.210	0.138	0.185	0.169	0.179
[38] <i>D_dichotoma</i>	0.118	0.118	0.118	0.123	0.144	0.144	0.154	0.144	0.144	0.128	0.128	0.149	0.113	0.138	0.210	0.149	0.149	0.128	0.149	0.149	0.200	0.195	0.133	0.149	0.138	0.169
[39] <i>D_diemensis</i>	0.138	0.138	0.138	0.149	0.138	0.138	0.123	0.138	0.113	0.159	0.159	0.118	0.144	0.128	0.226	0.128	0.128	0.159	0.128	0.128	0.210	0.231	0.133	0.149	0.092	0.190
[40] <i>D_fasciola</i>	0.118	0.118	0.118	0.154	0.138	0.138	0.159	0.138	0.159	0.138	0.138	0.154	0.133	0.159	0.169	0.118	0.118	0.154	0.113	0.118	0.200	0.210	0.118	0.164	0.144	0.159
[41] <i>D_flabellata</i>	0.118	0.118	0.118	0.118	0.118	0.118	0.179	0.118	0.154	0.092	0.092	0.174	0.097	0.144	0.210	0.128	0.128	0.097	0.133	0.128	0.179	0.154	0.128	0.133	0.159	0.179
[42] <i>D_friabilis</i>	0.118	0.118	0.118	0.144	0.144	0.144	0.179	0.144	0.123	0.149	0.149	0.174	0.133	0.138	0.185	0.154	0.154	0.159	0.144	0.154	0.179	0.185	0.138	0.138	0.144	0.190
[43] <i>D_grossedentata</i>	0.113	0.113	0.113	0.144	0.144	0.144	0.169	0.144	0.149	0.123	0.123	0.164	0.108	0.174	0.195	0.087	0.087	0.149	0.097	0.087	0.210	0.215	0.169	0.138	0.164	0.144
[44] <i>D_hamifera</i>	0.164	0.164	0.164	0.174	0.159	0.159	0.138	0.159	0.123	0.164	0.164	0.133	0.149	0.169	0.226	0.133	0.133	0.159	0.133	0.133	0.185	0.200	0.149	0.159	0.123	0.190
[45] <i>D_implexa</i>	0.113	0.113	0.113	0.118	0.138	0.138	0.154	0.138	0.138	0.123	0.123	0.149	0.118	0.138	0.210	0.149	0.149	0.103	0.154	0.149	0.159	0.149	0.138	0.128	0.159	0.179
[46] <i>D_intermedia</i>	0.123	0.123	0.123	0.138	0.149	0.149	0.149	0.149	0.123	0.159	0.159	0.144	0.144	0.144	0.221	0.128	0.128	0.159	0.138	0.128	0.174	0.185	0.133	0.149	0.144	0.190
[47] <i>D_jamaicensis</i>	0.056	0.056	0.056	0.056	0.015	0.015	0.164	0.015	0.164	0.103	0.103	0.159	0.087	0.159	0.215	0.144	0.144	0.154	0.149	0.144	0.195	0.190	0.149	0.138	0.154	0.190
[48] <i>D_liturata</i>	0.154	0.154	0.154	0.159	0.149	0.149	0.164	0.149	0.108	0.159	0.159	0.159	0.144	0.133	0.210	0.164	0.164	0.159	0.154	0.164	0.205	0.200	0.138	0.154	0.072	0.215
[49] <i>D_mediterranea</i>	0.133	0.133	0.133	0.149	0.149	0.149	0.169	0.149	0.138	0.144	0.144	0.164	0.138	0.159	0.133	0.159	0.159	0.144	0.154	0.159	0.169	0.185	0.133	0.174	0.159	0.138
[50] <i>D_mertensii</i>	0.179	0.179	0.179	0.185	0.174	0.174	0.174	0.174	0.000	0.164	0.164	0.169	0.149	0.179	0.210	0.154	0.154	0.179	0.144	0.154	0.205	0.200	0.159	0.179	0.138	0.190
[51] <i>D_naevosa</i>	0.144	0.144	0.144	0.154	0.149	0.149	0.200	0.149	0.164	0.159	0.159	0.195	0.144	0.174	0.210	0.113	0.113	0.159	0.118	0.113	0.210	0.215	0.133	0.154	0.144	0.179
[52] <i>D_nigricans</i>	0.169	0.169	0.169	0.174	0.195	0.195	0.144	0.195	0.149	0.154	0.154	0.138	0.149	0.179	0.205	0.138	0.138	0.149	0.144	0.138	0.215	0.210	0.149	0.179	0.169	0.164
[53] <i>D_paniculata</i>	0.144	0.144	0.144	0.159	0.169	0.169	0.164	0.169	0.159	0.128	0.128	0.159	0.133	0.169	0.221	0.144	0.144	0.128	0.149	0.144	0.200	0.205	0.149	0.174	0.159	0.159
[54] <i>D_pinnatifida</i>	0.164	0.164	0.164	0.164	0.159	0.159	0.005	0.159	0.169	0.174	0.174	0.000	0.159	0.174	0.246	0.138	0.138	0.174	0.144	0.138	0.221	0.226	0.169	0.190	0.154	0.205
[55] <i>D_pleiacantha</i>	0.067	0.067	0.067	0.046	0.026	0.026	0.164	0.026	0.164	0.108	0.108	0.159	0.092	0.149	0.210	0.144	0.144	0.144	0.149	0.144	0.200	0.190	0.154	0.128	0.154	0.179
[56] <i>D_rigida</i>	0.144	0.144	0.144	0.159	0.154	0.154	0.169	0.154	0.200	0.174	0.174	0.164	0.169	0.149	0.221	0.123	0.123	0.169	0.133	0.123	0.200	0.221	0.133	0.164	0.169	0.179
[57] <i>D_sandvicensis</i>	0.082	0.082	0.082	0.072	0.046	0.046	0.174	0.046	0.164	0.097	0.097	0.169	0.092	0.123	0.200	0.138	0.138	0.149	0.144	0.138	0.210	0.195	0.133	0.144	0.164	0.190
[58] <i>D_spiralis</i>	0.128	0.128	0.128	0.144	0.128	0.128	0.149	0.128	0.123	0.113	0.113	0.144	0.108	0.128	0.210	0.133	0.133	0.118	0.128	0.133	0.190	0.185	0.118	0.133	0.149	0.159
[59] <i>D_stolonifera</i>	0.154	0.154	0.154	0.149	0.149	0.149	0.154	0.149	0.113	0.149	0.149	0.149	0.144	0.144	0.221	0.154	0.154	0.169	0.154	0.154	0.169	0.179	0.128	0.164	0.118	0.195
[60] <i>Gent_1</i>	0.097	0.097	0.097	0.108	0.108	0.108	0.179	0.108	0.164	0.000	0.000	0.174	0.015	0.138	0.231	0.149	0.149	0.133	0.154	0.149	0.195	0.179	0.154	0.138	0.179	0.144
[61] <i>Sc_profunda</i>	0.195	0.195	0.195	0.221	0.231	0.231	0.200	0.231	0.226	0.221	0.221	0.205	0.215	0.210	0.262	0.236	0.236	0.210	0.231	0.236	0.210	0.205	0.200	0.221	0.236	0.231

[28] <i>D_caniculata</i>	0.149
[29] <i>D_canariensis</i>	0.154 0.138
[30] <i>D_caribaea</i>	0.159 0.159 0.149
[31] <i>D_ceylanica</i>	0.179 0.164 0.164 0.154
[32] <i>D_ciliolata</i>	0.159 0.169 0.149 0.154 0.164
[33] <i>D_coriacea</i>	0.169 0.154 0.144 0.169 0.169 0.118
[34] <i>D_crenulata</i>	0.149 0.174 0.133 0.138 0.174 0.154 0.179
[35] <i>D_cyanoloma</i>	0.179 0.164 0.138 0.174 0.169 0.144 0.154 0.159
[36] <i>D_cymatophila</i>	0.128 0.149 0.159 0.113 0.169 0.149 0.174 0.118 0.169
[37] <i>D_dhofarensis</i>	0.164 0.185 0.159 0.154 0.138 0.128 0.133 0.174 0.169 0.144
[38] <i>D_dichotoma</i>	0.154 0.164 0.133 0.118 0.164 0.149 0.144 0.123 0.149 0.149 0.144
[39] <i>D_diemensis</i>	0.149 0.154 0.154 0.154 0.174 0.113 0.128 0.144 0.108 0.159 0.164 0.144
[40] <i>D_fasciola</i>	0.179 0.154 0.159 0.138 0.123 0.128 0.133 0.123 0.154 0.154 0.144 0.133 0.133
[41] <i>D_flabellata</i>	0.144 0.154 0.108 0.123 0.164 0.133 0.159 0.118 0.144 0.097 0.133 0.123 0.149 0.133
[42] <i>D_friabilis</i>	0.149 0.169 0.154 0.133 0.154 0.144 0.154 0.128 0.138 0.138 0.154 0.149 0.123 0.144 0.133
[43] <i>D_grossedentata</i>	0.138 0.159 0.154 0.123 0.144 0.113 0.149 0.154 0.149 0.123 0.133 0.144 0.118 0.128 0.108
[44] <i>D_hamifera</i>	0.164 0.154 0.159 0.159 0.185 0.118 0.138 0.154 0.118 0.164 0.144 0.154 0.097 0.133 0.128 0.138 0.144
[45] <i>D_implexa</i>	0.149 0.159 0.092 0.103 0.159 0.133 0.149 0.103 0.149 0.133 0.133 0.118 0.123 0.149 0.077 0.113 0.128 0.103
[46] <i>D_intermedia</i>	0.144 0.164 0.154 0.118 0.169 0.128 0.144 0.144 0.144 0.169 0.154 0.128 0.103 0.149 0.154 0.108 0.123 0.123 0.097
[47] <i>D_jamaicensis</i>	0.159 0.159 0.154 0.072 0.159 0.154 0.154 0.154 0.169 0.108 0.164 0.133 0.138 0.133 0.113 0.133 0.138 0.154 0.128 0.133
[48] <i>D_liturata</i>	0.174 0.144 0.154 0.164 0.149 0.154 0.133 0.138 0.092 0.144 0.144 0.113 0.092 0.149 0.138 0.108 0.133 0.118 0.128 0.128 0.149
[49] <i>D_mediterranea</i>	0.169 0.144 0.138 0.133 0.138 0.154 0.144 0.113 0.169 0.133 0.144 0.118 0.144 0.072 0.118 0.133 0.128 0.149 0.113 0.144 0.144 0.149
[50] <i>D_mertensii</i>	0.169 0.185 0.179 0.169 0.164 0.154 0.164 0.128 0.123 0.169 0.174 0.144 0.113 0.159 0.154 0.123 0.149 0.123 0.138 0.123 0.164 0.108 0.138
[51] <i>D_naevosa</i>	0.149 0.164 0.159 0.164 0.154 0.118 0.128 0.174 0.149 0.154 0.092 0.159 0.154 0.144 0.133 0.154 0.108 0.128 0.138 0.133 0.144 0.133 0.149 0.164
[52] <i>D_nigricans</i>	0.144 0.169 0.149 0.179 0.185 0.133 0.133 0.154 0.154 0.174 0.154 0.128 0.154 0.154 0.154 0.149 0.149 0.159 0.149 0.164 0.190 0.169 0.149 0.149 0.149
[53] <i>D_paniculata</i>	0.169 0.144 0.133 0.149 0.169 0.144 0.159 0.138 0.169 0.159 0.159 0.138 0.133 0.128 0.144 0.164 0.103 0.149 0.113 0.144 0.159 0.159 0.149 0.159 0.144 0.138
[54] <i>D_pinnatifida</i>	0.195 0.195 0.169 0.159 0.200 0.144 0.154 0.169 0.144 0.164 0.174 0.149 0.118 0.154 0.174 0.174 0.164 0.133 0.149 0.144 0.159 0.159 0.164 0.169 0.195 0.138
[55] <i>D_pleiacantha</i>	0.159 0.149 0.144 0.072 0.154 0.154 0.159 0.144 0.154 0.097 0.159 0.133 0.133 0.128 0.097 0.133 0.128 0.154 0.118 0.144 0.031 0.138 0.138 0.164 0.149 0.185
[56] <i>D_rigida</i>	0.164 0.164 0.169 0.159 0.205 0.123 0.128 0.174 0.185 0.179 0.174 0.159 0.149 0.138 0.174 0.149 0.118 0.159 0.154 0.128 0.154 0.174 0.138 0.200 0.128 0.154
[57] <i>D_sandvicensis</i>	0.164 0.164 0.149 0.097 0.154 0.149 0.133 0.138 0.164 0.097 0.159 0.149 0.149 0.138 0.108 0.138 0.144 0.164 0.128 0.149 0.051 0.133 0.133 0.164 0.138 0.195
[58] <i>D_spiralis</i>	0.144 0.164 0.108 0.123 0.164 0.128 0.149 0.092 0.128 0.097 0.144 0.123 0.118 0.133 0.092 0.123 0.138 0.133 0.072 0.128 0.128 0.123 0.108 0.123 0.154 0.154
[59] <i>D_stolonifera</i>	0.154 0.154 0.164 0.154 0.169 0.154 0.164 0.123 0.113 0.154 0.154 0.144 0.108 0.149 0.144 0.108 0.133 0.118 0.123 0.103 0.138 0.092 0.144 0.113 0.138 0.159
[60] <i>Gent_1</i>	0.128 0.149 0.133 0.123 0.154 0.154 0.179 0.133 0.164 0.082 0.169 0.128 0.159 0.138 0.092 0.149 0.123 0.164 0.123 0.159 0.103 0.159 0.144 0.164 0.159 0.154
[61] <i>Sc_profunda</i>	0.246 0.231 0.215 0.205 0.231 0.231 0.205 0.200 0.226 0.205 0.200 0.205 0.226 0.200 0.221 0.200 0.221 0.221 0.205 0.226 0.226 0.221 0.200 0.226 0.241 0.205

	53	54	55	56	57	58	59	60	61
[54] <i>D_pinnatifida</i>	0.159								
[55] <i>D_pleiacantha</i>	0.149	0.159							
[56] <i>D_rigida</i>	0.149	0.164	0.159						
[57] <i>D_sandvicensis</i>	0.185	0.169	0.056	0.159					
[58] <i>D_spiralis</i>	0.138	0.144	0.118	0.164	0.108				
[59] <i>D_stolonifera</i>	0.149	0.149	0.149	0.149	0.149	0.133			
[60] <i>Gent_1</i>	0.128	0.174	0.108	0.174	0.097	0.113	0.149		
[61] <i>Sc_profunda</i>	0.205	0.205	0.221	0.226	0.236	0.195	0.210	0.221	

Anexo 2. Distancia no corregida “p” para el gen *psbA*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
[1] morfo_1																									
[2] morfo_2	0.032																								
[3] morfo_3	0.032	0.000																							
[4] morfo_4	0.066	0.088	0.088																						
[5] morfo_5	0.032	0.000	0.000	0.088																					
[6] morfo_6	0.042	0.024	0.024	0.080	0.024																				
[7] morfo_7	0.066	0.088	0.088	0.000	0.088	0.080																			
[8] morfo_8	0.042	0.024	0.024	0.080	0.024	0.005	0.080																		
[9] morfo_9	0.042	0.024	0.024	0.080	0.024	0.005	0.080	0.000																	
[10] morfo_10	0.048	0.064	0.064	0.072	0.064	0.058	0.072	0.053	0.053																
[11] morfo_11	0.037	0.034	0.034	0.066	0.034	0.027	0.066	0.027	0.027	0.048															
[12] morfo_12	0.032	0.032	0.032	0.066	0.032	0.032	0.066	0.032	0.032	0.042	0.027														
[13] morfo_13	0.042	0.024	0.024	0.080	0.024	0.005	0.080	0.000	0.000	0.053	0.027	0.032													
[14] morfo_14	0.053	0.064	0.064	0.077	0.064	0.058	0.077	0.053	0.053	0.040	0.048	0.053	0.053												
[15] morfo_15	0.045	0.042	0.042	0.074	0.042	0.029	0.074	0.029	0.029	0.050	0.008	0.029	0.029	0.050											
[16] morfo_16	0.045	0.042	0.042	0.074	0.042	0.029	0.074	0.029	0.029	0.050	0.008	0.029	0.029	0.050	0.000										
[17] morfo_17	0.032	0.032	0.032	0.066	0.032	0.032	0.066	0.032	0.032	0.042	0.027	0.000	0.032	0.053	0.029	0.029									
[18] morfo_18	0.048	0.064	0.064	0.072	0.064	0.058	0.072	0.053	0.053	0.000	0.048	0.042	0.053	0.040	0.050	0.050	0.042								
[19] morfo_19	0.048	0.064	0.064	0.072	0.064	0.058	0.072	0.053	0.053	0.000	0.048	0.042	0.053	0.040	0.050	0.050	0.042	0.000							
[20] morfo_20	0.045	0.061	0.061	0.061	0.061	0.056	0.061	0.050	0.050	0.034	0.045	0.040	0.050	0.037	0.048	0.048	0.040	0.034	0.034						
[21] morfo_21	0.048	0.064	0.064	0.072	0.064	0.058	0.072	0.053	0.053	0.000	0.048	0.042	0.053	0.040	0.050	0.050	0.042	0.000	0.000	0.034					
[22] morfo_22	0.037	0.034	0.034	0.066	0.034	0.027	0.066	0.027	0.027	0.048	0.000	0.027	0.027	0.048	0.008	0.008	0.027	0.048	0.048	0.045	0.048				
[23] morfo_23	0.029	0.045	0.045	0.064	0.045	0.045	0.064	0.045	0.045	0.034	0.040	0.034	0.045	0.037	0.042	0.042	0.034	0.034	0.034	0.032	0.034	0.040			
[24] morfo_24	0.066	0.088	0.088	0.000	0.088	0.080	0.000	0.080	0.080	0.072	0.066	0.066	0.080	0.077	0.074	0.074	0.066	0.072	0.072	0.061	0.072	0.066	0.064		
[25] morfo_25	0.034	0.066	0.066	0.080	0.066	0.066	0.080	0.061	0.061	0.040	0.050	0.061	0.061	0.048	0.058	0.058	0.061	0.040	0.040	0.042	0.040	0.050	0.042	0.080	
[26] morfo_26	0.066	0.088	0.088	0.000	0.088	0.080	0.000	0.080	0.080	0.072	0.066	0.066	0.080	0.077	0.074	0.074	0.066	0.072	0.072	0.061	0.072	0.066	0.064	0.000	
[27] morfo_27	0.034	0.066	0.066	0.080	0.066	0.066	0.080	0.061	0.061	0.040	0.050	0.061	0.061	0.048	0.058	0.058	0.061	0.040	0.040	0.042	0.040	0.050	0.042	0.080	
[28] morfo_28	0.042	0.037	0.037	0.077	0.037	0.037	0.077	0.037	0.037	0.053	0.032	0.021	0.037	0.058	0.034	0.034	0.021	0.053	0.053	0.050	0.053	0.032	0.040	0.077	
[29] morfo_29	0.034	0.066	0.066	0.080	0.066	0.066	0.080	0.061	0.061	0.040	0.050	0.061	0.061	0.048	0.058	0.058	0.061	0.040	0.040	0.042	0.040	0.050	0.042	0.080	
[30] morfo_30	0.034	0.066	0.066	0.080	0.066	0.066	0.080	0.061	0.061	0.040	0.050	0.061	0.061	0.048	0.058	0.058	0.061	0.040	0.040	0.042	0.040	0.050	0.042	0.080	
[31] morfo_31	0.066	0.088	0.088	0.000	0.088	0.080	0.000	0.080	0.080	0.072	0.066	0.066	0.080	0.077	0.074	0.074	0.066	0.072	0.072	0.061	0.072	0.066	0.064	0.000	
[32] morfo_32	0.069	0.090	0.090	0.003	0.090	0.082	0.003	0.082	0.082	0.074	0.069	0.069	0.082	0.080	0.077	0.077	0.069	0.074	0.074	0.064	0.074	0.069	0.066	0.003	
[33] morfo_33	0.069	0.090	0.090	0.003	0.090	0.082	0.003	0.082	0.082	0.074	0.069	0.069	0.082	0.080	0.077	0.077	0.069	0.074	0.074	0.064	0.074	0.069	0.066	0.003	

[34] <i>C_crispat</i>	0.061	0.082	0.082	0.013	0.082	0.074	0.013	0.074	0.074	0.066	0.061	0.061	0.074	0.066	0.064	0.064	0.061	0.066	0.066	0.058	0.066	0.061	0.053	0.013
[35] <i>C_cervico</i>	0.066	0.088	0.088	0.000	0.088	0.080	0.000	0.080	0.080	0.072	0.066	0.066	0.080	0.077	0.074	0.074	0.066	0.072	0.072	0.061	0.072	0.066	0.064	0.000
[36] <i>D_acutilo</i>	0.042	0.058	0.058	0.061	0.058	0.053	0.061	0.048	0.048	0.032	0.037	0.032	0.048	0.034	0.040	0.040	0.032	0.032	0.032	0.008	0.032	0.037	0.029	0.061
[37] <i>D_adnata</i>	0.050	0.056	0.056	0.095	0.056	0.056	0.095	0.056	0.056	0.056	0.056	0.056	0.056	0.050	0.064	0.064	0.056	0.050	0.050	0.058	0.050	0.056	0.048	0.095
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
[38] <i>D_Bingha</i> ...	0.064	0.069	0.069	0.080	0.069	0.069	0.080	0.064	0.064	0.069	0.064	0.058	0.064	0.058	0.066	0.066	0.058	0.069	0.069	0.064	0.069	0.064	0.058	0.080
[39] <i>D_caribae</i>	0.032	0.013	0.013	0.088	0.013	0.027	0.088	0.027	0.027	0.064	0.032	0.037	0.027	0.069	0.034	0.034	0.037	0.064	0.064	0.061	0.064	0.032	0.045	0.088
[40] <i>D_ceylani</i> ...	0.056	0.061	0.061	0.066	0.061	0.050	0.066	0.045	0.045	0.040	0.034	0.050	0.045	0.037	0.037	0.037	0.050	0.040	0.040	0.032	0.040	0.034	0.032	0.066
[41] <i>D_ciliolata</i> ...	0.037	0.069	0.069	0.077	0.069	0.069	0.077	0.064	0.064	0.042	0.053	0.064	0.064	0.050	0.061	0.061	0.064	0.042	0.042	0.040	0.042	0.053	0.045	0.077
[42] <i>D_crenulata</i>	0.042	0.048	0.048	0.080	0.048	0.048	0.080	0.048	0.048	0.058	0.037	0.032	0.048	0.064	0.040	0.040	0.032	0.058	0.058	0.056	0.058	0.037	0.045	0.080
[43] <i>D_cyanolom</i>	0.061	0.077	0.077	0.077	0.077	0.066	0.077	0.061	0.061	0.048	0.056	0.056	0.061	0.048	0.058	0.058	0.056	0.048	0.048	0.032	0.048	0.056	0.053	0.077
[44] <i>D_cymatoph</i>	0.048	0.040	0.040	0.077	0.040	0.027	0.077	0.027	0.027	0.058	0.021	0.037	0.027	0.058	0.024	0.024	0.037	0.058	0.058	0.056	0.058	0.021	0.050	0.077
[45] <i>D_dhofaren</i>	0.045	0.061	0.061	0.069	0.061	0.053	0.069	0.048	0.048	0.034	0.048	0.040	0.048	0.040	0.050	0.050	0.040	0.034	0.034	0.029	0.034	0.048	0.040	0.069
[46] <i>D_dichotom</i>	0.040	0.050	0.050	0.074	0.050	0.056	0.074	0.050	0.050	0.042	0.045	0.029	0.050	0.048	0.048	0.048	0.029	0.042	0.042	0.040	0.042	0.045	0.037	0.074
[47] <i>D_fasciola</i>	0.058	0.066	0.066	0.080	0.066	0.053	0.080	0.048	0.048	0.029	0.053	0.053	0.048	0.045	0.056	0.056	0.053	0.029	0.029	0.045	0.029	0.053	0.045	0.080
[48] <i>D_grossed</i>	0.050	0.066	0.066	0.069	0.066	0.058	0.069	0.053	0.053	0.037	0.040	0.045	0.053	0.042	0.048	0.048	0.045	0.037	0.037	0.027	0.037	0.040	0.042	0.069
[49] <i>D_hamifera</i>	0.053	0.064	0.064	0.077	0.064	0.064	0.077	0.058	0.058	0.037	0.048	0.053	0.058	0.050	0.056	0.056	0.053	0.037	0.037	0.040	0.037	0.048	0.040	0.077
[50] <i>D_implexa</i>	0.045	0.034	0.034	0.077	0.034	0.029	0.077	0.029	0.029	0.056	0.029	0.024	0.029	0.061	0.032	0.032	0.024	0.056	0.056	0.053	0.056	0.029	0.042	0.077
[51] <i>D_intermedi</i>	0.048	0.058	0.058	0.072	0.058	0.053	0.072	0.048	0.048	0.034	0.042	0.048	0.048	0.029	0.045	0.045	0.048	0.034	0.034	0.034	0.034	0.042	0.034	0.072
[52] <i>D_liturata</i>	0.061	0.066	0.066	0.085	0.066	0.064	0.085	0.058	0.058	0.045	0.056	0.061	0.058	0.037	0.058	0.058	0.061	0.045	0.045	0.037	0.045	0.056	0.048	0.085
[53] <i>D_mediterra</i>	0.061	0.066	0.066	0.080	0.066	0.061	0.080	0.056	0.056	0.032	0.056	0.050	0.056	0.048	0.058	0.058	0.050	0.032	0.032	0.048	0.032	0.056	0.045	0.080
[54] <i>D_naevosa</i>	0.037	0.053	0.053	0.069	0.053	0.042	0.069	0.042	0.042	0.040	0.042	0.042	0.042	0.045	0.050	0.050	0.042	0.040	0.040	0.034	0.040	0.042	0.029	0.069
[55] <i>D_pinnatifid</i>	0.032	0.032	0.032	0.066	0.032	0.032	0.066	0.032	0.032	0.042	0.027	0.000	0.032	0.053	0.029	0.029	0.000	0.042	0.042	0.040	0.042	0.027	0.034	0.066
[56] <i>D_rigida</i>	0.042	0.053	0.053	0.074	0.053	0.048	0.074	0.048	0.048	0.042	0.048	0.048	0.048	0.040	0.050	0.050	0.048	0.042	0.042	0.029	0.042	0.048	0.029	0.074
[57] <i>D_sandvice</i>	0.050	0.029	0.029	0.080	0.029	0.016	0.080	0.016	0.016	0.061	0.037	0.034	0.016	0.061	0.034	0.034	0.034	0.061	0.061	0.058	0.061	0.037	0.048	0.080
[58] <i>D_spiralis</i>	0.045	0.034	0.034	0.082	0.034	0.034	0.082	0.029	0.029	0.061	0.045	0.034	0.029	0.056	0.048	0.048	0.034	0.061	0.061	0.053	0.061	0.045	0.048	0.082
[59] <i>D_stonolifera</i>	0.056	0.061	0.061	0.077	0.061	0.061	0.077	0.056	0.056	0.040	0.050	0.056	0.056	0.037	0.053	0.053	0.056	0.040	0.040	0.037	0.040	0.050	0.042	0.077
[60] <i>D_canariens</i>	0.045	0.040	0.040	0.080	0.040	0.040	0.080	0.040	0.040	0.056	0.034	0.024	0.040	0.056	0.037	0.037	0.024	0.056	0.056	0.048	0.056	0.034	0.042	0.080
[61] <i>Di_diemensis</i>	0.058	0.069	0.069	0.085	0.069	0.058	0.085	0.053	0.053	0.045	0.058	0.058	0.053	0.029	0.061	0.061	0.058	0.045	0.045	0.034	0.045	0.058	0.045	0.085
[62] <i>Di_flabellata</i>	0.045	0.045	0.045	0.074	0.045	0.040	0.074	0.040	0.040	0.056	0.034	0.024	0.040	0.061	0.037	0.037	0.024	0.056	0.056	0.042	0.056	0.034	0.037	0.074
[63] <i>Di_jamaicen</i>	0.042	0.024	0.024	0.080	0.024	0.005	0.080	0.000	0.000	0.053	0.027	0.032	0.000	0.053	0.029	0.029	0.032	0.053	0.053	0.050	0.053	0.027	0.045	0.080
[64] <i>Di_mertensii</i>	0.053	0.064	0.064	0.077	0.064	0.058	0.077	0.053	0.053	0.040	0.048	0.053	0.053	0.000	0.050	0.050	0.053	0.040	0.040	0.037	0.040	0.048	0.037	0.077
[65] <i>D_pulchella</i>	0.045	0.040	0.040	0.077	0.040	0.034	0.077	0.029	0.029	0.050	0.034	0.024	0.029	0.056	0.037	0.037	0.024	0.050	0.050	0.048	0.050	0.034	0.042	0.077
[66] <i>Di_pleiacant</i>	0.037	0.029	0.029	0.074	0.029	0.011	0.074	0.005	0.005	0.048	0.027	0.032	0.005	0.048	0.029	0.029	0.032	0.048	0.048	0.045	0.048	0.027	0.040	0.074
[67] <i>Di_guineensi</i>	0.050	0.069	0.069	0.074	0.069	0.064	0.074	0.058	0.058	0.005	0.053	0.048	0.058	0.042	0.056	0.056	0.048	0.005	0.005	0.037	0.005	0.053	0.037	0.074
[68] <i>Gent_1</i>	0.045	0.042	0.042	0.074	0.042	0.029	0.074	0.029	0.029	0.050	0.008	0.029	0.029	0.050	0.000	0.000	0.029	0.050	0.050	0.048	0.050	0.008	0.042	0.074
[69] <i>Gent_2</i>	0.042	0.024	0.024	0.080	0.024	0.000	0.080	0.005	0.005	0.058	0.027	0.032	0.005	0.058	0.029	0.029	0.032	0.058	0.058	0.056	0.058	0.027	0.045	0.080
[70] <i>Scor_profun</i>	0.050	0.061	0.061	0.066	0.061	0.056	0.066	0.056	0.056	0.064	0.058	0.050	0.056	0.064	0.061	0.061	0.050	0.064	0.064	0.061	0.064	0.058	0.050	0.066

	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
[26] morfo_26	0.080																							
[27] morfo_27	0.000	0.080																						
[28] morfo_28	0.061	0.077	0.061																					
[29] morfo_29	0.000	0.080	0.000	0.061																				
[30] morfo_30	0.000	0.080	0.000	0.061	0.000																			
[31] morfo_31	0.080	0.000	0.080	0.077	0.080	0.080																		
[32] morfo_32	0.082	0.003	0.082	0.080	0.082	0.082	0.003																	
[33] morfo_33	0.082	0.003	0.082	0.080	0.082	0.082	0.003	0.000																
[34] C_crispat	0.074	0.013	0.074	0.066	0.074	0.074	0.013	0.016	0.016															
[35] C.cervico	0.080	0.000	0.080	0.077	0.080	0.080	0.000	0.003	0.003	0.013														
[36] D_acutilo	0.040	0.061	0.040	0.042	0.040	0.040	0.061	0.064	0.064	0.056	0.061													
[37] D_adnata	0.058	0.095	0.058	0.066	0.058	0.058	0.095	0.098	0.098	0.090	0.095	0.056												
[38] D_Bingha	0.066	0.080	0.066	0.058	0.066	0.066	0.080	0.082	0.082	0.072	0.080	0.056	0.069											
[39] D_caribae	0.066	0.088	0.066	0.042	0.066	0.066	0.088	0.090	0.090	0.082	0.088	0.058	0.061	0.074										
[40] D_ceylani	0.042	0.066	0.042	0.056	0.042	0.042	0.066	0.069	0.069	0.056	0.066	0.029	0.058	0.064	0.061									
[41] D_ciliolata	0.003	0.077	0.003	0.064	0.003	0.003	0.077	0.080	0.080	0.074	0.077	0.042	0.061	0.069	0.069	0.045								
[42] D_crenula	0.056	0.080	0.056	0.032	0.056	0.056	0.080	0.082	0.082	0.069	0.080	0.048	0.066	0.064	0.053	0.061	0.058							
[43] D_cyanol	0.050	0.077	0.050	0.066	0.050	0.050	0.077	0.080	0.080	0.077	0.077	0.029	0.066	0.056	0.077	0.042	0.053	0.072						
[44] D_cymat	0.066	0.077	0.066	0.040	0.066	0.066	0.077	0.080	0.080	0.077	0.077	0.048	0.066	0.077	0.037	0.056	0.069	0.048	0.066					
[45] D_dhofa	0.037	0.069	0.037	0.053	0.037	0.037	0.069	0.072	0.072	0.064	0.069	0.021	0.061	0.050	0.066	0.034	0.040	0.053	0.034	0.053				
[46] D_dichot	0.053	0.074	0.053	0.045	0.053	0.053	0.074	0.077	0.077	0.069	0.074	0.032	0.056	0.045	0.050	0.050	0.056	0.056	0.045	0.056	0.029			
[47] D_fasciol	0.048	0.080	0.048	0.058	0.048	0.048	0.080	0.082	0.082	0.074	0.080	0.042	0.058	0.058	0.069	0.045	0.050	0.064	0.045	0.058	0.042	0.056		
[48] D_grosse	0.034	0.069	0.034	0.056	0.034	0.034	0.069	0.072	0.072	0.069	0.069	0.019	0.056	0.056	0.066	0.034	0.037	0.061	0.034	0.056	0.021	0.034	0.042	
[49] D_hamife	0.040	0.077	0.040	0.058	0.040	0.040	0.077	0.080	0.080	0.082	0.077	0.037	0.061	0.066	0.064	0.045	0.042	0.069	0.048	0.053	0.040	0.048	0.050	0.027
[50] D_implex	0.064	0.077	0.064	0.008	0.064	0.064	0.077	0.080	0.080	0.066	0.077	0.045	0.064	0.056	0.040	0.048	0.066	0.034	0.064	0.040	0.050	0.048	0.056	0.056
[51] D_interme	0.037	0.072	0.037	0.053	0.037	0.037	0.072	0.074	0.074	0.061	0.072	0.032	0.058	0.056	0.064	0.029	0.040	0.053	0.040	0.053	0.027	0.040	0.042	0.034
[52] D_liturata	0.037	0.085	0.037	0.066	0.037	0.037	0.085	0.088	0.088	0.074	0.085	0.034	0.064	0.058	0.072	0.040	0.040	0.061	0.040	0.066	0.034	0.045	0.050	0.029
[53] D_medite	0.056	0.080	0.056	0.056	0.056	0.056	0.080	0.082	0.082	0.074	0.080	0.045	0.061	0.066	0.072	0.048	0.058	0.061	0.053	0.061	0.050	0.058	0.019	0.048
[54] D_naevos	0.037	0.069	0.037	0.048	0.037	0.037	0.069	0.072	0.072	0.064	0.069	0.032	0.058	0.056	0.053	0.034	0.040	0.058	0.040	0.053	0.027	0.037	0.042	0.027
[55] D_pinnati	0.061	0.066	0.061	0.021	0.061	0.061	0.066	0.069	0.069	0.061	0.066	0.032	0.056	0.058	0.037	0.050	0.064	0.032	0.056	0.037	0.040	0.029	0.053	0.045
[56] D_rigida	0.034	0.074	0.034	0.053	0.034	0.034	0.074	0.077	0.077	0.064	0.074	0.027	0.056	0.061	0.053	0.034	0.037	0.053	0.040	0.058	0.032	0.048	0.042	0.027
[57] D_sandvi	0.069	0.080	0.069	0.034	0.069	0.069	0.080	0.082	0.082	0.069	0.080	0.056	0.069	0.066	0.037	0.053	0.072	0.040	0.069	0.037	0.056	0.058	0.058	0.066
[58] D_spiralis	0.064	0.082	0.064	0.029	0.064	0.064	0.082	0.085	0.085	0.072	0.082	0.045	0.069	0.056	0.045	0.053	0.066	0.045	0.064	0.050	0.045	0.048	0.061	0.056
[59] D_stonoli	0.037	0.077	0.037	0.061	0.037	0.037	0.077	0.080	0.080	0.072	0.077	0.034	0.064	0.061	0.066	0.034	0.040	0.066	0.040	0.061	0.032	0.037	0.053	0.040
[60] D_canari	0.064	0.080	0.064	0.003	0.064	0.064	0.080	0.082	0.082	0.069	0.080	0.040	0.064	0.056	0.045	0.058	0.066	0.034	0.064	0.042	0.056	0.048	0.056	0.053

[61] *D_dieme* 0.048 0.085 0.048 0.064 0.048 0.048 0.085 0.088 0.088 0.080 0.085 0.032 0.058 0.056 0.074 0.040 0.050 0.069 0.029 0.058 0.027 0.040 0.037 0.032
 [62] *D_flabell* 0.058 0.074 0.058 0.024 0.058 0.058 0.074 0.077 0.077 0.064 0.074 0.034 0.069 0.066 0.050 0.048 0.061 0.029 0.064 0.045 0.050 0.045 0.061 0.053
 [63] *D_jamai* 0.061 0.080 0.061 0.037 0.061 0.061 0.080 0.082 0.082 0.074 0.080 0.048 0.056 0.064 0.027 0.045 0.064 0.048 0.061 0.027 0.048 0.050 0.048 0.053
 [64] *D_merte* 0.048 0.077 0.048 0.058 0.048 0.048 0.077 0.080 0.080 0.066 0.077 0.034 0.050 0.058 0.069 0.037 0.050 0.064 0.048 0.058 0.040 0.048 0.045 0.042

25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48
 [65] *D_pulche* 0.058 0.077 0.058 0.008 0.058 0.058 0.077 0.080 0.080 0.066 0.077 0.040 0.064 0.050 0.045 0.048 0.061 0.034 0.058 0.045 0.045 0.042 0.050 0.050
 [66] *D_pleia* 0.056 0.074 0.056 0.037 0.056 0.056 0.074 0.077 0.077 0.069 0.074 0.042 0.061 0.064 0.027 0.045 0.058 0.048 0.056 0.027 0.042 0.045 0.048 0.048
 [67] *D_guinee* 0.042 0.074 0.042 0.058 0.042 0.042 0.074 0.077 0.077 0.069 0.074 0.034 0.053 0.072 0.069 0.042 0.045 0.064 0.050 0.064 0.037 0.045 0.034 0.040
 [68] *Gent_1* 0.058 0.074 0.058 0.034 0.058 0.058 0.074 0.077 0.077 0.064 0.074 0.040 0.064 0.066 0.034 0.037 0.061 0.040 0.058 0.024 0.050 0.048 0.056 0.048
 [69] *Gent_2* 0.066 0.080 0.066 0.037 0.066 0.066 0.080 0.082 0.082 0.074 0.080 0.053 0.056 0.069 0.027 0.050 0.069 0.048 0.066 0.027 0.053 0.056 0.053 0.058
 [70] *Scorpro* 0.077 0.066 0.077 0.058 0.077 0.077 0.066 0.069 0.069 0.072 0.066 0.058 0.069 0.082 0.056 0.069 0.080 0.074 0.066 0.058 0.061 0.056 0.077 0.061

49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70
 [50] *D_implex* 0.061
 [51] *D_interme* 0.040 0.056
 [52] *D_liturata* 0.045 0.066 0.027
 [53] *D_medite* 0.050 0.058 0.045 0.056
 [54] *D_naevos* 0.040 0.045 0.032 0.040 0.045
 [55] *D_pinnati* 0.053 0.024 0.048 0.061 0.050 0.042
 [56] *D_rigida* 0.042 0.050 0.037 0.032 0.050 0.027 0.048
 [57] *D_sandvi* 0.072 0.027 0.056 0.066 0.064 0.050 0.034 0.050
 [58] *D_spiralis* 0.061 0.027 0.050 0.061 0.064 0.050 0.034 0.050 0.032
 [59] *D_stonoli* 0.045 0.064 0.024 0.024 0.056 0.037 0.056 0.040 0.064 0.058
 [60] *D_canari* 0.061 0.011 0.056 0.064 0.053 0.050 0.024 0.050 0.037 0.032 0.064
 [61] *D_dieme* 0.045 0.061 0.032 0.032 0.045 0.032 0.058 0.032 0.061 0.056 0.032 0.061
 [62] *D_flabell* 0.066 0.027 0.056 0.058 0.058 0.045 0.024 0.050 0.037 0.037 0.058 0.027 0.061
 [63] *D_jamai* 0.058 0.029 0.048 0.058 0.056 0.042 0.032 0.048 0.016 0.029 0.056 0.040 0.053 0.040
 [64] *D_merte* 0.050 0.061 0.029 0.037 0.048 0.045 0.053 0.040 0.061 0.056 0.037 0.056 0.029 0.061 0.053
 [65] *D_pulche* 0.056 0.005 0.050 0.061 0.053 0.045 0.024 0.050 0.032 0.021 0.058 0.011 0.056 0.027 0.029 0.056
 [66] *D_pleia* 0.053 0.034 0.042 0.053 0.056 0.037 0.032 0.042 0.021 0.029 0.050 0.040 0.048 0.040 0.005 0.048 0.029
 [67] *D_guinee* 0.040 0.061 0.037 0.048 0.037 0.042 0.048 0.045 0.066 0.064 0.042 0.061 0.048 0.061 0.058 0.042 0.056 0.053
 [68] *Gent_1* 0.056 0.032 0.045 0.058 0.058 0.050 0.029 0.050 0.034 0.048 0.053 0.037 0.061 0.037 0.029 0.050 0.037 0.029 0.056
 [69] *Gent_2* 0.064 0.029 0.053 0.064 0.061 0.042 0.032 0.048 0.016 0.034 0.061 0.040 0.058 0.040 0.005 0.058 0.034 0.011 0.064 0.029
 [70] *Scorpro* 0.058 0.058 0.069 0.072 0.082 0.056 0.050 0.061 0.064 0.064 0.064 0.061 0.069 0.066 0.056 0.064 0.058 0.050 0.066 0.061 0.056

Anexo 3. Taxa y sitios de recolecta de los especímenes usados en este estudio para los análisis moleculares.

Taxa	Sitios de recolecta		Números de acceso del GenBank	
	<i>psbA</i>	<i>cox1</i>	<i>psbA</i>	<i>cox1</i>
<i>Canistrocarpus cervicornis</i> (Kützing) De Paula & De Clerck	Tenerife, Islas Canarias, España	Negros Oriental, Filipinas	GQ425187	NGB
<i>C. crispatus</i> (J. V. Lamouroux) De Paula & De Clerck	Tiwi, Kenia	Negros Oriental, Filipinas.	GU26578	GQ42513
<i>Dictyota acutiloba</i> J. Agardh	Hawaii, EUA	Hawaii, EUA	EU395602	GU290236
<i>Dictyota adnata</i> Zanardini	Raja Ampat, Indonesia	Raja Ampat, Indonesia	GU265788	GQ425134
<i>D. alternifida</i> J. Agardh	NA	Australia	NA	NGB
<i>D. bartayresiana</i> J. V. Lamouroux	NA	Punta Cana, República Dominicana	NA	GQ466071
<i>Dictyota binghamiae</i> J. Agardh	Baja California, México	British Columbia, Canadá	JQ061015	FJ409140
<i>Dictyota canariensis</i> (Grunow) Tronholm	Islas Canarias, España	Islas Canarias, España	JQ061018	JQ061098
<i>D. canaliculata</i> O.De	NA	Dapdap, Filipinas	NA	GQ425132

Clerck & E.Coppejans				
<i>D. caribaea</i> Hörnig & Schnetter	St. Ann Parish, Jamaica	St. Ann Parish, Jamaica	EU395608	JQ061097
<i>D. ceylanica</i> Kützing	Tahiti, Polinesia Francesa	Tahiti, Polinesia Francesa	EU395607	GQ425122
<i>D. ciliolata</i> (Kützing) Sonder	Islas Canarias, España	Olango Island, Filipinas	GQ466073	GQ425124
<i>D. coriacea</i> (Holmes) I.K.Wang, H.-S.Kim & W.J.Lee	NA	California, EUA	NA	GU290234
<i>D. crenulata</i> J. Agardh	Baja California, México	Oaxaca, México	GU265782	JQ061089
<i>D. cyanoloma</i> Tronholm, De Clerck, Gomez Garreta & Rull Lluh	Islas Canarias, España	Algarve, Portugal	JQ061035	JQ061101
<i>D. cymatophila</i> Tronholm, M. Sansón & Afonso-Carrillo	Islas Canarias, España	Islas Canarias, España	GQ425193	GQ425128
<i>D. dhofarensis</i> (Nizamuddin) A. C. Campbell & De Clerck	Dhofar, Oman	Dhofar, Oman	JQ061037	JQ061102
<i>D. diemensis</i> Sonder ex Kützing	Australia	Australia	LN871942	LN871965

<i>D. dichotoma</i> (Hudson) J.V. Lamouroux	Walney Island, Inglaterra	Languedoc- Rousillon, Francia.	GU255542	GQ425131
<i>D. fasciola</i> (Roth) J. V. Lamouroux	Languedoc-Rousillon, Francia	Languedoc- Rousillon, Francia	FJ869847	GQ425133
<i>D. flabellata</i> (Collins) Setchell & N. L. Gardner	Baja California, México.	Baja California, México.	NGB	NGB
<i>D. grossedentata</i> De Clerck & Coppejans	Zanzibar, Tanzania	Zanzibar, Tanzania	JQ061043	JQ061103
<i>D. guineensis</i> (Kützing) P.Crouan & H.Crouan	Sao Vicente, Cabo Verde	Sao Vicente, Cabo Verde	NGB	NGB
<i>D. hamifera</i> Setchell	Tahiti, Polinesia Francesa	Tahiti, Polinesia Francesa	GQ425213	GQ425123
<i>D. implexa</i> (Desfontaines) J. V. Lamouroux	Provence Cassis, Francia	Provence Carry-le- Rouet, Francia	GQ466076	GQ425135
<i>D. intermedia</i> Zanardini	New South Wales, Australia	Queensland, Australia	JQ061047	GQ425127
<i>D. jamaicensis</i> W. R. Taylor	Punta Cana, Jamaica.	Punta Cana, República Dominicana	JQ061055	JQ061099
<i>D. liturata</i> J. Agardh	Madeira, Portugal	Madagascar	JQ061063	LN871962
<i>D. mediterranea</i> (Schiffner) G. Furnari	Siracusa, Italia.	Sicilia, Italia.	GU255569	GQ290236

<i>D. mertensii</i> (Martius) Kützing	Punta cana, República Dominicana	República Dominicana	JQ061065	GQ425130
<i>D. naevosa</i> (Suhr) Montagne	Kwazulu-Natal, Sudáfrica.	Kwazulu-Natal, Sudáfrica.	JQ061067	JQ061105
<i>D. nigricans</i> J. Agardh	NA	Perth, Australia	NA	JQ061106
<i>D. paniculata</i> J. Agardh	NA	Chuck Islands, Micronesia	NA	NGB
<i>D. pinnatifida</i> Kützing	St. Ann Parish, Jamaica	St. Ann Parish, Jamaica	EU395612	GQ425126
<i>D. pleiacantha</i> Tronholm	Tenerife, Islas Canarias, España	Tenerife, Islas Canarias, España	JQ061052	JQ061100
<i>D. pulchella</i> Hörnig & Schnetter	Cataluña, España	NA	GQ466076	NA
<i>D. rigida</i> De Clerck & Coppejans	Mombasa, Kenya	Mombasa, Kenya	GQ466077	GQ425138
<i>D. sandvicensis</i> Sonder	Oahu, Hawaii, EUA.	Oahu, Hawaii, EUA	JQ061078	GU290239
<i>D. spiralis</i> Montagne	Madeira, Portugal.	Languedoc- Roussillon, France	GQ466078	GU290235
<i>D. stolonifera</i> E.Y. Dawson	Zanzibar, Tanzania	Zanzibar, Tanzania	JQ061082	GQ425139
<i>Scoresbyella profunda</i> Womersley	Western Australia, Australia	Western Australia, Australia	EU395620	GQ425121
<i>Gent 1</i>	St. Ann Parish,	St. Ann Parish,	NGB	NGB

	Jamaica	Jamaica		
<i>Gent 2</i>	Carolina del Norte, E.U.	Carolina del Norte, E.U.	NGB	NA
<i>Morfo 1</i>	Playa hermosa, Veracruz		NGB	--
<i>Morfo 2</i>	Punta Puntillas, Veracruz		NGB.	NGB
<i>Morfo 3</i>	Villa Rica, Veracruz		NGB	NGB
<i>Morfo 4</i>	El Morro Veracruz		NGB	--
<i>Morfo 5</i>	Playa hermosa, Veracruz		NGB	NGB
<i>Morfo 6</i>	El Morro, Veracruz		NGB	NGB
<i>Morfo 7</i>	Villa Rica, Veracruz		NGB	--
<i>Morfo 8</i>	Tulum, Quintana Roo		NGB.	--
<i>Morfo 9</i>	Akumal, Quintana Roo		NGB	NGB
<i>Morfo 10</i>	Akumal, Quintana Roo		NGB	--
<i>Morfo 11</i>	Akumal, Quintana Roo		NGB	--
<i>Morfo 12</i>	Playa Caracol, Quintana Roo		NGB	NGB
<i>Morfo 13</i>	Playa Caracol, Quintana Roo		NGB	NGB
<i>Morfo 14</i>	Playa Caracol, Quintana Roo		NGB.	NGB
<i>Morfo 15</i>	Islas Mujeres, Quintana Roo		NGB	NGB
<i>Morfo 16</i>	Isla Mujeres, Quintana Roo		NGB	NGB

<i>Morfo 17</i>	Isla Mujeres, Quintana Roo	NGB	--
<i>Morfo 18</i>	Isla Mujeres, Quintana Roo	NGB	--
<i>Morfo 19</i>	Punta Brava, Quintana Roo	NGB	NGB
<i>Morfo 20</i> <i>Dictyota pedrochei</i> Lozano-Orozco & Sentiés	Punta Brava, Quintana Roo	KT445275	KT445273
<i>Morfo 21</i>	Punta Brava, Quintana Roo	NGB	NGB
<i>Morfo 22</i>	Punta Brava, Quintana Roo	NGB	--
<i>Morfo 23</i> <i>Dictyota mayae</i> Lozano-Orozco & Sentiés	Puerto Morelos, Quintana Roo	KT445276	KT445274
<i>Morfo 24</i>	Playa Muñecos, Veracruz	NGB	--
<i>Morfo 25</i>	Playa Muñecos, Veracruz	NGB	NGB
<i>Morfo 26</i>	Playa Muñecos, Veracruz	NGB	--
<i>Morfo 27</i>	Playa Muñecos, Veracruz	NGB	NGB
<i>Morfo 28</i> <i>Dictyota canariensis</i> (Grunow) Tronholm	Montepío, Veracruz	KF322229	KF322228
<i>Morfo 29</i>	Montepío, Veracruz	NGB	NGB
<i>Morfo 30</i>	Punta Delgada, Veracruz	NGB	NGB

<i>Morfo 31</i>	Punta Delgada, Veracruz	NGB	--
<i>Morfo 32</i>	Punta Delgada, Veracruz	NGB	--
<i>Morfo 33</i>	Balzapote	NGB	--

N.A. = Datos no disponibles

NGB = Secuencia no dada de alta en GenBank

-- = No se obtuvo la secuencia.

Anexo 4. Localidades donde se encontraron los diferentes morfos.

Morfo \ Localidad	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33			
Akumal									x	x	x																									
Balzapote																																			x	
El Morro				x		x																														
Isla Mujeres															x	x	x	x																		
Montepío																																				
Playa Caracol													x	x	x																					
Playa Hermosa				x		x																														
Playa Muñecos																																				
Puerto Morelos																																				
Punta Brava																																				
Punta Delgada																																				
Punta Puntillas																																				
Tulúm																																				
Villa Rica	x																																			

X = Presencia

1. Presentaciones en congresos

X. *International Phycological Congress*. **Lozano Orozco Jorge Gregorio**, Senties Abel, Díaz Larrea Jhoana, Pedroche F. F. y De Clerck O. "The occurrence of *Dictyota canariensis* (Dictyotales) in the tropical región from gulf of Mexico". **04 al 10 de Agosto, 2013**, Orlando-Florida, México.

VII. *Congreso Nacional de Ficología*. **Lozano Orozco Jorge Gregorio**, Díaz Larrea Jhoana, Pedroche F. F., De Clerck O y Senties Abel. "Análisis filogenético de las especie del genero *Dictyota* (Phaeophyceae: Dictyotales) presentes en el Atlántico mexicano". **16 al 18 de Octubre, 2013**, FES-Iztacala, UNAM, México.

X. *Congreso de Ficología de Latinoamérica y El Caribe*. VIII. *Reunión Iberoamericana de Ficología*. **Lozano Orozco Jorge Gregorio**, Senties Abel, Díaz Larrea Jhoana, Pedroche F. F. y De Clerck O. "Sistemática del género *Dictyota* (Dictyotaceae: Ochrophyta) en el Atlántico mexicano, propuesta de dos nuevas especies". México-Lerma. **05 al 10 de Octubre, 2014**, México.

Primer Congreso de Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud. **Lozano Orozco Jorge Gregorio**, Senties Abel, Díaz-Larrea Jhoana, Pedroche F. De Clerck O. "El género *Dictyota* (Phaeophyceae: Dictyotales) en el Atlántico

mexicano: análisis morfológico y molecular”. Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco. **25 al 26 de Septiembre, 2014**, México, D.F.

2. Publicaciones

Lozano-Orozco, J.G., Senties, A., Díaz-Larrea, J., Pedroche, F. y De Clerck, O. 2014. The occurrence of *Dictyota canariensis* (Dictyotales, Phaeophyceae) in the Gulf of Mexico. *Botanica Marina*. 57: 359-365. (Capítulo 2)

Lozano-Orozco, J.G., Senties, A., De Clerck, O., Dreckmann, A. y Díaz-Larrea, J. 2015. Two new species of the genus *Dictyota* (Phaeophyceae: Dictyotales) From the Mexican Caribbean. *American Journal of Plant Science*. 6: 2492-2501. (Capítulo 3)

Lozano-Orozco, J.G., Senties, A., Pedroche, F. y Díaz-Larrea, J. 2016. *Dictyota chalchihcuyecanensis* sp nov. (Dictyotales; Phaeophyceae) en el Golfo de México: Evidencias moleculares y morfológicas. Aceptado en *Hidrobiológica*. (Capítulo 4)