

“Sistemática Molecular del Género *Sargassum* (Fucales, Phaeophyceae) en Costas del Atlántico Mexicano”

Biól. Donají González Nieto.

Comité Tutoral Propuesto:

Co-Director: Dr. J. Francisco Flores Pedroche

Co-Director: Dr. Abel Senties Granados

Asesora: Dra. Luz Elena Mateo Cid



Proyecto Doctoral

“Sistemática molecular del género *Sargassum* (Fucales, Phaeophyceae) en costas del Atlántico mexicano”

Biól. Donají González Nieto.

1. INTRODUCCIÓN:

Sargassum C. Agardh es uno de los géneros con mayor diversidad dentro del orden Fucales. A nivel mundial, integra junto con otros 25 géneros a la familia Sargassaceae, donde representa cerca del 80% de la riqueza específica, ya que cuenta con 345 especies taxonómicamente aceptadas de entre 858 especies, variedades y formas registradas (Mattio *et al.*, 2008; Guiry & Guiry, 2010).

El género *Sargassum*, presenta una amplia distribución en prácticamente todos los océanos (excepto en las regiones polares) por lo que se ha establecido como uno de los principales componentes de las comunidades costeras en gran variedad de hábitats del mundo (Sánchez-Rodríguez y Cervantes Duarte, 1999), por ello, constituye uno de los miembros dominantes en la ficoflora de la región intermareal o en zonas poco profundas (Kilar & Hanisak, 1988; Yoshida, 1989; Kilar, 1992; Phillips, 1995; Mattio & Payri, 2009), llegando incluso, a formar bancos de gran extensión (Velooso & Széchy, 2008).

La complejidad y la gran variación morfológica en varias escalas y niveles, de sus diferentes estructuras, como filoides, aerocistos y receptáculos, hacen de *Sargassum* uno de los géneros anatómicamente más complejos desde el punto de vista anatómico, dentro de las algas pardas. Por ello, presenta grandes problemas

taxonómicos, atribuidos principalmente, a descripciones confusas o incompletas que no abordan ninguna discusión acerca de la amplia variación en las características típicamente utilizadas para la delimitación de las especies.

Lo anterior, aunado a la gran cantidad de categorías infragenéricas que dificultan la clasificación e inserción de las especies dentro de alguna de éstas, redundan en una difícil tarea para establecer límites interespecíficos dentro de este género. (Taylor, 1960; Ang & Trono, 1987; Kilar & Hanisak, 1988; Yoshida, 1989; Kilar, 1992; Kilar *et al.*, 1992a; Trono, 1992; Phillips, 1995; Stiger *et al.*, 2000, 2003; Chang *et al.*, 2008; Mattio, 2008 y Mattio & Payri, 2009)

Este desconocimiento acerca de cuáles son las características taxonómicamente importantes para la identificación de las especies; ha dado como resultado una serie de inconsistencias en la identificación de las especies y un confuso conocimiento sistemático del género.

2. ANTECEDENTES.

2.1. Historia taxonómica del género *Sargassum*

Sargassum se encuentra dentro de la familia Sargassaceae *sensu stricto* junto con otros siete géneros: *Anthophycus* Kützing, *Carpophyllum* Greville, *Cladophyllum* Bula-Meyer, *Hizikia* Okamura, *Oerstedtia* Trevisan, *Sargassopsis* Trevisan y *Turbinaria* J.V. Lamouroux).

Fue establecido por C. Agardh en 1820 y tipificado con la especie *S. bacciferum* (Turner) C. Agardh, ahora *S. natans* (Linnaeus) Børgesen; inicialmente incluía 67

especies, organizadas en siete grupos (Agardh, 1820). Posteriormente J. Agardh (1848, 1889) modificó dicho sistema, basándose en la relación del eje central y el desarrollo de las láminas (filoides), la morfología de los receptáculos y la evolución de las especies dentro del género. Él sostuvo que las especies evolucionaron de morfologías simples a otras más complejas, atendiendo dicha visión, propuso cinco designaciones subgenéricas: *Schizophycus*, *Phyllotrichia*, *Arthrophyucus*, *Bactrophyucus* y *Eusargassum* (Phillips, 1995 y Phillips *et al.*, 2005), este último fue sustituido posteriormente con el nombre subgenérico de *Sargassum* (Yoshida, 1988).

Estos subgéneros pueden estar divididos en secciones y subsecciones (por la morfología de los receptáculos), en series y subseries (en donde los criterios de clasificación son pequeñas diferencias entre las características reproductivas, el eje central y filoides) y en especies. (Phillips, 1995; Phillips & Fredericq, 2000; Phillips *et al.*, 2005)

A pesar de las pequeñas modificaciones realizadas por Grunow (1915-1916), Setchell (1931, 1933 y 1936), Womersley (1954) y Abbott, *et al.* (1988) el sistema propuesto por J. Agardh aún sigue en uso.

Yoshida (1983) planteó dividir los subgéneros en dos grupos, con el fin de ayudar a esclarecer las ambigüedades taxonómicas relacionadas con la delimitación de secciones y series, aquellos con la lámina perpendicular al eje (extensión horizontal) y los que presentan la lámina paralela al eje principal (extensión vertical), dentro de esta propuesta, se sitúan en el primer grupo los subgéneros *Arthrophyucus* y

Bactrophycus y en el segundo los tres restantes *Schizophycus*, *Phyllotrichia* y *Sargassum*.

El mismo autor, también mencionó una distinción entre *Arthrophyucus* y *Bactrophycus* con base en su distribución geográfica, en este sentido las especies encontradas en el hemisferio norte corresponden a *Bactrophycus* y aquellas presentes en el hemisferio sur pertenecen al género *Bactrophycus*.

En 1988, Yoshida, señaló que la distinción de los miembros de este subgénero con respecto a los otros subgéneros no siempre es definida fácilmente, ya que algunas características como la expansión vertical, morfología de receptáculos y la presencia de filoides divididos se comparten con especies agrupadas dentro de los subgéneros *Phyllotrichia* y *Arthrophyucus*.

Más recientemente Phillips & Fredericq (2000) señalaron que el subgénero *Schizophycus* puede integrarse dentro de *Phyllotricha* como lo había propuesto Yoshida (1983).

En la Tabla 1, se mencionan las divisiones y subdivisiones taxonómicas que actualmente se reconocen dentro del género *Sargassum* de acuerdo con Phillips & Fredericq (2000).

Tabla 1. Clasificación taxonómica del género *Sargassum*.

Género	Subgénero	Sección	Subsección	Series
Sargassum <i>m</i>	<i>Arthrophyucus</i>			
	<i>Bactrophycus</i>	Phyllocystae		
		Repentia		
		Spongocarpus		
		Teretia		

Género	Subgénero	Sección	Subsección	Series
	<i>Sargassum</i> (<i>Eusargassum</i>)	Halochloa		
		Zygocarpicae	Holozygocarpicae	Carpophyllae
			Pseudozygocarpicae	Cinerea
		Malacocarpicae	Fructiliferae	
			Cymosae	
			Racemosae	Acinariae
				Glandulariae
				Siliquosae
		Acanthocarpie	Glomerulatae	
			Biserrulae	
		<i>Phyllotricha</i> (<i>Schizophycus</i>)		

2.2. Panorama mundial.

Sargassum es uno de los géneros que han sido más ampliamente estudiados, sobre todo en la región del pacífico-oriental, donde incluso, se han conformado verdaderos “workshops”, que han abordado su problemática desde los 3 diferentes enfoques de la taxonomía (evolutivo, fenético y cladístico). A partir de estos enfoques, se han realizado numerosos trabajos bajo los tres enfoque sistemáticos, con la finalidad de saber cuáles son las especies que habitan en sus costas, además de conocer la variación morfológica y las relaciones filogenéticas que estas presentan, todo ello como una herramienta para esclarecer, actualizar y reordenar la clasificación taxonómica del género.

La mayoría de estos trabajos son de tipo monográfico, abordados a nivel subgenérico y todos ellos incluyen, claves taxonómicas, amplias descripciones de las especies, fotografías y/o esquemas de caracteres importantes para la identificación, además de que se discute la variabilidad morfológica propia del género y sus especies, algunos otros con un enfoque genético y por último los más recientes abordan al menos dos de los tres enfoques: evolutivo, fenético y cladístico (Tabla 2).

Tabla 2. Compilación de los trabajos realizados acerca del género a nivel mundial.

Referencia	Región/País	Enfoques			Nivel de tratamiento			
		Evolutivo	Fenético	Cladístico	Género	Subgénero	Sección/ Subsección	Especie
Yoshida & Chiang (1985)	Este Asiático	X				X		
Ang & Trono Jr. (1987)	Filipinas	X			X			
Magruder (1988)	Hawaii	X			X			
Tseng & Baoren (1988)	China	X					X	
Tsuda (1988)	Micronesia	X			X			
Yoshida (1988)	Japón y Taiwán	X				X		
Tseng & Baoren (1992)	China	X					X	
Chiang, <i>et al.</i> (1992)	Pacífico oeste y océano Índico	X						X
Kilar (1992)	Norte del Golfo de México	X	X					X
Trono Jr. (1992)	Filipinas	X			X			
Kilar <i>et al.</i> (1992)	Japón y EUA		X					X
Lee & Yoo (1992)	Korea	X				X		
Ajisaka (1994)	Este Asiático	X				X		
Ajisaka <i>et al.</i> (1995a)	Japón	X				X		
Ajisaka <i>et al.</i> (1995b)	Vietnam	X				X		
Tseng & Baoren (1995 a,b,c)	China	X					X	
Tseng & Baoren (1997)	China	X					X	
Ajisaka (1999)	Malasia	X				X		
Tseng & Baoren (1999)	China	X					X	
Dinh & Nang (1999)	Vietnam	X			X			
Tseng & Baoren (1999)	China	X					X	
Phillips & Fredericq (2000)	Norte del Golfo de México			X	X			
Stinger <i>et al.</i> (2000)	Pacífico central			X				X
Guillespie & Critcheley (2001)	Sur de África		X					X
Stinger <i>et al.</i> (2003)	Pacífico central			X	X			
Chang, <i>et al.</i> (2008)	Pacífico noroeste		X	X				X
Mattio <i>et al.</i> (2008)	Polinesia Francesa	X	X	X	X			
Noirasak & Ajisaka (2008)	Tailandia	X			X			
Mattio <i>et al.</i> (2009)	Pacífico oeste y central	X		X	X			
Mattio & Payri (2008)	Nueva Caledonia	X		X	X			

Para la región del Océano Atlántico se han realizado algunos otros estudios taxonómicos del género, que sólo incluyen descripciones de las especies presentes en la región de estudio y sólo algunos de ellos abordan como característica particular del género, la amplia variación de sus caracteres morfológicos. Por mencionar algunos: De Paula (1988); Schneider & Searles (1991); Phillips & Fredericq, (2000); Moreira & Suárez, (2002a, 2002b, 2002c, 2002d) y Dawes & Mathieson (2008).

2.3. Panorama en México.

En nuestro país, el género se encuentra ampliamente distribuido tanto en la costa pacífica como atlántica, en ambos casos, el género ha sido incluido en listados florísticos y catálogos (González-González *et al.*, 1996; Dreckmann, 1998; Ortega *et al.*, 2001 y Pedroche *et al.*, 2008). En la costa pacífica, concretamente en la región del Golfo de California, representa una de las zonas con mayor abundancia y distribución, por ello, es aquí donde se han elaborado, la mayoría de los trabajos acerca del género *Sargassum*, sin embargo, estos se circunscriben a tópicos relacionados con su importancia económica, usos, fenología y ecología (Núñez López y Casas Valdez, 1997; Rodríguez-Montesinos *et al.*, 2008).

En contraste, para la costa atlántica de México, no han sido realizado ningún trabajo que aborde alguno de los tópicos referidos y hasta ahora, no se había realizado ningún estudio del género que incorpore un enfoque evolutivo para analizar y/o verificar el arreglo sistemático de las especies presentes en alguna región del litoral atlántico de México.

Debido a lo anterior, se realizó un análisis taxonómico de las especies de este género presentes en el estado de Veracruz, como representante de la mencionada región, además que, según Ortega *et al.* (2001), el estado cuenta con el 60% de la riqueza específica de la costa atlántica de México (González Nieto, 2010).

El mencionado trabajo incluyó la revisión de material herborizado procedente de 4 colecciones nacionales y material recolectado en 9 localidades pertenecientes a la parte central del estado, lo que se corresponde con la presencia de costas rocosas, ya que los individuos de este género son principalmente epilíticos (sólo 2 especies son pelágicas, *S. fluitans* y *S. natans*). Fueron analizados y evaluados 26 caracteres morfológicos, entre vegetativos y reproductivos, los cuales, de acuerdo con diversos autores (Kilar & Hanisak, 1988; Yoshida, 1989; Kilar, 1992; Gillespie & Critchley, 2001; Chang *et al.*, 2008), son útiles para la discriminación entre especies (Tabla 4).

Tabla 4. Caracteres morfológicos evaluados por González Nieto (2010).

CARACTERES VEGETATIVOS
CUALITATIVOS
Sistema de fijación (Hábito)
Presencia de ramificación secundaria
Tipo de margen de los filoides
Forma de los filoides
Tipo de extensión
Presencia de eje basal (central)
Superficie del eje basal
Tipo de ramificación
Superficie de los ejes primarios y secundarios
Distribución de las criptostomas a lo largo del filoide
Presencia de línea central
Presencia de aerocistos
CUANTITATIVOS
Talla

Ancho y largo de los filoides
Número de criptostomas
Diámetro de las criptostomas
CARACTERES REPRODUCTIVOS
CUALITATIVOS
Arreglo de los receptáculos
Construcción de los receptáculos
Superficie de los receptáculos
Tipo de receptáculos
CUANTITATIVOS
Largo y ancho de los receptáculos
Largo y ancho de los ogonios

Después de la evaluación de los caracteres y con base en un criterio de consistencia y poca variabilidad, fueron seleccionados únicamente 5 caracteres diagnósticos: 1) Habito, 2) Tipo de extensión, 3) Superficie de los ejes, 4) Presencia o ausencia de aerocistos y 5) Construcción de los receptáculos y el resto fueron catalogados como caracteres complementarios cuyos fines son exclusivamente descriptivos.

Uno de los resultados intrínsecos durante la revisión y evaluación del género fue la observación del amplio intervalo de variación morfológica que los caracteres morfológicos presentan en una escala inter e intraindividual. Lo cual representa una de las principales causas para circunscripción de límites interespecíficos.

De todas las especies reconocidas *S. filipendula*, *S. fluitans*, *S. natans* y *S. polyceratium* son las que presentan una variación morfológica inter e intraindividual moderada en la mayor parte de los caracteres evaluados, sin embargo, en estructuras como filoides, grado de ramificación y en rasgos como la talla total, aún son considerablemente más variables.

En el caso extremo se encuentra *S. vulgare*, cuya variación morfológica puede ser considerada casi tan amplia, como cantidad de individuos fueron observados, además de que muchos de ellos compartían caracteres propios de otras especies, sobre todo con las caracterizadas para *S. hystrix var. buxifolium* (Taylor, 1960 y Dawes & Mathieson, 2008) o bien es frecuente que los talos presenten caracteres intermedios entre las dos especies, por lo que resulta bastante complicado la delimitación clara de estos dos taxa bajo el uso único de caracteres morfológicos.

Con base en este conjunto de caracteres diagnósticos fue posible reconocer solamente 5 de las 12 especies anteriormente registradas por Ortega *et al.* (2001): *Sargassum filipendula* C. Agardh, *Sargassum fluitans* (Børgesen) Børgesen, *Sargassum natans* (Linnaeus) Gaillon, *Sargassum polyceratium* Montagne y *Sargassum vulgare* C. Agardh.

El registro palpable de 5 taxa dentro de las costas veracruzanas, deja a 7 especies restantes, como registros dudosos debido principalmente a tres causas: la ausencia de individuos determinados bajo ese epíteto específico, los rearrreglos nomenclaturales de algunos taxa, por ejemplo *S. affine* J. Agardh, ahora es asignado como sinónimo de *S. filipendula* C. Agardh. y por último la validez en la vigencia de dichos registros, como es el caso de *S. brevipes* Kützing, el cual está hecho con base en el trabajo de Kützing (1861) donde describe en ese momento, a esta nueva especie, sin embargo, no se tiene ningún otro registro de esta especie para el área de estudio ni para alguna otra localidad, por lo que Guiry & Guiry (2010), categorizan a dicha especie con un estatus taxonómicamente incierto, el cual está sujeto a algún tipo de verificación nomenclatural.

Algo similar ocurre con los registros de *S. cymosum*, *S. furcatum* y *S. hystrix* var. *subcristatum* cuya vigencia también se cuestiona ya que se formularon con base en trabajos florísticos realizados por Kützing (1843, 1861), Grunow (1915), Taylor (1960) y De la Campa (1965). Además que parecen ser inconsistentes, ya que tras la revisión del material herborizado y de campo, no fue observado ningún ejemplar que correspondiera a estas especies (González-Nieto, 2010).

Por la ya mencionada inconsistencia en el uso de caracteres morfológicos y ante la evidente carencia de conocimiento sistemático del género, se propone el uso de caracteres moleculares como fuentes de información, para confirmar a estas especies, integrantes de la riqueza específica del género dentro del área de estudio, además de proponer una hipótesis de las relaciones filogenéticas que ayuden a fortalecer la estructura taxonómica de las especies mexicanas de *Sargassum*.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la diversidad y riqueza de las especies del género *Sargassum* que se distribuyen en el Atlántico mexicano?

De acuerdo al análisis y uso de caracteres morfológicos y moleculares en este género, ¿Cuál es la propuesta filogenética para la circunscripción del sistema de clasificación en las especies de *Sargassum*?

4. HIPOTESIS

Caracteres morfológicos tan variables y poco informativos para la circunscripción de las especies del género *Sargassum*, pueden derivar en una errónea clasificación taxonómica del mismo, de ser así, se espera que el uso de caracteres moleculares resuelva dichas inconsistencias, con la generación de una nueva hipótesis filogenética que explique las relaciones entre las especies y la historia evolutiva del grupo.

5. OBJETIVOS.

5.1. Objetivo General

Generar, a través de información morfológica y molecular de las especies del género *Sargassum*, la construcción de hipótesis filogenéticas presentes en el Atlántico mexicano, que ayuden a resolver las ambigüedades taxonómicas que el género presenta.

5.2. Objetivos particulares

- Obtener las secuencias de las regiones *rbcLS* e *ITS-2* de las especies de este género.
- Elaborar hipótesis filogenéticas con base en caracteres morfológicos y moleculares para proponer una clasificación taxonómica del género.
- Conocer la riqueza y diversidad específica de las especies presentes en el área de estudio.
- Contribuir al conocimiento sistemático del grupo.

6. MÉTODOS.

6.1. Área de Estudio.

Los registros de Ortega *et al.* (2001) mencionan que juntos, el estado de Veracruz y Quintana Roo poseen el 95% de las especies registradas para la costa atlántica de México (Tabla 3). Estos, como representantes del Golfo de México y el Caribe mexicano, son de los estados con un mayor registro de especies del género, por lo anterior, son propuestos como área de estudio.

Tabla 3. Especies del género *Sargassum* registradas para el estado de Veracruz y Quintana Roo (Ortega *et al.*, 2001)

1. <i>Sargassum affine</i> J. Agardh
2. <i>Sargassum brevipes</i> Kützing ¹
3. <i>Sargassum cymosum</i> C. Agardh ¹
4. <i>Sargassum filipendula</i> C. Agardh
5. <i>Sargassum filipendula</i> var. <i>laxum</i> ² J. Agardh
6. <i>Sargassum filipendula</i> var. <i>montagnei</i> (Bailey ex Harvey) Grunow ¹
7. <i>Sargassum filipendula</i> var. <i>pinnatum</i> ² Grunow
8. <i>Sargassum fluitans</i> (Børgesen) Børgesen
9. <i>Sargassum furcatum</i> Kützing
10. <i>Sargassum hystrix</i> var. <i>buxifolium</i> Chauvin ex J. Agardh ¹
11. <i>Sargassum hystrix</i> J. Agardh
12. <i>Sargassum hystrix</i> var. <i>subcristatum</i> Grunow ¹
13. <i>Sargassum natans</i> (Linnaeus) Gaillon
14. <i>Sargassum platycarpum</i> Montagne
15. <i>Sargassum polyceratium</i> var. <i>ovatum</i> (F. Collins) W. Taylor
16. <i>Sargassum polyceratium</i> Montagne
17. <i>Sargassum ramifolium</i> Kützing
18. <i>Sargassum vulgare</i> C. Agardh
19. <i>Sargassum vulgare</i> var. <i>foliosissimum</i> (J.V.Lamouroux) C. Agardh

¹Registros inconsistentes de acuerdo con González-Nieto (2010)

²Registros ambiguos e inciertos con respecto a las localidades citadas de acuerdo con Ortega *et al.* (2001)

El estado de Veracruz se encuentra en la parte central de la vertiente del Golfo de México, dentro de las coordenadas extremas 22° 28' y 17° 09' N; 93° 36' y 98° 39' W. Cuenta con una superficie aproximada de 72 420 km² (3.7% del territorio Nacional),

colinda al norte con Tamaulipas, al este con el Golfo de México y Tabasco, al sur con Oaxaca y Chiapas y al oeste con Puebla, Hidalgo y San Luis Potosí.

Posee una extensión litoral de 745 km lo que equivale a 29.3% de la costa mexicana del Golfo de México (casi la tercera parte). La zona costera es llana y baja, de suelo de aluvión con depósitos lacustres litorales.

Por otro lado, el estado de Quintana Roo se encuentra ubicado al este de la península de Yucatán, junto a la frontera con Centroamérica, dentro de las coordenadas 21° 35' y 17° 49' N y 86° 42' y 89° 25' W. Posee un superficie de 50 212 km² (2.2% de la superficie total). Colinda al norte con Yucatán y con el Golfo de México; al este con el Mar Caribe; al sur con la Bahía de Chetumal, Belice y Guatemala; al oeste con Campeche y Yucatán. Recorre 856 km de litoral y es aquí donde se conjuntan el Golfo de México y las aguas del Mar Caribe.

6.2. TRABAJO EN CAMPO

A partir de la información obtenida de González Nieto (2010) del litoral veracruzano serán visitadas las siguientes localidades, En Veracruz: *Playa los Muñecos, Playa Villa Rica, Playa Lechuguillas, Punta Delgada, Punta Morro/La Mancha, Punta Puntillas, Playa Hermosa, Playa Escondida*, y en Quintana Roo: Puerto Juárez, Muelle de Isla Mujeres, Extremo Norte de Isla Mujeres, Puerto Morelos, Caletilla, Chen Río, Playa Encantada, Akumal, Tulum y Xcalak. En estas localidades se realizará la obtención del material biológico, considerando la topografía de las costas y la naturaleza de las poblaciones, lo cual se hará de forma manual con ayuda de una espátula, en la zona intermareal expuesta y/o submareal.

Para la obtención del material genético, de estos ejemplares mencionados, se desprenderán pequeñas porciones de filoides apicales y receptáculos, los cuales serán cuidadosamente enjuagados con agua de mar, para liberarlos de impurezas y de ser el caso de organismos epífitos. Posteriormente serán inmersos dentro de bolsas de plástico con silica gel la cual será renovada periódicamente hasta observar un completo secado de las muestras, además de conservarse pequeñas fracciones de material fresco a -20°C.

6.3. TRABAJO DEL LABORATORIO.

Análisis molecular.

Los fragmentos frescos y en silica gel serán separados en secciones al menor tamaño posible empleando navajas esterilizadas. Estos fragmentos serán colocados en tubos Eppendorf de 1.5 ml, y la extracción de ADN se realizará, utilizando el Dneasy Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) realizando las modificaciones sugeridas por Phillips *et al.* (2001). Posteriormente la calidad y cantidad del ADN obtenido será evaluada con ayuda del corrimiento de geles de prueba.

Los marcadores moleculares seleccionados para la amplificación del ADN serán la región espaciadora del cloroplasto *rbcLS* y la región nuclear ITS-2, según lo sugerido por Phillips & Fredericq, 2000; Mattio *et al.*, 2008; Mattio *et al.*, 2009 y Stiger *et al.*, 2000, 2003). Dicha amplificación se realizará vía PCR (polymerase chain reaction) utilizando los métodos y reactivos propuestos por Phillips *et al.* (2001). Las reacciones se llevarán a cabo con un equipo termociclador de gradiente marca Touchgene, que automáticamente programa aumento y disminución de temperatura

en un número de ciclos determinado (“thermocycler”) utilizando los primers para rbcLS CF-NEW, CR y CR-NEW (Phillips & Fredericq, 2000) y para ITS-2 (1F: 5’ GATTTTTTTGAGGAAGG 3’ y CR: 5’ CCCCATAGTTCCCAAT 3’) de acuerdo con Phillips *et al.* (2001)

Todos los productos de la reacción PCR con el Kit de purificación QIAquick de Qiagen de acuerdo con el protocolo del fabricante. Las reacciones para producir secuencias marcadas se realizarán con el juego de químicos de la compañía Perkin Elmer (PRISM™ Dye Terminator Cycle Sequencing Reaction Kit). Estas segundas amplificaciones se van a correr en un gel de electroforesis y serán leídas automáticamente por un secuenciador ABI-373 (Applied Biosystems™).

Finalizado este proceso, las lecturas (electrofenogramas) se transferirán a un archivo de computadora y con la ayuda del paquete de cómputo Sequencer Navigator (Applied Biosystems™) se limpiarán y corregirán las dos direcciones generadas. Las secuencias serán alineadas, a simple vista o empleando el algoritmo de CLUSTAL. (Thompson *et al.*, 1994)

Se calcularán porcentos de divergencia y se llevará a cabo un análisis filogenético que generará una hipótesis de las relaciones entre los taxa estudiados, para ello se utilizarán procedimientos estándares para codificar caracteres y elaborar una matriz de datos.

Los análisis se llevarán a cabo con la ayuda de paquetes de cómputo PAUP* v.4.0 beta 10 (Swofford, 2001), Modeltest v.3.06 (Posada & Crandall, 1998) y MrBayes v.3.0 beta 4 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001). Con ayuda de los cuales, se realizarán análisis filogenéticos utilizando diferentes métodos.

7. Cronograma de actividades.

Año	2010	2011			2012			2013	
Actividad/Trimestre	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Revisión bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Presentación de Seminario	X	X	X	X	X	X			
Cursos complementarios	X	X				X			
Muestreos		X	X			X	X		
Trabajo de laboratorio	X	X	X	X	X	X	X	X	
Análisis de resultados						X	X	X	X
Publicación y Seminario temático.						X	X	X	
Redacción de tesis						X	X	X	X
Defensa de tesis									X

8. BIBLIOGRAFIA.

Abbott, I. A., Tseng, C. K. and Lu, B. 1988. Clarification of subgeneric nomenclature in *Sargassum* subgenus *Sargassum*. En: Abbott, I. A. (Ed.) *Taxonomy of Economic Seaweeds*, Vol. 2. California Sea Grant College Program, La Jolla, 55 p.

Agardh, C.A. 1820. Species algarum rite cognitae, cum synonymis, differentiis specificis et descriptionibus succinctis. Vol. 1. Gryphiswaldiae, Lund. 168 p.

Agardh, J.G. 1848. *Species genera et ordines algarum*, seu descriptiones succinctae specierum, generum et ordinum, quibus algarum regnum constituitur. Algas fucoideas complectens. Vol. 1. Lund. 363 p.

Agardh, J.G. 1889. Species Sargassorum Australiae descriptae et dispositae. *Öfversigt af Kongl. Vetenskaps-Adademiens Förhandlingar*. Stockholm. 133 p.

Ajisaka, T. 1992. Notes on two "look-alike" species between east and west: *Sargassum* polyporum Montagne from Ryukyu Islands in Japan and *Sargassum*

polyceratum Montagne from Caribbean Sea. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.III, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 256 p.

Ajisa, T., T. Noro & T. Yoshida. 1995a. *Sargassum henslowianum* var. *condensatum* Yamada in Japan: Zygozarpic *Sargassum* species (Subgenus *Sargassum*) from Japan. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.V, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 272 p.

Ajisa, T., H. Q. Nang & N. H. Dinh. 1995b. Studies of two zygozarpic species of *Sargassum* (Subgenus *Sargassum*) from Vietnam. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.V, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 272 p.

Ajisa, T., P. S. Moi & T. Yoshida. 1999. Preliminary report of *Sargassum* species collected from Malaysian coasts. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.VII, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 181 p.

Ang P.O. Jr. & G.C. Trono Jr. 1987. The Genus *Sargassum* (Phaeophyta, Sargassaceae) from Balibago, Calatagan, Philippines. *Bot. Mar.* 30:387-397.

Børgesen, F. 1914. The species of *Sargassum* found along the coasts of the Danish West Indies with remarks upon the floating forms of the Sargasso Sea. In H.F.E. Jungersen & E. Warming (eds.), *Mindeskript i Anledning af Hundredaaret for Japetus Steenstrups Fødsel* (Art. 32) 20 pp.

Chang, C. C., K. H. Chu & P. O. Ang Jr. 2008. Morphological and Genetic Variation in the populations of *Sargassum hemiphyllum* (Phaeophyceae) in the northwestern Pacific. *Phycological Research.* 44: 1–11.

Chiang, Y. M., T. Yoshida, T. Ajisa, G. Trono Jr., C. K. Tseng, & L. Baoren. 1992. Distribution and variation in *Sargassum polycystum* C. A. Agardh (Fucales,

Phaeophyta). En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.III, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 256 p.

Dawes, C. J. & A. C. Mathieson. 2008. The seaweeds of Florida. University Press of Florida. 592 p.

De Paula, E. J. 1988. O gênero *Sargassum* C. Ag. (Phaeophyta-Fucales) No Litoral do Estado de São Paulo, Brasil. Bolm Botânica, Univ. S. Paulo 10: 65-118.

Dinh, N. H. & H. Q. Nang.1999. Some new taxa of *Sargassum* (Phaeophyta) from Vietnam. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.VII, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 181 p.

Dreckmann, K. 1988. Clasificación y nomenclatura de las macroalgas marinas bentónicas del Atlántico Mexicano. CONABIO. 140 pp.

Gillespie, R. D. & A. T. Critchley. 1999. Assessment of spatial and temporal variability of three *Sargassum* species (Fucales, Phaeophyta) from KwaZulu-Natal, South Africa. *Phycological Research*. 49: 241–249.

González-González, J., M. Gold-Morgan, H. León-Tejera, C. Candelaria, D. León-Alvarez, E. Serviere-Zaragoza y D. Fragoso. 1996. Catálogo onomástico (Nomenclator) y bibliografía indexada de las algas bentónicas marinas de México. Cuadernos del Instituto de Biología, No. 29, Instituto de Biología, UNAM, México. 492 P.

González-Nieto, D. 2010. El género *Sargassum* C. Agardh (Fucales, Phaeophyceae) en la costa de Veracruz, México. Proyecto de Maestría en Biología. Universidad Autónoma Metropolitana. 60p.

- Grunow**, A. 1915-1916. Additamenta ad cognitionem Sargassorum. *Verhandlungen der Kaiserlich-Möniglichen Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien* 65: 329-448.
- Guiry**, M. D. & G. M. Guiry 2010. Algaebase Versión 4.2. Publicación electrónica. National University of Ireland, Galway. Disponible en www.algabase.org (Consultado el 15 de Junio de 2010)
- Huelsenbeck**, J.P. & F.R. Ronquist. 2001. MrBayes. Bayesian inference of phylogeny. *Biometrics* 17: 754–755.
- Kilar**, J. 1992. Seasonal and between-plant variability in the morphology of *Sargassum mathiesonii* sp. nov. (Phaeophyta) from the gulf of Mexico. *Journal of Phycology* 28:114-126.
- Kilar**, J & D. Hanisak. 1988. Seasonal patterns of morphological variability in *Sargassum polyceratium* (Phaeophyta). *Journal of Phycology*. 24:467-473.
- Kilar**, J., M. D. Hanisak & T. Yoshida. 1992a. On the expression of phenotypic variability: Why is *Sargassum* so taxonomically difficult?. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.III, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 256 p.
- Kilar**, J., T. Ajisaka, T. Yoshida & M. D. Hanisak. 1992b. A comparative study of *Sargassum polyporum* from the Ryukyu Islands (Japan) and *Sargassum polyceratium* from the Florida Keys (United States). En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.III, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 256 p.
- Lee**, I. K. & S. Yoo. 1992. Korean species of *Sargassum* subgenus *Bactrophyucus* J. Agardh (Sargassaceae, Fucales). En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.III, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 256 p.

Magruder, W. H. 1988. *Sargassum* (Phaeophyta, Fucales, Sargassaceae) in the Hawaiian Islands. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.II, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 282 p.

Mattio, L., C. E. Payri & V. Stinger-Pouvreau. 2008. Taxonomic revision of *Sargassum* (Fucales, Phaeophyceae) from French Polynesia based on Morphological and molecular analyses. *Journal of Phycology*. 44:1-15.

Mattio, L. & E. Payri. 2009. Taxonomic revision of *Sargassum* species (Fucales, Phaeophyceae) from New Caledonia based on morphological and molecular analyses. *Journal of Phycology*. 45:1374-1388.

Mattio, L., C. E. Payri & M. Verlaque. 2009. Taxonomic revision and geographic distribution of the subgenus *Sargassum* (Fucales, Phaeophyceae) in the western and central pacific islands based on morphological and molecular analyses. *Journal of Phycology*. 45:1213-1227.

Moreira L. & A. M. Suárez. 2002a. Estudio del Género *Sargassum* C. Agardh, 1820 (Phaeophyta, Fucales, Sargassaceae) en aguas cubanas. 1. *Sargassum furcatum* Kützing, Nuevo Reporte. *Revista de Investigaciones Marinas* 23(1):53-54.

Moreira L. & A. M. Suárez. 2002b. Estudio del Género *Sargassum* C. Agardh, 1820 (Phaeophyta, Fucales, Sargassaceae) en aguas cubanas. 2. Variaciones Morfológicas en *Sargassum natans* (Linnaeus) Meyer en dos localidades. *Revista de Investigaciones Marinas* 23(1):55-58.

Moreira L. & A. M. Suárez. 2002c. Estudio del Género *Sargassum* C. Agardh, 1820 (Phaeophyta, Fucales, Sargassaceae) en aguas cubanas. 3. Variaciones

Morfológicas en *Sargassum filipendula* C. Agardh. *Revista de Investigaciones Marinas* 23(1):59-62.

Moreira L. & A. M. Suárez. 2002d. Estudio del género *Sargassum* C. Agardh, 1820 (Phaeophyta, Fucales, Sargassaceae) en aguas cubanas. 4. Reproducción sexual en *Sargassum natans* (Linnaeus) Meyer y *S. fluitans* Borgesen. *Revista de Investigaciones Marinas* 23(1):63-65.

Noiraksar, T. & T. Ajisaka. 2008. Taxonomy and distribution of *Sargassum* (Phaeophyceae) in Gulf of Thailand. *Journal of Applied Phycology* 20(5):963-977.

Noro, T., T. Ajisaka & T. Yoshida. 1995. *Sargassum henslowianum* var. *condensatum* Yamada in Japan: A synonym of *Sargassum yendoi* Okamura et Yamada. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.V, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 272 p.

Núñez López, R. A & M. Casas Valdez. 1997. Variación estacional de la biomasa y talla de *Sargassum* spp. (Sargassaceae, Phaeophyceae) en la Bahía Concepción, B. C. S. México. *Hidrobiológica* 7(1):19-25.

Ortega, M., J. Godínez-Ortega & G. Garduño. 2001. Catálogo de algas bénticas de las costas mexicanas del Golfo de México y Mar Caribe. Cuadernos del IBUNAM No. 34. UNAM, CONABIO. 594 p.

Pedroche, F., P. C. Silva, L. E. Aguilar Rosas, K. M. Dreckman y R. Aguilar Rosas. 2008. Catálogo de las Algas Marinas Bentónicas del Pacífico de México: II. Phaeophyta. Universidad Autónoma Metropolitana, Universidad de Baja California y University of California Berkeley. 146 p.

Phillips, N. 1995. Biogeography of *Sargassum* (Phaeophyta) in the Pacific basin. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.V, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 256 p.

Phillips, N. & S. Fredericq. 2000. Biogeography and Phylogenetic Investigation of the Pantropical genus *Sargassum* (Fucales, Phaeophyceae) with respect to Gulf of Mexico species. *Gulf of Mexico Science* 2:77-87.

Phillips, N., C. M. Smith & Clifford W. Morden. 2005. Testing systematic concepts of *Sargassum* (Fucales, Phaeophyceae) using portions of the rbcLS operon. *Phycological Research* 53:1-10.

Posada, D. & K.A. Crandall. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-18.

Programa Rector del Desarrollo Litoral del Estado de Veracruz de la Llave, 2008. Gobierno del Estado de Veracruz.

<http://www.e-mar.sct.gob.mx/fileadmin/PNDP2008/doc/pred/pver.pdf>

Rodríguez-Montesinos, Y. E., D. L. Arvizu-Higuera & G. Hernández-Carmona. 2008. Seasonal variation on size and chemical constituents of *Sargassum sinicola* Setchell et Gardner from Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. *Phycological Research*; 56: 33–38.

Sánchez Rodríguez, I. y R. **Cervantes Duarte**. 1999. Longitud y biomasa de *Sargassum sinicola* Setchell et Gardner (Phaeophyta) en Bahía Magdalena B. C. S., México. *Hidrobiológica* 9(2):117-124.

Schneider, C. W. & R. Searles. 1991. Seaweeds of the Southeastern United States: Cape Hatteras to Cape Canaveral. Duke University Press, 553 p.

- Setchell**, W. A. 1931. Hong Kong seaweeds II. *Hong Kong Naturalist* **2**: 237–53.
- Setchell**, W. A. 1933. Hong Kong seaweeds III. *Hong Kong Naturalist* **2** (Suppl): 33–49.
- Setchell**, W. A. 1936. Hong Kong seaweeds V. *Hong Kong Naturalist* **5**: 1–20.
- Stiger**, V., T. Horiguchi, T. Yoshida, A. W. Coleman & M. Masuda. 2000. Phylogenetic relationships of *Sargassum* (Sargassaceae, Phaeophyceae) with reference to a taxonomic revision of the section Phyllocystae based on ITS-2 nrDNA sequences. *Phycological Research* 48:251-260.
- Stiger**, V., T. Horiguchi, T. Yoshida, A. W. Coleman & M. Masuda. 2003. Phylogenetic relationships within the genus *Sargassum* (Fucales, Phaeophyceae) inferred from ITS-2 nrDNA, with an emphasis on the taxonomic subdivision of the genus. *Phycological Research* 51:1-10.
- Stewart**, H. L. 2006. Morphological variation and phenotypic plasticity of buoyancy in the macroalga *Turbinaria ornata* across a barrier reef. *Marine Biology*, 147:721-730.
- Swofford**, D.L. 2001. PAUP. Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Taylor**, W. R. 1960. Marine algae of the eastern tropical and subtropical coasts of the Americas. The University of Michigan Press. 870 p.
- Thompson**, J.D; D.G. Higgins & T.J. Gibson. 1994. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673–4680.

Trono Jr., G. 1992. The genus *Sargassum* in the Philippines. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.III, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 256 p.

Trono Jr., G. 1994. New species of *Sargassum* from Philippines. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.IV, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 200 p.

Tseng C. K. & L. Baoren, 1988. Studies on Chinese species of Zygo carpic *Sargassum*. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.II, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 282 p.

Tseng C. K. & L. Baoren, 1992. Studies on the Malacocarpic *Sargassum* of China. I y II. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.III, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 256 p.

Tseng C. K. & L. Baoren, 1995. Studies on the Glomerulate *Sargassum* of China, I. The Series *Binderiana*. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.V, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 256 p.

Tseng C. K. & L. Baoren, 1995b. Studies on the Glomerulate *Sargassum* of China, II. The Species group *Swartzia*. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.V, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 256 p.

Tseng C. K. & L. Baoren, 1995c. Studies on the Glomerulate *Sargassum* of China, III. The species group *Binderia*. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.V, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 256 p.

Tseng C. K. & L. Baoren, 1997a. Studies on the Biserrulic *Sargassum* of China, I. Taxonomy of the subsection Biserrulae. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.VI, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 212 p.

Tseng C. K. & L. Baoren, 1997b. Studies on the Glomerulate *Sargassum* of China, III. Series of Platycarpae. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.VI, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 212 p.

Tseng, C. K. & L. Baoren, 1999. Studies on the Biserrulic *Sargassum* of China, II. The series Coriifolie. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.VII, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 181 p.

Tsuda, R. T. 1988. *Sargassum* from Micronesia. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.II, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 282 p.

Veloso, A. P & M. T. M de Széchy. 2008. Variações espaciais e temporais no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo da macroalga *Sargassum* C. Agardh (Fucales, Phaeophyceae) – síntese do conhecimento. Oecol. Bras. (12)2: 275-290.

Yoshida, T. 1983. Japanese species of *Sargassum* subgenus *Bactrophycus* (Phaeophyta, Fucales). Journal of the Faculty of Science Hokkaido University Serie 5 (Botany) (13):99-246.

Yoshida, T. 1985. East asiatic species of *Sargassum* subgenus *Bactrophycus* J. Agardh (Sargassaceae, Fucales) with keys to the sections and species. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.I, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 166 p.

Yoshida, T. 1988. Japanese and Taiwanese species of *Sargassum* subgenus *Sargassum*. En: Taxonomic of economic seaweeds Vol.II, California Sea Grant College Program. La Jolla California, 282 p.

Yoshida, T. 1989. Taxonomy of *Sargassum*. *Korean Journal Phycol* 4:107-110.