

Confirmación de la ausencia del alga marina asiática *Codium fragile* subsp. *fragile* (Codiaceae, Chlorophyta) en el Pacífico de México, mediante datos moleculares

Molecular data confirm the absence of non-native Asian seaweed *Codium fragile* subsp. *fragile* (Codiaceae, Chlorophyta) in Pacific Mexico

Francisco F. Pedroche[✉]

Recibido: 11 de septiembre de 2021.

Aceptado: 11 de noviembre de 2021.

Publicado: diciembre de 2021.

RESUMEN

Antecedentes. *Codium fragile* es un alga verde que habita en las costas del Pacífico de Baja California, México, cuyos primeros registros datan de 1909. Esta especie que posee varias subespecies, una de ellas *Codium fragile* subsp. *fragile*, oriunda de Japón, ha demostrado ser un organismo invasor en diferentes partes del mundo. **Objetivos.** Confirmar la presencia o ausencia de esta cepa invasora en las costas del Pacífico mexicano, comparando individuos de Japón, Estados Unidos y México mediante el uso de herramientas moleculares. **Métodos.** Se analizaron 20 individuos de las especies registradas para el Pacífico mexicano y diez fuera de la región, incluyendo además dos como grupo externo. El DNA genómico se extrajo mediante el método Sanger, se amplificaron regiones de los marcadores *psb* y 23S, las secuencias obtenidas se editaron y alinearon en MEGA y MESQUITE, posteriormente se realizaron análisis filogenéticos de máxima verosimilitud en PAUP y MEGA y de inferencia bayesiana en MrBayes. Las distancias genéticas se obtuvieron en MEGA y PAUP. **Resultados.** Se demuestra que, genéticamente, los individuos de México integran un clado diferente a la entidad asiática, con distancias genéticas inter-especie que se ubicaron en 6% para el marcador 23S, mientras que para los subclados de *C. fragile* la distancia entre ellos fue de 0.4%. Para *psb*, la distancia fue del 25% entre especies y de 2.2% entre estas dos subespecies. **Conclusiones.** Individuos de California y México se anidaron en el clado nativo *C. fragile*, mientras que otros procedentes también de California se reconocen con el de Japón como pertenecientes al clado invasor (*C. fragile* subsp. *fragile*); así por el momento, se confirma la ausencia de esta cepa invasora en el Pacífico de México.

Palabras clave: Algas marinas, Baja California, especie nativa, invasores, DNA cloroplasto.

ABSTRACT

Background. *Codium fragile* is a green alga that inhabits the Pacific coast of Baja California, Mexico, whose first records date back to 1909. This species has several subspecies, one of them *Codium fragile* subsp. *fragile*, originally from Japan, has proven to be an invasive organism in different parts of the world. **Objectives.** Confirm the presence or absence of this invasive strain on the coast of the Mexican Pacific, comparing with individuals from Japan, the United States and Mexico using molecular tools. **Methods.** We analyzed 20 individuals of the different species recorded for the Mexican Pacific and ten outside the region, including two as outgroup. The genomic DNA was extracted using the Sanger method, regions of the *psb* and 23S markers were amplified, the sequences obtained were edited and aligned in MEGA and MESQUITE, subsequently phylogenetic analyses of maximum likelihood were carried out in PAUP and MEGA and Bayesian inference in MrBayes. Genetic distances were obtained in MEGA and PAUP. **Results.** It is shown that, genetically, the individuals from Mexico integrate a clade different from the Asian entity, with inter-species genetic distances that were located at 6% for the 23S marker, while for the subclades of *C. fragile* the distance between them was 0.4%. For *psb*, the distance was 25% between species and 2.2% between these two subspecies. **Con-**

Departamento de Ciencias Ambientales, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Lerma. Av. de las Garzas 10, col. El Panteón, Lerma de Villada, Estado de México, 52005. México

University Herbaria, University of California at Berkeley. CA 94720-2465, USA.

*Corresponding author:

Francisco F. Pedroche: e-mail: fpedroche@correo.ier.uam.mx

To quote as:

Pedroche, F.F. 2021. Confirmación de la ausencia del alga marina asiática *Codium fragile* subsp. *fragile* (Codiaceae, Chlorophyta) en el Pacífico de México, mediante datos moleculares. *Hidrobiológica* 31 (3): 245-252.

DOI:10.24275/uam/izt/dcb/hidro/2021v31n3/Pedroche

clusions. Individuals from California and Mexico nested in the native clade *C. fragile*, while others also from California are recognized with that of Japan as belonging to the invasive clade (*C. fragile* subsp. *fragile*). At the moment, the absence of this invasive strain in the Pacific of Mexico is confirmed.

Keywords: Baja California, chloroplast DNA, invasive, native species, seaweeds.

INTRODUCCIÓN

Codium fragile (Suringar) Hariot (Chlorophyta, Codiaceae) es una de las 15 especies que se han registrado en las costas del Pacífico mexicano (Pedroche *et al.*, 2005). Es una macroalga bentónica con cladoma multiaxial erecto y ramificado dicotómicamente donde los filamentos cenocíticos terminan en utrículos mucronados; se distribuye en Alaska al Pacífico de Baja California (Pedroche *et al.*, 2002, 2005). Dentro de esta especie se han reconocido, como taxones infraespecíficos: una forma, cuatro variedades, una subvariedad y 12 subespecies (INA, 2020). Actualmente, como nombres taxonómicamente aceptados, hay once subespecies (Guiry & Guiry, 2021).

Desde hace décadas se ha reconocido, dentro de este género, a un grupo de individuos que tienen la capacidad de colonizar áreas geográficas diferentes a las de su posible origen. A estos organismos se les ha denominado especies no nativas y en particular, dentro de este género, a la subespecie *Codium fragile* subsp. *tomentosoides* (Van Goor) P. C. Silva (= *Codium fragile* subsp. *fragile* (Suringar) Hariot) (Silva, 1979) como una especie invasora (Rueness, 1989; Provan *et al.*, 2005).

Las algas marinas con esta característica han llamado la atención en los últimos años por el posible impacto que tienen sobre las poblaciones nativas y su capacidad de desplazar a otras especies o incluso modificar el ambiente en su entorno (Blackburn *et al.*, 2014; Vaz-Pinto *et al.*, 2014). Como resultado, varias iniciativas en niveles diversos se han establecido en México con la finalidad de darle seguimiento a estas especies no nativas. Una de ellas, es la de la Comisión Nacional para Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) que ha generado un banco de datos sobre las especies invasoras y cuya influencia ha permeado a nivel nacional, pues esta información fue empleada para publicar el Acuerdo sobre especies exóticas (SEMAR-NAT, 2016). En ambas referencias se incluye la subespecie no nativa como presente en México y con la categoría de especie exótica (CONABIO, 2021; CABI, 2021).

En otras partes del mundo esta entidad pasó desapercibida por mucho tiempo, debido en parte a que las especies no nativas son similares morfológicamente a las residentes, en sus etapas iniciales de colonización (Trowbridge, 1996). Silva (1955) fue el primero en reconocer que *Codium fragile* era un complejo de poblaciones y subpoblaciones y que era la especie, de este género, con la mayor distribución geográfica, presentándose en todos los continentes. Provan *et al.* (2005), mediante estudios moleculares con tres marcadores de cloroplasto (*rbcL*, *trn*, *rpl*), reconocieron qué de las once subespecies existentes, solo *C. fragile* subsp. *tomentosoides* podría considerarse como una especie invasora. Lo que más adelante también constataron Verbruggen *et al.* (2017) con estudios morfométricos, y moleculares, quienes emplea-

ron adicionalmente el marcador *tufA* y sugirieron que *C. fragile* consta realmente de dos especies, una incluye al clado “invasor” y la otra al resto de las subespecies. Sin embargo, estos autores se abstuvieron de realizar los cambios nomenclaturales correspondientes, debido a la ausencia de congruencia entre el marcador empleado, con otros marcadores explorados (Provan *et al.*, 2008).

El primer registro, aunque no preciso, de *Codium fragile* en costas mexicanas fue el de Collins (1909), como *C. mucronatum* f. (var.) *californicum* (J. Agardh) De Toni & Levi, quien mencionó su presencia de Alaska a México. Posteriormente, Hollenberg (1942) y Silva (1951) registraron a la especie para Bahía de Todos Santos, Baja California. A la fecha, la especie se ha registrado en cuarenta localidades en la costa occidental de Baja California, alcanzando, hacia el sur, una distribución hasta Punta Abrejos (26° 42' N, 113° 35' O) (Pedroche *et al.*, 2002). También existen registros para Bahía de la Paz, Golfo de California, Puerto Peñasco, Sonora y Punta Melaque, Jalisco que seguramente no son representativos de esta especie por las condiciones cálidas de sus aguas (Pedroche *et al.*, 2005). Es importante mencionar aquí que todos estos registros corresponden a *C. fragile* sin reconocer a subespecie alguna, excepto el registro de *C. fragile* subsp. *mexicanum* Maggs (Brodie *et al.*, 2007) para Punta Eugenia, en Baja California, México.

Pedroche (2001) confirmó que el taxón *C. fragile* subsp. *tomentosoides*, no está presente en el Pacífico mexicano. Propuesta mantenida en Okolodkov *et al.* (2007), Miller *et al.* (2011) y Aguilar-Rosas *et al.* (2014). Incluso Provan *et al.* (2008, fig. 3) reconocen un haplotipo mexicano diferente a la cepa invasora. Verbruggen *et al.* (2017), como se apunta arriba, denominaron un “clado fragile” para asignar a los individuos no nativos y un “clado nativo”, en donde se encuentran las subespecies: *C. fragile* subsp. *bonnespei* Maggs, *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* (J. Agardh) P. C. Silva, *C. fragile* subsp. *tasmanicum* (J. Agardh) P. C. Silva y *C. fragile* subsp. *mexicanum*. Seguramente, como resultado de los trabajos publicados por Provan *et al.* (2008), Maggs estableció el nombre *Codium fragile* subsp. *mexicanum* con localidad tipo en Punta Eugenia, Baja California (Brodie *et al.*, 2007). En este contexto y desde el punto de vista nomenclatural, previo a 2007, México no tenía representantes de otra subespecie que no fuera la subespecie típica: *C. fragile* subsp. *fragile*.

El objetivo del presente trabajo fue certificar, con base en información proporcionada por los marcadores *psb* y 23S del cloroplasto, que han brindado resultados alentadores en la discriminación de especies del Orden Bryopsidales (Pedroche, 2001; Tufiño-Velázquez & Pedroche, 2019), la pertenencia de las poblaciones de *C. fragile* de las costas del Pacífico mexicano al clado invasor o nativo.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente trabajo se incluyeron individuos recolectados en diversas localidades de Baja California, México; California y Oregón, USA y Banda, Japón. Se incluyeron, además en el análisis, secuencias originales procedentes de DNA genómico aislado de individuos recolectados a lo largo de la costa del Pacífico mexicano y que representan a la mayoría de las especies registradas para esta costa (tabla 1).

Tabla 1. Datos de los individuos utilizados en este trabajo, indicando nomenclatura de la muestra, número de acceso en GenBank® para los marcadores 23S y psb, lugar de recolecta, colector, herbario en donde se encuentran depositados y el número de registro de la extracción de DNA. Los acrónimos de los herbarios de acuerdo a Thiers (2021).

Taxón	23S	psb	Localidad	Colector	Ubicación	DNA
<i>Bryopsis</i> sp.	MW244731	MH837715	Venados, Jal., Mex.	F.F. Pedroche	UAMIZ	57
<i>Bryopsis</i> sp.	MW244732	MH837712	Fleming Point, CA, USA.	F.F. Pedroche	UC	67
<i>Codium amplivesiculatum</i> Setchell & N. L. Gardner	MW244747	OK087485	Navachiste, Sin., Mex.	Ochoa, J.	UAMIZ	49
<i>Codium amplivesiculatum</i> Setchell & N. L. Gardner	MW244750	OK087486	San Quintín, BC, Mex.	Castro	UAMIZ	115
<i>Codium brandegeei</i> Setchell & N. L. Gardner	MW244745	MZ934405	Pelicanos, BC, Mex.	Aguilar Rosas	UABC	118
<i>Codium dawsonei</i> P. C. Silva & al.	NA	OK000917	Isla Guadalupe, BC, Mex.	F.F. Pedroche	UAMIZ	145
<i>Codium fragile</i> Suringar **	MW234430	MW965462	Isla Guadalupe, BC, Mex.	F.F. Pedroche	UAMIZ	143
<i>Codium fragile</i> Suringar **	MW234431	MW965459	Point Reyes, CA, USA.	R.L. Moe	UC	64
<i>Codium fragile</i> Suringar **	MW234432	MW965461	Punta Morro, BC, Mex.	Aguilar Rosas	UABC	7
<i>Codium fragile</i> Suringar **	OM304968	NA	HMS Oregon, USA.	G. Hansen	UC	227
<i>Codium fragile</i> Suringar **	OM304969	NA	Coast Aquarium Oregon, USA.	G. Hansen	UC	223
<i>Codium fragile</i> Suringar **	OM304970	NA	Coast Aquarium B Oregon, USA.	G. Hansen	UC	226
<i>Codium fragile</i> Suringar *	MW234429	MW916099	Toteyama-shi (Chiba) Japón	Ohba	UC	124
<i>Codium fragile</i> Suringar *	MW234435	MW965460	Richmond, CA, USA.	R.L. Moe	UC	39
<i>Codium fragile</i> Suringar *	MW234436	NA	Alameda, CA, USA.	R.L. Moe	UC	38
<i>Codium giraffa</i> P. C. Silva	MW244740	MZ229637	Venados, Jal., Mex.	F.F. Pedroche	UAMIZ	41
<i>Codium hubbsii</i> E. Y. Dawson	MW244736	OK000913	Rancho Packard, BC, Mex.	Aguilar Rosas	UABC	4
<i>Codium hubbsii</i> E. Y. Dawson	MW244737	OK000914	Punta Santo Tomas, BC, Mex.	Aguilar Rosas	UABC	15
<i>Codium isabelae</i> W. R. Taylor	MW244751	MZ902997	Matanchen, Nay., Mex.	F.F. Pedroche	UAMIZ	51
<i>Codium isabelae</i> W. R. Taylor	MW244752	MZ902996	Cerritos, Sin., Mex.	F.F. Pedroche	UAMIZ	46
<i>Codium isabelae</i> W. R. Taylor	MW244753	MZ902995	Mazatlán, Sin., Mex.	F.F. Pedroche	UAMIZ	60
<i>Codium johnstonei</i> P. C. Silva	MW244739	NA	La Bufadora, BC, Mex.	Becerril	UABC	22
<i>Codium latum</i> Suringar	OK431603	MZ191097	Toteyama-shi (Chiba) Japón	Ohba	UC	121
<i>Codium latum</i> subsp. <i>palmeri</i> (E. Y. Dawson) P. C. Silva	MW244741	MZ191098	Isla Guadalupe, BC, Mex.	F.F. Pedroche	UAMIZ	142
<i>Codium latum</i> subsp. <i>palmeri</i> (E. Y. Dawson) P. C. Silva	MW244742	MZ191099	Isla Guadalupe, BC, Mex.	F.F. Pedroche	UAMIZ	160
<i>Codium picturatum</i> Pedroche & P. C. Silva	MW244733	NA	La Audiencia, Col., Mex.	F.F. Pedroche	UAMIZ	42
<i>Codium schmiederi</i> P. C. Silva & al.	MW244743	OK000915	Isla Guadalupe, BC, Mex.	F.F. Pedroche	UAMIZ	139
<i>Codium schmiederi</i> P. C. Silva & al.	MW244744	OK000916	Isla Guadalupe, BC, Mex.	F.F. Pedroche	UAMIZ	147
<i>Codium setchellii</i> N. L. Gardner	MW244738	OK087487	Pigeon Point, CA, USA.	F.F. Pedroche	UC	88
<i>Codium simulans</i> Setchell & N. L. Gardner	MW244754	MZ934406	Caminitos, BC, Mex.	Aguilar Rosas	UABC	247
<i>Codium</i> sp.	MW244746	NA	Cabo Libertad, Son., Mex.	Hughey J.	UC	76

* corresponden al clado "invasor" (*C. fragile* subsp. *fragile*)

** corresponden al clado "nativo"

NA No amplificó

Para la extracción, amplificación y obtención de secuencias se siguieron los protocolos y los cebadores empleados por Pedroche (2001) y Tufiño-Velázquez & Pedroche (2019), los números de registro en GenBank se encuentran en la tabla 1. Las secuencias obtenidas fueron editadas y alineadas usando Muscle en MEGA versión X (Kumar *et al.*, 2018; Stecher *et al.*, 2020) y Opal en MESQUITE versión 3.61 (Wheeler & Kececioglu, 2007; Maddison & Maddison, 2019). Los análisis filogenéticos se realizaron con las directrices presentes en Tufiño-Velázquez & Pedroche (2019) empleando como grupo externo, a individuos del género *Bryopsis*. En este análisis, se construyeron matrices para cada marcador y una matriz concatenada, con las 31 secuencias generadas en el presente

estudio. La elección del modelo evolutivo, al que se ajustan los datos, se obtuvo empleando JModeltest2 (Guindon & Gascuel, 2003; Darriba *et al.*, 2012). Se realizaron análisis de máxima verosimilitud (ML) y de inferencia bayesiana. La filogenia de ML fue inferida utilizando PAUP, versión 4.0a (build 163), (Swofford, 2001) y MEGA versión X (Kumar *et al.*, 2018; Stecher *et al.*, 2020), eligiendo el algoritmo de búsqueda heurística y el procedimiento de intercambio TBR para la reconexión de ramas en el árbol, y se estimó el respaldo nodal mediante análisis de bootstrap (100 réplicas). Para el análisis bayesiano se empleó la matriz combinada con la ayuda de MrBayes v3.2 (Ronquist *et al.*, 2012). La desviación estándar media de las frecuencias indicó que las muestras de los árboles se volvieron cada

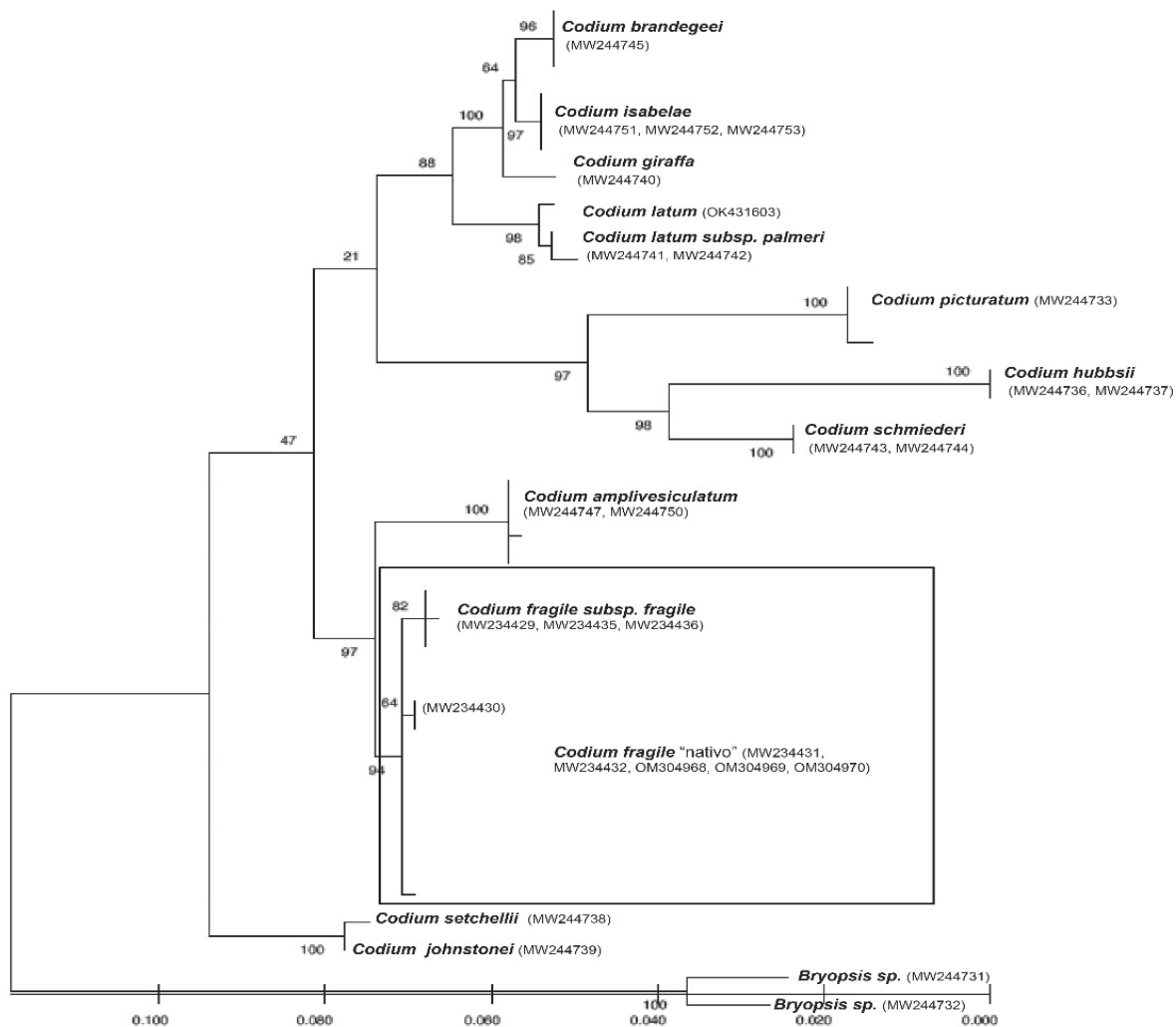


Figura 1. Hipótesis filogenética recuperada con el marcador 23S. La historia evolutiva se dedujo utilizando el método de máxima verosimilitud y el modelo de Tamura-Nei (Tamura & Nei, 1993). Se muestra el árbol con la mayor probabilidad de registro (-2189.58). El porcentaje de árboles (bootstrap) en los que los taxones asociados se agrupan se muestra junto a las ramas. Los árboles iniciales para la búsqueda heurística se obtuvieron automáticamente aplicando algoritmos Neighbor-Join y BioNJ a una matriz de distancias por pares estimadas utilizando el modelo Tamura-Nei, y luego seleccionando la topología con un valor de probabilidad logarítmica superior. De acuerdo con JModeltest2 (Guindon & Gascuel, 2003; Darriba *et al.*, 2012), el modelo que mejor se ajustó a los datos, seleccionado por AICc, fue TPM2uf+I+G, con los siguientes valores: Lset base = (0.2938 0.1884 0.2596), nst = 6, rmat = (2.3958 3.9677 2.3958 1.0000 3.9677), rates = gamma shape = 0.5070, ncat = 4, pinvar = 0.5130. El árbol se dibuja a escala, con longitudes de rama medidas en el número de sustituciones por sitio (escala). Este análisis involucró 37 secuencias de nucleótidos. Hubo un total de 738 posiciones en el conjunto de datos final. Se realizaron análisis evolutivos en PAUP versión 4.0a (Swofford, 2001) y MEGA X (Kumar *et al.*, 2018; Stecher *et al.*, 2020), resultando en topologías congruentes. El recuadro indica el clado *Codium fragile*.

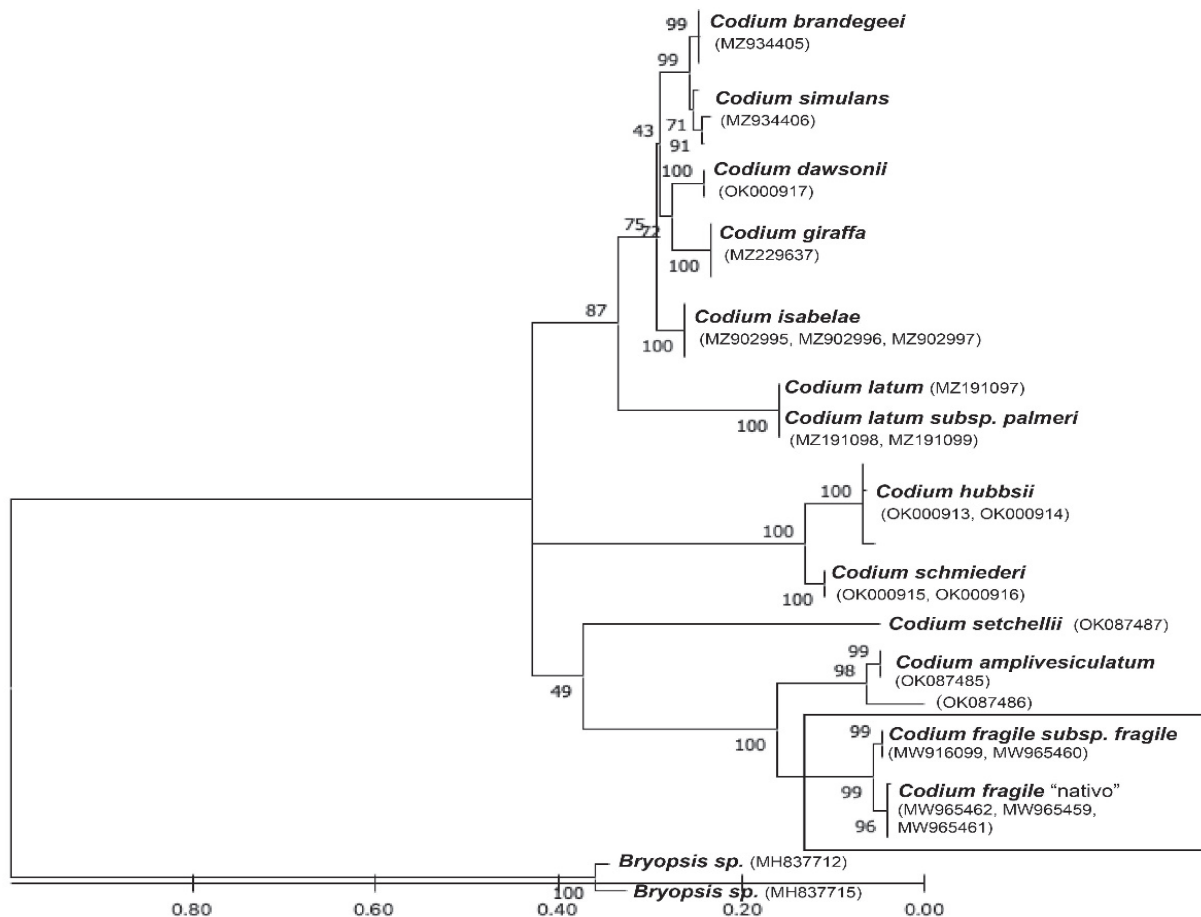


Figura 2. Hipótesis filogenética recuperada con el marcador *psb*. La historia evolutiva se dedujo utilizando el método de máxima verosimilitud y el modelo de Tamura-Nei (Tamura & Nei, 1993). Se muestra el árbol con la mayor verosimilitud (-3575.24). El porcentaje de árboles (bootstrap) en los que los taxones asociados se agrupan se muestra junto a las ramas. Los árboles iniciales para la búsqueda heurística se obtuvieron automáticamente aplicando algoritmos Neighbor-Join y BioNJ a una matriz de distancias por pares estimadas utilizando el modelo Tamura-Nei, y luego seleccionando la topología con un valor de probabilidad logarítmica superior. Se utilizó una distribución Gamma discreta para modelar las diferencias de velocidad evolutiva entre los sitios (5 categorías (+G, parámetro = 0,5574)). El modelo de variación de tasas permitió que algunos sitios fueran evolutivamente invariables ([+I], 0,00% sitios). El árbol se dibuja a escala, con longitudes de rama medidas en el número de sustituciones por sitio (escala). Este análisis involucró 34 secuencias de nucleótidos. Hubo un total de 658 posiciones en el conjunto de datos final. Los análisis evolutivos se realizaron en MEGA X (Kumar *et al.*, 2018; Stecher *et al.*, 2020). El recuadro indica el clado *Codium fragile*.

vez más parecidas y que se alcanzó una distribución estacionaria. Los árboles fueron visualizados con FigTree v. 1.4.3. (Rambaut, 2018). Las distancias genéticas se obtuvieron con PAUP, versión 4.0a (build 163), (Swofford, 2001) y con MEGA versión X (Kumar *et al.*, 2018; Stecher *et al.*, 2020) con la opción de distancia "p" no corregida.

RESULTADOS

Las secuencias de la región 23S constaron de 721 pb y en el marcador *psb* fueron 468 pb, de este último 85 posiciones corresponden a la región conservada de *psbH* (photosystem II reaction center protein H) y 80 posiciones a la de *psbT* (photosystem II reaction center protein T), restando 303 sitios variables. Las topologías de los árboles para ambos marcadores, así como del análisis combinado muestran congruencia (figuras 1-3). El clado *Codium fragile* se distingue como un grupo monofilético robusto

con valores altos de "bootstrap" en los análisis de ML para el marcador 23S (94) (fig. 1) y para *psb* (99) (fig. 2). La figura 3 muestra la topología del análisis concatenado bayesiano con probabilidad posterior de 100. Se distinguen dos clados hermanos uno denominado "nativo" formado por individuos procedentes de Point Reyes y Tomales Bay en California, USA y Rancho Packard, Punta Baja e Isla Guadalupe en Baja California, México. Por su parte los individuos considerados como miembros del clan invasor están presentes en Richmond y Alameda, California, en la costa oeste de Estados Unidos y Banda, Toteyama-shi, Japón. Para estos clados, la distancia genética para el marcador 23S es de 0.4%, en cambio para *psb* se ubica en 2.2%. La distancia no corregida ("p") en el marcador 23S, entre los individuos de Japón y los de California de la cepa invasora fue de 0-0.1%, de igual manera la correspondiente entre los individuos del clado nativo (California-México) se ubicó en los mismos intervalos (0-0.1%). Las distancias genéticas inter-especie se ubican en 6% para el marcador 23S y para *psb* se ubican en 25%.

DISCUSIÓN

Las divergencias en otros marcadores se encuentran en un 14% máximo para inter-especie y 0.7-0.8% intra-especie con *rbcl* (Verbruggen *et al.*, 2007; Verbruggen & Costa, 2015) mientras que en *tufA* oscila entre 6-22%, para este mismo marcador, a nivel intra-especie, oscila entre 0.9-1.5% (Lee & Kim, 2015; Verbruggen & Costa, 2015). Como se puede observar, *tufA* posee niveles más altos de divergencia que *rbcl* al igual que 23S en este estudio, no así con respecto a *psb*. Como se mencionó arriba, las topologías de 23S y *psb* en este estudio son congruentes; sin embargo la dificultad para amplificar y alinear los fragmentos de *psb* sugiere que 23S es un mejor candidato para contrastar con *tufA*, que se ha sugerido puede ser el marcador de barras universal para algas marinas (Saunders & Kucera, 2010) o para el género *Codium* (Verbruggen & Costa, 2015).

Provan *et al.* (2005) demostraron que la variabilidad genética entre los clados que se pueden diferenciar en *C. fragile* es muy baja y postularon que quizá esto se debe al efecto fundador sufrido durante la invasión, cuando menos en las poblaciones que han arribado al Mediterráneo. Los resultados de distancias genéticas aquí presentadas en dos marcadores diferentes, 23S y *psb*, a los estudiados por Provan *et al.* (2005), demuestran que estas distancias no son comparables a las existentes entre especies y por lo tanto se diría que se trata de entidades infra específicas hasta cierto punto geográficamente discretas. En general, se ha considerado que las áreas que poseen la más alta diversidad son las áreas de origen del taxón involucrado (Briggs, 1974);

sin embargo, esto no ha sido contrastado con estudios filogenéticos en la mayoría de los organismos y sobretodo, en el grupo de las macroalgas marinas. Dos de las muchas preguntas importantes que surgen de este caso, como en muchos otros son: ¿cuál es el área de origen del taxón y cuáles son los tiempos de divergencia en este grupo? (Ilves & Taylor, 2008). Silva (1955) especuló que el origen de *C. fragile* podría ser Japón, pues todas las subespecies reconocidas, en ese entonces, tenían representantes en esa región; por ende, las regiones con mayor diversidad son las áreas de origen de los taxa, como se mencionó líneas arriba. Aunado a esto y de acuerdo con las teorías del origen de la diversidad tropical, la mayoría de las especies acuáticas proceden de los centros de mayor diversidad en el Indo Pacífico, de un área en específico conocida como el Triángulo Coral (Bowen *et al.*, 2013) y aunque también es posible una radiación en la dirección contraria, parecería que en *Codium* es poco probable. En cuanto a la divergencia y en esa misma línea de pensamiento, todas las poblaciones del Pacífico norte comparten un solo haplotipo, a excepción de las de California y México (Provan *et al.*, 2008), demostrando una gran homogeneidad. Entonces, ¿estos últimos derivan de la subespecie *C. fragile* subsp. *fragile* pero se han "naturalizado" y ahora son nativos? *Codium fragile* subsp. *fragile* se localiza en ambientes de aguas tranquilas y con poco movimiento y quizá por dispersión, poblaciones se establecieron en ambientes diferentes dando origen a las subespecies *C. fragile californicum* y *C. fragile mexicanum*. ¿No podrían ser posteriores a la introducción de la invasora? De otra manera tendríamos que formular una hipótesis diferente: Los haplotipos americanos alcanzaron estas costas de manera

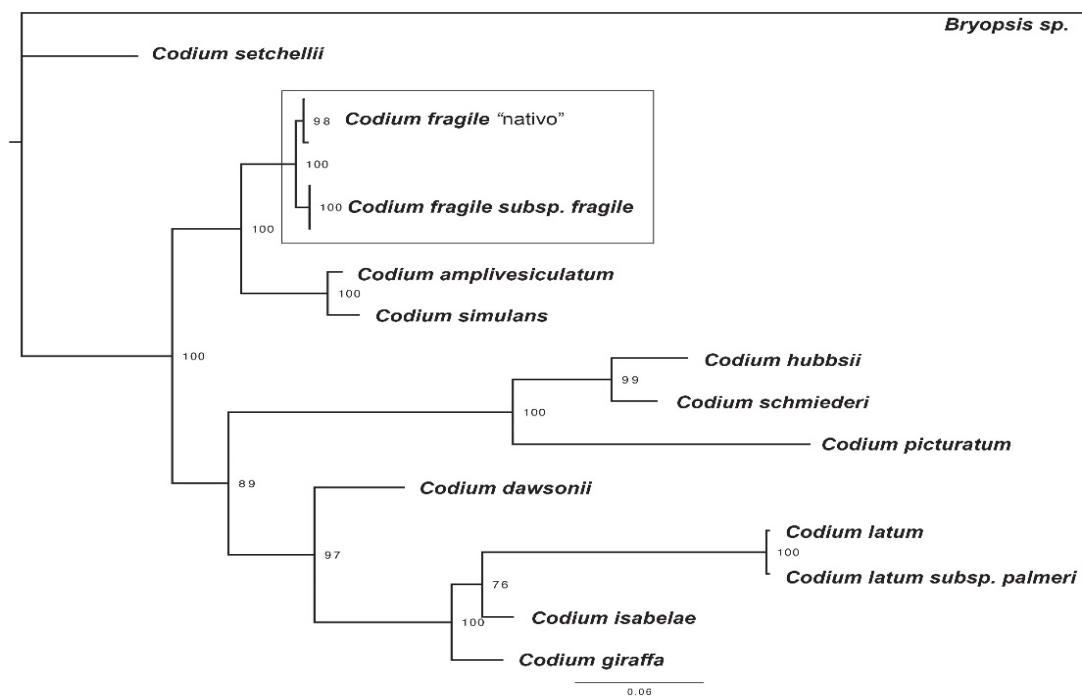


Figura 3. Hipótesis filogenética recuperada con la información combinada (concatenada) de los marcadores 23S y *psb*. La historia evolutiva se dedujo utilizando el método de inferencia bayesiana en MrBayes v3.2 (Ronquist *et al.*, 2012), definiéndose $nst = 6$ y $rates = invgamma$ para la partición molecular, el número de generaciones fue de 10 millones y se descartó una fracción de 25%. La desviación estándar media de las frecuencias indicó que las muestras de los árboles se volvieron cada vez más parecidas y que se alcanzó una distribución estacionaria (split frequency = 0.000525). Los números en las ramas representan valores de probabilidades posteriores en porcentaje. El recuadro indica el clado *Codium fragile*.

histórica e independiente de *C. fragile* subsp. *fragile*, que arribó por la intervención humana ¿Cuál es la relación histórica de estos taxones? Recordemos que con los marcadores empleados en el presente trabajo no hay diferencias entre algunas de las poblaciones californianas y las mexicanas. Una alternativa de análisis podría ser implementar el método de ML propuesto por Ree *et al.* (2005) que consideran una evaluación de los caracteres ancestrales, incorporando tiempos de divergencia conocidos; por ejemplo, calibrándolos con el origen del mar de Japón hace casi 15MA y la dispersión desde ahí hacia el Pacífico este. Esta aproximación ha dado resultados interesantes en el estudio de la distribución de algunos peces (Ilves & Taylor, 2008) en donde se ha demostrado el origen occidental de la diversificación.

Así, el taxón conocido como *C. fragile* subsp. *fragile* es originario de Japón, cuando menos su nombre, y por lo tanto su presencia en América y en particular en México se consideraría una invasión; sin embargo, en México y con las investigaciones hasta ahora realizadas, se confirma la presencia de un haplotipo diferente que corresponde quizá a lo que se denomina *C. fragile* subsp. *mexicanum*. Un haplotipo diferente al de California (*C. fragile* subsp. *californicum* (J. Agardh) Magss) según algunos autores (Provan *et al.*, 2008) y reconocido morfológicamente como existente desde hace algún tiempo (Silva, 1951, 1979), aunque los análisis de *psb* y 23S, aquí presentados, no reconocen diferencias entre los individuos de USA y México pertenecientes a este haplotipo. De esta manera, es posible que todos los registros mexicanos sean representativos de la subespecie *C. fragile* subsp. *mexicanum*.

Uno de los retos más importantes en el estudio de las invasiones es distinguir entre los patrones, que son los momentos temporales de que disponemos, de aquellos procesos que han llevado a la presencia de ciertas especies en lugares en donde presumiblemente no se encontraban. Por medio de los patrones podemos identificar presencias, pero ¿cómo determinar procedencias y la posibilidad de evolución posterior a la colonización (proceso) de especies no nativas? Poco se sabe sobre que tan rápido evolucionan las poblaciones que colonizan nuevos ambientes (Cox, 2004); algunos estudios han demostrado que estos espacios promueven una especiación rápida como resultado de una adaptación divergente, pues el aislamiento reproductivo puede actuar en solo unas pocas generaciones, o puede requerir una acumulación larga y gradual (Hendry *et al.*, 2000). Sabemos que las oportunidades para el aislamiento alopatrico son menores en los océanos, lo que deja mayores oportunidades para la especiación a lo largo de los límites ecológicos y en la medida en que la dispersión y el flujo de genes influyen en la especiación, el proceso no puede ser el mismo en tierra y mar o cuando menos debe trabajar en gran medida, a diferentes escalas (Bowen *et al.*, 2013). Estudios más amplios, de las poblaciones en Baja California e incorporando al marcador *tuA*, bridarán información sobre la situación genética de nuestras poblaciones, pero sobre todo sobre su historia evolutiva.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Bob Andersen, Dick Moe y Kathy A. Miller por su ayuda y discusión sobre aspectos de taxonomía y nomenclatura en esta fascinante especie. G. Hansen por el envío de material de Oregón, USA. Parte de este trabajo se realizó gracias al convenio UC MEXUS-CONACYT Colaborative Grants en el proyecto "Monographic studies of the marine green algal genus *Codium* in California and Pacific Mexico" A la Dra. Gloria Garduño y a un revisor anónimo que con sus comentarios al texto enriquecieron notablemente esta contribución.

REFERENCIAS

- AGUILAR-ROSAS, L., F.F. PEDROCHE & J. ZERTUCHE. 2014. Macroalgas marinas introducidas en la costa del Pacífico de México. Estado actual. In: Low-Pfeng, A.M., P.A. Quijón & E.M. Peters-Recagno (eds.). *Especies invasoras acuáticas: casos de estudio en ecosistemas de México*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático y University Prince Edward Island, pp. 81-117.
- BLACKBURN, T.M., F. ESSL, T. EVANS, P.E. HULME, J.M. JESCHKE, I. KÜHN, S. KUMSCHICK, Z. MARKOVÁ, A. MIRUGALA, W. NENTWIG, J. PERGL, P. PYŠEK, W. RABITSCH, A. RICCIARDI, D.M. RICHARDSON, A. SENDEK, M. VILÀ, J.R.U. WILSON, M. WINTER, P. GENOVESI & S. BACHER. 2014. A unified classification of alien species based on the magnitude of their environmental impacts. *PLoS Biology* 12(5):e1001850-1001811. DOI:10.1371/journal.pbio.1001850
- BOWEN, B.W., L.A. ROCHA, R.J. TOONEN & S.A. KARL. 2013. The origins of tropical marine biodiversity. *Trends in Ecology & Evolution* 28:359-366.
- BRIGGS, J.C. 1974. *Marine zoogeography*. McGraw-Hill, New York. 475 p.
- BRODIE, J., C.A. MAGGS & D.M. JOHN. 2007. *Green seaweeds of Britain and Ireland*. British Phycological Society, London. 250 p.
- CABI (CENTRE FOR AGRICULTURAL BIOSCIENCE INTERNATIONAL). 2021. Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. Available online at: www.cabi.org/isc. (downloaded September 3, 2021).
- COLLINS, F.S. 1909. The green algae of North America. *Tufts College Studies (Science)* 2:79-480.
- CONABIO (COMISIÓN NACIONAL PARA CONOCIMIENTO Y USO DE LA BIODIVERSIDAD). 2021. Especies exóticas invasoras. Ciudad de México. Disponible en línea en: <https://enciclovida.mx/exoticas-invasoras> (consultado el 3 septiembre 2021).
- COX, G.W. 2004. *Alien species and evolution: the evolutionary ecology of exotic plants, animals, microbes, and interacting native species*. Island Press, Washington. 377 p.
- DARRIBA, D., G.L. TABOADA, R. DOALLO & D. POSADA. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9:772.
- GUINDON, S. & O. GASCUEL. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by Maximum Likelihood. *Systematic Biology* 52:6 96-704. DOI:10.1080/10635150390235520
- GUIRY, M.D. & G.M. GUIRY. 2021. AlgaeBase. World-wide electronic publication. National University of Ireland, Galway, City. Available online at: <https://www.algaebase.org/> (downloaded September 3, 2021).
- HENDRY, A.P., J.K. WENBURG, P. BENTZEN, E.C. VOLK & T.P. QUINN. 2000. Rapid evolution of reproductive isolation in the wild: Evidence from introduced salmon. *Science* 290:516-518. DOI:10.1126/science.290.5491.516
- HOLLENBERG, G.J. 1942. Phycological notes I. *Bulletin Torrey Botanical Club* 69:528-538.
- ILVES, K.L. & E.B. TAYLOR. 2008. Evolutionary and biogeographical patterns within the smelt Genus *Hypomesus* in the North Pacific Ocean. *Journal of Biogeography* 35:48-64. DOI:10.1111/j.1365-2699.2007.01782.x

- INA (INDEX NOMINUM ALGARUM). 2020. University Herbarium, University of California, Berkeley. Consultado por P. C. Silva. Available online at: <http://ucjeps.berkeley.edu/CPD/> (downloaded September 10, 2021).
- KUMAR, S., G. STECHER, M. LI, C. KNYAZ & K. TAMURA. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35:1547-1549.
- LEE, H.W. & M.S. KIM. 2015. Species delimitation in the green algal genus *Codium* (Bryopsidales) from Korea using DNA barcoding. *Acta Oceanologica Sinica* 34:114-124.
- MADDISON, W.P. & D.R. MADDISON. 2019. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.61 <http://www.mesquiteproject.org>
- MILLER, K.A., L.E. AGUILAR-ROSAS & F.F. PEDROCHE. 2011. A review of non-native seaweeds from California, USA and Baja California, Mexico. *Hidrobiológica* 21:365-379.
- OKOLODKOV, Y.B., R. BASTIDA-ZAVALA, A.L. IBAÑEZ, J.W. CHAPMAN, E. SUAREZ-MORALES, F.F. PEDROCHE & F. GUTIERREZ-MENDIETA. 2007. Especies acuáticas no indígenas en México. *Ciencia y Mar* XI:29-67.
- PEDROCHE, F. F. 2001. Estudios filogenéticos del género *Codium* (Chlorophyta) en el Pacífico mexicano. Uso de ADN mitocondrial. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas* 47:109-123.
- PEDROCHE, F.F., P.C. SILVA & M. CHACANA. 2002. El género *Codium* (Codiaceae, Chlorophyta) en el Pacífico de México. In: Senties, A. & K. M. Dreckmann (eds.). *Monografías Ficológicas*. México DF, pp.11-74.
- PEDROCHE, F.F., P.C. SILVA, L. AGUILAR-ROSAS, K.M. DRECKMANN & R. AGUILAR-ROSAS. 2005. *Catálogo de las algas marinas bentónicas del Pacífico de México. I. Chlorophycota*. UAM, UABC, UC Berkeley, Ensenada. 136 p.
- PROVAN, J., D. BOOTH, N.P. TODD, G.E. BEATTY & C.A. MAGGS. 2008. Tracking biological invasions in space and time: elucidating the invasive history of the green alga *Codium fragile* using old DNA. *Diversity and Distributions* 14:343-354. DOI:10.1111/j.1472-4642.2007.00420.x
- PROVAN, J., S. MURPHY & C.A. MAGGS. 2005. Tracking the invasive history of the green alga *Codium fragile* ssp. *tomentosoides*. *Molecular Ecology* 14:189-194. DOI:10.1111/j.1365-294X.2004.02384.x
- RAMBAUT, A. 2018. *Figtree 1.4.3*. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>.
- REE, R.H., B.R. MOORE, C.O. WEBB & M.J. DONOGHUE. 2005. A likelihood framework for inferring the evolution of geographic range on phylogenetic trees. *Evolution* 59:2299-2311. DOI:10.1111/j.0014-3820.2005.tb00940.x
- RONQUIST, F., M. TESLENKO, P. VAN DER MARK, D.L. AYRES, A. DARLING, S. HÖHNA, B. LARGET, L. LIU, M.A. SUCHARD & J.P. HUELSENBECK. 2012. MrBayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61:539-542. DOI:10.1093/sysbio/sys029
- RUENESS, J. 1989. *Sargassum muticum* and other introduced Japanese macroalgae: Biological pollution of European coast. *Marine Pollution Bulletin* 20: 173-176. DOI:10.1016/0025-326X(89)90488-8
- SAUNDERS, G.W. & H. KUCERA. 2010. An evaluation of *rbcl*, *tufA*, *UPA*, *LSU* and *ITS* as DNA barcode markers for the marine green macroalgae. *Cryptogamie, Algologie* 31:487-528.
- SEMARNAT (SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES). 2016. *Acuerdo por el que se determina la Lista de las Especies Exóticas Invasoras para México*. Diario Oficial de la Federación, Ciudad de México. DOF 07/12/2016.
- SILVA, P.C. 1951. The genus *Codium* in California with observations on the structure of the walls of the utricles. *University of California Publications in Botany* 25:79-114.
- SILVA, P.C. 1955. The dichotomous species of *Codium* in Britain. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 34:565-577.
- SILVA, P.C. 1979. The benthic algal flora of central San Francisco Bay. In: Conomos, T.J. (ed.). *San Francisco Bay: the urbanized estuary*. Pacific Division, American Association for the advancement of Science, San Francisco, California, pp. 287-345.
- STECHER, G., K. TAMURA & S. KUMAR. 2020. Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) for macOS. *Molecular Biology and Evolution* 37(4):1237-1239. DOI:10.1093/molbev/msz312
- SWOFFORD, D.L. 2001. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- TAMURA, K. & M. NEI. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10:512-526.
- THIERS, B. 2021. *Index Herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff*. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Available online at: <http://sweetgum.nybg.org/science/ih/> (downloaded August 28, 2021).
- TROWBRIDGE, C.D. 1996. Introduced versus native subspecies of *Codium fragile*: how distinctive is the invasive subspecies *tomentosoides*? *Marine Biology* 126: 193-204.
- TUFIÑO-VELÁZQUEZ, R.C. & F.F. PEDROCHE. 2019. Las especies del género *Bryopsis* (Chlorophyta) presentes en las costas del Atlántico mexicano. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 90:e902679. DOI:10.22201/ib.20078706e.2019.90.2679
- VAZ-PINTO, F., I. RODIL, F. MINEUR, C. OLABARRIA & F. ARENAS. 2014. Understanding biological invasions by seaweeds. In: Pereira L. & J.M. Neto (eds.). *Marine algae: biodiversity, taxonomy, environmental assessment and biotechnology*. CRC Press, Boca Raton, pp. 140-177.
- VERBRUGGEN, H. & J.F. COSTA. 2015. Molecular survey of *Codium* species diversity in southern Madagascar. *Cryptogamie, Algologie* 36:171-187.
- VERBRUGGEN, H., F. LELIAERT, C.A. MAGGS, S. SHIMADA, T. SCHILS, J. PROVAN, D. BOOTH, S. MURPHY, O. DE CLERCK, D.S. LITTLER, M.M. LITTLER & E. COPPEJANS. 2007. Species boundaries and phylogenetic relationships within the green algal genus *Codium* (Bryopsidales) based on plastid DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44:240-254.
- VERBRUGGEN, H., M.J.L. BROOKES, J.F. COSTA. 2017. DNA barcodes and morphometric data indicate that *Codium fragile* (Bryopsidales, Chlorophyta) may consist of two species. *Phycologia* 56:54-62. DOI:10.2216/16-54.1
- WHEELER, T.J. & J.D. KECECIOGLU. 2007. Multiple alignments by aligning alignments. *Bioinformatics* 23:i559-i568.