



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

**CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA DE LAS ESPECIES SIMPÁTRIDAS
DE LOS GÉNEROS *Crassiphycus* y *Gracilaria* (RHODOPHYTA) EN LA
PENÍNSULA DE YUCATÁN, MÉXICO.**

TESIS

Que para obtener el grado de

Doctora en Ciencias Biológicas y de la Salud

PRESENTA

M. en B. Martha Isabel Vilchis Alfaro

(Matricula: 2161801003)

COMITÉ TUTORAL

Codirector: Dr. Kurt Martin Dreckmann Estay

Codirector: Dr. Abel Sentíes Granados

Asesora: Dra. Paz Alejandra Quintanar Isaías

Iztapalapa, Ciudad de México, noviembre 2020

El presente estudio se desarrolló en el Laboratorio de Macroalgas Marinas y Salobres de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa derivado de proyectos de investigación bajo la dirección del Dr. Abel Sentíes Granados y el Dr. Kurt Martin Dreckmann Estay.

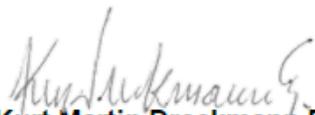
El autor agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para sus estudios de doctorado, con el número de registro 429543, que comprendió el periodo de enero del 2016 a diciembre del 2019. El Doctorado en Ciencias Biológica y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrados de excelencia de CONACyT y además, cuenta con apoyo del mismo Consejo con el convenio PFP-20-93.

El jurado designado por La Comisión Académica del Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, de la Universidad Autónoma Metropolitana aprobó la tesis que presentó:

Nombre del alumno: Martha Isabel Vilchis Alfaro

Fecha de aprobación de la tesis:

JURADO:



Dr. Kurt Martin Dreckmann Estay
Presidente



Dr. Abel Sentes Granados
Secretario



Dra. Paz Alejandra Quintanar Isaías
Vocal



Dra. Ileana Ortegón Aznar
Vocal



Dr. Manuel Arnoldo Castillo Rivera
Vocal

A mis padres Martha y Eduardo.

A mis hermanos Eduardo y Carlos.

A Oscar, mi compañero de vida.

“Mediante el trabajo ha sido como la mujer ha podido franquear la distancia que la separa del hombre. El trabajo es lo único que puede garantizarle una libertad completa”

Simone de Beauvoir

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, que me brindó la oportunidad de realizar mis estudios de Doctorado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico como becaria y por la beca mixta otorgada para realizar una estancia de investigación en la *Univerzita Karlova, Praha*.

Al Dr. Kurt Dreckmann por el apoyo y la confianza que me brindó para continuar con mis estudios de posgrado en el laboratorio de Macroalgas Marinas y Salobres. Porque con su amplio conocimiento de estos grupos y mi inquietud por la morfometría pudimos darle forma a este proyecto.

Al Dr. Abel Senties, quien también me brindó su apoyo y confianza para continuar con mis estudios de posgrado en el laboratorio de Macroalgas Marinas y Salobres. Porque a lo largo de estos años me ha enseñado que el éxito es el resultado de la dedicación y la constancia.

A la Dra. Alejandra Quintanar, por el apoyo brindado para la obtención de los cortes histológicos realizados en este proyecto y por siempre tener las palabras exactas para animarme a seguir adelante.

Al Dr. Jiří Neustupa, por recibirme en su laboratorio y brindarme sus valiosos conocimientos y sugerencias, sobre todo en la parte metodológica. Agradezco la hospitalidad de su bella ciudad.

A Luisa, Carlos, May, Ernesto y Oscar, mis compañeros y amigos de laboratorio por la ayuda técnica y emocional durante todo este tiempo.

A mis padres, por ser los pilares más importantes de mi vida y siempre alentarme a seguir adelante.

A mis hermanos, por ser el impulso que me ha hecho llegar hasta aquí y hacer más amena la vida.

A Oscar, por apoyar y respetar cada una de mis decisiones, por estar conmigo y motivarme a cumplir todos mis sueños, solo tú sabes lo que hay detrás de todo esto. Te amo.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES	8
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	10
HIPÓTESIS	10
OBJETIVO GENERAL	10
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
MATERIAL Y MÉTODOS	11
Obtención de muestras	11
Preparación de las muestras	14
Análisis de morfometría tradicional	14
Análisis de morfometría geométrica	15
RESULTADOS	18
Morfometría tradicional	18
Complejo <i>Crassiphycus corneus/C. usneoides</i>	18
Complejo <i>Gracilaria mammillaris</i>	23
Morfometría geométrica	29
Complejo <i>Crassiphycus corneus/C. usneoides</i>	29
Complejo <i>Gracilaria mammillaris</i>	31
DISCUSIÓN	39
Complejo <i>Crassiphycus corneus/C. usneoides</i>	39
Complejo <i>Gracilaria mammillaris</i>	40
CONCLUSIONES	45
REFERENCIAS	46

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Distribución de las especies que conforman a los complejos *Crassiphycus corneus*/*C. usneoides* y *Gracilaria mammillaris*. a) *Crassiphycus corneus*, b) *C. usneoides*, c) *Gracilaria mammillaris*, d) *G. flabelliformis*, e) *G. occidentalis*, f) *G. suzannae* y g) *G. curtissiae*. 5
- Figura 2.** Ejemplares del complejo *Crassiphycus corneus*/*C. usneoides*. a1) *C. usneoides*, Puerto Morelos, Quintana Roo; a2) *C. corneus*, Puerto Morelos, Quintana Roo; a3) *C. usneoides*, Puerto Morelos, Quintana Roo; b) *C. corneus*, Puerto Morelos, Quintana Roo; c) *C. usneoides*, Puerto Progreso, Yucatán; d) *C. corneus*, Puerto Progreso, Yucatán. Escala: 4 cm. 13
- Figura 3.** Ejemplares del complejo *Gracilaria mammillaris*. a1 y a2) *G. mammillaris* Playa del Carmen, Quintana Roo, escala: 2 cm; b) *G. mammillaris* Playa Mocambo, Veracruz, escala: 3 cm; c) *G. flabelliformis* Xcalacoco, Quintana Roo, escala: 3 cm; d) *G. flabelliformis* Bahía Tortugas, Campeche, escala: 4 cm; e) *G. flabelliformis* Playa 88, Quintana Roo, escala: 4cm; f) *G. curtissiae* Bahía Tortugas, Campeche, escala: 4 cm; g) *G. suzannae* Punta Xen, Campeche, escala: 4 cm; h) *G. occidentalis* Kilómetro 33, Campeche, escala: 3 cm. 13
- Figura 4.** a. Representación esquemática de los sitios a lo largo del talo de donde fueron extraídos los fragmentos empleados en el estudio; b. Tipos de células analizadas en cada fragmento. Figuras modificadas de Dreckmann, 2012. 15
- Figura 5.** Ejemplificación del delineado de las células y su transformación a puntos equidistantes. 16
- Figura 6.** Diagrama de los dos primeros componentes principales, obtenidos a partir de 24 variables morfométricas para la discriminación de las especies *Crassiphycus corneus* (▲) y *C. usneoides* (□). 19
- Figura 7.** Diagrama comparativo de la media aritmética y el error estándar de los caracteres que resultaron con mayor peso para la discriminación de las especies del complejo *Crassiphycus corneus*/*C. usneoides*. a. diámetro mayor del talo porción media; b. diámetro menor del talo porción apical. Los cuadros negros 21

representan la media aritmética y los bigotes el error estándar.

Figura 8. Dendograma resultado del análisis de agrupamiento bajo el índice de disimilitud de distancia euclidiana y el algoritmo UPGMA, basado en 24 caracteres cuantitativos tomados de 40 ejemplares de: a. *Crassiphycus corneus* y b. *Crassiphycus usneoides*. 22

Figura 9. Diagrama de los dos primeros componentes principales, obtenidos a partir de 24 variables morfométricas para la discriminación de las especies *G. mammillaris* (▲), *G. flabelliformis* (□), *G. occidentalis* (●), *G. suzannae* (▽) y *G. curtissiae* (◆). 26

Figura 10. Diagrama comparativo de la media aritmética (cuadros negros y valor numérico) y el error estándar (bigotes) de los caracteres que resultaron con mayor peso en el análisis de componentes principales de las especies *Gracilaria mammillaris* (1), *G. flabelliformis* (2), *G. occidentalis* (3), *G. suzannae* (4) y *G. curtissiae* (5). 27

Figura 11. Dendograma resultado del análisis de agrupamiento bajo el índice de disimilitud de distancia euclidiana y el algoritmo UPGMA, basado en 24 caracteres cuantitativos tomados de los ejemplares de: *Gracilaria mammillaris* (M), *G. flabelliformis* (F), *G. occidentalis* (O), *G. suzannae* (Z) y *G. curtissiae* (C). 28

Figura 12. Reconstrucción digital de la forma promedio de las células corticales medias y sus variantes extremas posicionadas a lo largo de los dos primeros componentes principales (CP). La columna de la derecha muestra la sobreposición de los contornos medios de ambas especies. 30

Figura 13. Diagrama de los dos primeros componentes principales, obtenidos tras el análisis de la forma de las células corticales en la porción media para la discriminación de las especies *G. mammillaris* (▲), *G. flabelliformis* (□), *G. occidentalis* (●), *G. suzannae* (▽) y *G. curtissiae* (◆). 35

Figura 14. Diagrama de los dos primeros componentes principales, obtenidos tras el análisis de la forma de las células medulares de la porción basal para la discriminación de las especies *G. mammillaris* (▲), *G. flabelliformis* (□), *G. occidentalis* (●), *G. suzannae* (▽) y *G. curtissiae* (◆). 36

Figura 15. Reconstrucción digital de la forma promedio de las células corticales de la porción media y sus variantes extremas posicionadas a lo largo de los dos 37

primeros componentes principales (CP). En la última fila se muestra la sobreposición de los contornos medios de las cinco especies analizadas para ambos componentes; en color naranja se resalta la forma media de las células de *Gracilaria curtissiae*.

Figura 16. Reconstrucción digital de la forma promedio de las células medulares de la porción basal y sus variantes extremas posicionadas a lo largo de los dos primeros componentes principales (CP). En la última fila se muestra la sobreposición de los contornos medios de las cinco especies analizadas para ambos componentes; en color naranja se resalta la forma media de las células de *Gracilaria curtissiae*.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Número de herbario y localidad de los ejemplares analizados en el estudio. Cada número de herbario contiene más de un ejemplar, el número se presenta entre paréntesis en la segunda columna (n).	11
Tabla 2. Coeficientes de correlación de los dos primeros componentes principales y las 24 variables empleadas en el análisis, caso complejo <i>Crassiphycus corneus/C. usneoides</i> . Los coeficientes de correlación más altos se resaltan en negritas.	18
Tabla 3. Coeficientes de correlación de los dos primeros componentes principales y las 24 variables empleadas en el análisis, caso complejo <i>Gracilaria mammillaris</i> . Los coeficientes de correlación más altos se resaltan en negritas.	23
Tabla 4. Valores de p resultado de la comparación de pares de especies del complejo <i>Gracilaria mammillaris</i> , producto del NP-MANOVA.	25
Tabla 5. Eigenvalores y porcentajes de variabilidad explicados (%) por los dos primeros componentes principales de cada grupo.	29
Tabla 6. Resultados de las pruebas de t de permutación univariada, realizadas con base en los valores de Q (coeficiente isoperimétrico), para los nueve grupos de células. Se muestran los valores promedio de Q para cada tipo de célula y especie, así como la significancia de la prueba de t.	31
Tabla 7. Eigenvalores y porcentajes de variabilidad explicados (%) por los dos primeros componentes principales de cada grupo.	32
Tabla 8. Valores promedio del coeficiente isoperimétrico (Q), para las cinco especies y los nueve grupos de células del complejo <i>G. mammillaris</i> .	34

RESUMEN

En los últimos años, los análisis morfométricos han sido foco de interés dentro de la ficología marina debido a que han permitido, mediante la evaluación objetiva y estadísticamente sólida de la variabilidad morfológica, la delimitación de especies dentro de complejos crípticos, problema muy frecuente dentro de esta área de estudio. En el presente trabajo se muestran los resultados de la discriminación morfométrica de las especies que conforman a los complejos crípticos *Crassiphycus corneus*/*C. usneoides* y *Gracilaria mammillaris*, a partir de las proporciones (incluyendo el diámetro mayor y menor del talo) y la forma de las células corticales, subcorticales y medulares de las porciones apical, media y basal del talo. Los análisis de componentes principales y el NP-MANOVA, arrojaron que los caracteres que permiten la discriminación de *Crassiphycus corneus* y *C. usneoides* son el diámetro mayor del talo en la porción media, el diámetro menor y la forma de las células corticales en la porción media. Estos análisis también arrojaron que la única especie dentro del complejo *Gracilaria mammillaris* que se discrimina es *G. curtissiae* y las variables que permiten la separación son: largo y ancho de las células corticales y medulares de la porción media y la forma de las células corticales y medulares en la porción media y basal respectivamente. Los análisis de desigualdad isoperimétrica y UPGMA robustecieron los resultados anteriores. Los análisis morfométricos realizados demostraron ser eficientes para la caracterización y discriminación de las especies dentro de los complejos bajo estudio. Este trabajo podrá servir como punto de referencia para la delimitación taxonómica de otras especies crípticas de macroalgas.

Palabras clave: algas rojas, componentes principales, descriptores elípticos de Fourier, desigualdad isoperimétrica, discriminación, distribución simpátrica, especies crípticas, NP-MANOVA.

ABSTRACT

In the last times, morphometric analyses have been a focus of interest within marine phycology, because they have allowed, through the objective and statistically sound evaluation of morphological variation, the delimitation of species within cryptic complexes, a very frequent problem within this study area. The results of morphometric discrimination of the species within the cryptic complexes *Crassiphycus corneus*/*C. usneoides* and *Gracilaria mammillaris* is presented, from the proportions (included total diameter of thallus) and the shape of its cortical, subcortical and medullary cells in the apical, medium and basal portions of thallus. Principal components and NP-MANOVA analyses showed that the characters that allow discrimination of *Crassiphycus corneus* and *C. usneoides* are the largest diameter of the thallus in the medium portion, the smallest diameter of the thallus in the apical portion and the shape of cortical cells in the medium portion. These analyses also showed that *Gracilaria curtissiae* is the only species that was discriminated within the *Gracilaria mammillaris* complex and the variables that allow the separation are: length and width of the cortical and medullar cells of medium portion, and the shape of cortical and medullar cells in the medium and basal portions respectively. Isoperimetric inequality and UPGMA analyses strengthened the previous results. Morphometric analyses proved to be efficient for the characterization and discrimination of the species within the complexes under study. This work will serve as a reference point for the taxonomic delimitation of other cryptic macroalgas species.

Keywords: red algae, principal components, elliptic Fourier descriptors, isoperimetric inequality, discrimination, sympatric distribution, cryptic species, NP-MANOVA.

INTRODUCCIÓN

Los géneros *Crassiphycus* Guiry, Gurgel, J.N. Norris & Fredericq y *Gracilaria* Greville constituyen agrupamientos taxonómicos compuestos por especies de algas rojas, incluidas dentro de la familia Gracilariaceae Nägeli. El primero se caracteriza por una masa gonimoblástica esférica, transición aguda entre gonimoblastos y cadenas cortas superiores dicotómicamente ramificadas. Piso del cistocarpo plano y bien definido; células gametofíticas de fusión dendríticas. Espermatangio del tipo medular solamente, formando conceptos profundos que a menudo son confluentes, dando lugar a múltiples cavidades en la médula cuando se ven en corte transversal (Gurgel *et al.*, 2018). *Gracilaria* por su parte se caracteriza por tetrasporangios superficiales, Conceptáculos espermatangiales corticales tipo *textorii* o *verrucosa*. Los filamentos del gonimoblasto consisten en células vacuoladas dispuestas del centro hacia la base, volviéndose alargadas y altamente ramificadas hacia el exterior, de la cual se producen cadenas ramificadas de carposporangios. Células nutricias tubulares numerosas de diámetro variable conectadas al pericarpo externo, fusionándose inicialmente con una sola célula del pericarpo que puede fusionarse progresivamente con las células vecinas de mismo, extendiendo su longitud para formar una célula de fusión de pericarpo con forma de tubo; célula de fusión carpogonial con numerosos núcleos agrandados, que se extiende a través de la fusión con la célula adyacente del pericarpo interno, y se incrusta longitudinalmente en el pericarpo interno, la cavidad del cistocarpo se formó esquizogénicamente a medida que los gonimoblastos crecen por la disolución de las conexiones de los agujeros entre los filamentos de gonimoblastos internos y externos; pericarpo interno compuesto por filas de células rectas, de cinco a siete células de largo, en las que cada célula contiene un núcleo agrandado; célula de fusión que persiste o se desintegra en las etapas maduras del desarrollo del cistocarpo (Dreckmann, 2012; Gurgel *et al.*, 2018).

La historia taxonómica de ambos géneros ha sido sumamente compleja, y aunque *Crassiphycus* es un género propuesto recientemente, formado por especies antes denominadas *Hydropuntia* Montagne, la baja plasticidad fenotípica y la sobreposición de los caracteres morfológicos entre algunas de sus especies hace su identificación extremadamente difícil, derivando en la existencia de complejos de especies crípticas que solo han podido ser identificadas mediante caracteres moleculares, tal es el caso del complejo conformado por las especies *Crassiphycus corneus* (J. Agardh) Gurgel, J.N.

Norris y Fredericq y *C. usneoides* (C. Agardh) Gurgel, J.N. Norris y Fredericq, reportado para México por Núñez-Resendiz *et al.* (2015). En el caso de *Gracilaria*, el género más grande y estudiado dentro de la familia Gracilariaceae, el problema no es distinto, el bajo número de características diagnósticas a nivel específico ha hecho que su taxonomía sea una de las más complicadas, llegándose a considerar que la identificación entre algunas especies sea casi imposible (Gurgel y Fredericq, 2004; Gurgel *et al.* 2004a; 2004b; Dreckmann, 2012), resultando en la propuesta de un gran número de complejos, dentro de los que se encuentra el complejo *Gracilaria mammillaris*, compuesto por las especies planas del género distribuidas en el Mar Caribe (Gurgel *et al.*, 2004b). Para México, se ha reportado que las especies dentro de este complejo que presentan grandes problemas de identificación taxonómica son *G. mammillaris* (Montagne) M. Howe, *G. flabelliformis* (P. Crouan y H. Crouan) Fredericq y Gurgel, *G. occidentalis* (Børgesen) M. Bodard, *G. suzanneae* L. P. Soares, C.F.D. Gurgel y M.T. Fujii y *G. curtissiae* J. Agardh, especies que para el país ya han sido caracterizadas molecularmente (Dreckmann, 1998, 2002, 2012; Gurgel y Fredericq, 2004; Gurgel *et al.*, 2004a; 2004b; Gurgel *et al.*, 2018). El problema de identificación entre las especies de ambos complejos, al menos para México, adquiere mayor relevancia si se toma en cuenta que se encuentran distribuidas simpátricamente a lo largo de la Península de Yucatán y sur del Golfo de México (Figura 1), es decir, que su intervalo de distribución se sobrepone en el área antes mencionada, esto ha derivado muchas veces en dudosas o malas identificaciones que han sido reveladas únicamente mediante estudios moleculares.

Para la resolución de problemas taxonómicos como los expuestos anteriormente, los análisis de morfometría han demostrado ser muy útiles, al complementar los análisis cualitativos o morfológicos, cuantificando la variabilidad de las formas biológicas (Umpfrey, 1996; Calle *et al.*, 2008; Navia *et al.*, 2015; Toro *et al.*, 2010). Debido a sus conceptos teóricos y herramientas que utiliza, la morfometría se divide en morfometría tradicional y morfometría geométrica (Toro *et al.*, 2010; Benítez y Püschel, 2014). La morfometría tradicional mide los cambios morfológicos que se producen en los organismos con base en sus dimensiones lineales (e.j. longitud, largo y ancho), las cuales son analizadas con herramientas estadísticas multivariadas, tales como el análisis de componentes principales, de variables canónicas o función discriminante, con la finalidad de describir los patrones de variabilidad morfológicos intra e intergrupales (Steyn *et al.*, 2004; González-Díaz *et al.*, 2005; Aranís *et al.*, 2014). La mayor ventaja de este método

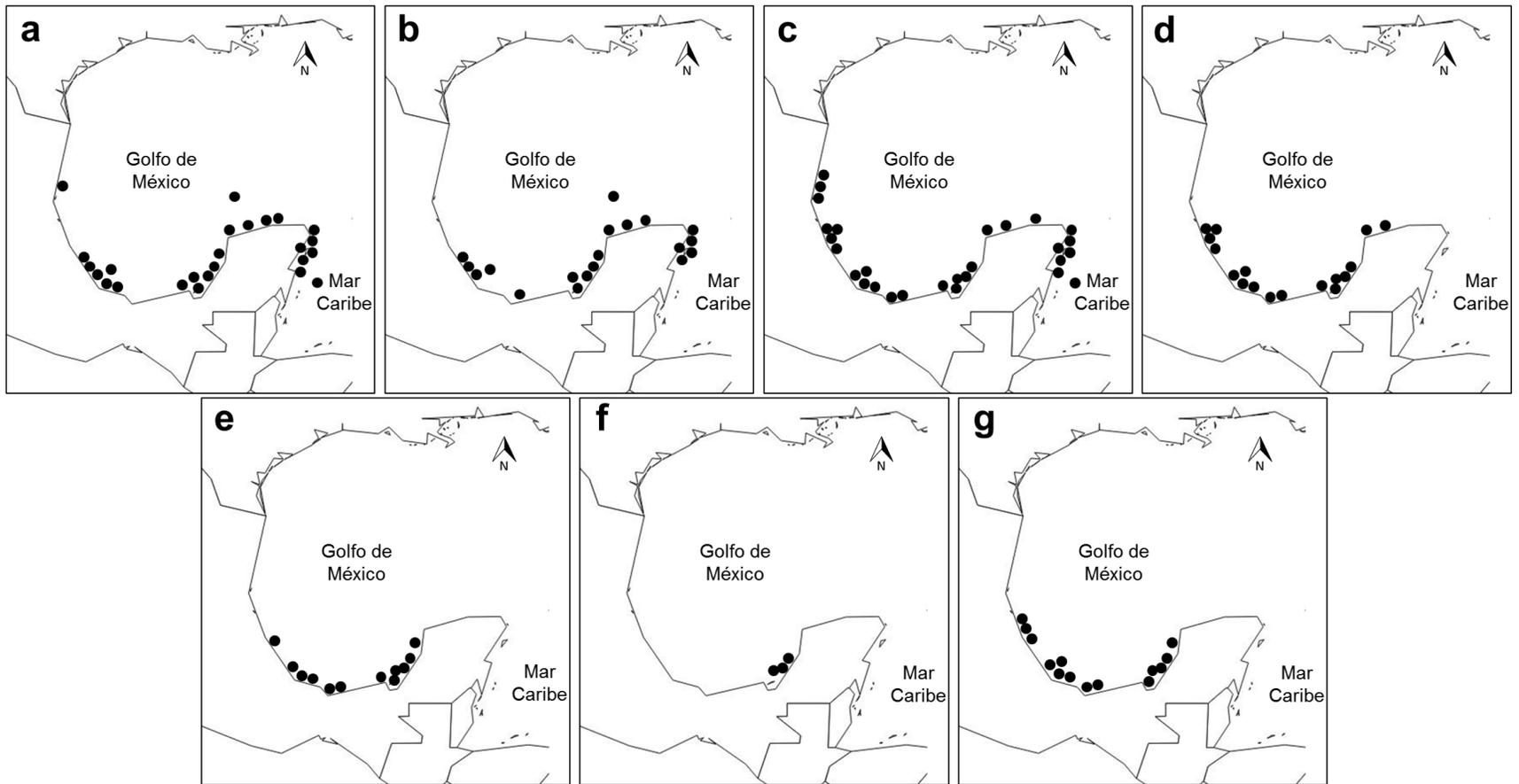


Figura 1. Distribución de las especies que conforman a los complejos *Crassiphycus corneus*/*C. usneoides* y *Gracilaria mammillaris*. a) *Crassiphycus corneus*, b) *C. usneoides*, c) *Gracilaria mammillaris*, d) *G. flabelliformis*, e) *G. occidentalis*, f) *G. suzannae* y g) *G. curtissiae*.

es que es muy simple, sin embargo, tiene ciertas limitaciones. El mayor problema es que las medidas de distancia lineal generalmente están altamente correlacionadas con el tamaño (conjunto de dimensiones físicas), lo cual dificulta el análisis de la forma. Este esquema de medidas clásico puede mejorarse de forma significativa utilizando morfometría geométrica, sustituyendo el uso de dimensiones lineales por la descripción cuantitativa, análisis e interpretación de la *forma* de los organismos o alguna estructura de ellos, y su variabilidad (Rohlf, 1990; 2006; Bookstein, 1991). La forma de un objeto engloba al conjunto de sus características geométricas exceptuando el tamaño, la posición y orientación (Kendall, 1977), dichas variables, se pueden extraer sin riesgo de perder información relativa a esta, ya que, la similitud geométrica es el único criterio para determinar si dos o más estructuras tienen la misma forma. De este modo, la morfometría geométrica permite ilustrar y explicar las variaciones y diferencias biológicas entre los organismos o las estructuras matemáticamente analizadas (Dryden y Mardia, 1998).

Existen diferentes métodos dentro de la morfometría geométrica para analizar las formas biológicas, uno de los más utilizados es el basado en los descriptores elípticos de Fourier (Kuhl y Giardina, 1982). Estos descriptores se han empleado cuando las estructuras bajo estudio carecen de puntos anatómicamente homólogos, y es necesario delinear, mediante puntos equidistantes que representan una secuencia de coordenadas “x” y “y”, contornos cerrados bidimensionales. El método, describe matemáticamente la forma general del objeto, transformando la información de las coordenadas en coeficientes de Fourier (Yoshioka *et al.*, 2004), que generalmente son sometidos a análisis multivariados para la comparación de las formas entre organismos (Lestrel 1997; Iwata & Ukai 2002; Rohlf 2006).

Como se mencionó con anterioridad, los métodos morfométricos han resultado eficaces para la evaluación y discriminación de varias formas biológicas (Iwata *et al.*, 1998, Iwata & Ukai 2002, Neustupa, 2004); sin embargo, en el grupo de las macroalgas, aunque los problemas para la discriminación de especies son muy frecuentes, hay pocos estudios reportados que utilizan estas técnicas para su resolución (ej. Verbruggen *et al.*, 2005a; 2005b; Vilchis *et al.*, 2019; 2020). Específicamente dentro de la familia Gracilariaceae, no existen trabajos de esta índole, sin embargo, Núñez-Resendiz *et al.* (2015) y Hernández (2020) mencionan que estudios morfométricos de caracteres vegetativos (diámetro de las células que conforman el talo), podrían dar solución a los problemas de especies crípticas reportadas para la familia.

Bajo lo expuesto anteriormente, la intención del presente estudio es caracterizar y comparar, mediante morfometría tradicional y geométrica, los caracteres vegetativos (diámetro y forma de las células que conforman el talo) de las especies de los complejos *C. corneus/C. usneoides* y *G. mammilaris* en la Península de Yucatán, y con base en esto, determinar si existe discriminación entre las especies que los conforman. Esto contribuirá a robustecer la clasificación actual de estas especies.

ANTECEDENTES

La familia Gracilariaceae está representada por los géneros de vida libre *Curdiea* Harvey, *Gracilaria* Greville, *Gracilariopsis* E.Y. Dawson, *Hydropuntia* Montagne, *Crassiphycus* Guiry, Gurgel, J.N. Norris & Fredericq y *Melanthalia* Montagne, y los géneros parásitos *Congracilaria* Yamamoto, *Gracilariocolax* Weber-van Bosse, *Gracilariophila* Setchell et Wilson in Wilson, y *Holmsella* Sturch. Dentro de los géneros de vida libre, *Curdiea* y *Melanthalia* no han mostrado ambigüedades taxonómicas a nivel genérico, por el contrario, los géneros *Gracilaria*, *Gracilariopsis*, *Hydropuntia* y *Crassiphycus* han tenido una historia taxonómica sumamente inestable, por lo que los estudios ficológicos se han centrado en estos géneros (Dreckmann y Senties, 2014).

Inicialmente *Gracilariopsis*, *Hydropuntia* y *Crassiphycus* eran géneros incorporados al género *Gracilaria*, ya que no existían caracteres diagnósticos claros que evidenciaran su independencia taxonómica (Yamamoto, 1975; Chang y Xia, 1988; Fredericq y Hommersand, 1989; Gargiulo *et al.* 1992; Abbott, 1995). Posteriormente, Bird *et al.*, (1992) demostraron, mediante un estudio comparativo de secuencias de ADN ribosomal 18S, que *Gracilariopsis* difiere lo suficiente de *Gracilaria* como para ser considerado distinto taxonómicamente, actualmente también existen diversos trabajos morfológicos que sustentan dicha separación (Fredericq y Hommersand, 1989, 1990; Gurgel y Fredericq, 2004; Hau y Lin, 2006; Norris y Gurgel, 2014).

Mientras el asunto *Gracilariopsis* puede ser considerado como resuelto, no ha ocurrido lo mismo con *Hydropuntia*, género que sigue siendo cuestionable. *Hydropuntia* fue descrito por primera vez como género independiente de *Gracilaria* por Montagne (1842), distinguiéndolo de este, la presencia de constricciones pronunciadas a lo largo del talo y en la base de las ramas y ramillas, y con tan solo una especie que lo conformaba, *Hydropuntia urvillei* Montagne. Posteriormente, en 1963, con la creación del género *Polycavernosa* C.F. Chang y B.M. Xia (Chang y Xia, 1963), la única especie de *Hydropuntia* fue trasladada a él, debido a la presencia de conceptáculos espermatangiales confluentes y ramificaciones profundamente inmersas en el talo, característica distintiva del nuevo género propuesto. Sin embargo, Wynne (1989) propone más tarde, basándose en la prioridad nomenclatural, restablecer el nombre *Hydropuntia* y pasar a *Polycavernosa* como su sinónimo (Gurgel *et al.*, 2018). A pesar del restablecimiento, *Hydropuntia*, fue considerado durante un largo tiempo, por otros ficólogos, como sinónimo de *Gracilaria* debido a la sobreposición de un gran número de

caracteres morfológicos entre sus especies, y otros lo reconocieron como un género distinto, ya sea como *Polycavernosa* o como *Hydropuntia* (Dreckmann; 2012; Gurgel *et al.*, 2018). Actualmente, estudios de sistemática molecular, como los de Gurgel y Fredericq (2004) y Gurgel *et al.* (2004a; 2004b), demostraron que existe evidencia suficiente que respalda la independencia taxonómica de *Hydropuntia* (Ardito *et al.*, 2014).

Hasta el 2014, *Hydropuntia* contaba con al menos 16 especies reconocidas (Ardito *et al.*, 2014), de las cuales, recientemente tres, *Hydropuntia caudata*, *H. usneoides* e *H. cornea*, fueron reacomodadas mediante evidencia molecular, por Gurgel *et al.* (2018) y Guiry *et al.* (2018) dentro de un nuevo género llamado *Crassiphycus*, conformado también por especies antes consideradas como *Gracilaria* (e.j. *G. crassissima*, *G. truncata*, *G. changii*). Es importante resaltar, que, a pesar de dicho reacomodo, aún no es suficientemente clara la discriminación morfológica entre muchos de los representantes de estos géneros.

Como se puede observar, a lo largo de su historia, la taxonomía del género *Gracilaria sensu lato* ha representado un esfuerzo desafiante dentro de la ficología, no solo por la sutileza de las características anatómicas y de desarrollo para diferenciar un gran número de especies, sino que además por la presencia de homoplasias morfológicas en los caracteres vegetativos o reproductivos y la naturaleza simpátrida de su distribución (Gurgel *et al.*, 2018). Los diversos estudios moleculares recientemente realizados en el género han confirmado la existencia de un gran número de especies crípticas, ignoradas o mal identificadas, muchas veces de distribución simpátrida. Esta problemática no solo se ha reportado en este género, sino que en un gran número de géneros de macroalgas.

A la luz de lo anterior, y destacando que son los únicos trabajos en su tipo, autores como Verbruggen *et al.* (2005a; 2005b) y Vilchis *et al.* (2019; 2020) han empleado exitosamente los análisis de morfometría tradicional y geométrica para la delimitación de especies crípticas dentro del género de algas verdes *Halimeda* J.V. Lamouroux y de los géneros de algas rojas *Gracilaria* y *Crassiphycus*. Sin embargo, a pesar de las importantes aportaciones de estos autores, no ha sido hasta últimas fechas que estas herramientas han comenzado a tomar relevancia dentro del estudio de las macroalgas.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existen caracteres morfométricos que discriminen a las especies simpátricas de los complejos *Gracilaria mammillaris* y *Crassiphycus corneus/C. usneoides*?, y si es así, ¿cuáles son éstos?

HIPÓTESIS

Si el análisis morfométrico tradicional y geométrico brinda una idea más real de la variabilidad en la forma de las especies simpátricas de los complejos *Gracilaria mammillaris* y *Crassiphycus corneus/C. usneoides*, entonces, permitirá esclarecer la problemática taxonómica y por tanto robustecer la clasificación actual en las especies presentes en las costas de la Península de Yucatán.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar y comparar mediante morfometría tradicional y geométrica, los caracteres vegetativos de las especies de los complejos *Crassiphycus corneus/C. usneoides* y *Gracilaria mammillaris* en la Península de Yucatán, y con base en esto, determinar si existe discriminación entre las especies que los conforman.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar y comparar el diámetro y forma de las células que conforman el talo de las especies de los complejos *Crassiphycus corneus/C. usneoides* y *Gracilaria mammillaris*, mediante análisis morfométricos.
- Determinar si el diámetro de las células que conforman el talo de las especies dentro de los complejos *Crassiphycus corneus/C. usneoides* y *Gracilaria mammillaris*, permiten su discriminación.
- Determinar si la forma de las células que conforman el talo de las especies de los complejos *Crassiphycus corneus/C. usneoides* y *Gracilaria mammillaris*, permiten su discriminación.
- Discutir el problema de las especies crípticas a la luz de los análisis morfométricos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención de muestras

El material biológico utilizado en el presente trabajo procede de ejemplares depositados en la Colección de Macroalgas Marinas del Herbario Metropolitano de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa UAMIZ (Thiers, 2020).

El número de ejemplares disponibles en el herbario fueron 40 para el complejo *Crassiphycus corneus*/*C. usneoides*, de los cuales 20 corresponden a *Crassiphycus corneus* y 20 a *C. usneoides*, y 37 para el complejo *Gracilaria mammillaris*, de los cuales 15 corresponden a *Gracilaria mammillaris*, 8 a *G. flabelliformis*, 6 a *G. occidentalis*, 4 a *G. suzannae* y 4 a *G. curtissiae*. En la tabla 1 se presentan las referencias de herbario de los ejemplares analizados y en las figuras 2 y 3 fotografías de algunos de ellos.

Es importante mencionar que la identidad taxonómica de la mayoría de los ejemplares de *Crassiphycus corneus*, *C. usneoides*, *Gracilaria flabelliformis*, *G. occidentalis*, *G. suzannae* y *G. curtissiae* ha sido corroborada molecularmente en trabajos previos (Núñez-Reséndiz *et al.*, 2015; 2016; Hernández, 2020). Ningún ejemplar asignado en el herbario con el nombre de *G. mammillaris* presentó identificación molecular.

Tabla 1. Número de herbario y localidad de los ejemplares analizados en el estudio. Algunos herborizados contiene más de un ejemplar, el número se presenta entre paréntesis en la segunda columna (n).

Especie	Número de herbario	
	(n)	Localidad
<i>Crassiphycus corneus</i>	UAMIZ-612 (1)	Puerto Morelos, Quintana Roo
	UAMIZ-1282 (3)	Sisal, Yucatán
	UAMIZ-456 (1)	Puerto Morelos, Quintana Roo
	UAMIZ-1285 (3)	Puerto Progreso, Yucatán
	UAMIZ-1346 (3)	Isla Aguada, Campeche
	UAMIZ-1281 (2)	Puerto Progreso, Yucatán
	UAMIZ-457 (2)	Puerto Morelos, Quintana Roo
	UAMIZ-458 (3)	Puerto Morelos, Quintana Roo
	UAMIZ-957 (2)	Isla del Carmen, Campeche
<i>Crassiphycus usneoides</i>	UAMIZ-1284 (2)	Puerto Telchac, Yucatán

	UAMIZ-1339 (3)	Puerto Morelos, Quintana Roo
	UAMIZ-1340 (2)	Sabancuy, Campeche
	UAMIZ-563 (1)	Playa del Carmen, Quintana Roo
	UAMIZ-458 (3)	Puerto Morelos, Quintana Roo
	UAMIZ-456 (1)	Puerto Morelos, Quintana Roo
	UAMIZ-970 (3)	Playa Bonita, Campeche
	UAMIZ-988 (2)	Playa Bonita, Campeche
	UAMIZ-1283 (3)	Puerto Morelos, Quintana Roo
<i>Gracilaria mammillaris</i>	UAMIZ-761 (2)	Playa Mocambo, Veracruz
	UAMIZ-956 (3)	Puerto Real, Campeche
	UAMIZ-900 (1)	Playa Paraíso, Veracruz
	UAMIZ-1371 (2)	Bahía Tortugas, Campeche
	UAMIZ-672 (2)	Playa del Carmen, Quintana Roo
	UAMIZ-958 (2)	Sabancuy, Campeche
	UAMIZ-990 (1)	Playa Bonita, Campeche
	UAMIZ-936 (2)	Sabancuy, Campeche
<i>Gracilaria flabelliformis</i>	UAMIZ-1405 (1)	Xcalacoco, Quintana Roo
	UAMIZ-1406 (1)	Kilómetro 33, Campeche
	UAMIZ-1407 (1)	Playa 88, Quintana Roo
	UAMIZ-1408 (1)	Playa Paraíso, Veracruz
	UAMIZ-1409 ()	Bahía Tortugas, Campeche
	UAMIZ-1378 ()	Bahía Tortugas, Campeche
	UAMIZ-1369 ()	Kilómetro 33, Campeche
<i>Gracilaria occidentalis</i>	UAMIZ-1410 (2)	Kilómetro 33, Campeche
	UAMIZ-1381 (4)	Punta Xen, Campeche
<i>Gracilaria suzannae</i>	UAMIZ-1377 (4)	Punta Xen, Campeche
<i>Gracilaria curtissiae</i>	UAMIZ-1411 (4)	Bahía Tortugas, Campeche

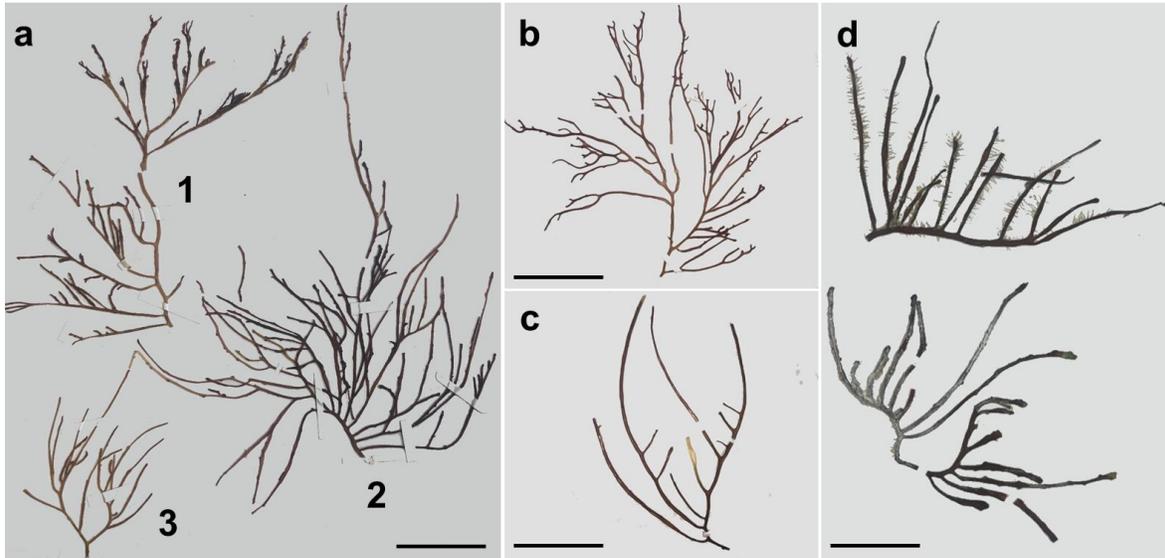


Figura 2. Ejemplares del complejo *Crassiphycus corneus*/*C. usneoides*. a1) *C. usneoides*, Puerto Morelos, Quintana Roo; a2) *C. corneus*, Puerto Morelos, Quintana Roo; a3) *C. usneoides*, Puerto Morelos, Quintana Roo; b) *C. corneus*, Puerto Morelos, Quintana Roo; c) *C. usneoides*, Puerto Progreso, Yucatán; d) *C. corneus*, Puerto Progreso, Yucatán. Escala: 4 cm.

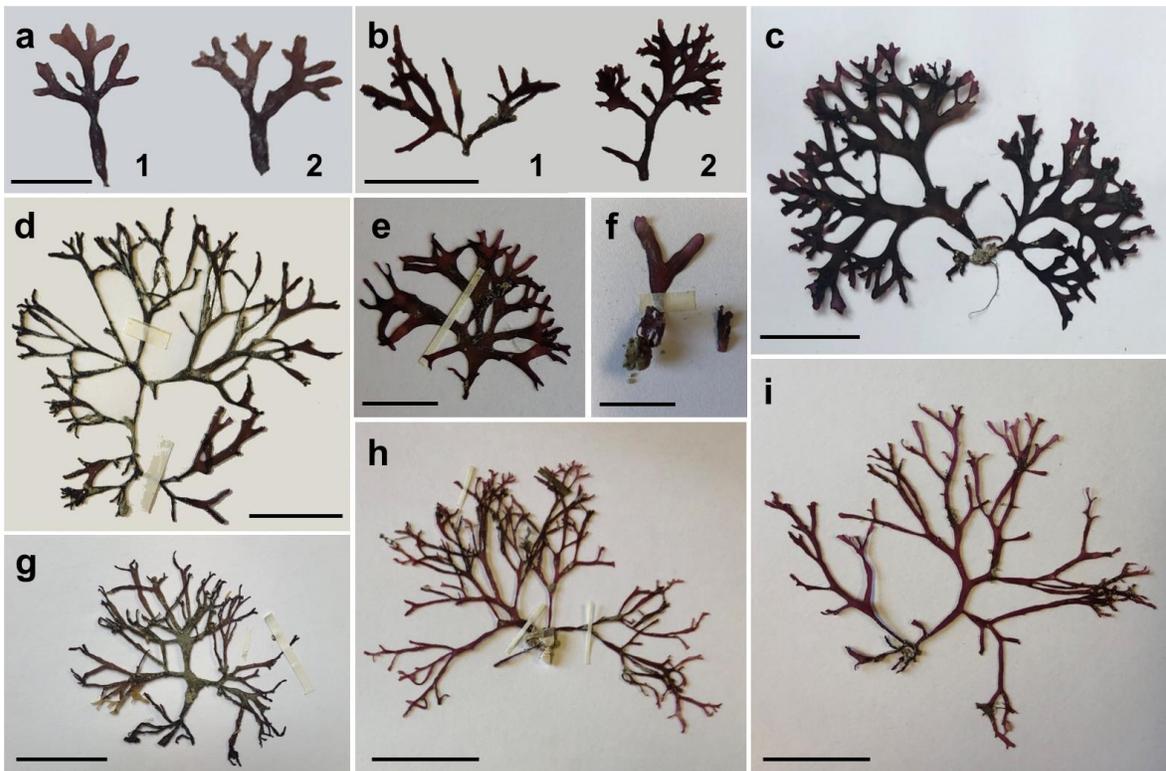


Figura 3. Ejemplares del complejo *Gracilaria mammillaris*. a1 y a2) *G. mammillaris* Playa del Carmen, Quintana Roo, escala: 2 cm; b1 y b2) *G. mammillaris* Playa Mocambo, Veracruz, escala: 3 cm; c) *G. flabelliformis* Xcalacoco, Quintana Roo, escala: 3 cm; d) *G. flabelliformis* Bahía Tortugas, Campeche, escala: 4 cm; e) *G. flabelliformis* Playa 88, Quintana Roo, escala: 4cm; f) *G. curtissiae* Bahía Tortugas, Campeche, escala: 4 cm; g) *G. suzannae* Punta Xen, Campeche, escala: 4 cm; h) *G. occidentalis* Kilómetro 33, Campeche, escala: 3 cm; i) *G. occidentalis* Kilómetro 33, Campeche, escala: 3 cm.

Preparación de las muestras

Se extrajeron tres fragmentos de aproximadamente 4 mm de longitud de todos los ejemplares, uno de la porción apical, otro de la porción media y el último de la porción basal (Figura 4a). Estos fueron hidratados con agua corriente durante 30 minutos y fijados en FAA (formaldehído-alcohol-acético-agua) por tres días, esto con la finalidad de que el tejido se endureciera lo suficiente y no sufriera deformaciones en las siguientes manipulaciones. Posteriormente, en un micrótopo de ultracongelación Leica CM 1510-3 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania) a -20°C, se realizaron sobre cada fragmento cortes transversales de 10 µm de ancho, que fueron colocados en un portaobjetos y sometidos al siguiente tren de tinción y montaje: 1) hidratación con etanol al 95, 80, 75 y 50% durante cinco minutos por cada porcentaje, 2) tinción con verde rápido concentrado durante dos horas, 3) deshidratación con etanol al 30, 50, 75 y 100% durante cinco minutos por porcentaje y un minuto en alcohol terbutílico al 100%, 4) por último las muestras fueron montadas en Entellan (López-Curto *et al.*, 2005).

Análisis de morfometría tradicional

En un microscopio Leica DM LB (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania) equipado con un ocular micrométrico, se realizaron las siguientes mediciones en cada uno de los cortes: diámetro mayor y menor del talo en las porciones apical, media y basal, y largo y ancho promedio (medición promedio de cinco células) de las células corticales, subcorticales y medulares en cada porción (Figura 4b). En total, se obtuvieron 24 caracteres cuantitativos para cada complejo de especies, los cuales, fueron estandarizados y sometidos a un análisis de componentes principales (ACP) usando el programa PAST versión 2.17 (Hammer *et al.*, 2001), con la intención de evaluar la existencia de un patrón de variación morfológica entre las especies y de esta manera identificar las medidas que determinan la formación de grupos dentro del espacio

multivariado. En el mismo programa y con los componentes principales (CP) resultantes, se realizó un NP-MANOVA (análisis multivariante de la varianza no paramétrico) con distancia euclidiana, esta última utilizada como medida que evalúa la diferencia entre las especies. La significancia de la separación de los grupos se midió mediante la permutación de la pertenencia a un grupo con 9999 repeticiones. Se utilizó la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples (Sokal y Rohlf, 1995) para el cálculo de los valores resultantes de p . Es importante mencionar que el análisis paramétrico multivariante de la varianza fue descartado en este proceso, ya que no se cumplieron los supuestos necesarios, por ejemplo, la normalidad multivariante. Adicionalmente, se graficó la media aritmética y el error estándar, para los caracteres que mostraron mayor peso en la discriminación de las especies de cada complejo.

Finalmente, las matrices originales con los 24 caracteres cuantitativos se sometieron a un análisis de agrupamiento en el programa PAST bajo el índice de disimilitud de distancia euclidiana y el algoritmo por ligamiento promedio no ponderado (UPGMA, por sus siglas en inglés); el análisis resumió los resultados en un dendograma para cada complejo.

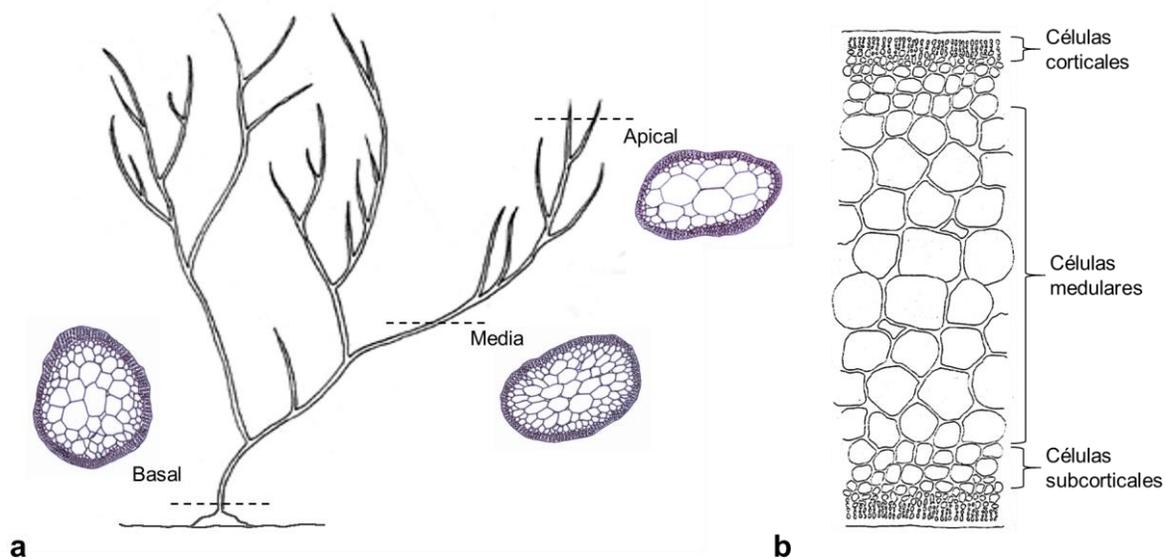


Figura 4. a. Representación esquemática de los sitios a lo largo del talo de donde fueron extraídos los fragmentos empleados en el estudio; b. Tipos de células analizadas en cada fragmento. Figuras modificadas de Dreckmann, 2012.

Análisis de morfometría geométrica

Digitalización y contorneado de las estructuras. Se fotografiaron en un microscopio Olympus BX51 equipado con una cámara digital DP12, cinco células corticales (100x), cinco subcorticales (40x) y cinco medulares (20x), en cada porción (apical, medio y basal) por individuo; obteniendo así, 45 fotografías por ejemplar. Para los análisis posteriores, dichas fotografías fueron ordenadas, para cada complejo de especies, en nueve grupos: 1. Células corticales apicales (CCA), 2. Células subcorticales apicales (CSA), 3. Células medulares apicales (CMA), 4. Células corticales medias (CCM), 5. Células subcorticales medias (CSM), 6. Células medulares medias (CMM), 7. Células corticales basales (CCB), 8. Células subcorticales basales (CSB) y 9. Células medulares basales (CMB). Cada grupo contenía las fotografías de las especies analizadas de cada complejo.

El contorno de las células contenidas en cada grupo de fotografías, de cada complejo, fue capturado en el programa TpsDig2 versión 2.22 (Rohlf, 2006; 2015), mediante una línea continua utilizando la opción *draw background curves*, este delineado se comenzó desde un punto arbitrario y siempre en sentido de las manecillas del reloj. Posteriormente, los contornos fueron convertidos a 150 puntos equidistantes para las células corticales, 200 para las subcorticales y 250 para las medulares; el número de puntos está relacionado con el tamaño de cada tipo de célula (Figura 5). Los puntos que conforman a cada contorno serán expresados en coordenadas (x, y).

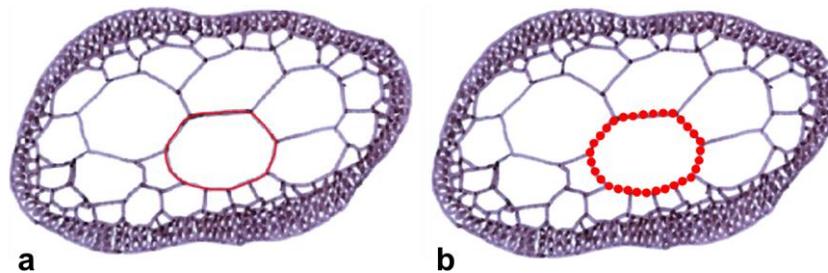


Figura 5. Ejemplificación del delineado de las células y su transformación a puntos equidistantes.

Descriptores elípticos de Fourier. Las coordenadas de los puntos de cada contorno se importaron en formato TPS al programa PAST, en el que se sometieron a un Análisis Elíptico de Fourier. Este describió la forma de las células mediante 30 funciones armónicas, cada una con cuatro coeficientes. Para retirar del análisis los efectos del

tamaño, la rotación y la escala de los contornos, se eliminaron los primeros tres coeficientes de la primera función armónica. Por lo tanto, los coeficientes que describieron numéricamente la forma de las células fueron 117 (30 armónicos x 4 coeficientes – 3 coeficientes eliminados), los cuales se utilizaron en los análisis posteriores. Se calcularon los coeficientes de los descriptores elípticos de Fourier, para cada grupo de células de ambos complejos.

En el mismo programa, cada grupo de coeficientes armónicos fue sometido a un análisis de Componentes Principales (ACP) con la finalidad de evaluar la existencia de un patrón de variación morfológica entre las especies, y de esta manera identificar las medidas que determinan la formación de grupos dentro del espacio multivariado. Posteriormente, estos fueron sometidos a un NP-MANOVA utilizando la distancia euclidiana como medida para evaluar la diferencia entre las especies de cada complejo. La significancia de la separación de las especies se evaluó mediante la permutación de la pertenencia al grupo con 9999 replicaciones. La corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples se usó para el cálculo de los valores de p .

Adicionalmente, se realizó un análisis de desigualdad isoperimétrica, este análisis permite saber la tendencia de un objeto a ser esférico mediante un coeficiente (coeficiente isoperimétrico, Q) que toma valores de cero a uno, donde cero significa que el objeto no es esférico y uno que es totalmente esférico (Osserman, 1978). El valor de Q de un contorno cerrado se define como la relación de su área y la de un círculo con el mismo perímetro: $Q=4\pi A / L^2$, donde A es el área del objeto analizado y L su perímetro.

Los valores de Q se calcularon en el programa R versión 3.3.1 para cada individuo y tipo de célula en las diferentes porciones del talo. Las diferencias de estos valores entre especies fueron evaluadas, para el complejo *Crassiphycus corneus*/*C. usneoides*, mediante una serie de pruebas t de permutación univariante que evalúa la diferencia de medias entre las especies, los valores de p se basaron en 9999 replicaciones. Para el complejo *Gracilaria mammillaris*, las diferencias fueron evaluadas mediante un análisis de similitudes (ANOSIM) utilizando la distancia euclidiana como medida para evaluar la diferencia entre las especies. La significancia de la separación se evaluó mediante la permutación de la pertenencia al grupo con 9999 replicaciones. La corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples se usó para el cálculo de los valores de p .

RESULTADOS

Morfometría tradicional

Complejo *Crassiphycus corneus*/C. *usneoides*. Los primeros dos componentes principales explicaron 78.3% de la varianza. Los coeficientes de correlación entre cada variable y los componentes uno y dos se muestran en la Tabla 2. El primer CP acumuló 59.12% de la varianza total, y la variable que mejor la explicó, según los coeficientes de correlación, fue el diámetro mayor del talo en la porción media (Tabla 2, Figura 6), que fue considerablemente mayor en *Crassiphycus usneoides* que en *C. corneus*, midiendo en promedio 286.5 y 182.2 μm , respectivamente (Figura 7a). El segundo CP explicó 19.18% de la varianza total y de acuerdo con el coeficiente de correlación más alto la variable que mejor la explicó fue el diámetro menor del talo en la porción apical (Tabla 2, Figura 6), el cual, en promedio fue mayor en *C. usneoides* (122.4 μm) que en *C. corneus* (55.2 μm , Figura 7b).

El NP-MANOVA evidenció que existen diferencias significativas entre las especies comparadas mostrando un valor de $p < 0.005$ y un valor de F de 5.18.

El dendograma basado en la matriz original de caracteres mostró dos grupos (Figura 8). El primero involucró a todos los ejemplares de *Crassiphycus corneus* y el segundo los de *C. usneoides*, robusteciendo de este modo los resultados del ACP descrito anteriormente.

Tabla 2. Coeficientes de correlación de los dos primeros componentes principales y las 24 variables empleadas en el análisis, caso complejo *Crassiphycus corneus*/C. *usneoides*. Los coeficientes de correlación más altos se resaltan en negritas.

Medidas	Porción	CP1	CP2
Diámetro mayor del talo	Apical	0.335	0.407
Diámetro menor del talo	Apical	0.337	-0.723
Diámetro mayor del talo	Media	0.615	0.090
Diámetro menor del talo	Media	0.370	0.004
Diámetro mayor del talo	Basal	0.256	0.422
Diámetro menor del talo	Basal	0.436	-0.350
Largo células corticales	Apical	0.006	0.012
Ancho células corticales	Apical	0.006	0.011

Largo células subcorticales	Apical	0.009	0.016
Ancho células subcorticales	Apical	0.008	0.013
Largo células medulares	Apical	-0.001	-0.013
Ancho células medulares	Apical	0.001	0.003
Largo células corticales	Media	0.005	0.010
Ancho células corticales	Media	0.005	0.010
Largo células subcorticales	Media	0.023	0.018
Ancho células subcorticales	Media	0.017	0.023
Largo células medulares	Media	0.005	0.003
Ancho células medulares	Media	0.002	0.006
Largo células corticales	Basal	0.018	0.027
Ancho células corticales	Basal	0.013	0.021
Largo células subcorticales	Basal	0.011	-0.008
Ancho células subcorticales	Basal	0.007	0.000
Largo células medulares	Basal	0.013	0.006
Ancho células medulares	Basal	0.023	0.009

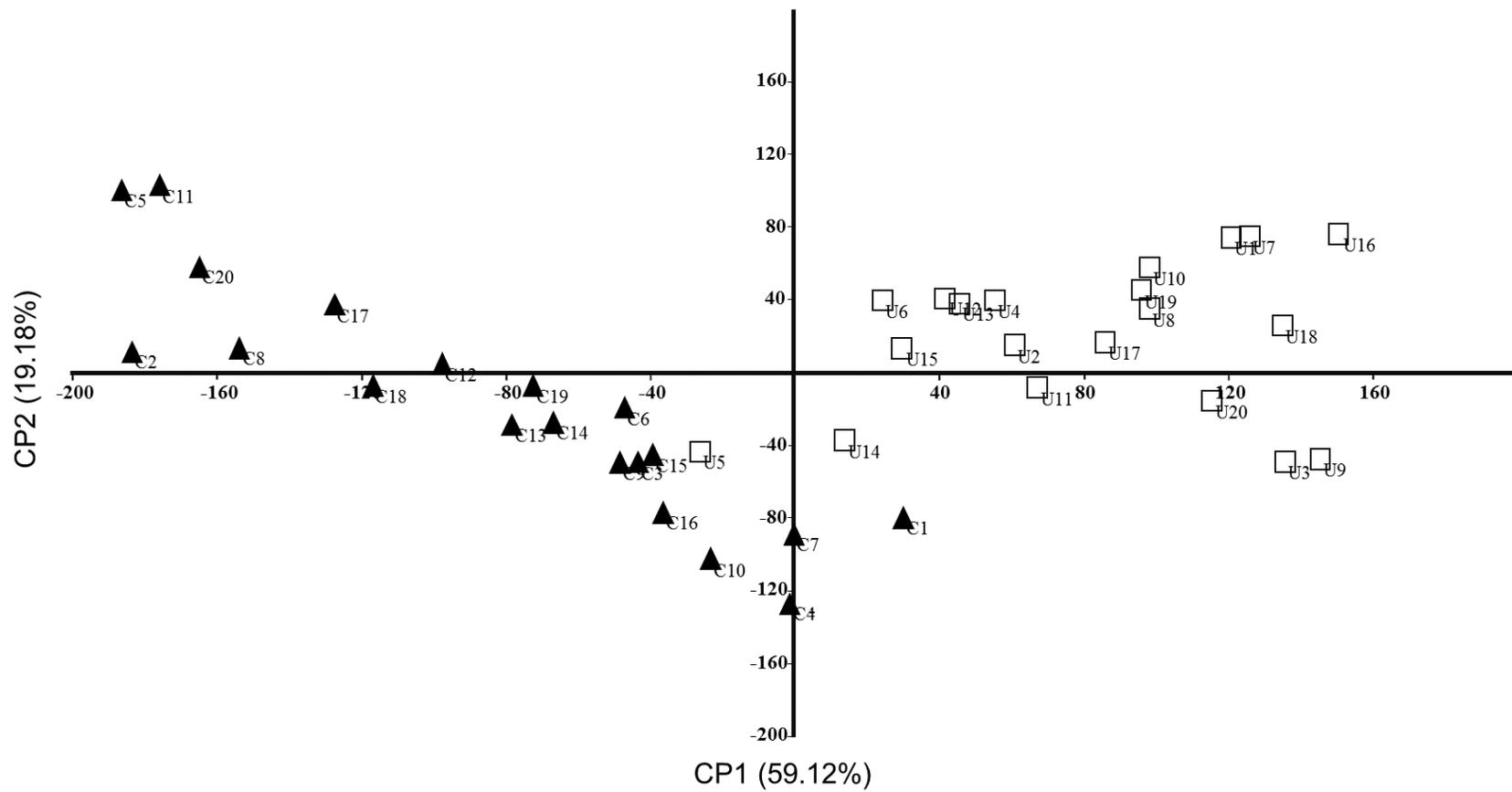


Figura 6. Diagrama de los dos primeros componentes principales, obtenidos a partir de 24 variables morfométricas para la discriminación de las especies *Crassiphycus corneus* (▲) y *C. usneoides* (□).

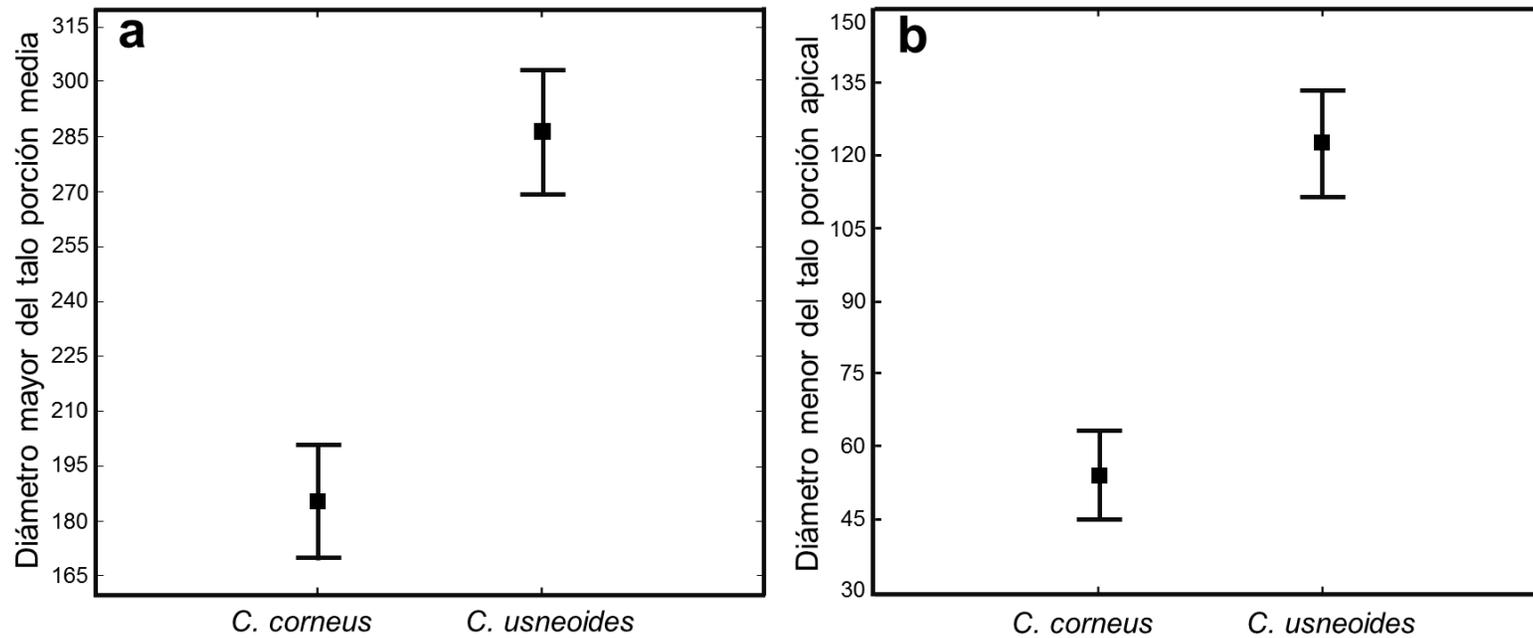


Figura 7. Diagrama comparativo de la media aritmética y el error estándar de los caracteres que resultaron con mayor peso para la discriminación de las especies del complejo *Crassiphycus corneus*/*C. usneoides*. a. diámetro mayor del talo porción media; b. diámetro menor del talo porción apical. Los cuadros negros representan la media aritmética y los bigotes el error estándar.

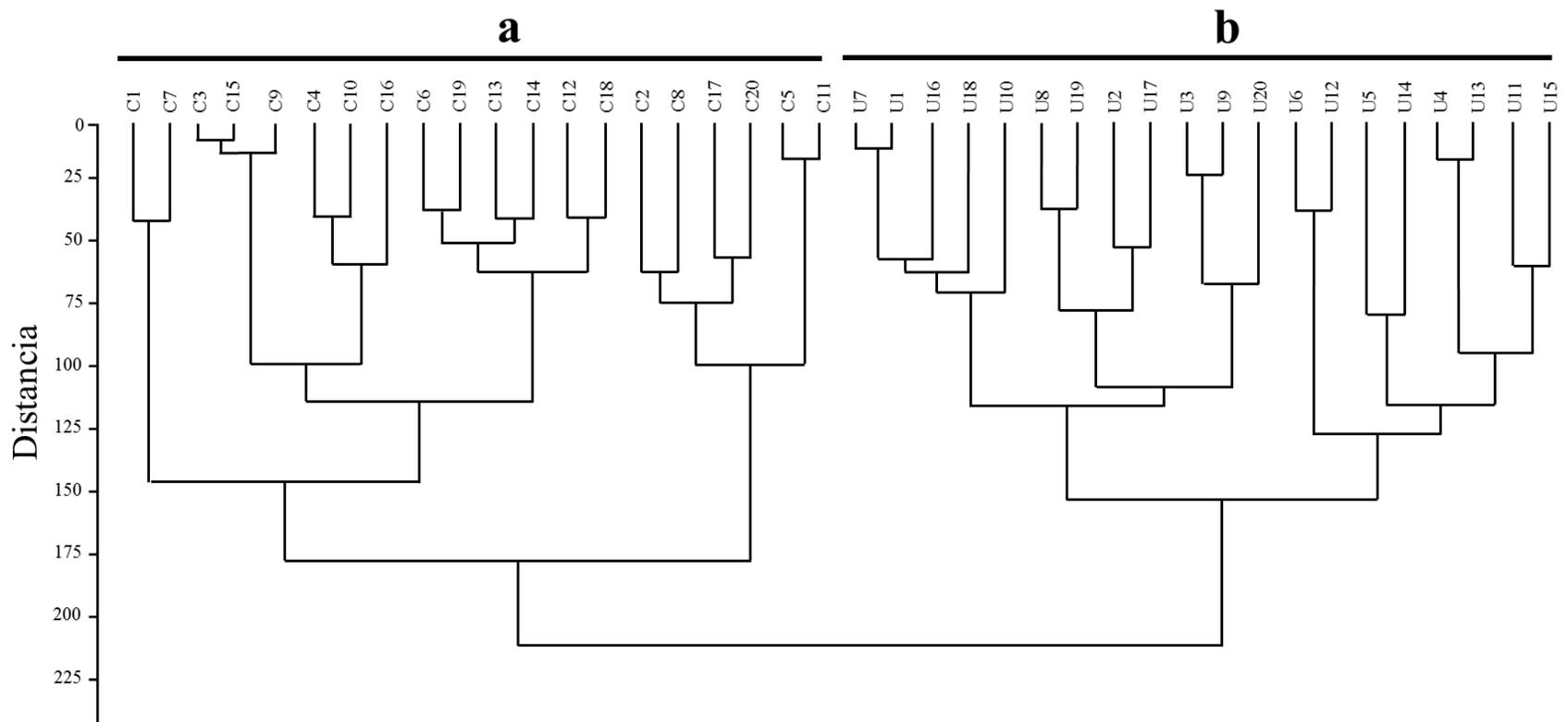


Figura 8: Dendrograma resultado del análisis de agrupamiento bajo el índice de disimilitud de distancia euclidiana y el algoritmo UPGMA, basado en 24 caracteres cuantitativos tomados de 40 ejemplares de: a. *Crassiphycus corneus* y b. *Crassiphycus usneoides*.

Complejo *Gracilaria mammillaris*. Los primeros dos componentes principales explicaron el 53.63% de la varianza total. Los coeficientes de correlación entre cada variable y los componentes uno y dos se muestran en el Tabla 3. El primer CP explicó el 27.77% de la varianza total y las variables que mejor la explicaron, según los coeficientes de correlación más altos, fueron el largo y ancho de las células corticales de la porción media (Tabla 3; Figura 9), ambas fueron, en promedio, más grandes en *G. curtissiae* que en las demás especies del complejo (Figura 10a y b). El segundo componente acumuló el 25.86% de la varianza total y de acuerdo con los coeficientes de correlación más altos, el largo y ancho de las células medulares en la porción media fueron las medidas que mejor la explicaron (Tabla 3; Figura 9), siendo en promedio más pequeñas en *G. curtissiae* que en *G. mammillaris*, *G. flabelliformis*, *G. occidentalis* y *G. suzannae* (Figura 10c y d).

La dispersión de los ejemplares en el plano factorial, formado por los dos primeros componentes principales (Figura 9), muestra la sobreposición espacial de *G. mammillaris*, *G. flabelliformis*, *G. occidentalis* y *G. suzannae*, así como la segregación de *G. curtissiae* de estas. Los estadísticos descriptivos calculados robustecen estos resultados, donde podemos observar que las medidas de mayor peso en el ACP segregan del complejo únicamente a *G. curtissiae* (Figura 10).

El NP-MANOVA evidenció que existen diferencias significativas entre algunas de las especies bajo estudio ($p < 0.005$, $F = 5.21$). Las comparaciones pareadas o por pares evidencian que no existen diferencias significativas entre *G. mammillaris*, *G. flabelliformis*, *G. occidentalis* y *G. suzannae*, pero sí entre cada una de estas con *G. curtissiae* (Tabla 4).

El dendograma basado en la matriz original con 24 caracteres confirma la independencia de *G. curtissiae*, así como la similitud morfométrica entre *G. mammillaris*, *G. flabelliformis*, *G. occidentalis* y *G. suzannae* (Figura 11).

Tabla 3. Coeficientes de correlación de los dos primeros componentes principales y las 24 variables empleadas en el análisis, caso complejo *Gracilaria mammillaris*. Los coeficientes de correlación más altos se resaltan en negritas.

Medidas	Porción	CP1	CP2
Diámetro mayor del talo	Apical	0.2194	-0.3655

Diámetro menor del talo	Apical	-0.04384	0.5245
Diámetro mayor del talo	Media	-0.155	0.1997
Diámetro menor del talo	Media	0.1884	0.6091
Diámetro mayor del talo	Basal	0.6257	-0.1787
Diámetro menor del talo	Basal	0.4645	-0.1289
Largo células corticales	Apical	0.5632	0.0901
Ancho células corticales	Apical	0.5626	-0.02887
Largo células subcorticales	Apical	0.3486	0.3921
Ancho células subcorticales	Apical	0.3832	0.4723
Largo células medulares	Apical	0.1003	0.5781
Ancho células medulares	Apical	0.1529	0.6985
Largo células corticales	Media	0.8358	-0.7837
Ancho células corticales	Media	0.7863	-0.7825
Largo células subcorticales	Media	0.4965	-0.5872
Ancho células subcorticales	Media	0.5455	-0.466
Largo células medulares	Media	-0.03871	0.8826
Ancho células medulares	Media	0.2464	0.8761
Largo células corticales	Basal	0.6751	0.5312
Ancho células corticales	Basal	0.6198	0.3416
Largo células subcorticales	Basal	0.5563	0.2143
Ancho células subcorticales	Basal	0.5831	-0.4078
Largo células medulares	Basal	0.6127	0.2084
Ancho células medulares	Basal	0.4138	0.3714

Tabla 4. Valores de p resultado de la comparación pareadas entre especies del complejo *Gracilaria mammillaris*, producto del NP-MANOVA.

	<i>G. mammillaris</i>	<i>G. flabelliformis</i>	<i>G. occidentalis</i>	<i>G. suzannae</i>
<i>G. mammillaris</i>				
<i>G. flabelliformis</i>	0.8435			
<i>G. occidentalis</i>	0.0922	0.1439		
<i>G. suzannae</i>	0.2587	0.2872	0.9176	
<i>G. curtissiae</i>	0.0024	0.0488	0.0116	0.0295

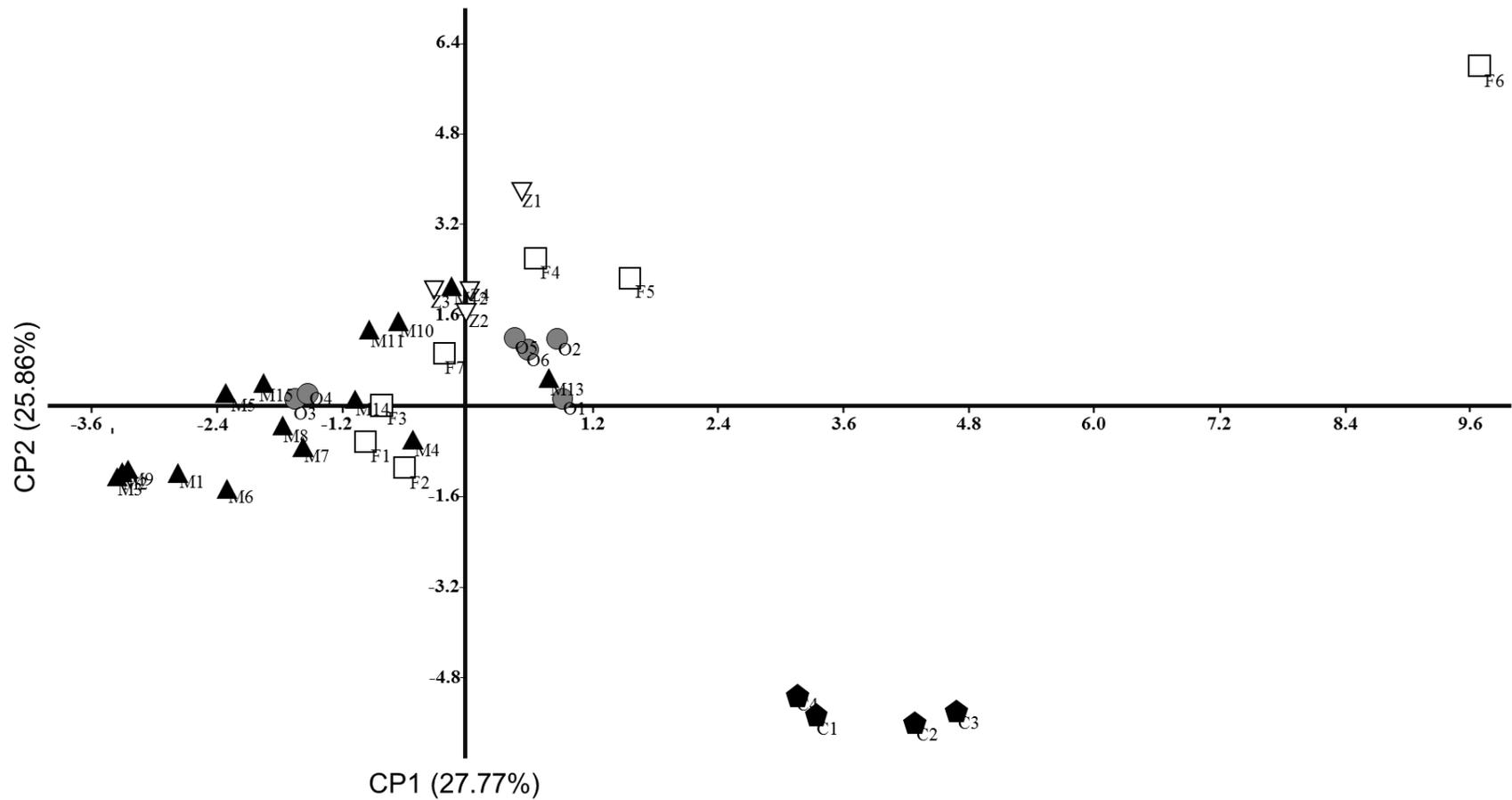


Figura 9. Diagrama de los dos primeros componentes principales, obtenidos a partir de 24 variables morfométricas para la discriminación de las especies *G. mammillaris* (▲), *G. flabelliformis* (□), *G. occidentalis* (●), *G. suzannae* (▽) y *G. curtissiae* (◆).

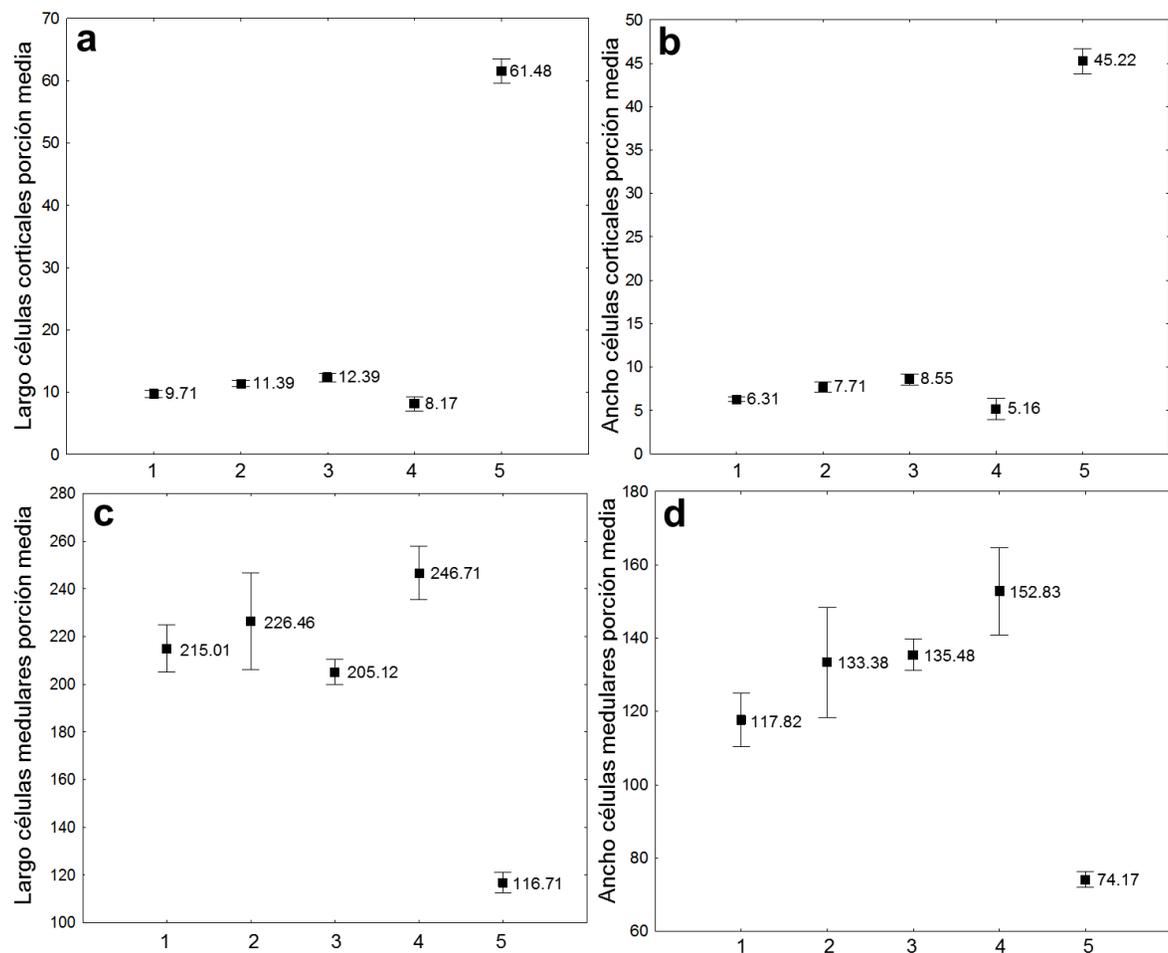


Figura 10. Diagrama comparativo de la media aritmética (cuadros negros y valor numérico) y el error estándar (bigotes) de los caracteres que resultaron con mayor peso en el análisis de componentes principales de las especies *Gracilaria mammillaris* (1), *G. flabelliformis* (2), *G. occidentalis* (3), *G. suzannae* (4) y *G. curtissiae* (5).

Morfometría geométrica

Complejo *Crassiphycus corneus*/*C. usneoides*. Los nueve ACP realizados, uno para cada grupo de células, mostraron que los dos primeros componentes resumieron más del 75% de la varianza total (Tabla 5). El primer componente principal (CP), en todos los grupos de células, describió principalmente el ensanchamiento/estrechamiento de las células, mientras que el segundo CP abarcó el estrechamiento de un extremo de las células. El análisis NP-MANOVA arrojó que sólo la forma de las células corticales de la porción media muestra diferencias significativas entre *Crassiphycus corneus*/*C. usneoides*. El primer CP mostró que estas células fueron en promedio más anchas en *C. corneus* que en *C. usneoides*. Asimismo, el segundo CP indicó que un extremo de estas células fue ligeramente más estrecho en *C. usneoides* que en *C. corneus* (Figura 12).

Tabla 5. Eigenvalores y porcentajes de variabilidad explicados (%) por los dos primeros componentes principales de cada grupo.

Grupo de células	CP1		CP2	
	Eigenvalores	%	Eigenvalores	%
Porción apical células corticales	0.0147	77.48	0.0024	12.91
Porción apical células subcorticales	0.0163	80.25	0.0016	8.24
Porción apical células medulares	0.012	73.29	0.0012	7.64
Porción media células corticales	0.0125	74	0.0021	12.8
Porción media células subcorticales	0.0118	72.91	0.0019	12.07
Porción media células medulares	0.0111	71.26	0.0012	7.8
Porción basal células corticales	0.0134	75.15	0.0015	8.57
Porción basal células subcorticales	0.0101	73.84	0.0016	12.09
Porción basal células medulares	0.0225	86	0.0008	3.32

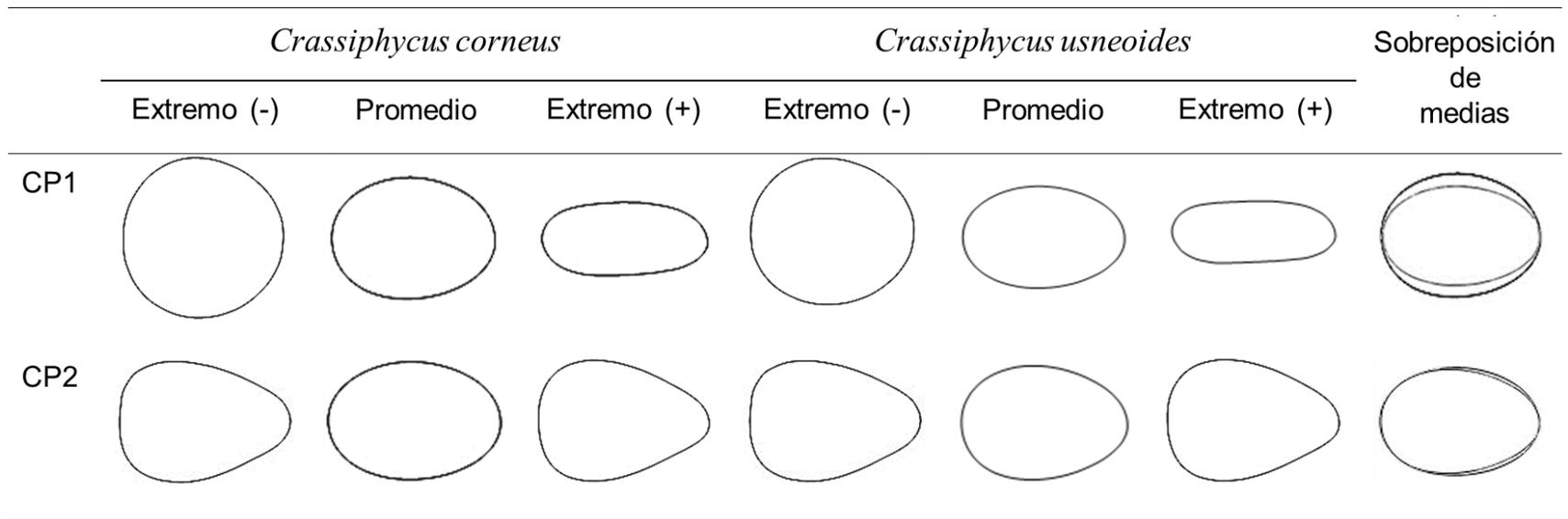


Figura 12. Reconstrucción digital de la forma promedio de las células corticales medias y sus variantes extremas posicionadas a lo largo de los dos primeros componentes principales (CP). La columna de la derecha muestra la sobreposición de los contornos medios de ambas especies.

Las pruebas t de permutación que se realizaron para comparar los valores de Q (coeficiente isoperimétrico), para cada grupo de células, indicó que sólo las células corticales medias de *C. corneus* fueron significativamente más circulares que las de *C. usneoides*. En contraste, los ocho grupos de células restantes no mostraron diferencias significativas en el índice de circularidad (Tabla 6).

Tabla 6. Resultados de las pruebas de t de permutación univariada, realizadas con base en los valores de Q (coeficiente isoperimétrico), para los nueve grupos de células. Se muestran los valores promedio de Q para cada tipo de célula y especie, así como la significancia de la prueba de t.

Grupo de células	Valores medio de Q y significancia		
	<i>C. corneus</i>	<i>C. usneoides</i>	Valor p
Porción apical células corticales	0.834	0.821	0.2983
Porción apical células subcorticales	0.916	0.909	0.5841
Porción apical células medulares	0.88	0.887	0.558
Porción media células corticales	0.894	0.861	0.0033
Porción media células subcorticales	0.917	0.928	0.1741
Porción media células medulares	0.861	0.862	0.8825
Porción basal células corticales	0.888	0.889	0.8428
Porción basal células subcorticales	0.932	0.945	0.1151
Porción basal células medulares	0.859	0.863	0.8163

Complejo *Gracilaria mammillaris*. El análisis de componentes principales (ACP), de cada uno de los grupos de células analizadas, mostraron que los dos primeros componentes resumieron el 80% de la varianza total y presentaron los eigenvalores más altos (Tabla 7). El primer componente principal (CP), en todos los grupos de células, describió principalmente el ensanchamiento/estrechamiento de las células, mientras que el segundo CP, para algunos grupos describió el ensanchamiento/estrechamiento de un extremo de las células y para otros lo agudo/rombo de un extremo de las células. El análisis NP-MANOVA mostró que las células corticales en la porción media y las células medulares en la porción basal presentaron diferencias significativas entre *G. curtissiae* y

las demás especies del complejo *G. mammillaris*. El resto de las células no fueron significativamente diferentes.

Tabla 7. Eigenvalores y porcentajes de variabilidad explicados (%) por los dos primeros componentes principales de cada grupo.

Grupo de células	PC1		PC2	
	Eigenvalores	%	Eigenvalores	%
Porción apical células corticales	0.0306	89.67	0.0009	2.68
Porción apical células subcorticales	0.0091	77.08	0.0010	9.16
Porción apical células medulares	0.0125	83.5	0.0009	6.03
Porción media células corticales	0.0090	80.86	0.0006	5.90
Porción media células subcorticales	0.0070	76.78	0.0007	8.21
Porción media células medulares	0.0257	86.26	0.0012	4.16
Porción basal células corticales	0.0097	65.82	0.0024	15.25
Porción basal células subcorticales	0.0111	80.11	0.0010	7.89
Porción basal células medulares	0.0102	76.41	0.0008	6.48

El ACP, realizado para las células corticales en la porción media, evidenció que estas células fueron en promedio más anchas en *G. curtissiae* que, en el resto de las especies del complejo, explicándolo mediante el primer CP (Figura 13 y 15). Asimismo, el segundo CP evidenció que las células corticales medias de *G. curtissiae* fueron, en promedio, más anchas en uno de sus extremos que las de *G. mammillaris*, *G. flabelliformis*, *G. occidentalis* y *G. suzannae*, quienes presentaron células muy similares (Figura 13 y 15). Por otra parte, el ACP realizado para las células medulares de la porción basal evidenció que estas células, de acuerdo con el primer CP, son en promedio más estrechas en *G. curtissiae* que en *G. mammillaris*, *G. flabelliformis*, *G. occidentalis* y *G. suzannae*, especies que presentan células casi idénticas (Figura 14 y 16). El segundo CP evidenció que las células medulares basales de *G. curtissiae*, en promedio, fueron ligeramente más agudas en uno de sus extremos que en las demás especies del

complejo, quienes presentaron células ligeramente más romas y casi idénticas (Figura 14 y 16).

Los valores de Q (coeficiente isoperimétrico) evaluados mediante la prueba ANOSIM, para cada grupo de células, indicó que las células corticales en la porción media de *G. curtissiae* tienden a ser significativamente menos esféricas que las de *G. mammillaris* ($R=14.2$, $p<0.05$), *G. flabelliformis* ($F=13.1$, $p<0.05$), *G. occidentalis* ($F=5.9$, $p<0.05$) y *G. suzannae* ($F=12.3$, $p<0.05$), especies que no mostraron diferencias significativas en la esfericidad de este grupo de células. Los ocho grupos de células restantes no mostraron diferencias significativas en su esfericidad. En la Tabla 8 se muestran los valores de Q promedio de cada especie para cada grupo de células.

Tabla 8. Valores promedio del coeficiente isoperimétrico (Q), para las cinco especies y los nueve grupos de células del complejo *G. mammillaris*.

Grupo de células	Valores promedio de Q				
	<i>G. mammillaris</i>	<i>G. flabelliformis</i>	<i>G. occidentalis</i>	<i>G. suzannae</i>	<i>G. curtissiae</i>
Porción apical células corticales	0.817	0.808	0.801	0.829	0.754
Porción apical células subcorticales	0.840	0.868	0.872	0.830	0.787
Porción apical células medulares	0.818	0.778	0.847	0.793	0.769
Porción media células corticales	0.821	0.823	0.805	0.861	0.754
Porción media células subcorticales	0.837	0.871	0.824	0.815	0.856
Porción media células medulares	0.784	0.825	0.785	0.721	0.857
Porción basal células corticales	0.757	0.773	0.820	0.829	0.809
Porción basal células subcorticales	0.847	0.843	0.861	0.856	0.811
Porción basal células medulares	0.841	0.839	0.863	0.852	0.823

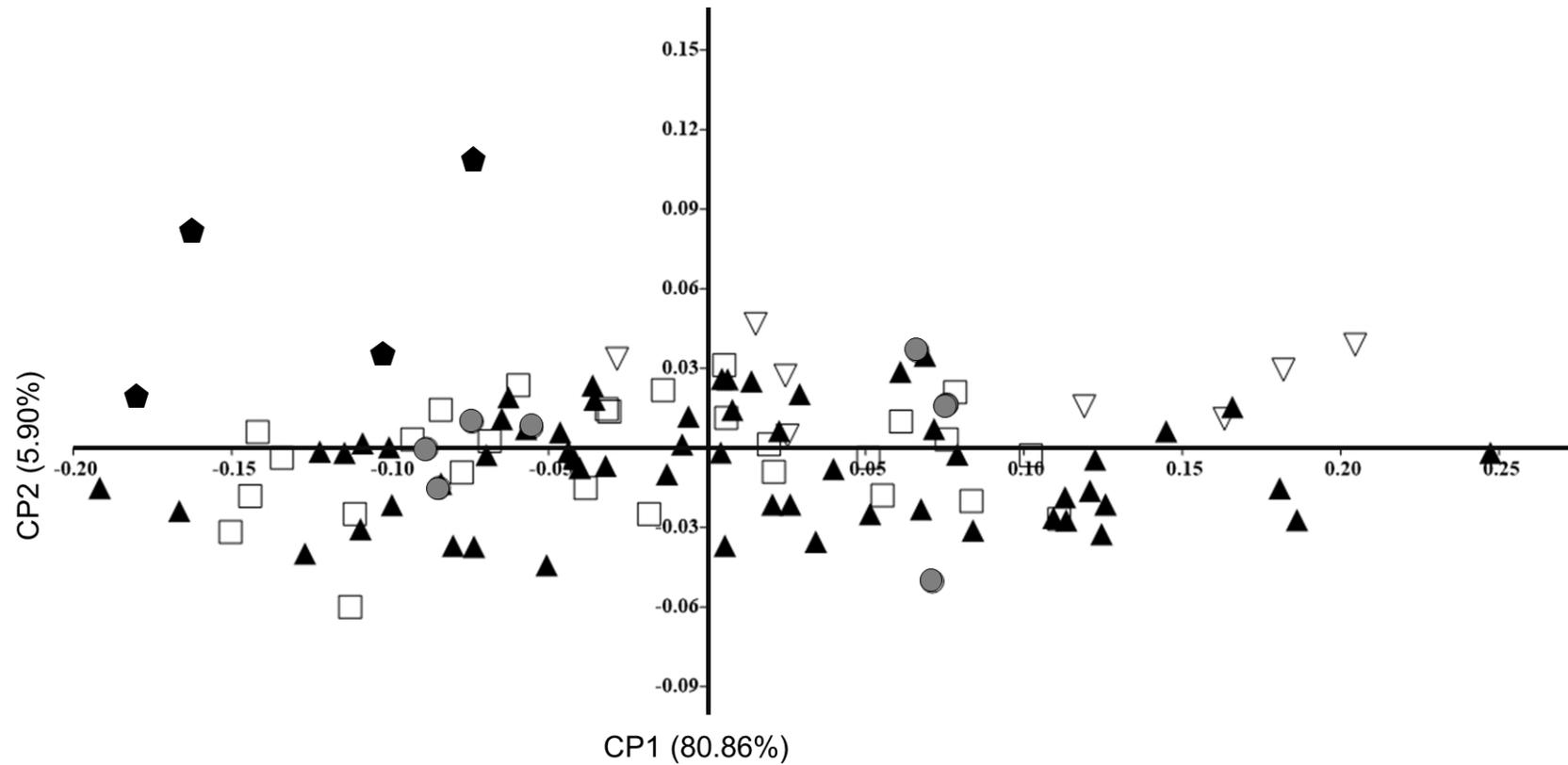


Figura 13. Diagrama de los dos primeros componentes principales, obtenidos tras el análisis de la forma de las células corticales en la porción media para la discriminación de las especies *G. mammillaris* (▲), *G. flabelliformis* (□), *G. occidentalis* (●), *G. suzannae* (▽) y *G. curtissiae* (◆).

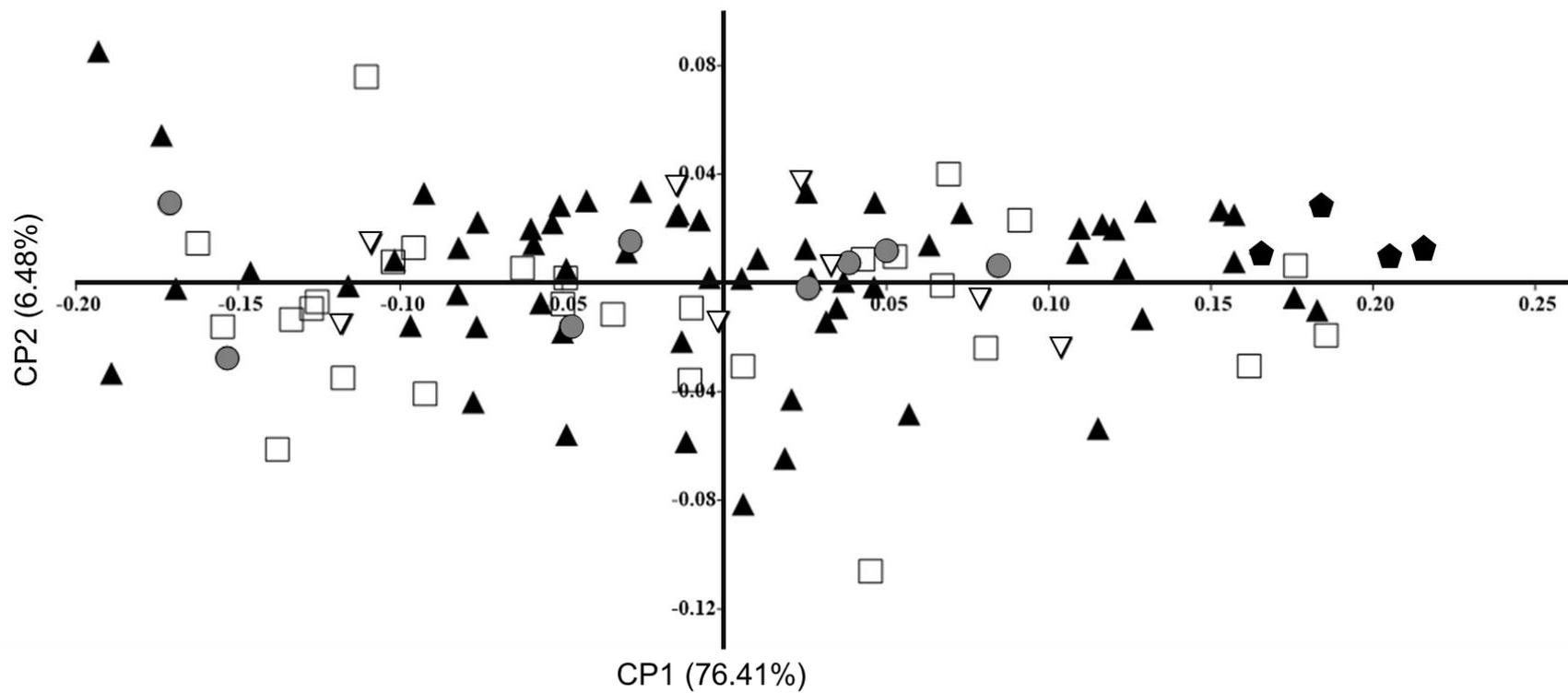


Figura 14. Diagrama de los dos primeros componentes principales, obtenidos tras el análisis de la forma de las células medulares de la porción basal para la discriminación de las especies *G. mammillaris* (▲), *G. flabelliformis* (□), *G. occidentalis* (●), *G. suzannae* (▽) y *G. curtissiae* (◆).

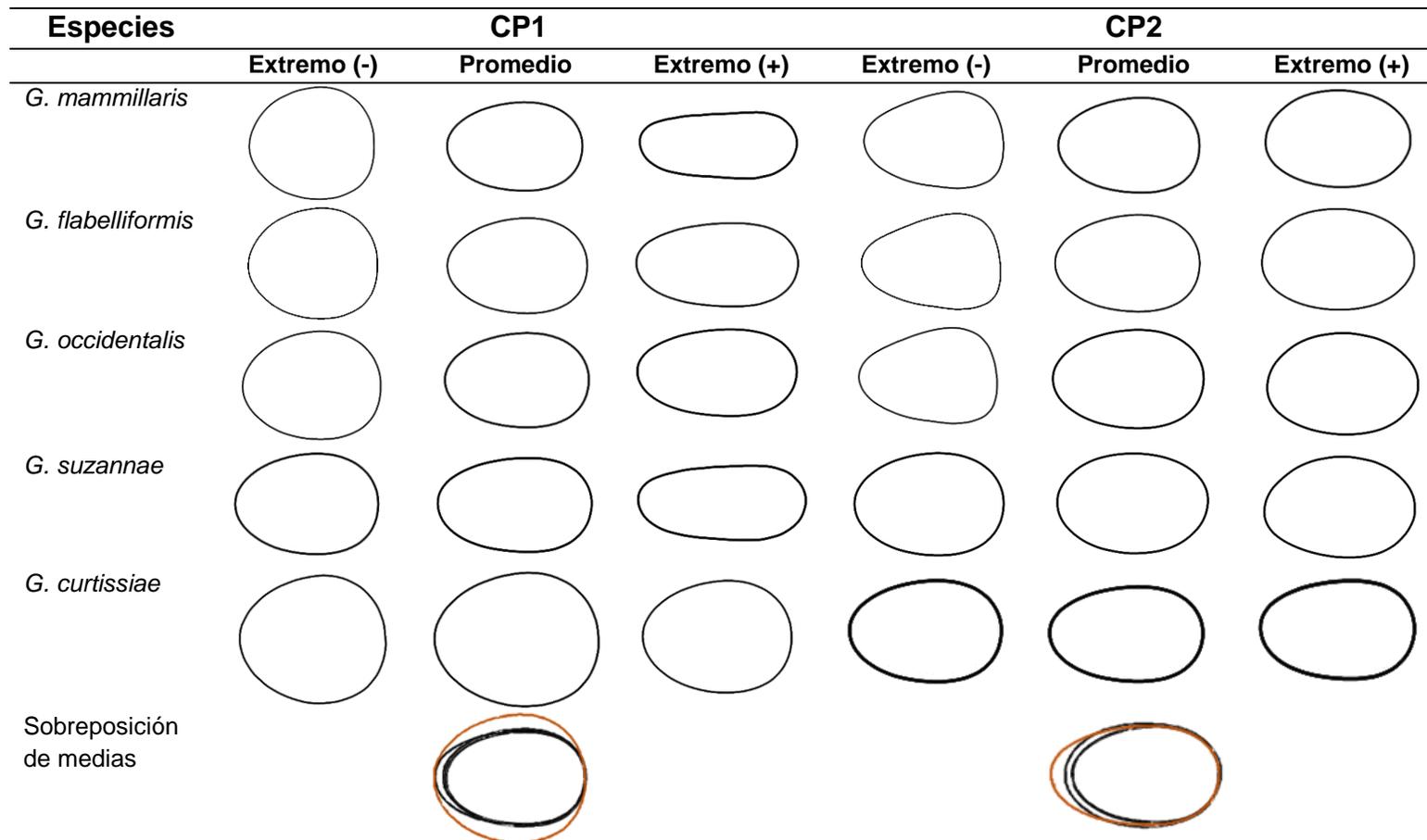


Figura 15. Reconstrucción digital de la forma promedio de las células corticales de la porción media y sus variantes extremas posicionadas a lo largo de los dos primeros componentes principales (CP). En la última fila se muestra la sobreposición de los contornos medios de las cinco especies analizadas para ambos componentes; en color naranja se resalta la forma media de las células de *Gracilaria curtissiae*.

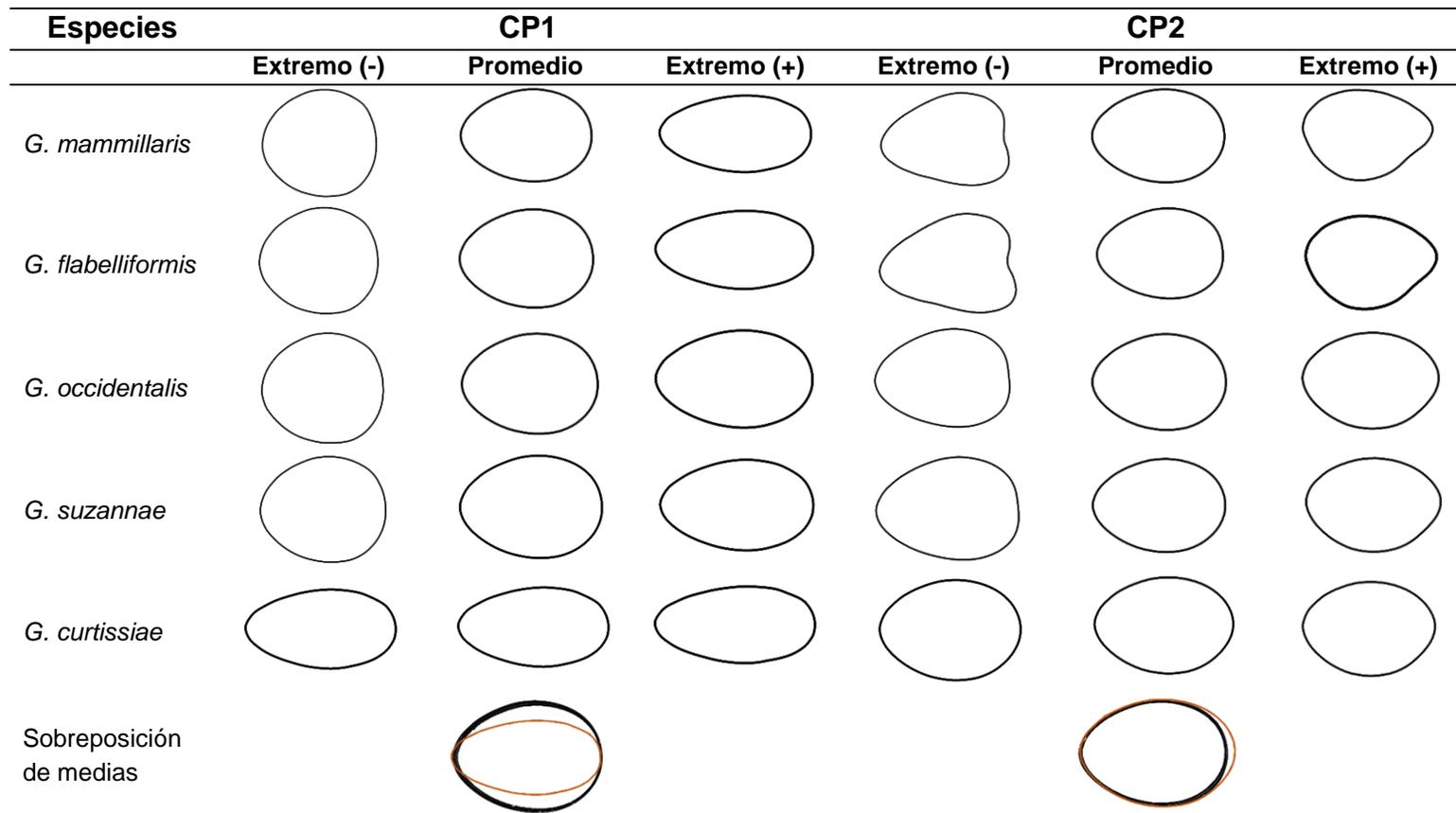


Figura 16. Reconstrucción digital de la forma promedio de las células medulares de la porción basal y sus variantes extremas posicionadas a lo largo de los dos primeros componentes principales (CP). En la última fila se muestra la sobreposición de los contornos medios de las cinco especies analizadas para ambos componentes; en color naranja se resalta la forma media de las células de *Gracilaria curtissiae*.

DISCUSIÓN

Los resultados arrojados por los análisis morfométricos realizados en este trabajo evidencian que los caracteres vegetativos, localizados en zonas específicas del talo, brindan información suficientemente robusta para la delimitación de las especies *Crassiphycus corneus*, *C. usneoides* y *Gracilaria mammillaris*. Estos caracteres resultarán de suma importancia para su correcta identificación, aun encontrándose distribuidas simpátricamente. Es importante enfatizar que estos análisis también han mostrado correspondencia con análisis moleculares previos.

Complejo *Crassiphycus corneus/C. usneoides*. Tanto los análisis de morfometría tradicional, como los de morfometría geométrica, mostraron consistentemente que los caracteres más importantes en la discriminación de las especies que componen a este complejo se encuentran localizados en la porción apical y media del talo, estos fueron: el diámetro mayor del talo en la porción media, el diámetro menor del talo en la porción apical y la forma de las células corticales en la porción media. Las medidas registradas en la porción basal no aportaron suficiente información discriminatoria entre las especies. Lo anterior se debe, por un lado, a que las estructuras basales, entre ellas el talo, tienden a deformarse dada su proximidad al pie de fijación, el cual esta conformado por las estructuras de mayor edad, recordando que estas especies presentan un crecimiento uniaxial, y además soporta los fuertes movimientos del agua. Por otro lado, se sabe que en algunas especies de la clase Floridophyceae, la forma de las células a lo largo del talo esta directamente influenciada por su elongamiento, el cual presenta un gradiente apicobasal. En otras palabras, las células apicales generalmente son más alargadas que las células medias y basales, y dicho alargamiento, suele provocar una variabilidad considerable en sus formas, lo que las hace ineficaces en la discriminación. El elongamiento tiende a disminuir drásticamente hacia la porción media, donde la forma de las células es más estable u homogénea, lo cual no solo ha permitido la reconstrucción exitosa de esta, sino la discriminación entre *Crassiphycus corneus* y *C. usneoides*. Hacia la porción basal, la deformación por elongamiento es prácticamente nula y las células son duras e isodiamétricas, sin embargo, como se había mencionado anteriormente, muchas suelen deformarse dada su edad y los movimientos del agua (Coomans y Hommersand, 1990; Dreckmann, 2012; Vilchis *et al.*, 2019).

Núñez-Reséndiz *et al.* (2015) demostraron molecularmente la presencia y distribución simpátrida de *C. corneus* y *C. usneoides* en las costas de la Península de

Yucatán, además evidenciaron, mediante un análisis de morfometría tradicional, que no existían caracteres que las discriminaran, proponiéndolas como un complejo de especies crípticas. Algunos caracteres morfométricos empleados por estos autores fueron el diámetro mayor y menor del talo, variables que en el presente trabajo resultaron de suma importancia para la discriminación. La diferencia entre ambos resultados probablemente esté en el manejo de los datos, ya que Núñez-Resendiz *et al.* (2015) consideraron estas medidas como el diámetro (mayor y menor) promedio de tres cortes transversales realizados en porciones diferentes del talo (apical, medio y basal), mientras que en este estudio dichas medidas fueron consideradas separadamente, una por cada porción. Lo anterior evidencia que, para la discriminación de *C. corneus* y *C. usneoides*, es de suma importancia considerar la porción a lo largo del talo en la que se deben tomar las medidas.

Complejo *Gracilaria mammillaris*. Los resultados obtenidos demostraron que no existen caracteres morfométricos que permitan la discriminación de las especies *Gracilaria mammillaris*, *G. flabelliformis*, *G. occidentalis* y *G. suzannae*, pero si evidenciaron consistentemente que existen diferencias entre *G. curtissiae* y todas ellas. De acuerdo con el análisis de morfometría tradicional, los caracteres que permitieron esta discriminación se encontraron primordialmente en la porción media del talo, y del mismo modo que para el complejo *Crassiphycus corneus/C. usneoides* esto podría explicarse mediante el patrón apicobasal de edad y deformación de las estructuras a lo largo del talo, sin embargo, el análisis geométrico evidenció que uno de los caracteres con mayor peso en la discriminación de *G. curtissiae* del resto de las especies del complejo, fue la forma de las células medulares en la porción basal. Coomans y Hommersand (1990) mencionan que la deformación estructural apicobasal no necesariamente se da en todas las especies de la clase Floridophyceae, ya que algunas suelen mostrar células basales isodiamétricas, lo cual concuerda con las observaciones al microscopio realizadas durante este estudio, donde las células medulares en la porción basal no muestran deformaciones aparentes, condición que brindó información importante para la discriminación. Además de los caracteres discriminantes detectados mediante los análisis morfométricos, se pudo observar que el número de capas de células corticales en la porción basal es menor en *G. curtissiae*, presentando de una a dos capas, mientras que el resto de las especies del complejo presenta de 14 a 32 capas.

Gurgel *et al.* (2004a; 2004b; 2018), Gurgel y Fredericq (2004) y Soares *et al.* (2018) han evidenciado la dificultad que representa la identificación de las especies

comprendidas en el complejo *G. mammillaris* dada la sobreposición de muchos de sus caracteres diagnósticos y al distribirse, muchas de estas especies, simpátricamente. Molecularmente y contrario a los resultados presentados aquí, los mismos autores, han propuesto que algunas especies dentro de este complejo como *G. mammillaris*, *G. flabelliformis*, *G. occidentalis* y *G. suzannae* son entidades genéticas diferentes a pesar de su similitud morfológica, sin embargo, es importante resaltar que las distancias genéticas que ellos consideraron para la delimitación de estas especies varían entre 1.3% y 1.8%, valores bajos si se toma en cuenta que el valor mínimo reportado en la literatura para la delimitación de especies dentro del género *Gracilaria* es del 2% (Dreckmann *et al.*, 2018; Le *et al.*, 2019). Lo anterior podría ser una explicación a la imposibilidad de diferenciar aún, tanto morfológica como morfométricamente, a estas especies. Por otra parte, las distancias genéticas de *G. curtissiae* con respecto a las demás especies del complejo superan el 2%, colocándose en un clado diferente (ver Soares *et al.*, 2018). Esta independencia genética se ve claramente reflejada en los resultados morfométricos aquí presentados.

El nombre taxonómico asignado a los ejemplares de *G. curtissiae* analizados en el presente trabajo, provenientes de Bahía Tortugas, Campeche, parte de la identificación molecular previa realizada por Hernández (2020), quien asigno el nombre dada la correspondencia molecular con ejemplares nombrados en GenBank (base de datos de secuencias genéticas) como *G. curtissiae* procedentes de Venezuela y Brasil, sin embargo, existen antecedentes que demuestran que estos ejemplares corresponden en realidad con *G. mammillaris* (Hardesty y Freshwater, 2018), ya que molecularmente muestran una coincidencia exacta con el ejemplar tipo de esta especie descrito por primera vez como *Rhodymenia mammillaris* con localidad tipo en Martinica, de tal modo que los especímenes analizados aquí, originalmente identificados como *G. curtissiae* son en realidad *G. mammillaris*, por lo que, de acuerdo con los resultados presentados, es la única especie que se ha diferenciado del resto del complejo.

Derivado de lo anterior se demuestra consistentemente que los ejemplares designados en el presente estudio como *G. mammillaris* no corresponden a tal especie, mostrando una variación morfométrica semejante a la del resto de las especies del complejo. Esta problemática nomenclatural se debe a que los caracteres tradicionales para identificar a la especie *G. mammillaris* se circunscriben en la descripción del ejemplar epitipo asignado por Gurgel *et al.* (2004a), dada la degradación del ejemplar tipo (*R. mammillaris*), destacando además que Hardesty y Freshwater (2018) evidenciaron

que no existe correspondencia molecular entre ambos tipos, derivando en la propuesta de una nueva especie a partir del epítipo nombrada *G. gurgelii* Freshwater. De este modo, en el presente trabajo se propone que el nombre del complejo *Gracilaria mammillaris* cambie en torno al epítipo, *Gracilaria gurgelii*.

A continuación, se presenta la diagnosis actualizada de las especies *Crassiphycus corneus* y *C. usneoides*, así como la de *G. mammillaris*. La descripción de esta última se hará partiendo de la descripción original del tipo dada la problemática antes mencionada.

Crassiphycus corneus (J. Agardh) Gurgel, J.N. Norris & Fredericq

Gracilaria cornea J. Agardh, 1852: 598 (Localidad tipo: Pernambuco, Brasil). Lectotipo: Hoja #29370 -espermatangial- en el Herbario Agardhiorum (LD). Designado por Bird *et al.* (1986: 2049, fig. 8, male). Sintipo: Hoja #29370 -tetrasporangial- en el Herbario Agardhiorum (LD, BM, FH).

Sinónimos homotípicos:

Gracilaria cornea J. Agardh 1852

Hydropuntia cornea (J. Agardh) M.J. Wynne 1989

Crassa cornea (J. Agardh) Gurgel, J.N. Norris & S. Fredericq 2018

Etimología: Una especie de *Crassiphycus* con aspecto y consistencia cornea o dura.

Descripción: Talo erecto, robusto, ligeramente elástico, de consistencia cornea, muy frecuentemente irregular y con protuberancias, 8-25(30) cm de altura; verde pálido a café oscuro, con manchas más claras (amarillo paja) a lo largo del talo. Ramificación abundante e irregular. Las ramas son complanadas a cilíndricas y de bases continuas (sin constricciones). Los segmentos apicales con tendencia a la unilateralidad (ramificación pectinada). Pie de fijación inconspicuo, discoidal. Superficie lisa. Ápices redondeados. Estípites largos y robustos. No se adhiere al papel de herbario. Células subcorticales de 30-40(45) µm en diámetro. Las células medulares miden 100-320 µm en diámetro y van disminuyendo su tamaño hacia la superficie, más de 10 capas a lo largo de una línea media imaginaria. Las células corticales superficiales son claviformes o piriformes, 10-15 µm en diámetro. Espermatangios en conceptáculos multicavitarios, subcorticales y muy variables en forma, 50-70(100) µm en diámetro por 60-80(100)-120

µm de largo. Cistocarpos amplios, 800-2100 µm en diámetro, sésiles y no apiculados, en corte la masa carposporangial madura tiene aspecto de media luna y se distingue claramente de la zona estéril o interfértil del gonimoblasto, éste es amplio y masivo, una pequeña línea de luz es visible entre las carposporas maduras y el pericarpo externo. Células tubulares en contacto entre el gonimoblasto y el pericarpo interno. Tetrasporagios localizados a lo largo de la corteza, 25-30(35) µm en diámetro, delimitados por células corticales alargadas. Diámetro mayor de la porción media del talo de 182µm. Diámetro menor y mayor de la porción apical del talo de 55.2 y 196.5µm respectivamente. Células corticales en la porción media del talo ovaladas ligeramente estrechas de un extremo. Modificado de Dreckmann (2012).

Crassiphycus usneoides (C. Agardh) Gurgel, J.N. Norris & Fredericq

Sphaerococcus usneoides C. Agardh, 1822: 595 (Localidad tipo: Brasil).

Sinónimos homotípicos:

Sphaerococcus usneoides C. Agardh 1822

Laurencia usneoides (C. Agardh) Kützing 1849

Gracilaria usneoides (C. Agardh) J. Agardh 1852

Ceramianthemum usneoides (C. Agardh) Kuntze 1891

Hydropuntia usneoides (C. Agardh) Gurgel & Fredericq 2004

Crassa usneoides (C. Agardh) Gurgel, J.N. Norris & Fredericq 2018

Etimología: *C. usneoides* de aspecto similar a *Usnea* (un género de líquenes).

Descripción. De acuerdo con Agardh (1852: 595), Børgesen (1913-1920: 378) y Taylor (1960: 442), la variedad se caracteriza por incluir: plantas arbustivas de 4-8 cm de alto, cartilaginosas, quebradizas una vez secas, de color rojizo. Nuestro examen permitió agregar: ramificación dicotómica a ligeramente subdicotómica; las ramas superiores subsecundas a divaricadas o cervicorneas; ramas jóvenes (segmentos apicales) subdísticas. Ramas con bases continuas (sin constricciones). Ápices obtusos. Estípite largo y robusto. No se adhiere al papel de herbario. La construcción cortical, subcortical, medular y reproductiva no difiere de la variedad tipo, excepto, por supuesto, en las medidas. Difiere de la variedad tipo únicamente en ser más suave, más delgada (0.8-1.0 mm) y ligeramente más ramificada. Diámetro mayor de la porción media del talo de

286µm. Diámetro menor y mayor de la porción apical del talo de 122 y 134µm respectivamente. Células corticales en la porción media del talo ovaladas notablemente estrechas de un extremo. Modificado de Dreckmann (2012).

Gracilaria mammillaris (Montagne) M. Howe

Rhodymenia mammillaris Montagne, 1842: 252 (Localidad tipo: Martinica, Antillas, Caribe).

Sinónimos homotípicos

Rhodymenia mammillaris Montagne 1842

Palmaria mammillaris (Montagne) O.Kuntze 1891

Sinónimos heterotípicos

Gracilaria dichotomoflabellata P.Crouan & H.Crouan 1865

Etimología. Una especie de *Gracilaria* con mamilas; los cistocarpos se parecen a las tetas de ciertas hembras placentarias.

Descripción. Talo gregario, solitario o en parches grandes, resistentes y carnosos, con una longitud que oscila entre los 9 y 14cm, color rojo oscuro; ramas numerosas, algunas veces dicotómicas, aplanadas, hasta de 1cm de ancho; ápices redondeados, a menudo con muescas. Células medulares de 74µm de ancho y 117µm de largo en la porción media del talo; en la porción basal ovaladas considerablemente estrechas. Corteza de 1-3 capas celulares a lo largo del talo; células superficiales rectangulares con un diámetro de 5-18µm, densamente pigmentadas. En la porción media del talo células corticales de 45µm de ancho y 61.5 de largo; ovaladas a esféricas con un extremo ligeramente estrecho. Células subcorticales en la porción media del talo de 44µm de largo y 26.7µm de ancho. Estípites cortos, cilíndricos y ramificados. Pie de fijación poco conspicuo y discoidal. Tetrasporangios esféricos a ovales con diámetro de 25-35µm, dispuestos debajo de la superficie. Espermatangios en pequeñas cavidades con forma de vaso. Cistocarpos hemisféricos (mamilares) de 1-1.3mm de diámetro; carposporas esféricas a irregulares de 30µm de largo (Modificada de Littler y Littler, 1997).

CONCLUSIONES

- La aplicación de los análisis morfométricos y técnicas multivariantes utilizados en este proyecto permitieron caracterizar y discriminar a las especies del complejo *Crassiphycus corneus*/*C. usneoides*, así como a *G. mammillaris* (aquí *G. curtissiae*) de *G. flabelliformis*, *G. occidentalis* y *G. suzannae*.
- Los resultados han evidenciado que las características morfométricas que permiten la discriminación de las especies bajo estudio se encuentran primordialmente en las porciones apical y media para el complejo *Crassiphycus corneus*/*C. usneoides*, y en las porciones media y basal del talo para el complejo *G. mammillaris*.
- Se brinda una actualización de las descripciones de las especies *Crassiphycus corneus*, *C. usneoides* y *G. mammillaris*.
- Se propone que la descripción actualizada de *G. mammillaris* gire en torno a la diagnosis de *Rhodymenia mammillaris*, ejemplar tipo.
- Se propone que el nombre del complejo *Gracilaria mammillaris* se circunscriba a la descripción del ejemplar epitipo, *G. gurgelii*.
- Los caracteres vegetativos que discriminan a *Crassiphycus corneus* de *C. usneoides*, y a *Gracilaria mammillaris* del resto de las especies del complejo, permitirán identificarlas correctamente, aun siendo especies con distribución simpátrida.
- Los análisis morfométricos abstraen eficientemente las diferencias fenotípicas entre las especies, aspecto básico e importante dentro de la sistemática, ya que las especies son la unidad fundamental de otro tipo de análisis, como por ejemplo, los biogeográficos, ecológicos o de conservación.
- Los resultados presentados en este trabajo pueden servir como referencia para la delimitación eficiente y precisa de otras especies de algas rojas con los mismos problemas taxonómicos.

REFERENCIAS

- Abbott, I.A. 1995. A decade of species of *Gracilaria* (sensu lato). Pp. 185-194. En: Abbott, I.A. (Ed.), Taxonomy of Economic Seaweeds. Vol. V. California Sea Grant College Program, California, E.U.A.
- Aranis, A., G. Muñoz, J.C. Quiroz, R. Wiff, A. Gómez y M.A. Barrientos. 2014. Identificación de rasgos morfológicos para una rápida diferenciación de sardina austral (*Sprattus fugensis*) y sardina común (*Strangomera bentincki*). *Latin American Journal of Aquatic Research* 42(5): 1063-1071.
- Ardito, M.S., A. Senties y K.M. Dreckmann. 2014. Caracterización morfoanatómica de *Hydropuntia usneoides* (Gracilariaceae, Rhodophyta) para la costa venezolana. *Interciencia* 39(1): 49-53.
- Benítez, H.A. y T.A. Püschel. 2014. Modelando la varianza de la forma: Morfometría geométrica aplicaciones en Biología Evolutiva. *International Journal of Morphology* 32 (3): 998-1008.
- Bird, C.J., E.L. Rice, C.A. Murphy y M.A. Ragan. 1992. Phylogenetic relationships in the Gracilariales (Rhodophyta) as determined by 18S rDNA sequences. *Phycologia* 31:510-522.
- Bookstein, F.L. 1991. Morphometric tools for landmark data: Geometry and biology. Cambridge University Press. Nueva York.
- Calle, D.A., M.L. Quiñones, H.F. Erazo y N. Jaramillo. 2008. Discriminación por morfometría geométrica de once especies de *Anopheles* (Nyssorhynchus) presentes en Colombia. *Biomédica* 28(3): 371-385.
- Chang, C.F. y B.M. Xia. 1963. Polycavernosa, a new genus of the Gracilariaceae. *Studia Marina Sinica* 3: 120-126.
- Chang, C.F. y Xia B.M. 1988. On two new *Gracilaria* (Gigartinales, Rhodophyta) from south China. Pp. 127-129. *In*: Abbott, I.A. (Eds.), Taxonomy of economic seaweeds with reference to some Pacific and Caribbean species. California Sea Grant College Program.
- Coomans, R.J. y M.H. Hommersand. 1990. Vegetative growth and organization. Pp. 275-304. En: Cole K.M. y R.G. Sheath (Eds.), Biology of the red algae. Cambridge University Press. USA.

- Dreckmann, K.M. 1998. Clasificación y nomenclatura de las macroalgas marinas bentónicas del Atlántico mexicano. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Ciudad de México.
- Dreckmann, K.M., 2002. El género *Gracilaria* (Gracilariaceae, Rhodophyta) en el Pacífico centro-sur mexicano. Pp. 77-118. En: Senties, A., y K.M. Dreckmann (Eds.), *Monografías Ficológicas*. Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa y Red Latinoamericana de Botánica, México.
- Dreckmann, K.M. 2012. Los géneros *Gracilaria* e *Hydropuntia* (Gracilariaceae, Rhodophyta) en las costas del Golfo de México y Caribe. Pp. 111-203. En: Senties, A. y K.M. Dreckmann (Eds.), *Monografías Ficológicas Volumen 4*. Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa y Universidad de la Laguna, México, D.F.
- Dreckmann, K.M. y A. Senties. 2014. Biodiversidad de Gracilariaceae (Rhodophyta) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 84: 69-75.
- Dreckmann, K.M., M.L. Núñez-Resendiz y A. Senties. 2018. *Gracilaria microcarpa* sp. nov. (Gracilariaceae, Rhodophyta) from the southwestern Gulf of Mexico. *Botánica Marina* 61 (2):115-125.
- Dryden, I.L. y K.V. Mardia. 1998. Statistical shape analysis. John Wiley and Sons, Chichester.
- Fredericq, S. y M.H. Hommersand. 1989. Proposal of the Gracilariales ord. nov. (Rhodophyta) based on an analysis of the reproductive development of *Gracilaria verrucosa*. *Journal of Phycology* 25: 213-227.
- Fredericq, S. y M.H. Hommersand. 1990. Diagnoses and key to the genera of the Gracilariaceae (Gracilariales, Rhodophyta). *Hydrobiologia* 204/205:173-178.
- Gargiulo, G.M., F. De Masi y G. Tripodi. 1992. Morphology, reproduction and taxonomy of the Mediterranean species of *Gracilaria* (Gracilariales, Rhodophyta). *Phycologia* 31(1): 53-80.
- González-Díaz, A., E. Díaz-Prado, M. Soria-Barreto y R. Rodiles-Hernández. 2005. Análisis morfométrico de los peces del grupo *labialis*, género *Profundulus* (Cyprinodontiformes: Profundulidae), en Chiapas, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 76: 55-61.

- Guiry, M.D., J.N. Norris, S. Fredericq y C.F.D. Gurgel. 2018. *Crassiphycus* Guiry, Gurgel, J.N. Norris y Fredericq, *gen. nov.*, a replacement name for *Crassa* Gurgel, J.N. Norris y Fredericq, *nom. inval.* (Gracilariaceae, Rhodophyta), with some additional nomenclatural notes. *Notulae Algarum* 82:1-4.
- Gurgel, C.F.D. y S. Fredericq. 2004. Systematics of the Gracilariaceae (Gracilariales, Rhodophyta): A critical assessment based on *rbcL* sequence analyses. *Journal of Phycology* 40: 138-159.
- Gurgel, C.F.D., S. Fredericq y J.N. Norris. 2004a. Molecular systematics and taxonomy of flattened species of *Gracilaria* Greville (Gracilariaceae, Gracilariales, Rhodophyta) from the Western Atlantic. Pp. 159-199. En: McDermond, K. y I.A. Abbott (Eds.), Taxonomy of Economic Seaweeds. Vol. IX. California Sea Grant Collage Program, California, E.U.A.
- Gurgel, C.F.D., S. Fredericq y J.N. Norris. 2004b. *Gracilaria apiculata* and *G. flabelliformis* (Gracilariaceae, Rhodophyta): restoring old names for common tropical western Atlantic species, including the recognition of three new subspecies, and a replacement name for "*G. lacinulata*". *Cryptogamie Algology* 25(4): 367-396.
- Gurgel, C.F.D., J.M. Norris, W. E. Schmidt, H. Nhu Le y S. Fredericq. 2018. Systematics of the Gracilariales (Rhodophyta) including new subfamilies, tribes, subgenera, and two new genera, *Agarophyton gen. nov.* and *Crassa gen. nov.* *Phytotaxa* 374(1): 001-023.
- Hammer, Q., D.A.T. Harper y P.D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9.
- Hardesty, D.M. y D.W. Freshwater. 2018. Studies of North Carolina marine algae XLV: increased diversity of flattened offshore *Gracilaria* (Gracilariales, Rhodophyta) species revealed by DNA sequences of contemporary specimens and the *G. mammillaris* holotype. *Botanica Marina* 61(4): 407-413.
- Hau, L.N. y S.M. Lin. 2006. *Gracilariopsis nhatrangensis* (Gracilariaceae, Rhodophyta), a new marine red alga from Nhatrang, southern Vietnam. *Botanical Studies* 47: 329-337.

- Hernández, O.E. 2020. Panbiogeografía y filogenia de algas rojas anfiocéánicas en México (Tesis de Doctorado). Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Ciudad de México.
- Iwata, H. y Y. Ukai. 2002. SAPE: A computer program package for quantitative evaluation of biological shapes based on elliptic Fourier descriptors. *Journal Heredity* 93 (5): 384-385.
- Iwata, H., S. Niikura, S. Matsuura, Y. Takano, y Y. Ukai. 1998. Evolution of variation of root shape of Japanese radish (*Raphanus sativus* L.) based on image analysis using elliptic Fourier descriptors. *Euphytica* 102:143-149.
- Kendall, D.G. 1977. Diffusion of shape. *Advances in Applied Probability* 9(3): 428-430.
- Kuhl, F.P. y C.R. Giardina. 1982. Elliptic Fourier features of a closed contour. *Comp. Graph. Ima. Proc.* 18: 236-258.
- Le, H.N., N. Muangmai, S. Kheauthong, Z. Sun y G.C. Zuccarello. 2019. *Gracilaria phuquocensis* sp. nov., a new flattened *Gracilaria* species (Gracilariaceae, Rhodophyta), previously recognized as *G. mammillaris*, from the southern coast of Vietnam. *Phycological Research* 68(1): 50-56.
- Lestrel, P.E. 1997. Introduction and overview of Fourier descriptors. Pp. 22-44. En: Lestrel, P.E. (ed.) *Fourier descriptors and their applications in biology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Littler, D.S. y M.M. Littler. 1997. An illustrated marine flora of the Pelican Cays, Belize. *Bulletin of the Biological Society of Washington* 9: 1-149.
- López-Curto, M.L., J. Márquez y G. Murguía. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. Las prensas de ciencia. Ciudad de México.
- Montagne, J.F.C. 1842. Troisième centurie de plantes cellulaires exotiques nouvelles. *Annales des Sciences Naturelles; Botaniques, II* 18: 241-282.
- Navia, D., C.B. Ferreira, A.C. Reis y M.G. Gondim Jr. 2015. Traditional and geometric morphometrics supporting the differentiation of two new *Retracrus* (Phytoptidae) species associated with heliconias. *Experimental and Applied Acarology* 67(1): 87-121.

- Neustupa, J. 2004. Two new aerophytic species of the genus *Podohedra* Düringer (Chlorophyceae). *Algological Studies* 112: 1–16.
- Norris, J.N. y C.F.D. Gurgel. 2014. *Gracilaria*; Gracilariaceae. Pp. 373-404. En: Norris, J.N. (Ed.), *Marine Algae of the Northern Gulf of California, II: Rhodophyta*. Smithsonian Institution Scholarly Press. Washington, D.C.
- Núñez-Resendiz, M.L., K.M. Dreckmann, A. Senties, J. Díaz-Larrea y G.C. Zuccarello. 2015. Genetically recognizable but not morphologically: the cryptic nature of *Hydropuntia cornea* and *Hydropuntia usneoides* (Gracilariales, Rhodophyta) in the Yucatan Peninsula. *Phycologia* 54(4): 407-416.
- Núñez-Resendiz, M.L., G.C. Zuccarello, K.M. Dreckmann y A. Senties. 2016. Phylogeography of *Hydropuntia cornea*/*Hydropuntia usneoides* complex (Gracilariales, Rhodophyta) in the Yucatan Peninsula. *Phycologia* 56: 14–20.
- Osserman, R. 1978. The isoperimetric inequality. *Bulletin of the American Mathematical Society* 6: 1182–1238.
- Rohlf, F.J. 1990. Morphometrics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 21:299-316.
- Rohlf, F.J. 2006. A comment on “phylogenetic correction”. *Evolution* 60: 1509–1515.
- Rohlf, F.J. 2015. The tps series of software. *Hystrix* 26:1–4.
- Soares, L.P., C.F.D. Gurgel y M.T. Fuji. 2018. *Gracilaria suzannae* sp. nov. (Gracilariales, Rhodophyta), a new flattened species from northeast Brazil based on morphological and molecular evidence. *Phycologia* 57(3): 345-353.
- Sokal, R.R. y F.J. Rohlf. 1995. *Biometry: The principal and practice of statistics in biological research*. W. H. Freeman, New York.
- Steyn, M., E. Pretorius y L. Hutten. 2004. Geometric Morphometric analysis of the greater sciatic notch in South Africans. *Journal of Comparative Human Biology* 54(3): 197-206.
- Thiers, B. 2020. Index Herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's. New York, USA. <http://www.nybg.org/bsci/ih/ih.html> (consultado noviembre de 2019).

- Toro, I.M.V., S.G. Manriquez y G.I. Suazo. 2010. Morfometría geométrica y el estudio de las formas biológicas: de la morfología descriptiva a la morfología cuantitativa. *International Journal of Morphology* 28(4): 977-990.
- Umphrey, G.J. 1996. Morphometric discrimination among sibling species in the *fulva-rudis-texana* complex of the ant genus *Aphaenogaster* (Hymenoptera: Formicidae). *Canadian Journal of Zoology* 74(3): 528-559.
- Verbruggen, H., O. De Clerck, E. Cocquyt, H.C.F. Kooistra y E. Coppejans. 2005a. Morphometric taxonomy of siphonous Green algae; a morphological study within the genus *Halimeda*. *Journal of Phycology* 41: 126-139.
- Verbruggen, H., O. De Clerck, H.C.F. Kooistra y E. Coppejans. 2005b. Molecular and morphometric data pinpoint species boundaries in *Halimeda* section *Rhipsalis* (Bryopsidales, Chlorophyta). *Journal of Phycology* 41(3): 606-621.
- Vilchis, M.I., K.M. Dreckmann, A. Quintanar y A. Senties. 2019. Análisis morfométrico de las especies simpátricas del complejo *Crassiphycus corneus*-*C. usneoides* (Gracilariaceae, Rhodophyta) en las costas mexicanas del Golfo de México y Mar Caribe. *Acta Botánica Mexicana* 127: e1596.
- Vilchis, M.I., J. Neustupa, K.M. Dreckmann, A. Quintanar y A. Senties. 2020. Discrimination of the species of the *Crassiphycus corneus*/*C. usneoides* complex (Gracilariaceae, Rhodophyta) through geometric morphometric analysis. *Nova Hedwigia* 109(3-4): 291-301.
- Wynne, M.J. 1989. The re-instatement of *Hydropuntia* Montagne (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Taxon* 38:476-479.
- Yamamoto, H. 1975. The relationship between *Gracilariopsis* and *Gracilaria* from Japan. *Bulletin of the Faculty Fisheries Hokkaido University* 26(3):217-222.
- Yoshioka, Y., H. Iwata, R. Ohsawa y S. Ninomiya. 2004. Analysis of petal shape variation of *Primula sieboldii* by elliptic Fourier descriptors and principal component analysis. *Annals of Botany* 94: 657–664.



Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No. 00097
Matrícula: 2161801003

Caracterización morfométrica de las especies simpátricas de los géneros *Crassiphycus* y *Gracilaria* (Rhodophyta) en la Península de Yucatán, México.




MARTHA ISABEL VILCHIS ALFARO
ALUMNA

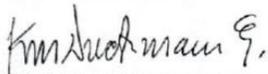
REVISÓ


MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISION DE CBS


DRA. SARA LUCIA CAMARGO RICALDE

PRESIDENTE


DR. KURT MARTIN DRECKMANN ESTAY

VOCAL


DRA. PAZ ALEJANDRA QUINTANAR ISAIAS

VOCAL


DR. MANUEL ARNOLDO CASTILLO RIVERA

VOCAL


DRA. ILEANA ORTEGON AZNAR

SECRETARIO


DR. ABEL SENTIES GRANADOS

Con base en la Legislación de la Universidad Autónoma Metropolitana, en la Ciudad de México se presentaron a las 10:00 horas del día 17 del mes de noviembre del año 2020 POR VÍA REMOTA ELECTRÓNICA, los suscritos miembros del jurado designado por la Comisión del Posgrado:

DR. KURT MARTIN DRECKMANN ESTAY
DRA. PAZ ALEJANDRA QUINTANAR ISAIAS
DR. MANUEL ARNOLDO CASTILLO RIVERA
DRA. ILEANA ORTEGON AZNAR
DR. ABEL SENTIES GRANADOS

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DE: MARTHA ISABEL VILCHIS ALFARO

y de acuerdo con el artículo 78 fracción IV del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.