



# Los géneros *Grateloupia* y *Phyllymenia* (Rhodophyta:Halymeniales) en la costa uruguaya: aspectos florísticos, taxonómicos, filogenéticos, biológicos y ecológicos

Trabajo final de la Licenciatura en Ciencias Biológicas

Ariel de León-Mackey



Orientadora: Dra. Gabriela Vélez-Rubio

Coorientadora: Dra. Claudia Piccini

Tribunal: Dra. Carla Kruk, MSc. Fabrizio Scarabino y Dra. Liliana Quartino

## Índice

<b>Agradecimientos</b>	3
<b>Resumen</b>	5
<b>Introducción</b>	7
Macroalgas marinas	7
El género <i>Grateloupia</i>	7
Metodologías de identificación de especies	9
Invasiones biológicas	9
<b>Materiales y métodos</b>	12
Revisión bibliográfica	12
Obtención de muestras	12
Análisis morfológicos	12
Análisis de caracteres moleculares	12
Análisis biológico y ecológico de <i>G. turuturu</i>	17
<b>Resultados</b>	18
Registros históricos del género <i>Grateloupia</i> en Uruguay	18
Caracterización morfológica	21
Identificación en base a la información de marcadores moleculares	24
Biología y ecología de <i>Grateloupia turuturu</i> en Uruguay	31
<b>Discusión</b>	37
<i>Grateloupia</i> en Uruguay	37
<i>Grateloupia cuneifolia</i>	37
<i>Grateloupia filicina</i>	39
<i>Grateloupia turuturu</i>	40
<i>Grateloupia turuturu</i> como especie exótica invasora	41
Consideraciones finales y perspectivas	43
<b>Referencias Bibliográficas</b>	44
<b>Anexo A: Imágenes de los ejemplares depositados en el herbario del MNHN en este estudio</b>	51
<b>Anexo B: Imágenes de ejemplares del género <i>Grateloupia</i> del herbario del MACN</b>	60
<b>Anexo C: Imágenes de algunos ejemplares de <i>Grateloupia</i> de museos internacionales</b>	63
<b>Anexo D: Resúmenes de trabajos presentados en congresos internacionales con resultados de este estudio</b>	65

## **Agradecimientos**

Primero agradecer a mis tutoras, Claudia y Gabi, que me guiaron en todo el proceso. Agradezco las enseñanzas que puede traer cualquier conversación con ellas, y que antes de ser tremendas tutoras y científicas, son tremendas personas, lo cual valoro muchísimo.

A Fabri y Carla por todos los comentarios y la ayuda en el proceso de la tesis.

A Liliana Quartino por darnos acceso a las algas uruguayas del MACN y por la disposición para ser parte del tribunal de esta tesis y a Andrea Coradeghini, también por facilitar acceso al material estudiado.

Al equipo del Departamento de Microbiología del IIBCE, que siempre estuvieron atentas y atentos a ayudarme cuando andaba medio perdido en el laboratorio.

A la Armada Nacional por ceder acceso a la zona de estudio en La Paloma.

Al MNHN y a Meica Valdivia por su disposición y la ayuda en el herbario.

A mis padres, que siempre apoyaron mi locura de ser biólogo marino (desde niño) sin decirme que estaba loco. Sin ellos esto no hubiese sido posible.

A Mateo, el director de nuestras pelis y gran compañero de viajes. Por siempre estar para ir al agua.

A Mimi, que me dejó ocuparle la casa trayendo amistades y conversaciones con temáticas tan variadas, desde “este chico Darwin” con su teoría de la evolución hasta el origen del tango. Siempre atenta y ayudándome con las cosas y los asuntos...

Al Sapo, Misi y los primates (“Los primos más amigos”), que me bancaron en mis años montevideanos. Al Sapo por las enseñanzas en mecánica de bicicletas, aeronáutica, cine, música, y muchísimo más.

Al Mau, Nano y Samu por acompañarme las salidas celebratorias post examen y por ser mis guías de Montevideo.

A Marcelo, Andrea, Cata y Dino por los cafecitos en la tarde, las cenas y por siempre estar para pasar a visitar y reír.

A las amistades que hice en FCIEN y las miles de experiencias que viví con ellos. Al Leo por ser mi compadre a lo largo de la carrera. A Gabo, Romito, Juan, Luca, Juani, Jana, Andy, Guille, Avi, Vale, Santi, Brillito, Ceci, Sara, Mateo, Adri, la PaleoFamilia, el C-100 y tantos más. Encontrarlos fue de lo más lindo que me ha pasado.

A las tías. There are no words to describe how thankful I am for all your support and love.

A Lara por ser catalizadora de la decisión de mudanza a La Paloma. Por agitar para las idas al agua y acompañarme en la vida palomense.

A Mai. Gracias por acompañarme en el amor por el mar, por ser mi compañera oceanográfica, de viajes y de vida (¡y por ayudarme a ser más expeditivo!).

A Grandma y Grampa, desde que era chico alimentaron mi curiosidad por la naturaleza y mi creatividad, desde atrapar renacuajos y salamandras conmigo en el laguito, hasta ayudarme a convertir su casa en el fondo del mar con papel y pintura.

Agradezco a las instituciones que financiaron dos proyectos de investigación gracias a los que se pudo realizar esta tesis; el Fondo Vaz Ferreira II/FVF/2019/25 (Dirección Nacional de Innovación, Ciencia y Tecnología del Ministerio de Educación y Cultura) y el proyecto 24957-B de *Rufford Small Grants*.

A la Facultad de Ciencias y a la Universidad de la República por darme la oportunidad de estudiar y convertirme en lo que siempre quise ser.

## Resumen

Las Macroalgas cumplen funciones fundamentales para ecosistemas marinos y costeros, además de tener usos prácticos para la humanidad. La costa atlántica de Uruguay presenta comunidades de macroalgas en todas sus puntas rocosas. Dentro de las mismas se encuentran ejemplares del género *Grateloupia* C. Agardh, conocido en parte por poseer diversidad críptica y pseudo-críptica. En el año 2015 se observa e identifica morfológicamente por primera vez en la localidad de La Paloma, Rocha, a *Grateloupia turuturu* Yamada. Esta alga, originaria de Japón y Corea, ha sido reportada como exótica invasora en varias regiones del mundo. Presenta morfología variable, similar a las otras dos especies del género anteriormente registradas para Uruguay: *Grateloupia cuneifolia* J. Agardh y *Grateloupia filicina* (J. V. Lamouroux) C. Agardh. Debido a la difícil separación morfológica de estas especies es importante incorporar análisis moleculares para reafirmar su identificación. Los genes *rbcL* cloroplástico y *COI* mitocondrial son marcadores comúnmente utilizados en macroalgas para esto. En este estudio se identificaron morfológica y molecularmente ejemplares del género en aguas uruguayas muestreados del 2016 al 2021, incluyendo una revisión de la información histórica disponible y un análisis ecológico de la población de *G. turuturu* en la Bahía Grande de La Paloma. Se confirmó molecularmente la presencia de dos especies de *Grateloupia* y una especie del género *Phyllymenia* J. Agardh en Uruguay. Los ejemplares uruguayos de *G. turuturu* mostraron mayor convergencia genética con ejemplares del rango nativo que con los ejemplares de Brasil, indicando que el vector de entrada posiblemente no haya sido Brasil, como se hipotetizaba. Las otras dos especies presentaron registros desde al menos 1925. Probablemente, el alga registrada como *G. cuneifolia* pertenezca al género *Phyllymenia*. El alga identificada aquí como *G. cf. filicina* forma un clado con algas molecularmente divergentes, pero asociadas al mismo nombre, indicando la necesidad de más estudios para clasificarla correctamente. Se encontró a *G. turuturu* creciendo a lo largo del intermareal rocoso de la Bahía Grande, con presencia de individuos fértiles durante todo el año, indicando un establecimiento del alga en la zona. La combinación de técnicas confirmó la presencia y establecimiento de una especie invasora (*G. turuturu*), la presencia de una especie con una nomenclatura distinta a la utilizada históricamente (*Phyllymenia* sp.) y otra que puede considerarse criptogénica (*G. cf. filicina*). La aplicación de estas técnicas es una herramienta efectiva para la detección de posibles algas exóticas en el país. Perspectivas a futuro incluyen estudios en mayor detalle para confirmar la taxonomía de *P. cuneifolia* y *G. cf. filicina*, y para confirmar el vector de llegada de *G. turuturu* a Uruguay y sus posibles efectos en la comunidad del intermareal rocoso



## Introducción

### Macroalgas marinas

Las macroalgas cumplen funciones fundamentales en la ecología de ambientes marinos y costeros, como son la producción primaria, la provisión de refugio para otras especies, la formación de arrecifes y la modulación de los ciclos de nutrientes (Wahl 2009). Asimismo, presentan un valor cultural y económico importante, desde el alimentario, medicinal y cultural para muchas comunidades costeras alrededor del mundo, hasta su utilización a nivel industrial y farmacéutico (Ferdouse et al. 2018; Leandro et al. 2019).

La costa atlántica de Uruguay presenta comunidades de macroalgas sobre todas sus puntas rocosas, siendo parte de una bioregión de interconexión entre la ficoflora tropical y la subantártica (Coll & Oliveira 1999). Esto refleja las condiciones físicas de la región, que se puede describir como una zona de transición biogeográfica y ecológica debido a la interconexión compleja de corrientes y masas de agua que la afectan. Las aguas costeras subantárticas y subtropicales, que interactúan entre sí y con la descarga del Río de la Plata, dan lugar a variaciones de temperatura y salinidad a distintas escalas temporales y espaciales (Guerrero et al. 2003; Piola et al. 2004). Estas características generan un sistema propicio para el estudio de procesos subyacentes de los patrones de diversidad (Scarabino et al. 2016). En el litoral rocoso del atlántico uruguayo se encuentran una variedad de especies de los tres principales grupos algales: Rhodophyta (algas rojas) con la mayor riqueza, seguido por Chlorophyta (algas verdes) y en menor proporción las Phaeophyceae (algas pardas). Los taxones que presentan mayor biomasa incluyen al complejo *Ulva* spp. (Chlorophyta), *Jania* spp., *Corallina officinalis*, *Grateloupia* spp. y en menor proporción, *Cryptopleura ramosa*, *Pterocladia capillacea* y *Polysiphonia* spp. (Rhodophyta). Otras algas frecuentes a lo largo del intermareal son: *Porphyra/Pyropia* spp. y *Cladophora* sp. en el intermareal alto, *Chondracanthus teedei*, *Hypnea musciformis* y *Chondria atropurpurea* en el intermareal medio, y *Amphiroa* spp. en el intermareal bajo (González-Etchebehere et al. 2017; Vélez-Rubio et al. 2021).

### El género *Grateloupia*

El género *Grateloupia* C. Agardh, es el más diverso dentro de la familia de algas rojas Halymeniaceae, con aproximadamente 97 especies reconocidas hasta el momento (Guiry & Guiry 2022), distribuidas alrededor del mundo desde los trópicos hasta aguas templadas. Presentan morfologías de talo generalmente ramificadas, que van desde talos foliosos a comprimidos y desde lineares a lanceolados, con una consistencia generalmente cartilaginosa. El género se caracteriza a nivel histológico en parte por presentar células estrelladas en el córtex interno de individuos vegetativos y fértiles, y por la presencia de tetraesporangios cruciados distribuidos en el córtex a lo largo de todo el talo en fase tetraesporofítica (Guiry & Guiry 2022).

En la costa de Uruguay hasta el momento se han identificado morfológicamente tres especies del género *Grateloupia* (González-Etchebehere et al. 2017, Vélez-Rubio et al. 2021). Están registradas *Grateloupia cuneifolia* J. Agardh y *Grateloupia filicina* (J. V. Lamouroux) C. Agardh, que han sido reconocidas allí desde hace décadas (Coll 1976; Coll & Olivera 1999) y son consideradas nativas. Recientemente se identificó por sus rasgos morfológicos a *Grateloupia turuturu* Y. Yamada (González-Etchebehere et al.

2017; Vélez-Rubio et al. 2019a), especie exótica en diversas regiones del mundo (Gavio & Fredericq 2002; D'Archino et al. 2007; Mathieson et al. 2007; Azevedo et al. 2015; Petrocelli et al. 2020) (Figura 1). Esta última se encontró por primera vez en octubre del 2015 sobre una barca en el puerto de La Paloma, Rocha (Vélez-Rubio et al. 2019a). Es un alga de gran porte comparada con otras del intermareal rocoso de Uruguay, llegando a superar un metro de largo (obs. pers.). Además, tiene una gran tolerancia a amplios rangos de salinidad, temperatura y concentraciones de nutrientes (Simon et al. 1999; 2001; Harlin & Villalard-Bohnsack 2001; Liu & Pang 2010).



**Figura 1:** Mapa indicando la distribución actual del alga *Grateloupia turuturu* en el mundo. Las regiones marcadas en verde representan el rango nativo y las regiones en rojo indican las áreas costeras de países/estados donde se ha reportado como introducida. Costa uruguayana en negro. Mapa hecho con datos de distribución tomados de Petrocelli et al. (2020).

Las especies dentro de este género históricamente han sido difíciles de identificar por la gran variabilidad morfológica intraespecífica y la similitud interespecífica de estructuras macroscópicas, observándose cierto grado de diversidad críptica o pseudo-críptica (De Clerck et al. 2005a). Las especies consideradas crípticas se consideran como especies morfológicamente idénticas, aunque presenten suficiente variabilidad genética entre ellas para considerarse especies separadas. Asimismo, las especies pseudo-crípticas son aquellas que superficialmente son muy similares, pero que en mayor detalle (o en ciertos estadios de su ciclo de vida) se puedan diferenciar morfológicamente (Knowlton 1993; Lajus et al. 2015). Esta dificultad en la caracterización taxonómica conlleva naturalmente a confusiones en la identificación mediante caracteres morfológicos. Un ejemplo de esto es lo ocurrido con *Grateloupia doryphora* (Montagne) M. Howe, una especie descrita en la costa de Perú, presente a lo largo del océano Pacífico sudamericano, que se clasificó como exótica e invasora en partes de Europa y la costa oriental de Estados Unidos desde la década del 1970. Con respaldo de análisis molecular, se pudo identificar correctamente y se estableció que los ejemplares allí encontrados pertenecían a la especie *Grateloupia turuturu* Yamada, originaria de Japón y morfológicamente similar (Gavio & Fredericq 2002). La taxonomía del género y del grupo de géneros cercanos a *Grateloupia* ha sido relativamente cambiante a lo largo de los años. Por ejemplo, los géneros *Pachymeniopsis* Yamada ex Kawabata, *Prionitis* J. Agardh, *Dermocorynus* P. Crouan & H. Crouan y *Phyllymenia* J. Agardh fueron considerados sinónimos

de *Grateloupia* en base a características moleculares a principios de la década del 2000 (Kawaguchi 1997; Wang et al. 2001; De Clerck et al. 2005b; Wilkes et al. 2005). Posteriormente, en base a las estructuras reproductivas sumadas a una nueva interpretación de los resultados moleculares se los volvió a considerar géneros independientes (Gargiulo et al. 2013).

### Metodologías de identificación de especies

La metodología de caracterización morfológica ha sido la principal herramienta de identificación de especies de macroalgas en Uruguay y en el mundo, ya sea a nivel histórico como actual (ej. Coll 1976; Raffo et al. 2014; González-Etchebehere et al. 2017). Es una manera efectiva de identificar taxones que presentan diferencias morfológicas definibles. Sin embargo, cuando se trabaja con taxones crípticos (como es el caso de muchas especies del género *Grateloupia*), el uso exclusivo de esta metodología puede perder fiabilidad (Saunders 2005).

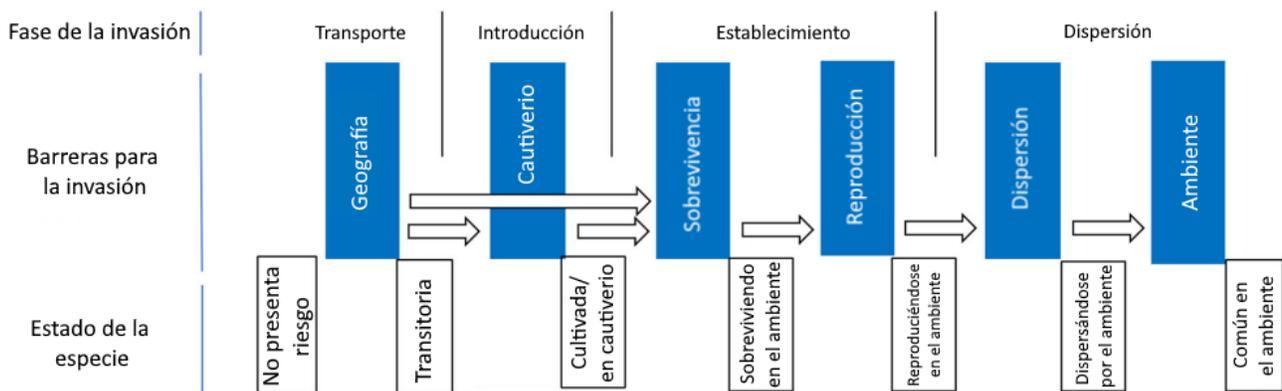
Es de importancia para la taxonomía integrar distintas metodologías de identificación con la morfológica para mejorar la calidad de descripción e identificación de especies (Padial et al. 2010). La metodología que se integra comúnmente es el uso de caracteres moleculares (por ej. secuencias genéticas). Para ello, una de las aproximaciones metodológicas más empleadas es la denominada *DNA Barcoding* (Herbert et al. 2003), que consiste en el análisis de secuencias pertenecientes a regiones de uno o más genes que por sus características evolutivas portan información taxonómica. Cada secuencia se considera única, caracterizando al individuo estudiado, y la comparación de varias secuencias de distintos individuos se utiliza para inferir las relaciones filogenéticas entre ellos, dependiendo de la tasa de cambio del marcador seleccionado (Nei & Kumar 2000).

Uno de los marcadores más utilizados para la reconstrucción de relaciones filogenéticas en plantas vasculares a nivel de órdenes, familias y géneros es el gen cloroplástico *rbcL*, que codifica para la subunidad grande de la ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa (conocida también como RuBisCo), la enzima que facilita la fijación de CO<sub>2</sub> durante la fotosíntesis (Chase et al. 1993). En los últimos años ha habido un aumento de su utilización en estudios de filogenia de algas rojas a nivel de especies (incluyendo especies de *Grateloupia*) debido a que estas algas poseen mayor variabilidad en este gen que las plantas vasculares (Freshwater et al. 1994; Yang et al. 2007; Azevedo 2016). Otras secuencias de utilidad para el análisis filogenético son los genes mitocondriales que codifican para las subunidades de la enzima citocromo oxidasa (*cox*), que se utilizan frecuentemente para la elaboración de filogenias animales y de algas rojas (Zuccarello et al. 1999a; Saunders 2005). La secuencia que codifica para la subunidad principal, *COI*, por ejemplo, es reconocida por tener una alta sensibilidad cuando se trata de la identificación de especies crípticas (Robba et al. 2006). Debido a la mayor variabilidad de este marcador, es recomendable utilizarlo en conjunto con marcadores menos variables, como es *rbcL*. La frecuente utilización de estas secuencias en trabajos de DNA barcoding y el éxito de bases de datos virtuales como *GenBank* (NCBI) y *Barcode of Life Database* (BOLD) han generado una extensa genoteca de ejemplares de todas las formas de vida, incluyendo secuencias de *Grateloupia* de alrededor del mundo.

### Invasiones biológicas

Las invasiones biológicas son una de las principales amenazas que afectan a la biodiversidad a escala global. El aumento de la frecuencia de estos acontecimientos está principalmente asociado al incremento de la conectividad humana y la tecnología relacionada al transporte (Molnar et al. 2008), y se predice que aumentarán aún más en las próximas décadas (Seebens et al. 2020; Mormul et al. 2022). Si bien es difícil predecir los efectos de una introducción biológica, las invasiones han sido causa de grandes pérdidas ecológicas y sociales que, en conjunto con otros factores como la degradación de hábitats, la contaminación y el cambio climático, llegan a dar lugar a grandes cambios en los ecosistemas afectados (Rilov & Crooks 2009).

La definición exacta de especie exótica invasora (EEI) es un tema en discusión, pero para este estudio se considerará que son especies exóticas que producen descendencia, generan poblaciones autosustentables y tienen el potencial para dispersarse a grandes distancias del sitio de introducción o de la población parental. Causan allí impactos severos sobre la diversidad biológica, amenazando los ecosistemas, hábitats y la salud humana, causando daños económicos directos y ambientales (CDB-Convenio de Diversidad Biológica) (Fig. 2). Cuando una especie no se puede definir como exótica pero tampoco como nativa debido a la falta de conocimiento acerca de su origen en la región estudiada, se la considera criptogénica (Carlton 1996).



**Figura 2:** Esquema integrado basado en Blackburn et al. (2011) y Robertson et al. (2020) visualizando el estado de las especies introducidas, dados por una serie de barreras que pueden ser superadas para llegar a las distintas fases en el proceso de invasión.

El desplazamiento de especies acuáticas por el medio marino también se ha acelerado en las últimas décadas gracias a la posibilidad del humano de atravesar largas distancias geográficas y a la creación de canales artificiales, donde el transporte es facilitado por la carga y descarga de agua de lastre de navíos, *fouling* o introducciones intencionales de especies para la acuicultura (Carlton 1985; Minchin & Gollasch 2002). En particular, en la región del Atlántico Sudoccidental el registro del número de introducciones marinas ha aumentado más de cuatro veces (unas 129 especies en total) en las últimas dos décadas. Esto se debe tanto a nuevas introducciones como al reconocimiento y reidentificación como exóticas a especies equívocamente registradas como nativas en el pasado (Schwindt et al. 2020).

En el intermareal rocoso, las comunidades bentónicas presentan numerosos registros de invasiones en todo el mundo, que van desde animales como moluscos y crustáceos (ej. McDermott 1998; Martínez

2011) hasta macroalgas (Nyberg & Wallentinus 2005). Las macroalgas representan el segundo taxón de especies exóticas más diverso en el Atlántico Sudoccidental, después de los crustáceos, con 20 especies, incluyendo *G. turuturu*, reportadas hasta el momento (Schwindt et al. 2020). Estas introducciones pueden llevar a una variedad de alteraciones, desde interacciones interespecíficas o cambios en la disponibilidad y en los ciclos de nutrientes hasta la reducción de biodiversidad nativa y extinciones, generando efectos irreversibles a largo plazo en estas comunidades (Carlton 2001; Casas et al. 2004; Pyšek et al. 2020). *G. turuturu* fue recientemente reconocida por el Comité de Especies Invasoras de Uruguay (<https://siecei.udelar.edu.uy/especies>), presentando un riesgo de invasión alto según análisis preliminares (Brazeiro et al. 2021; Vélez-Rubio et al. 2019b). A partir del año 2021 se están efectuando estudios sobre su variabilidad anual y el posible efecto en la comunidad de algas nativas en la costa de Rocha (Vélez-Rubio et al. en prep.). La correcta identificación de especies crípticas o pseudo-crípticas introducidas (como puede ser el caso de *G. turuturu*) es fundamental para evitar problemas en su eventual manejo, como la erradicación accidental de una especie nativa o la falta de acción a tiempo, dejando a la especie invasora afectar el sistema antes de conocer de su presencia (ej. Geller 1999).

La dificultad que reviste la identificación de algas del género *Grateloupia*, la escasa información existente acerca del género en el país y el reciente registro de una especie exótica (*G. turuturu*) genera incertidumbre a la hora de realizar la asignación taxonómica de ejemplares encontrados en la costa atlántica uruguaya. Más aún, la llegada de *G. turuturu* y su presencia en la mayoría de las puntas rocosas demuestra un posible establecimiento del alga. En base a estos antecedentes se espera que existan tres especies del género *Grateloupia* en el intermareal rocoso uruguayo, las cuales son distinguibles por sus características morfológicas y genéticas. Asimismo, es posible que *G. turuturu* haya superado las primeras etapas de una invasión biológica, encontrándose establecida en la costa de Rocha.

**El objetivo principal** de este trabajo es caracterizar a las tres especies de *Grateloupia* presentes en la costa atlántica uruguaya a nivel morfológico y molecular. Para ello se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Realizar una revisión histórica de la presencia del género en Uruguay
- Identificar a las especies del género utilizando caracteres morfológicos y moleculares (análisis filogenéticos de los marcadores COI y rbcL)
- Realizar una aproximación a la biología y ecología de *G. turuturu* con el fin de actualizar el conocimiento de su situación en la costa atlántica uruguaya

## **Materiales y métodos**

### Revisión bibliográfica

Se realizó una búsqueda de trabajos tanto actuales como históricos sobre el género *Grateloupia* en general, su presencia en la región y sobre especies invasoras de este género en motores web (*Google Scholar*, *SCOPUS*, *redalyc*, *Biodiversity Heritage Library*). Debido a la falta de bibliografía histórica en la web se prestó particular consideración a las referencias mencionadas en trabajos taxonómicos y florísticos clásicos, obtenidos a través del Museo Nacional de Historia Natural (MNHN, Montevideo) y de museos internacionales, generando una base de datos de los registros históricos de ejemplares del género *Grateloupia* en Uruguay.

### Obtención de muestras

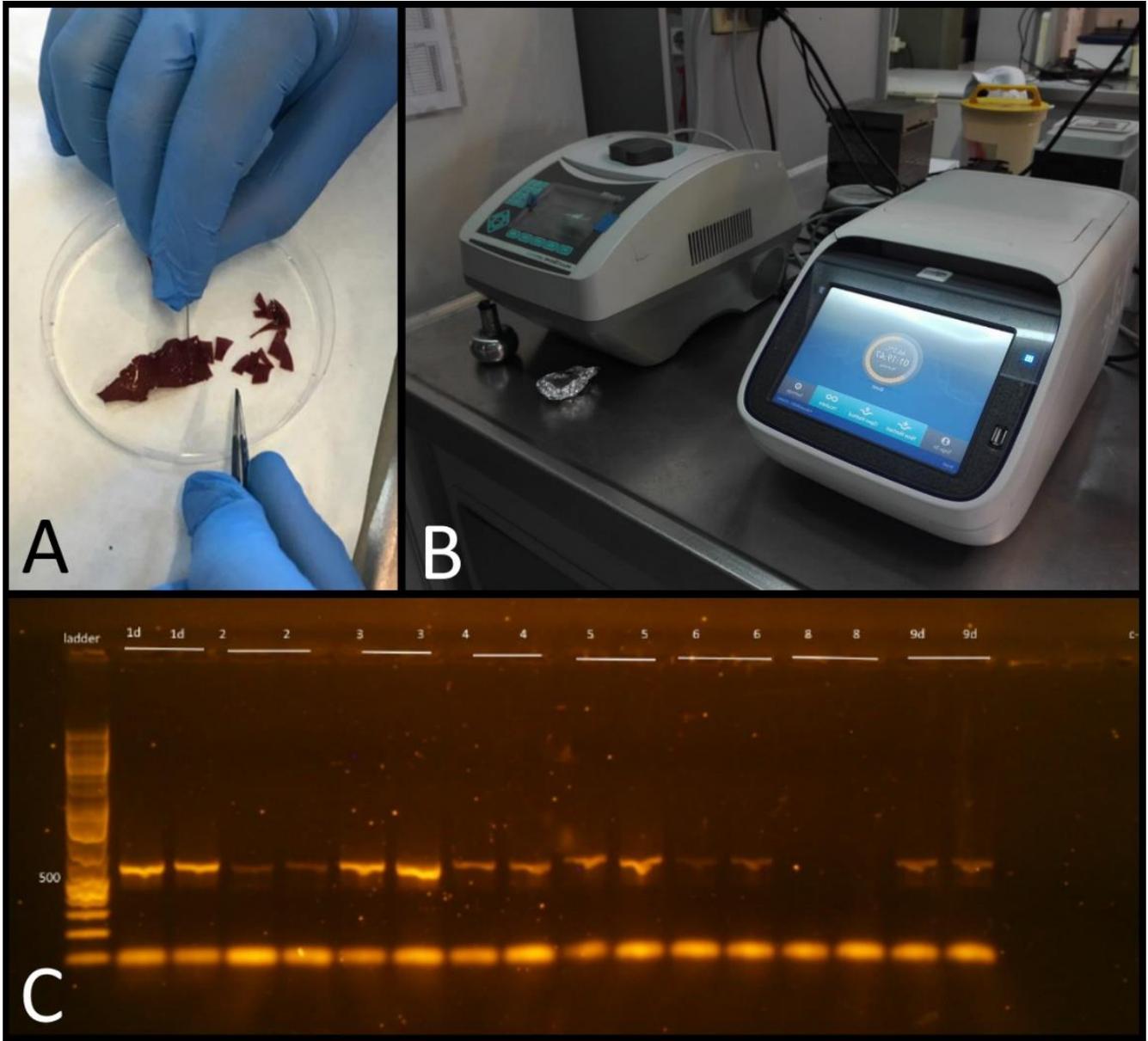
Los ejemplares utilizados para el estudio genético y morfológico provienen de muestreos sistemáticos de las comunidades de macroalgas que se realizan desde el año 2015 por el grupo Macroalgas Marinas de Uruguay (GMMU) (<https://macroalgas.webnode.com.uy/>). Se revisaron además las muestras herborizadas del género *Grateloupia* existentes en la colección del MNHN (Herbario MVM, Montevideo) donde a su vez, se depositó el material herborizado en este estudio (Anexo A) asociado a las secuencias genéticas obtenidas. Complementariamente se revisaron fotografías de ejemplares uruguayos depositados en el Herbario del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia (MACN) (Anexo B).

### Análisis morfológicos

Se realizaron análisis morfológicos de cuatro ejemplares de *G. turuturu* en el Centro Regional Universitario del Este (CURE), sede Rocha previamente fijados en formaldehído 4% en agua de mar, y cinco ejemplares herborizados en el MNHN. *G. cuneifolia* y *G. filicina* han sido descritas morfológicamente para Uruguay anteriormente (Howe 1930; Coll 1976; Coll & Oliveira 1999). Se realizaron mediciones y observaciones de morfología general, ancho y largo del talo, además de tener en cuenta el estado reproductivo y pigmentación. Se realizaron también cortes histológicos, que fueron fijados en formaldehído 4% en agua de mar, para la observación y medición de estructuras reproductivas (cistocarpos y tetraesporangios) y estructuras vegetativas (córTEX, médula, filamentos de la médula y células estrelladas) a nivel celular bajo lupa binocular (Nikon SMZ 445) y microscopio óptico (Nikon Eclipse E-100). Se tomaron fotografías utilizando una cámara para microscopios (Micrometrix) y se midieron las estructuras microscópicas posteriormente utilizando el programa ImageJ (Schneider et al. 2012).

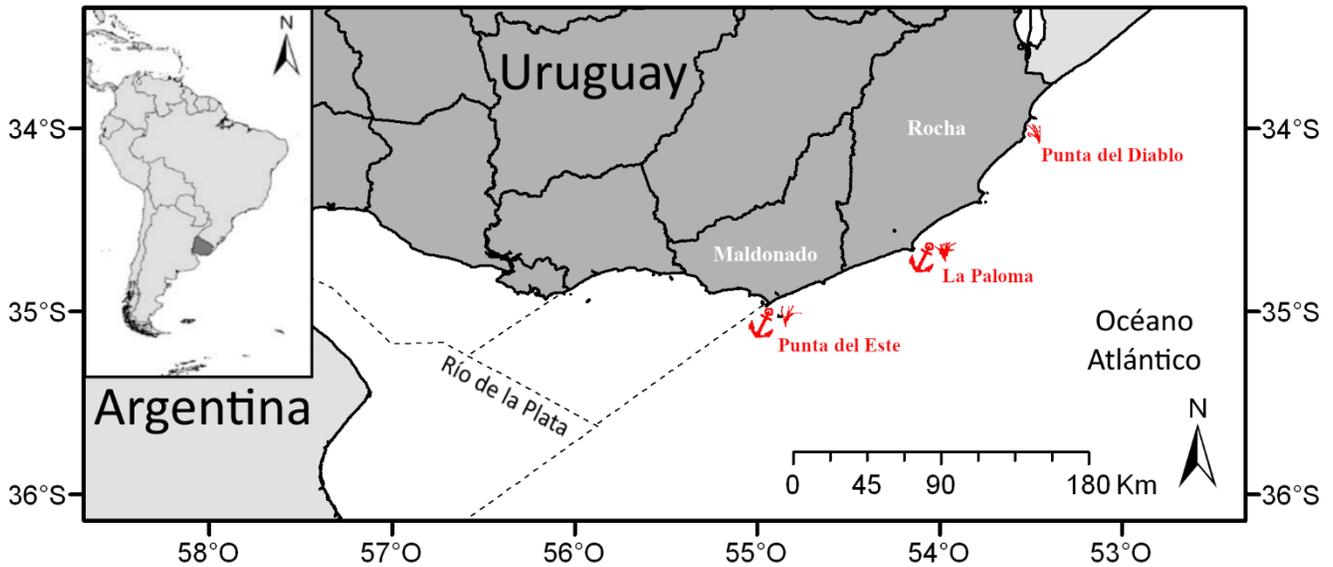
### Análisis de caracteres moleculares

El análisis de *DNA barcoding* se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología del Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE) (Fig. 3).



**Figura 3:** Imágenes tomadas durante el proceso de extracción (A), amplificación mediante PCR (B) y visualización de amplicones obtenidos en gel de agarosa (C), llevado a cabo en el Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE). Se observan amplicones de alrededor de 600 pb correspondientes a la secuencia parcial de *rbcl* con 540 pb.

Para este procedimiento se utilizaron nueve muestras de ejemplares identificadas en campo como *Grateloupia* previamente congeladas provenientes de: “Cerro Rivero” y “La Viuda” en Punta del Diablo (-34.0459, -53.5389), “El Cabito” en La Paloma (-34.6645, -54.1695) y “Las Mesitas” en Punta del Este (-34.9640, -54.9509) (Fig. 4).



**Figura 4:** Mapa de la costa de Uruguay marcando las localidades de donde provienen los ejemplares de *Grateloupia* utilizados para el análisis de caracteres moleculares. Las anclas indican localidades que tienen una zona portuaria.

Se extrajo el ADN de las muestras adaptando la metodología de Martínez de la Escalera et al. (2017) a macroalgas:

#### Procedimiento de extracción de ADN para macroalgas

1. Se lavaron las algas cortando en trozos pequeños (1-5 mm) en tubos de 1,5 ml conteniendo 1 ml de agua ultrapura. Se agitó en vortex a máxima velocidad durante 1 minuto y se pasaron a tubos de lisis conteniendo microesferas de cerámica.
2. Se agregaron 800 µL de Buffer de Extracción (100mM Tris-HCl pH 8.0, 100mM EDTA pH 8.0, 100mM Na-Fosfato pH 8.0, 1.5M NaCl, 01% CTAB). Se homogeneizaron en FastPrep (Biomedicals) por 40 segundos a 6 m/s y se centrifugaron a 5000 rpm en microcentrífuga MiniSpin (Eppendorf).
3. Se transfirió el sobrenadante a tubos de microcentrífuga estériles. Se agregó el mismo volumen de cloroformo-isoamílico 24:1 y se homogeneizó. Luego de centrifugar a 11000 rpm durante 10 minutos se colectó la fase acuosa, la que se transfirió a tubos Eppendorf limpios y estériles. Este paso se repitió 2 veces más.
4. El ADN contenido en la fase acuosa se precipitó mediante el agregado de 0.6 volumen de isopropanol, se homogeneizó moderadamente (vortex por 20 segundos) y se incubó a temperatura ambiente por 1 hora.
5. Se centrifugó a 13000 rpm por 45 minutos y se descartó cuidadosamente el sobrenadante.
6. Se lavó el pellet agregando 200 µL de Etanol 70% (v/v) previamente refrigerado a -20°C, se volvió a centrifugar a 13000 rpm por 15 minutos y se volvió a descartar cuidadosamente el sobrenadante.
7. Se secó el pellet 15 minutos a temperatura ambiente dentro de una cámara de flujo laminar dejando los tubos semi invertidos abiertos.

8. El pellet fue resuspendido con 100  $\mu$ l de agua ultrapura y se determinó la concentración y pureza del ADN obtenido midiendo la absorbancia a 260 y 280 nm en Nanodrop (ThermoScientific™). Las muestras de ADN fueron conservadas a -20°C hasta su posterior amplificación.

### Amplificación de ADN

Se procedió a amplificar, mediante técnica de PCR las secuencias *rbcL* y *COI* con primers obtenidos de la compañía biotecnológica MACROGEN (Tabla 1), generados en base a los pares utilizados por Freshwater & Rueness (1994), Zuccarello et al. (1999a) y Saunders (2005).

Las reacciones exitosas fueron realizadas de la siguiente manera:

Para cada 2  $\mu$ L de ADN extraído (muestras con concentraciones de 36-122 ng/ $\mu$ L) se utilizaron 0,2  $\mu$ L a 50  $\mu$ M de cada *primer* (*forward* y *reverse*), 0,2  $\mu$ L de Taq polimerasa (Invitrogen™), en conjunto con 2,9  $\mu$ L del Buffer de PCR 10x (200 mM Tris HCl (pH 8.4), 500 mM KCl), 1,75  $\mu$ L de MgCl<sub>2</sub> (50 mM), 0,38  $\mu$ L de dNTPs (Invitrogen™) y 0,38  $\mu$ L de seroalbúmina bovina (BSA) a 30  $\mu$ g/ml. Fue añadida agua ultrapura hasta completar los 25  $\mu$ L de cada tubo.

Para la amplificación por PCR para el marcador *rbcL* se utilizaron los *primers* F577 (*Forward*) y R1150 (*Reverse*) y el programa de termociclador que se utilizó fue el siguiente:

- 95°C por 2 minutos;
- 35 ciclos de 93°C por 1 minuto, 47°C de temperatura de *annealing* por 1 minuto, 72°C por 2 minutos para la extensión;
- 72°C por 2 min para la extensión final.

Para el marcador *COI* se utilizaron los *primers* GazF1 (*Forward*) y GazR1 (*Reverse*), el protocolo de termociclador fue de:

- 94°C por 2 minutos.
- 5 ciclos de 94°C por 30 segundos, 45°C de temperatura de *annealing* por 30 segundos, 72°C de temperatura de extensión por 1 minuto;
- 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 45,5°C de *annealing* por 30 segundos, 72°C de extensión por 1 minuto;
- 72°C por 7 minutos para la extensión final.

### Visualización y procesamiento de amplicones

Se separaron los amplicones mediante electroforesis en gel de agarosa 0,9%, tinción con Gel Red® y visualización mediante luz ultravioleta. Se ajustaron las condiciones de PCR hasta obtener amplicones únicos del tamaño deseado. El ADN amplificado fue escindido del gel, purificado mediante el kit *PureLink™ Quick Gel Extraction* (Thermo Fisher) y luego enviado a MACROGEN para su secuenciación. Las secuencias obtenidas fueron subidas a la base de datos de libre acceso *GenBank*, asociadas al material *voucher* depositado en el MNHN como base fundamental para correlacionar el análisis morfológico con el molecular.

**Tabla 1:** Lista de *primers* específicos para algas empleados en este estudio. Están marcados con asterisco los que amplificaron exitosamente.

Nombre	Posición	Marcador	Secuencia	Bibliografía
<b>GazF1*</b>	Forward	<i>COI</i>	5'TCAACAAATCATAAAGATATTGG 3'	Saunders (2005)
<b>GazR1*</b>	Reverse	<i>COI</i>	5' ACTTCTGGATGTCCAAAAAYCA 3'	Saunders (2005)
<b>GazF2</b>	Forward	<i>COI</i>	5' CCAACCAYAAAGATATWGGTAC 3'	Saunders (2005)
<b>DumR1</b>	Reverse	<i>COI</i>	5' AAAAYCARAATAAATGTTGA 3'	Saunders (2005)
<b>cox2-for</b>	Forward	<i>cox2-3</i>	5'-GTACCWTCTTTDRGRRKDAAATGTGATGC-3'	Zuccarello et al. (1999a)
<b>cox3-rev</b>	Reverse	<i>cox2-3</i>	5'-GGATCTACWAGATGRAAWGGATGTC-3'	Zuccarello et al. (1999a)
<b>F321</b>	Forward	<i>rbcl</i>	5' -GAT ATCGATTT ATTTGAAGAAGG-3'	Freshwater & Rueness (1994)
<b>F492</b>	Forward	<i>rbcl</i>	5' -CGTATGGATAAA TTTGGTCG-3'	Freshwater & Rueness (1994)
<b>F577*</b>	Forward	<i>rbcl</i>	5' -GTATATGAAGGTCT AAAA GGTGG-3'	Freshwater & Rueness (1994)
<b>F753</b>	Forward	<i>rbcl</i>	5' -GGAAGATATGT ATG AAA GAGC-3'	Freshwater & Rueness (1994)
<b>F939</b>	Forward	<i>rbcl</i>	5' -TTCCGTGTAATTTGT AAGTGG-3'	Freshwater & Rueness (1994)
<b>F993</b>	Forward	<i>rbcl</i>	5' -GGT ACTGTTGT AGGT AAA TT AGAAGG-3'	Freshwater & Rueness (1994)
<b>F1237</b>	Forward	<i>rbcl</i>	5' -CCAGATGGTATTCAAGCAGGTGC-3'	Freshwater & Rueness (1994)
<b>F1237-rev</b>	Reverse	<i>rbcl</i>	5'-TGTGTTGCGGCCGCCCTTGTGTT AGTCTCAC-3'	Freshwater & Rueness (1994)
<b>R1381</b>	Reverse	<i>rbcl</i>	5' -A TCTTCCATAGATCT AAA GC-3'	Freshwater & Rueness (1994)
<b>R1150*</b>	Reverse	<i>rbcl</i>	5' -GCATTTGTCCGAGTGAA TACC-3'	Freshwater & Rueness (1994)
<b>R753</b>	Reverse	<i>rbcl</i>	5' -GCTCTTTCATACATATCTCC-3'	Freshwater & Rueness (1994)
<b>R406</b>	Reverse	<i>rbcl</i>	5' -CAT ATCTTCT AAGCGT AAA GC-3'	Freshwater & Rueness (1994)

### Análisis bioinformáticos y filogenéticos

Las secuencias obtenidas se editaron y ensamblaron en *contigs* usando el programa BioEdit (Hall 1999). Posteriormente se alinearon con secuencias de otros ejemplares de la región e internacionales obtenidas desde la base de datos *GenBank*, prestando particular atención a los metadatos y a la existencia de material *voucher* de los ejemplares secuenciados para poder relacionar la información morfológica y molecular. Se realizaron reconstrucciones filogenéticas con los marcadores *COI*, *rbcl* y con ambos genes concatenados, a partir de los alineamientos (MUSCLE) obtenidos con el programa MEGA-X (Kumar et al. 2018).

Para el análisis del marcador *rbcl*, las secuencias se alinearon con 36 secuencias del mismo marcador provenientes de ejemplares identificados como *Grateloupia* en GenBank. Una secuencia del género *Pachymenia* y dos secuencias del género *Halymenia* fueron utilizadas como grupo externo. En total, el alineamiento fue hecho con 541 sitios.

La reconstrucción filogenética obtenida a partir de las secuencias del marcador *COI* fue hecha de la misma manera: las secuencias fueron comparadas con 14 secuencias de *Grateloupia* de alrededor del mundo, con dos secuencias del género *Pachymenia* utilizadas como grupo externo. El alineamiento final se hizo con 530 sitios.

Los dos ejemplares para los que fueron secuenciados ambos marcadores fueron analizados en conjunto con secuencias concatenadas (*rbcl* + *COI*) de *Grateloupia* de alrededor del mundo, prestando atención

en que las secuencias provengan del mismo organismo en base a su número voucher. El árbol fue reconstruido utilizando el método de Máxima Verosimilitud, modelo Tamura-Nei con 1000 réplicas de *Bootstrap*. De grupo externo se usaron secuencias concatenadas de ejemplares de *Halymenia*.

Se utilizaron distintos métodos de análisis (Máxima verosimilitud y *Neighbour Joining*) y se compararon los resultados.

#### Análisis biológico y ecológico de *G. turuturu*

Se realizaron muestreos de *G. turuturu* en la zona de la Armada Nacional en la Bahía Grande de La Paloma (-34.6580, -54.1450), donde el GMMU se encuentra realizando muestreos mensuales desde junio del 2021. Los datos abióticos del agua (temperatura, turbidez, oxígeno disuelto, pH, y salinidad) fueron tomados con multiparámetro Horiba U-50. Fueron tomadas tres réplicas por muestreo desde junio del 2021 hasta abril del 2022 (10 meses).

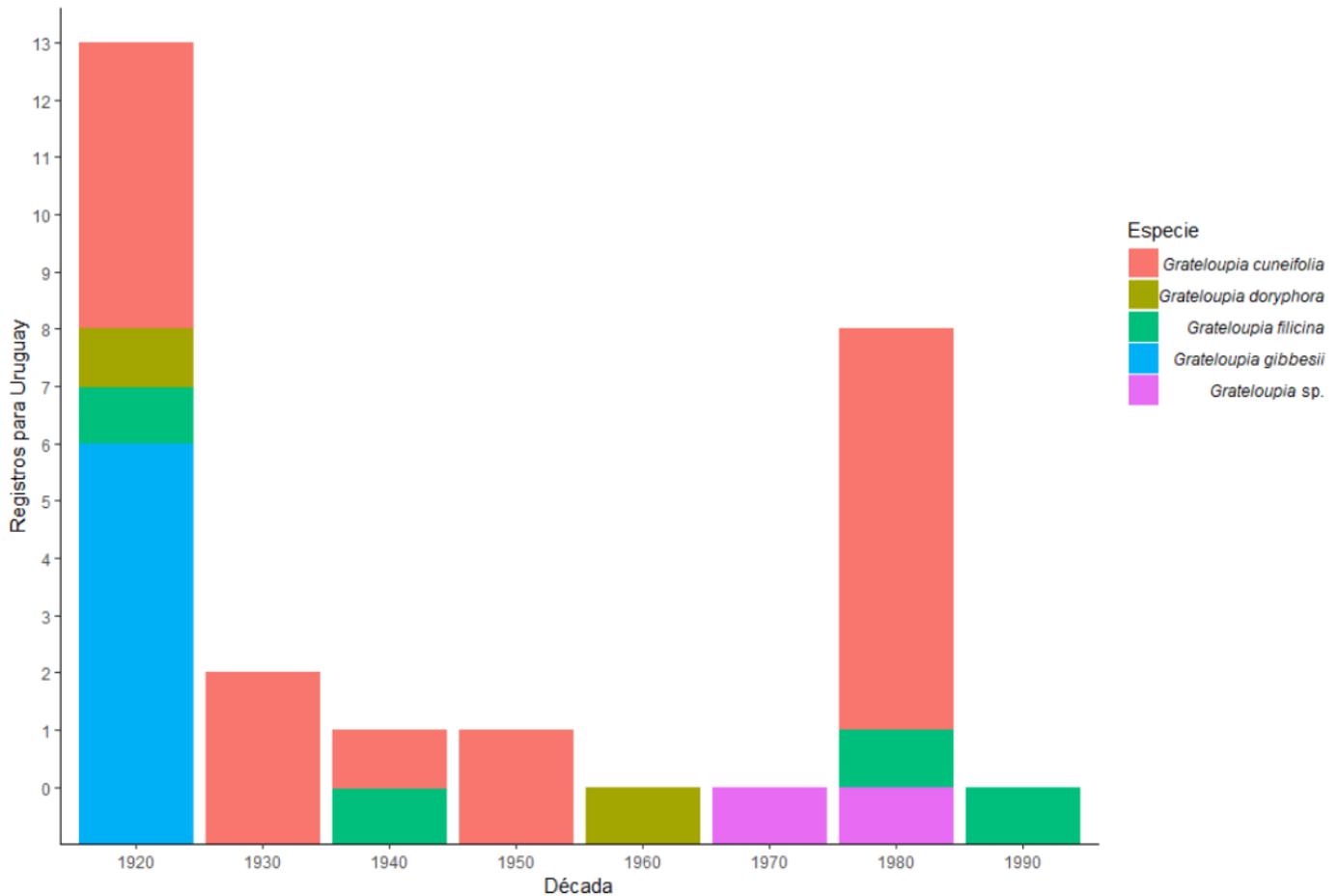
Se recolectaron como mínimo 10 ejemplares al azar por muestreo mensual de los cuales se tomaron sus medidas: largo total, ancho y peso húmedo individual. Los individuos encontrados en fase reproductiva, ya sea gametofítica como tetraesporofítica, fueron tomados como fértiles, mientras que los individuos que no mostraran estructuras reproductivas visibles fueron considerados como infértiles. Fueron analizados un total de 84 ejemplares en estado fértil y 167 ejemplares en estado infértil.

Se analizaron los parámetros biológicos y poblacionales de los ejemplares, se obtuvieron las relaciones largo-peso y se consideraron relaciones entre la presencia y características de los individuos con los datos ambientales y temporales utilizando el programa estadístico Rstudio (Rstudio team 2020). Fueron realizados tests de *Kruskal-Wallis* para comparaciones entre dos grupos, y *T test de Welch* con Tests *post hoc* de *Holm* para comparaciones entre más de dos grupos. Los paquetes utilizados fueron: *dplyr*, *readxl*, *tidyverse*, *gridExtra*, *stringr*, *ggpubr*, *gamlss*, *gamlss.data*, *gamlss.dist* y *ggplot2*.

## Resultados

### Registros históricos del género *Grateloupia* en Uruguay

Se hallaron registros de ejemplares del género para la costa uruguaya desde el año 1925 hasta el año 1996 (sin incluir los del presente estudio depositados en el MNHN), identificados como: *G. cuneifolia*, *G. filicina*, *G. gibbesii*, *G. doryphora* y *Grateloupia* sp. (Fig. 5).



**Figura 5:** Número de registros históricos por década de las especies de *Grateloupia* de Uruguay desde el año 1925 hasta el año 1996.

El primer registro del género *Grateloupia* para Uruguay fue un ejemplar de *G. cuneifolia* proveniente del puerto de La Paloma (Rocha) del año 1925, actualmente depositado en el herbario de la *University of Michigan*, EEUU. Ejemplares identificados como *Grateloupia gibbesii* Harvey de los años 1926 y 1927 colectados en la localidad de La Paloma están depositados actualmente en el herbario de la *University of California, Berkeley*, EEUU (Ver Anexo C).

El herbario del MACN posee registros de macroalgas identificadas por W. F. Farnham en 1981 como *G. doryphora*; una del año 1926, sin identificar colector y otra de 1969 colectada por Carmen Pujals, ambas provenientes de La Paloma. Se encuentran también allí algas colectadas desde 1974 a 1987 por Carmen

Pujals, identificadas como *Grateloupia* sp. y *G. cuneifolia* y dos registros del año 1984, colectadas por A. Hareau y S. Silva, también identificados como *G. cuneifolia*, provenientes de Punta del Este (Maldonado) (Anexo B).

En la colección del Herbario MVM del MNHN se encontraron ejemplares del género *Grateloupia* ingresados desde el año 1926 en el caso de *G. filicina* (MVM 13569, MVM 13570) y desde el año 1927 en el caso de *G. cuneifolia* (Herbario C. de Franco 694, sin número voucher en el herbario MVM). A su vez, se revisaron muestras de macroalgas de la colección del herbario de la Facultad de Ciencias, UdelaR, donde se hallaron varios ejemplares identificados como *G. cuneifolia* provenientes de Maldonado, colectados e identificados por A. Hareau a principios de la década de 1980 (Tabla 2).

**Tabla 2:** Ejemplares herborizados de macroalgas identificadas como *Grateloupia* ingresados al Herbario del Museo Nacional de Historia Natural, Montevideo (MVM), el herbario del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia (Herbario BA) y el herbario de Facultad de Ingeniería, UdelaR (IG) provenientes de la costa uruguaya.

Colector	Especie	Identificador	Procedencia	Fecha	Número de registro
C. de Franco	<i>Grateloupia filicina</i>	J. Coll	La Paloma	19-jul-1926	MVM13569
C. de Franco	<i>Grateloupia filicina</i>	J. Coll	La Paloma	19-jul-1926	MVM13570
No especificado	<i>Grateloupia filicina</i>	J. Coll	Punta del Este	mar-1945	MVM10646
No especificado	<i>Grateloupia cuneifolia</i>	W. R. Taylor	Punta del Este	mar-1945	MVM10622
No especificado	<i>Grateloupia cuneifolia</i>	J. Coll	Sta. Teresa de la Coronilla (Rocha)	08-may-1951	MVM3706
No especificado	<i>Grateloupia cuneifolia</i>	W. R. Taylor	La Paloma	1930	MVM4292
No especificado	<i>Grateloupia cuneifolia</i>	W. R. Taylor	La Paloma	1930	MVM4287
No especificado	<i>Grateloupia cuneifolia</i>	W. R. Taylor	La Paloma	1930	MVM4288
C. de Franco	<i>Grateloupia cuneifolia</i>	J. Coll	La Paloma (costa norte de la isla)	16-may-1927	MVM s/n (C. de Franco 694)
No especificado	<i>Grateloupia cuneifolia</i>	No especificado	Punta del Este (Muelle Mailhos)	17-dic-1983	IG S/N
A. Hareau	<i>Grateloupia cuneifolia</i>	No especificado	Punta del Este (Muelle Mailhos)	1-abr-1984	IG PE2
A. Hareau	<i>Grateloupia cuneifolia</i>	H. S. Sorio	Punta del Este	1-abr-1984	IG PE/2.d
A. Hareau. & S. Silva	<i>Grateloupia cuneifolia</i>	C. Pujals	Isla Gorriti (Muelle Puerto Jardín)	18-mar-1984	IG 10.a
A. Hareau. & S. Silva	<i>Grateloupia cuneifolia</i>	No especificado	Isla Gorriti (Muelle Puerto Jardín)	18-mar-1984	IG 7
A. Hareau. & S. Silva	<i>Grateloupia filicina</i>	No especificado	Ruta 10 Km 166 (Punta piedra)	ene-1984	IG S/N
C. Pujals	<i>Grateloupia</i> sp.	No especificado	La Paloma	abr-1974	BA26735
C. Pujals	<i>Grateloupia</i> sp.	No especificado	La Paloma	abr-1987	BA33690
C. Pujals	<i>Grateloupia doryphora</i>	W. F. Farnham	La Paloma	abr-1969	BA17668
No especificado	<i>Grateloupia doryphora</i>	W. F. Farnham	La Paloma	oct-1926	BA9033
A. Hareau. & S. Silva	<i>Grateloupia cuneifolia</i>	No especificado	Isla Gorriti (Muelle Puerto Jardín)	mar-1984	BA33498
A. Hareau. & S. Silva	<i>Grateloupia cuneifolia</i>	No especificado	Isla Gorriti (Muelle Puerto Jardín)	mar-1984	BA33499

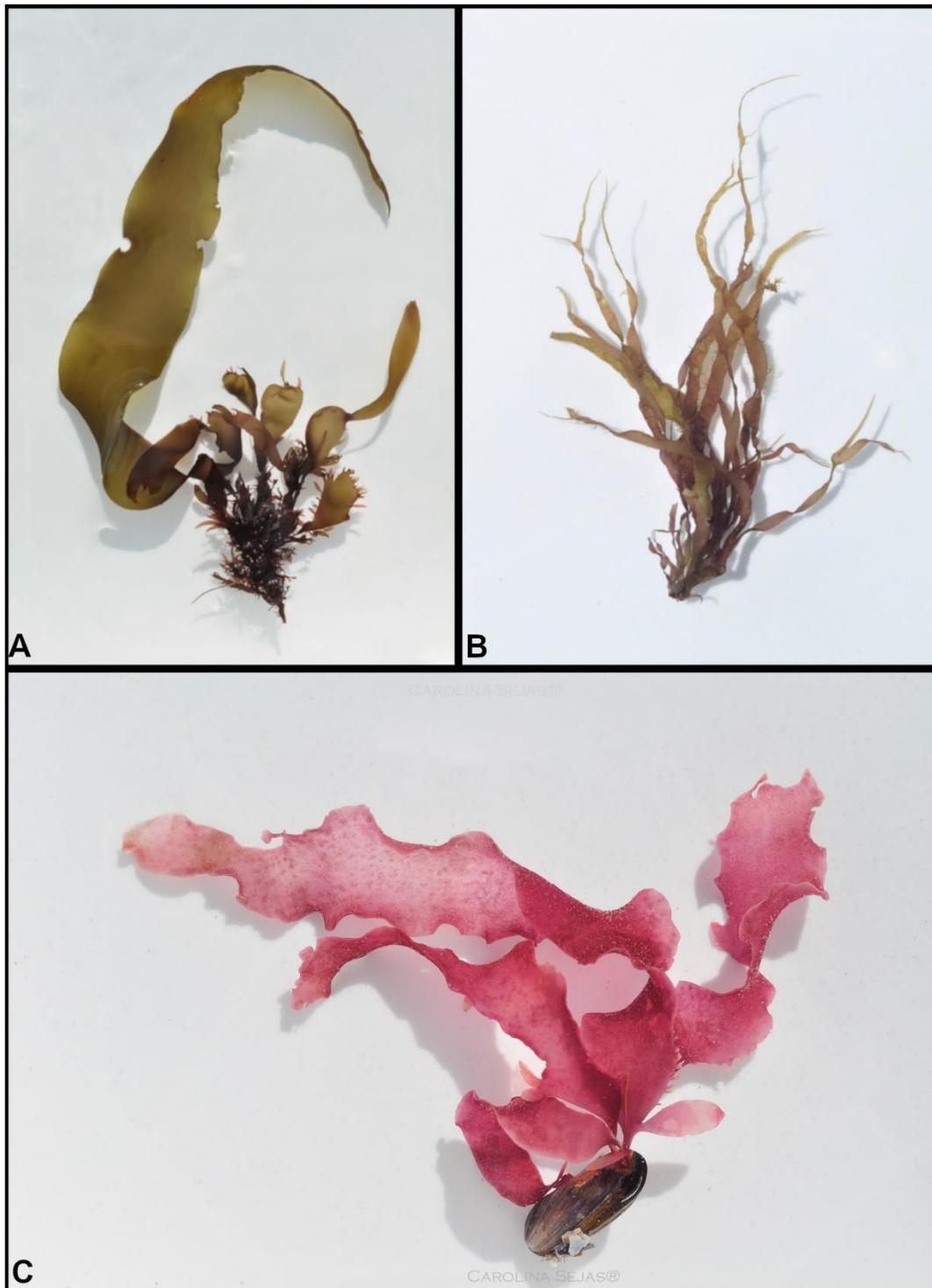
No se encontraron registros históricos de macroalgas identificadas como *G. gibbesii* ni como *G. turuturu* en la colección del Herbario del MNHN. En el presente estudio se depositaron cinco ejemplares de *G. turuturu* (MVM 23491, MVM 23493, MVM 23497, MVM 23498 y MVM 23499), cuatro de ellos asociados a secuencias genéticas. También fue depositado un ejemplar de *G. filicina* (MVM 23492), asociado a una muestra de *rbcL* y tres ejemplares de *G. cuneifolia* (MVM 23494, MVM 23495 y MVM 23496), dos de ellos asociados a muestras genéticas (Tabla 3).

**Tabla 3:** Identificación de ejemplares de *Grateloupia* depositados en el herbario del Museo Nacional de Historia Natural, Montevideo (herbario MVM) en este estudio, asociados a sus respectivas secuencias utilizadas para la caracterización genética. GMMU= Grupo Macroalgas Marinas de Uruguay, FS= Fabrizio Scarabino, GV-R= Gabriela Vélez-Rubio, MVM= Herbario de Montevideo.

Número de registro	Especie	Fecha de colecta	Sitio de colecta	Localidad	Departamento	Colector	Accession <i>rbcl</i>	Accession <i>COI</i>
MVM 23499	<i>Grateloupia turuturu</i>	01/25/2021	El Cabito	La Paloma	Rocha	FS	ON952412	
MVM 23493	<i>Grateloupia turuturu</i>	9/29/2019	Cerro Rivero	Punta del Diablo	Rocha	GV-R	ON952410	ON959263
MVM 23498	<i>Grateloupia turuturu</i>	04/01/2017	La Paloma	La Paloma	Rocha	GMMU		
MVM 23496	<i>Grateloupia cuneifolia</i>	27/10/2019	Cerro Rivero	Punta del Diablo	Rocha	GMMU	ON952413	
MVM 23495	<i>Grateloupia cuneifolia</i>	07/01/2021	Cerro Rivero	Punta del Diablo	Rocha	GV-R		
MVM 23494	<i>Grateloupia cuneifolia</i>	29/09/2019	Cerro Rivero	Punta del Diablo	Rocha	GV-R	ON952414	ON959264
MVM 23497	<i>Grateloupia turuturu</i>	2029-07-17	La Viuda	Punta del Diablo	Rocha	GV-R	ON952409	
MVM 23492	<i>Grateloupia filicina</i>	07/01/2021	Cerro Rivero	Punta del Diablo	Rocha	GV-R	ON952415	
MVM 23491	<i>Grateloupia turuturu</i>	1/10/2019	Las Mesitas	Punta del Este	Maldonado	GMMU	ON952411	

### Caracterización morfológica

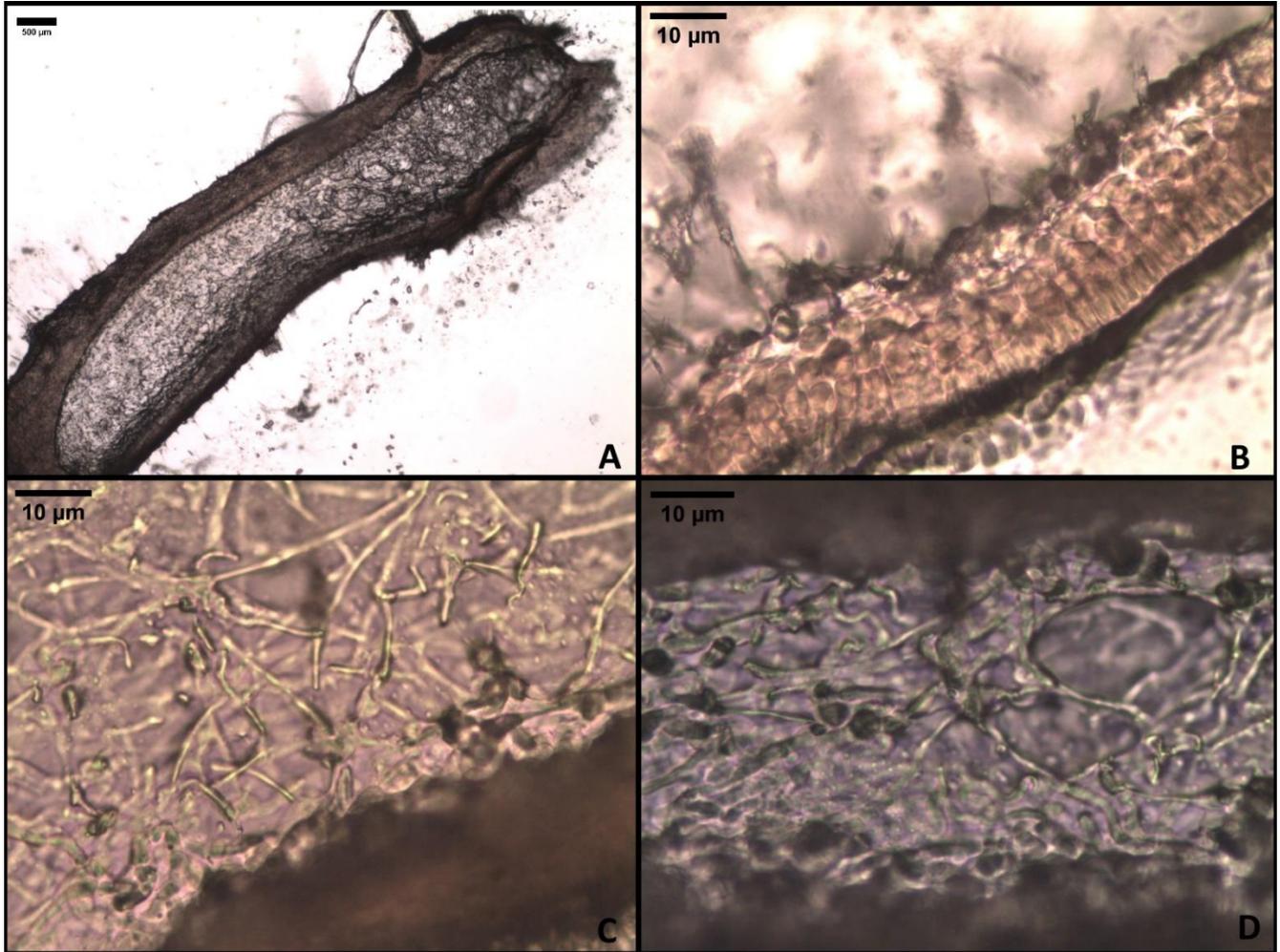
Fueron analizados morfológicamente un total de nueve ejemplares de *G. turuturu*, cinco de ellos herborizados (MVM 23499, MVM 23493, MVM 23498, MVM 23497 y MVM 23491; Tabla 3) y cuatro previamente fijados en formaldehído al 4% con agua de mar. Las frondes se vieron lineales a lanceolados, generalmente irregulares y a veces laciniados hacia los ápices, con proliferaciones marginales variables, generalmente hacia la base de la fronde. Mostraron estipe cuneado corto y disco basal de fijación muy pequeño en comparación con el tamaño de la fronde. Generalmente varias frondes salen de un disco basal. Talos lisos en estadio infértil, levemente rugosos y manchados en fase de carposporofito y muy rugosos y gruesos en fase tetraesporofítica (Fig. 6c).



**Figura 6:** Imágenes de morfología general de los talos de *Grateloupia cuneifolia* (A), *Grateloupia filicina* (B) y *Grateloupia turuturu* (C). Fotografías por Carolina Sejas (2020).

De los cortes histológicos se pudo diferenciar un córtex de 25-42,5  $\mu\text{m}$  de ancho, conformado por aproximadamente 6-7 capas celulares, con una capa de células elípticas hacia el exterior, una región de médula de baja densidad (100-498  $\mu\text{m}$  de ancho) con presencia de células estrelladas y filamentos

medulares dispuestos de manera anticlinal y periclinal (Fig. 7). En individuos fértiles se observaron cistocarpos de 152-362  $\mu\text{m}$  de diámetro. No se encontraron tetraesporangios ni espermatangios en los cortes de los individuos analizados.



**Figura 7:** Fotografías de microscopía óptica de las distintas estructuras de los ejemplares de *G. turuturu* analizadas. Corte transversal cerca de la base del talo, mostrando la transición abrupta entre el córtex y la médula (A); corte transversal de córtex, mostrando las 6-7 capas celulares y la transición abrupta con la médula (B); filamentos de la médula con células estrelladas (C y D).

Los ejemplares de *Grateloupia filicina* presentaron consistencia gelatinosa y firme, con tamaños de 6-12 cm de largo total y de 2-5 mm de ancho. Presentan un pequeño disco basal para la adhesión al sustrato, un estipe muy corto subcilíndrico menor a 1 cm, del cual se originan varias frondes aplanadas de hasta ~260  $\mu\text{m}$  de ancho. Presentan ramificaciones abundantes e irregulares de formas pinnadas o alternas y con presencia de abundantes proliferaciones marginales a lo largo de todo el talo (Fig. 6b).

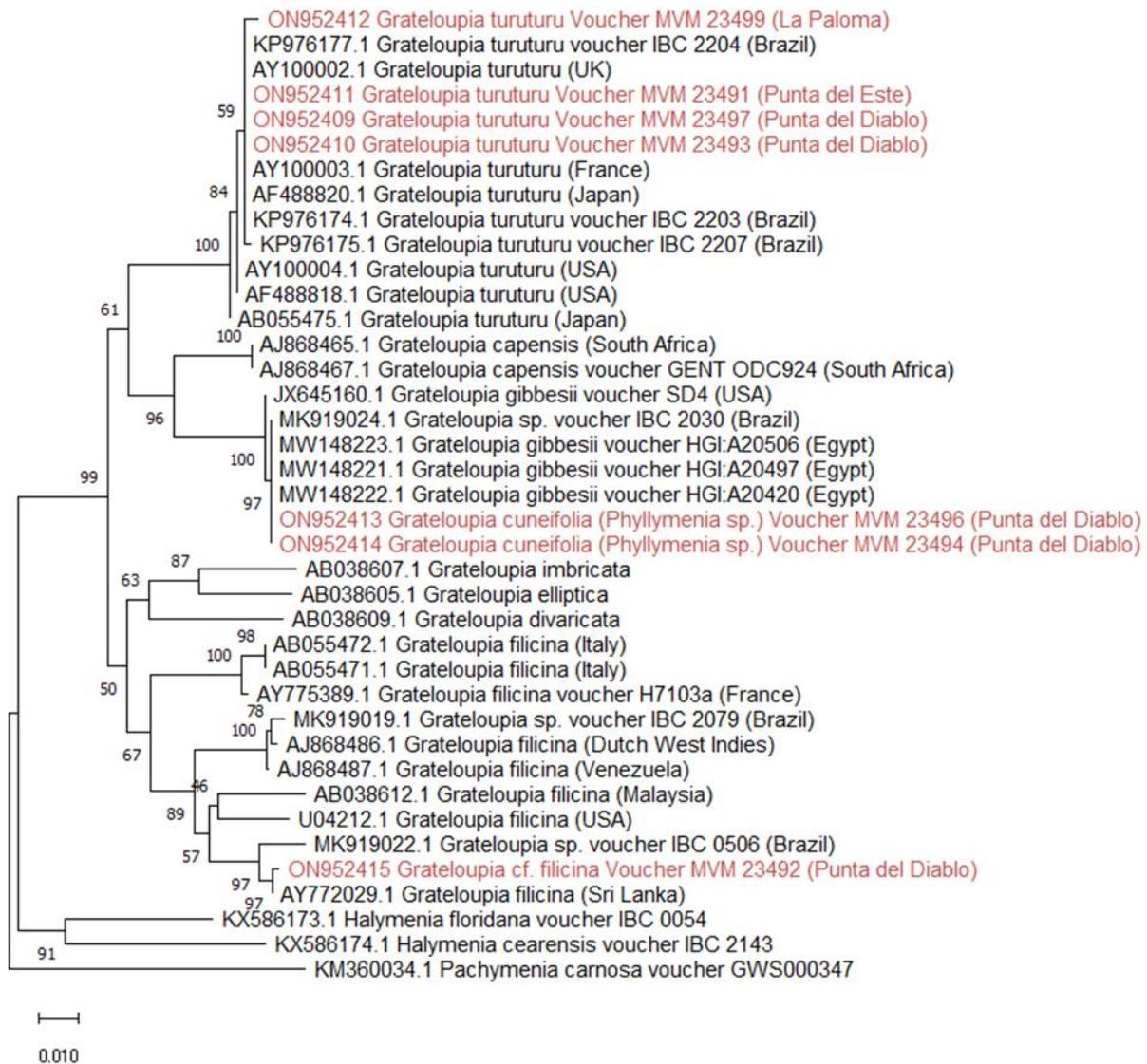
Los ejemplares identificados como *Grateloupia cuneifolia* presentaron frondes lanceoladas, a veces laciniadas en individuos más grandes, de consistencia gelatinosa firme a carnosa y resbaladizas. Con dimensiones de hasta 35 cm de largo total y hasta 3 cm de ancho. Presentan un pequeño disco basal por el cual pueden salir varios talos de un estipe cuneado muy corto. Las frondes llegan a ~380  $\mu\text{m}$  de espesor, con proliferaciones marginales presentes, generalmente hacia la base del talo. De cada base

se generan varias frondes de dimensiones similares, con una o dos de mayor tamaño que las demás (Coll 1976) (Fig. 6c).

#### Identificación en base a la información de marcadores moleculares

Se obtuvieron un total de 7 secuencias parciales del gen *rbcL* de aproximadamente 580 pares de bases de 4 ejemplares identificados morfológicamente como *G. turuturu* (ON952409, ON952410, ON952411 y ON952412), 2 ejemplares de *G. cuneifolia* (ON952413 y ON952414) y 1 ejemplar de *G. filicina* (ON952415), utilizando los primers *F755* y *R1150* (Tabla 1).

La primera aproximación filogenética fue reconstruida con la metodología de *Neighbour joining* (NJ) con 2000 réplicas de *Bootstrap*. Se muestra el árbol óptimo con una suma total del largo de las ramas (0.54774115) (Fig. 8).

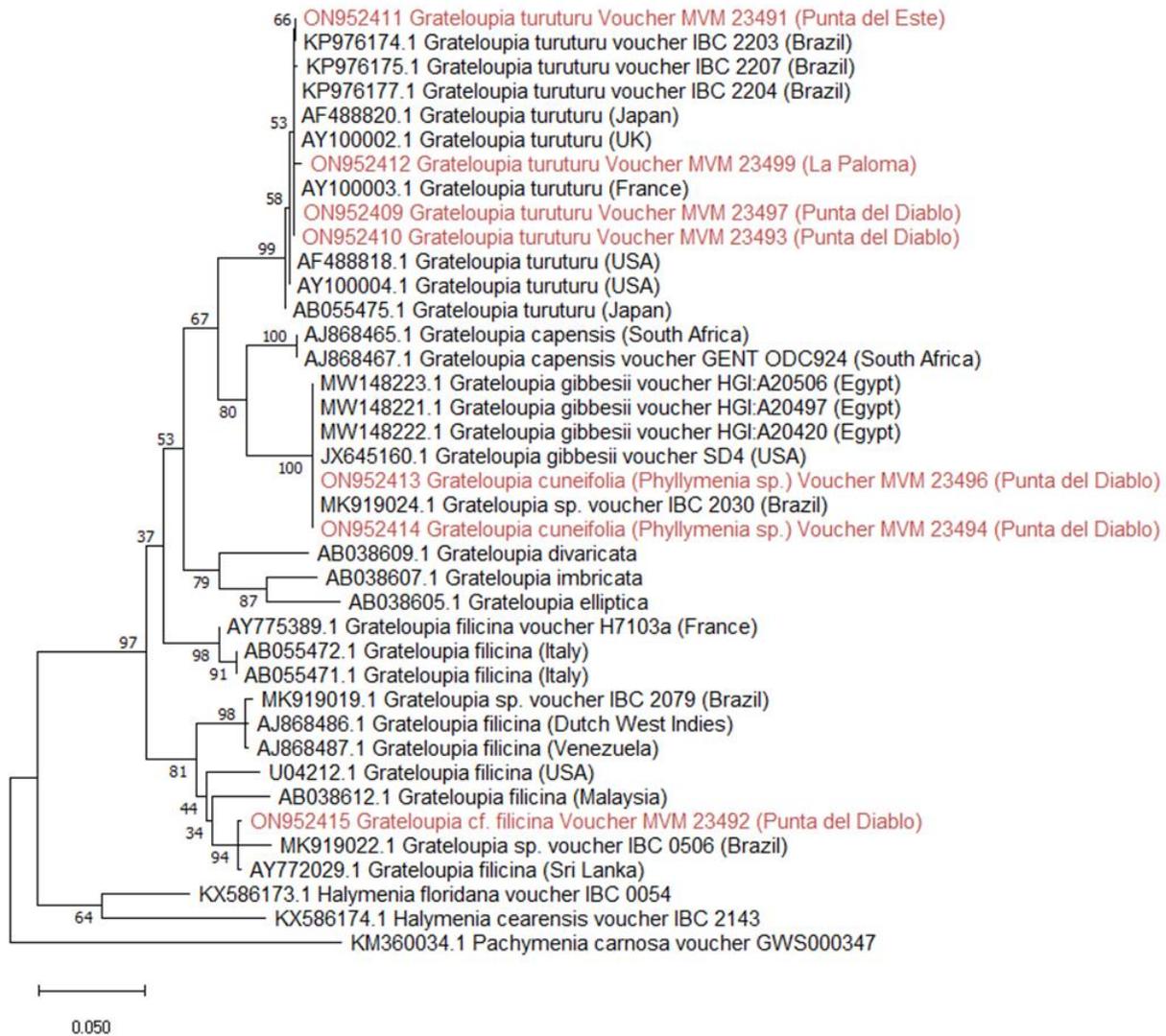


**Figura 8:** Reconstrucción filogenética del marcador *rbcL* utilizando el método de *Neighbour Joining* (NJ) con los ejemplares provenientes de la costa atlántica uruguaya secuenciados en este estudio (en rojo) y secuencias de *Grateloupia* de alrededor del mundo. Secuencias de *Halymenia* y *Pachymenia* fueron utilizadas como grupo externo. La escala de las ramas está medida en número de sustituciones por sitio.

Con las mismas secuencias se reconstruyó una filogenia mediante la metodología de Máxima Verosimilitud utilizando el modelo de Tamura de 3 parámetros con distribución Gamma y 1000 réplicas de *Bootstrap*. Se muestra el árbol (Fig. 9) con Log verosimilitud más alto (-2270,13), donde se puede observar que las secuencias de *G. turuturu* provenientes de este estudio se agrupan en un clado monofilético muy bien respaldado (99%) con otras secuencias atribuidas ejemplares del mismo taxón de alrededor del mundo. Las secuencias de *G. cuneifolia* aquí obtenidas se encuentran en un clado monofilético también muy bien respaldado con secuencias de *G. gibbesii* provenientes de los Estados Unidos y de Egipto, y una secuencia de *Grateloupia* sin identificar proveniente de Rio de Janeiro, Brasil (Voucher IBC 2030). La secuencia del ejemplar identificado morfológicamente como *G. filicina* se agrupa

con secuencias de ejemplares atribuidos al mismo nombre, con distancias de divergencia mayores entre todas ellas, formando un clado bien respaldado con una secuencia proveniente de Sri Lanka y una de *Grateloupia* sin identificar proveniente de Rio de Janeiro, Brasil (Voucher IBC 0506) (Figs. 8-9).

Las divergencias, medidas en porcentaje de sustituciones por sitio, entre el clado *G. turuturu* y el clado *G. cuneifolia/gibbesii* fue de 6,1%-8,3%, entre *G. turuturu* y *G. filicina* fue de 6,5%-8,7%, y entre los clados *G. cuneifolia/gibbesii* y *G. filicina* fue de 7,3%-9,5% (Tabla 4). Para los ejemplares provenientes de la costa uruguaya, las distancias entre *G. turuturu* y *G. cuneifolia* fueron de hasta 7,08%, entre *G. turuturu* y *G. filicina* fueron de hasta 8,48% y entre *G. cuneifolia* y *G. filicina* fue de 7,88% (Tabla 5).



**Figura 9:** Reconstrucción filogenética del marcador *rbcL* utilizando el método de Máxima Verosimilitud (ML) de los ejemplares provenientes de la costa atlántica uruguaya secuenciados en este estudio (en rojo) y secuencias de *Grateloupia* de alrededor del mundo. Secuencias de *Halymenia* y *Pachymenia* fueron utilizadas como grupo externo. La escala de las ramas está medida en número de sustituciones por sitio

**Tabla 4:** Distancias para el gen *rbcl* entre las secuencias de *Grateloupia* analizadas en este estudio. En azul distancias entre *Grateloupia turuturu* y *Grateloupia filicina* y en amarillo distancias entre *Grateloupia cuneifolia/gibbesii* y *Grateloupia filicina*.

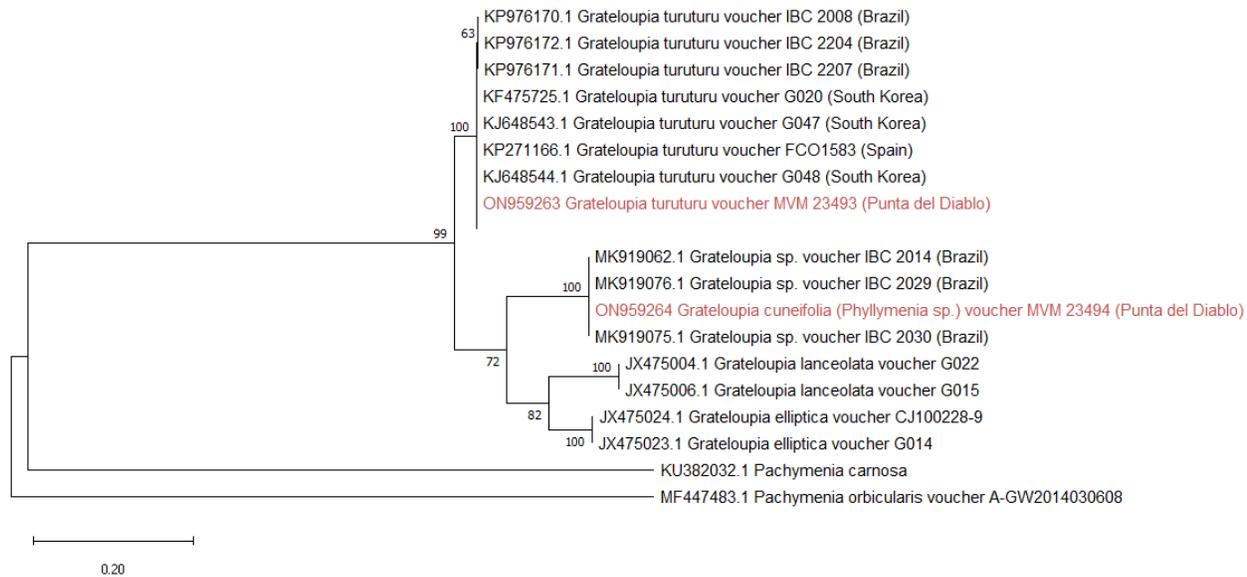
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	
1 <b>ON952412</b> <i>Grateloupia turuturu</i> MVM 23499 (La Paloma)																											
2 <b>ON952411</b> <i>Grateloupia turuturu</i> MVM 23491 (Punta del Este)	0.7																										
3 <b>ON952409</b> <i>Grateloupia turuturu</i> MVM 23497 (Punta del Diablo)	1.1	0.4																									
4 <b>ON952410</b> <i>Grateloupia turuturu</i> MVM 23493 (Punta del Diablo)	0.7	0.0	0.4																								
5 AY100004.1 <i>Grateloupia turuturu</i> (USA)	0.9	0.2	0.6	0.2																							
6 AY100003.1 <i>Grateloupia turuturu</i> (France)	0.7	0.0	0.4	0.0	0.2																						
7 AY100002.1 <i>Grateloupia turuturu</i> (UK)	0.7	0.0	0.4	0.0	0.2	0.0																					
8 KP976177.1 <i>Grateloupia turuturu</i> voucher IBC 2204 (Brazil)	0.7	0.0	0.4	0.0	0.2	0.0	0.0																				
9 AF488820.1 <i>Grateloupia turuturu</i> (Japan)	0.7	0.0	0.4	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0																			
10 AF488818.1 <i>Grateloupia turuturu</i> (USA)	0.9	0.2	0.6	0.2	0.0	0.2	0.2	0.2	0.2																		
11 KP976175.1 <i>Grateloupia turuturu</i> voucher IBC 2207 (Brazil)	0.9	0.2	0.6	0.2	0.4	0.2	0.2	0.2	0.2	0.4																	
12 KP976174.1 <i>Grateloupia turuturu</i> voucher IBC 2203 (Brazil)	0.7	0.0	0.4	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.2																
13 MK919024.1 <i>Grateloupia</i> sp. voucher IBC 2030 (Brazil)	7.1	6.3	6.7	6.3	6.1	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	6.1	6.5	6.3														
14 <b>ON952413</b> <i>Grateloupia cuneifolia</i> MVM 23496 (Punta del Diablo)	7.1	6.3	6.7	6.3	6.1	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	6.1	6.5	6.3	0.0													
15 <b>ON952414</b> <i>Grateloupia cuneifolia</i> MVM 23494 (Punta del Diablo)	7.1	6.3	6.7	6.3	6.1	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	6.1	6.5	6.3	0.0	0.0												
16 MW148223.1 <i>Grateloupia gibbesii</i> voucher HGI:A20506 (Egypt)	7.1	6.3	6.7	6.3	6.1	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	6.1	6.5	6.3	0.0	0.0	0.0											
17 MW148221.1 <i>Grateloupia gibbesii</i> voucher HGI:A20497 (Egypt)	7.1	6.3	6.7	6.3	6.1	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	6.1	6.5	6.3	0.0	0.0	0.0	0.0										
18 MW148222.1 <i>Grateloupia gibbesii</i> voucher HGI:A20420 (Egypt)	7.1	6.3	6.7	6.3	6.1	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	6.1	6.5	6.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0									
19 JK645160.1 <i>Grateloupia gibbesii</i> voucher SD4 (USA)	8.3	7.5	7.9	7.5	7.3	7.5	7.5	7.5	7.5	7.3	7.5	7.5	7.5	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3								
20 U04212.1 <i>Grateloupia filicina</i> (USA)	8.3	7.7	8.1	7.7	7.5	7.7	7.7	7.7	7.7	7.7	7.5	7.5	7.7	8.7	8.7	8.7	8.7	8.7	8.7	9.5							
21 AY775389.1 <i>Grateloupia filicina</i> voucher H7103a (France)	7.5	6.7	7.1	6.7	6.5	6.7	6.7	6.7	6.7	6.7	6.5	6.5	6.7	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	8.3	4.9						
22 AB055471.1 <i>Grateloupia filicina</i> (Italy)	8.3	7.5	7.9	7.5	7.3	7.5	7.5	7.5	7.5	7.3	7.3	7.5	7.5	7.3	7.3	7.3	7.3	7.3	7.3	8.1	5.1	0.7					
23 AB055472.1 <i>Grateloupia filicina</i> (Italy)	8.3	7.5	7.9	7.5	7.3	7.5	7.5	7.5	7.5	7.3	7.3	7.5	7.5	7.3	7.3	7.3	7.3	7.3	7.3	8.1	5.1	0.7	0.0				
24 AY772029.1 <i>Grateloupia filicina</i> (Sri Lanka)	8.5	7.7	8.1	7.7	7.5	7.7	7.7	7.7	7.7	7.7	7.5	7.5	7.7	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	8.5	3.4	5.9	6.1	6.1			
25 <b>ON952415</b> <i>Grateloupia cf. filicina</i> MVM 23492 (Punta del Diablo)	8.5	8.1	8.5	8.1	7.9	8.1	8.1	8.1	8.1	8.1	7.9	7.9	8.1	7.9	7.9	7.9	7.9	7.9	7.9	8.9	3.8	6.3	6.5	6.5	0.4		
26 MK919019.1 <i>Grateloupia</i> sp. voucher IBC 2079 (Brazil)	8.7	7.9	8.3	7.9	7.7	7.9	7.9	7.9	7.9	7.7	7.7	7.9	7.9	8.5	8.5	8.5	8.5	8.5	8.5	9.3	5.1	5.3	5.5	5.5	3.6	4.0	
27 AJ868486.1 <i>Grateloupia filicina</i> (Dutch West Indies)	8.5	7.7	8.1	7.7	7.5	7.7	7.7	7.7	7.7	7.7	7.5	7.5	7.7	8.3	8.3	8.3	8.3	8.3	8.3	9.1	4.9	5.5	5.7	5.7	3.4	3.8	0.6

**Tabla 5:** divergencias genéticas, medidas en sustituciones cada 100 pares de bases, entre los ejemplares de *Grateloupia* analizados en este estudio para el marcador *rbcl*. En azul: divergencia entre *G. turuturu* y *G. cuneifolia*, en gris: divergencia entre *G. turuturu* y *G. filicina* y en amarillo: divergencia entre *G. cuneifolia* y *G. filicina*.

	1	2	3	4	5	6
1 ON952412 <i>G. turuturu</i>						
2 ON952411 <i>G. turuturu</i>	0.74					
3 ON952409 <i>G. turuturu</i>	1.12	0.37				
4 ON952410 <i>G. turuturu</i>	0.74	0.00	0.37			
5 ON952413 <i>G. cuneifolia</i>	7.08	6.29	6.69	6.29		
6 ON952414 <i>G. cuneifolia</i>	7.08	6.29	6.69	6.29	0.00	
7 ON952415 <i>G. filicina</i>	8.48	8.08	8.48	8.08	7.88	7.88

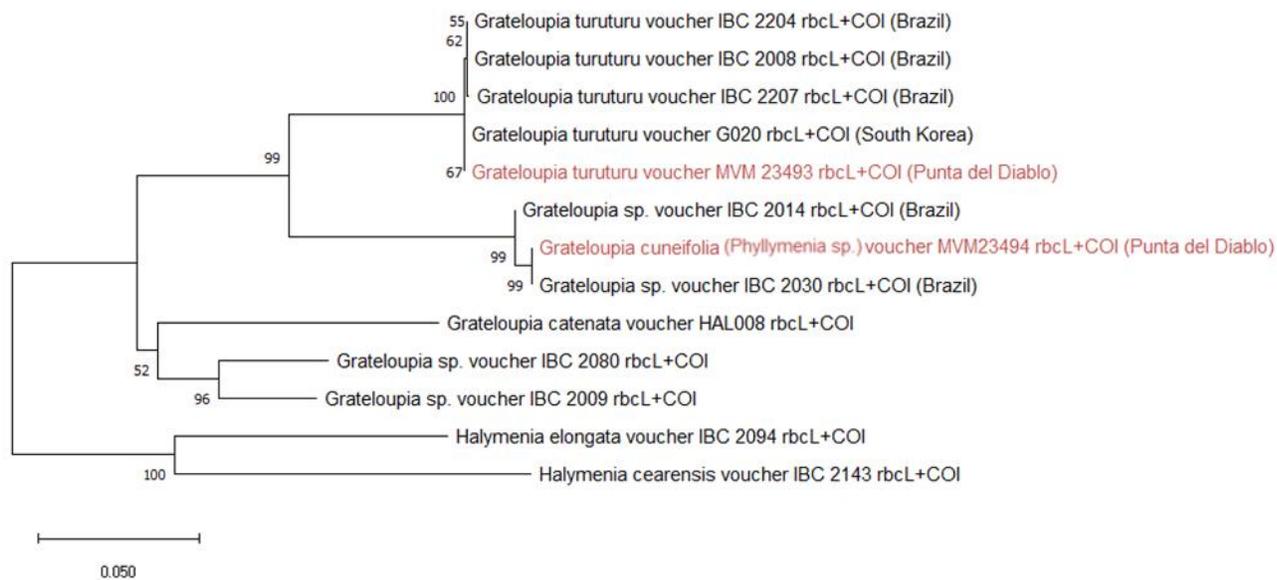
Respecto al marcador *COI*, se obtuvieron 2 secuencias de aproximadamente 630 pares de bases, una de *G. turuturu* (ON959263) y una de *G. cuneifolia* (ON959264) identificadas por su morfología (Tabla 3), utilizando los primers *GazF1* y *GazR1* (Tabla 1). Para ambos marcadores, las secuencias de *G. turuturu* de Uruguay forman clados monofiléticos con secuencias de la misma especie de alrededor del mundo (Figs. 8-11).

El árbol (Máxima verosimilitud) que se muestra (Fig. 10) es el de mayor Log Verosimilitud (-1775,18). Se observa un clado monofilético con todas las secuencias de *G. turuturu* subdividido en dos clados menores, uno con secuencias de *G. turuturu* de Brasil y otro con ejemplares de Corea del Sur, España y el del presente estudio. En otro clado se encuentra la secuencia del ejemplar identificado como *Grateloupia cuneifolia*. con secuencias de *Grateloupia* sp. provenientes de Brasil.



**Figura 10:** Reconstrucción filogenética del marcador *COI* utilizando el método de Máxima Verosimilitud de los ejemplares de *Grateloupia* provenientes de la costa atlántica uruguaya secuenciados en este estudio (en rojo) y secuencias de *Grateloupia* de alrededor del mundo. Secuencias del género *Pachymenia* fueron utilizadas como grupo externo. La escala de las ramas está medida en número de sustituciones por sitio.

Para el análisis de ambos marcadores concatenados, se muestra el árbol con mayor Log verosimilitud (-3440,49) (Fig. 11). Se puede observar que los ejemplares de *G. turuturu* de Uruguay forman un clado con todas las otras secuencias de *G. turuturu* y un clado interno con el ejemplar proveniente de Corea del Sur, diferenciado de los ejemplares de Brasil. El ejemplar identificado como *G. cuneifolia* de Uruguay se agrupó con ejemplares de *Grateloupia* sp. provenientes de Brasil (Voucher IBC 2030 y Voucher IBC 2014).

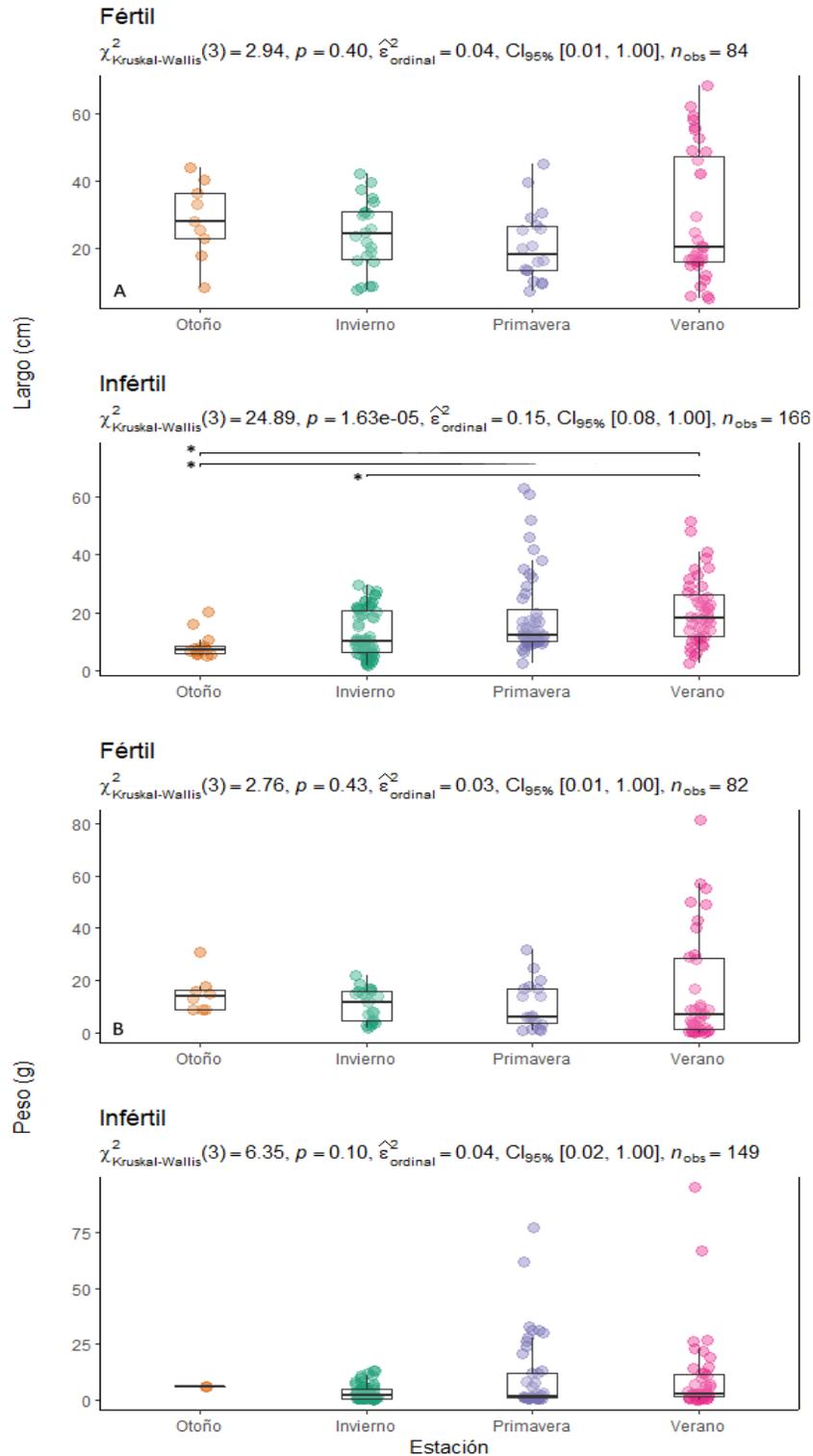


**Figura 11:** Reconstrucción filogenética de ambos marcadores concatenados (*rbcL+COI*), utilizando el método de Máxima Verosimilitud para los ejemplares de *Grateloupia* provenientes de la costa atlántica uruguaya secuenciados en este estudio (en rojo), y secuencias de *Grateloupia* de alrededor del mundo. Secuencias del género *Halymenia* fueron utilizadas como grupo externo. La escala de las ramas está medida en número de sustituciones por sitio.

### Biología y ecología de *Grateloupia turuturu* en Uruguay

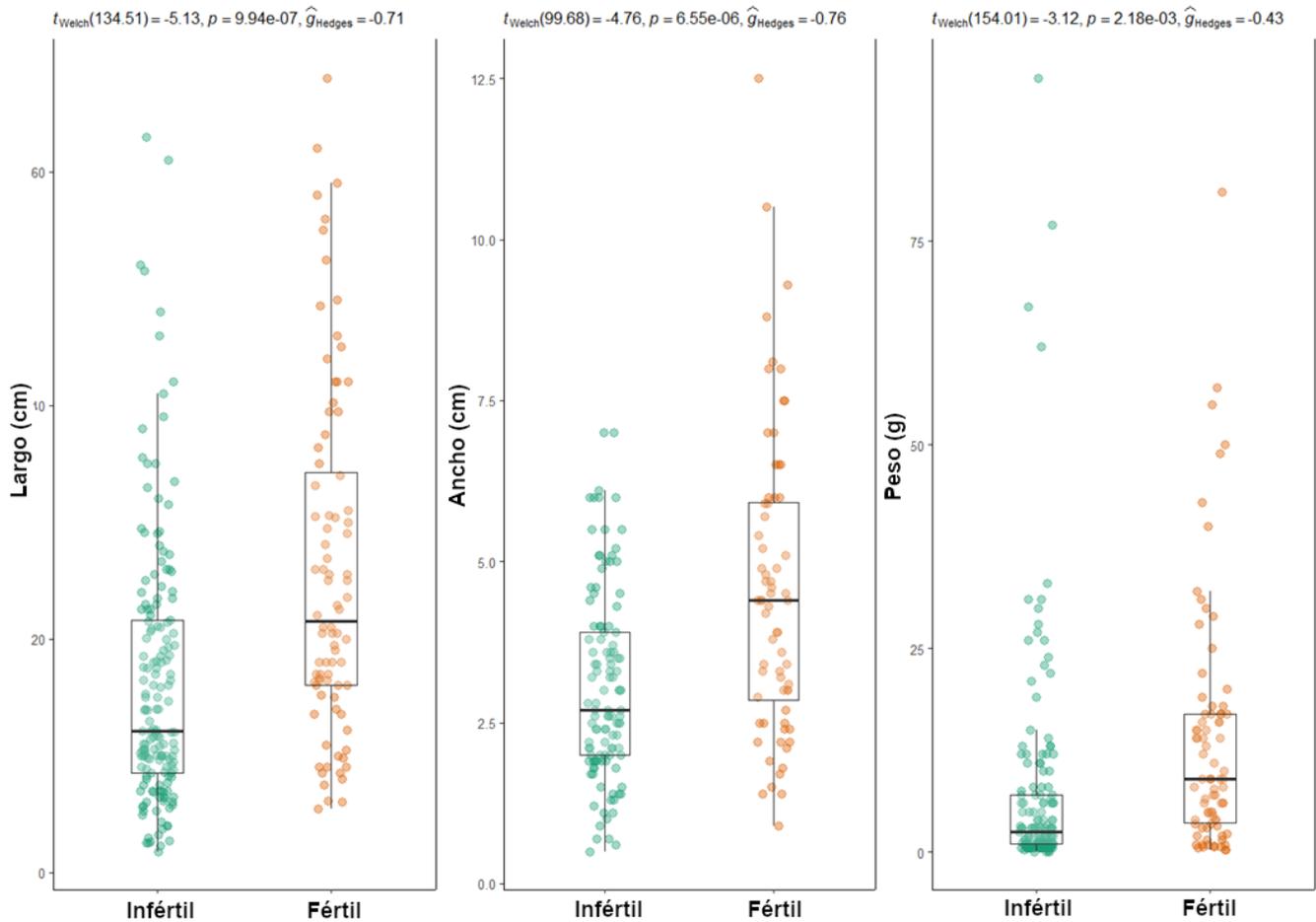
A partir del 2015 se han encontrado ejemplares de *G. turuturu* en puntas rocosas desde Piriápolis, Maldonado hasta el área marina protegida Cerro Verde e Islas de La Coronilla, Rocha (observado en salidas de campo del GMMU), creciendo principalmente en el intermareal medio y bajo. En la zona de la Armada Nacional en la Bahía Grande de La Paloma, se encontraron ejemplares creciendo en el intermareal medio y bajo durante todo el año, sobre roca expuesta, mejillones, y estructuras metálicas y plásticas. Se encontraron ejemplares en estadíos fértiles (gametofitos y tetraesporofitos) y en estadíos infértiles (vegetativos) en todos los muestreos y todas las estaciones del año. Solamente la medida de largo de los individuos infértiles presenta diferencias significativas entre las estaciones del año (Fig. 12).

No se observaron diferencias significativas en relación a la estación del año estudiado para los pesos ( $p=0,43$ ) y largos ( $p=0,40$ ) de individuos fértiles (Test de *Kruskal-Wallis*). Las medidas de pesos de los talos vegetativos tampoco mostraron diferencias entre las estaciones del año ( $p=0,10$ ). Los valores de largo de talos vegetativos muestran un patrón de crecimiento desde el otoño hasta primavera y verano, con diferencias significativas entre estaciones (Test de *Kruskal-Wallis*,  $p<0,005$ ). Tests *post-hoc* realizados utilizando la corrección de *Holm* indicaron mayores tamaños en primavera y verano respecto al otoño ( $p<0,005$ ) y mayores tamaños en verano que en invierno ( $p<0,005$ ). El individuo más largo y el de mayor peso, ambos fértiles, fueron registrados durante el verano (Fig. 12).



**Figura 12:** diagramas de caja de las medidas de largo (cm) **(A)** y peso (g) **(B)** por estación del año tomadas en ejemplares fértiles e infértiles de *G. turuturu*. Como fértiles se tomaron a los individuos gametofíticos y tetraesporofitos, y como infértiles se tomaron a los organismos que no presentaran estructuras reproductivas visibles. Muestras obtenidas en la zona de la Armada Nacional en la Bahía Grande de La Paloma (-34.6580, -54.1450) entre junio de 2021 y abril de 2022. Diferencias significativas entre estaciones marcadas con asteriscos.

Se encontraron diferencias significativas (*Test-T de Welch*) en las tres medidas entre organismos fértiles e infértiles: las frondes de individuos fértiles presentaron mayor media de ancho ( $p < 0,001$ ), largo ( $p < 0,001$ ) y mayor peso individual ( $p < 0,005$ ) (Fig. 13).

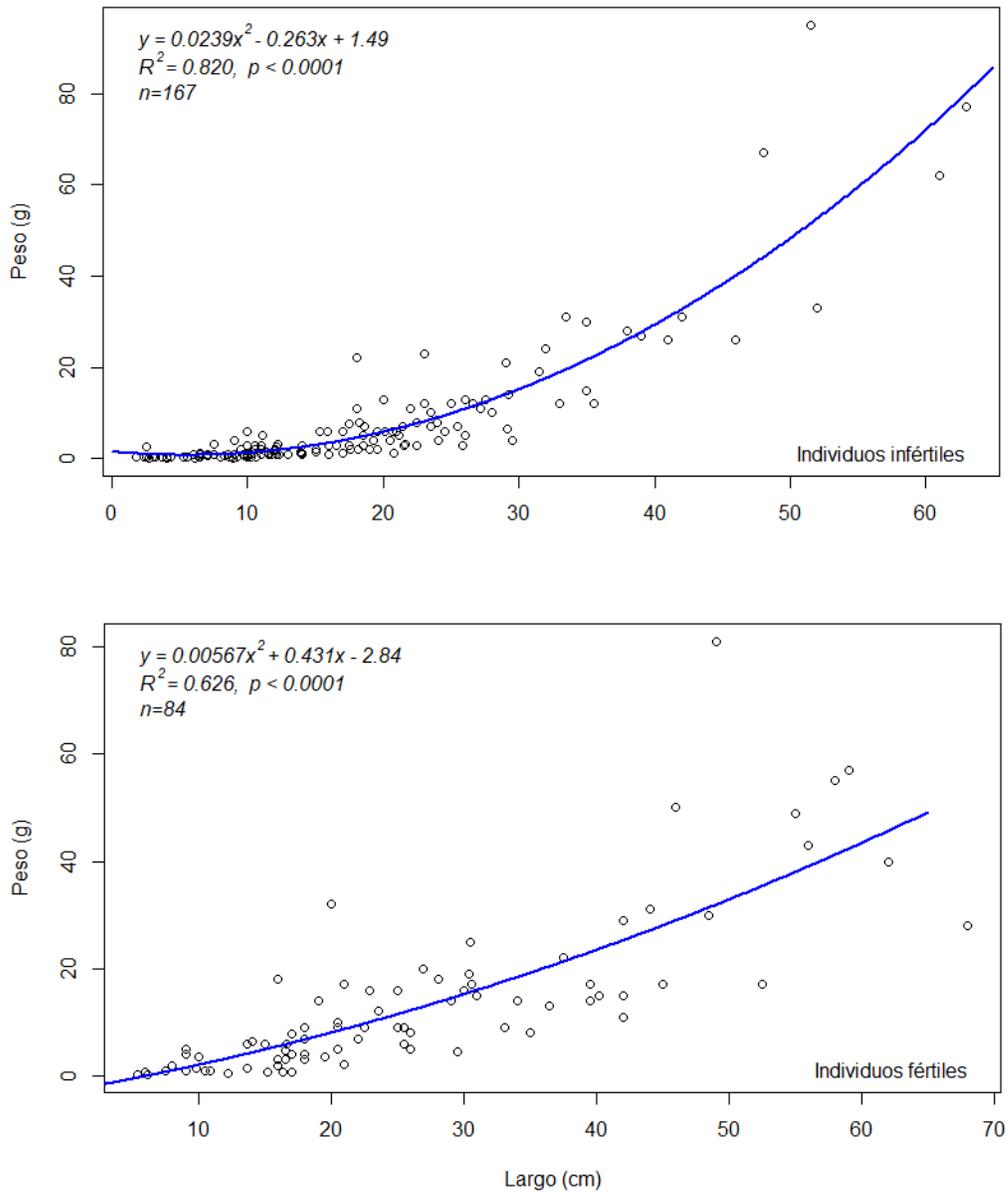


**Figura 13:** Comparación de medidas de individuos de *Grateloupia turuturu* muestreados en la zona de la Armada Nacional en la Bahía Grande de La Paloma (-34.6580, -54.1450) entre junio 2021 y abril 2022, divididos en ejemplares fértiles e infértiles. Como fértiles se tomaron a los individuos gametofíticos y tetraesporofitos, y como infértiles se tomaron a los organismos que no presentaran estructuras reproductivas visibles. Test-t de Welch, indicando diferencias significativas entre las tres medidas.

Los organismos muestreados presentaron tamaños de talo que variaron desde 1,8 cm hasta 68 cm de largo, 0,5 cm a 12,5 cm de ancho y mostraron pesos individuales de 0,1 g hasta 95 g dependiendo de la fase del ciclo de vida en que se encontraban (Tabla 6). La relación largo-peso de los organismos fértiles se ajustó a una curva caracterizada por la ecuación:  $y = 0,00567x^2 + 0,431x - 2,84$  ( $R^2=0,626, p < 0,0001$ ) y la relación lago-peso de los individuos infértiles dio una curva caracterizada por la ecuación  $y = 0,0239x^2 - 0,263x + 1,49$  ( $R^2=0,820, p < 0,0001$ ) (Fig. 14).

**Tabla 6:** Dimensiones y pesos de los ejemplares de *Grateloupia turuturu* muestreados por el Grupo Macroalgas Marinas de Uruguay en la zona de la Armada Nacional en la Bahía Grande La Paloma (-34.6580, -54.1450). Como fértiles se tomaron a los individuos gametofíticos y tetraesporofitos, y como infértiles se tomaron a los organismos que no presentaran estructuras reproductivas visibles. Número de organismos fértiles = 84, número de organismos infértiles = 167, ds = Desvío estándar.

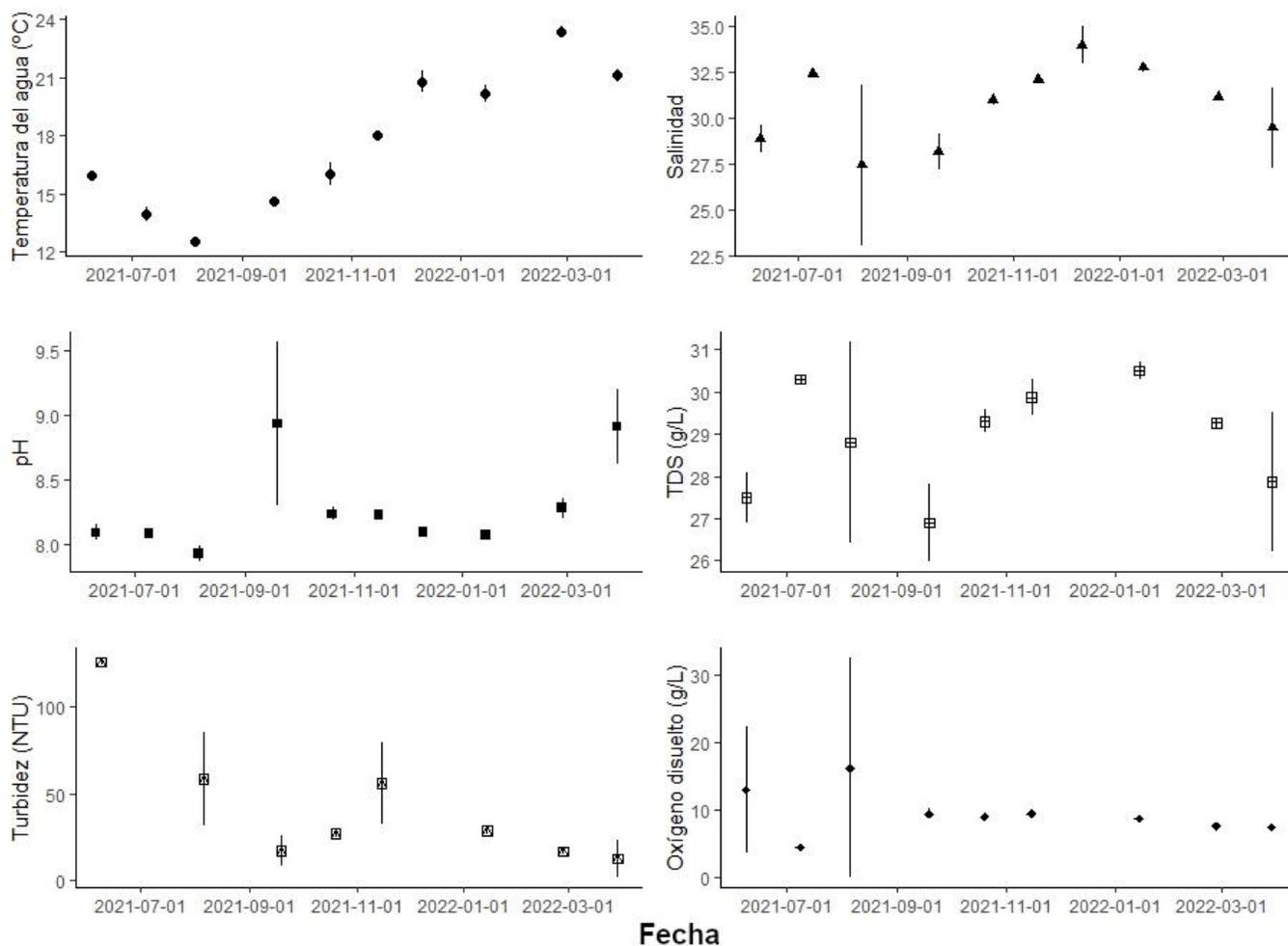
<b>Medida</b>	<b>Fase</b>	<b>Promedio ± ds</b>	<b>Máx.</b>	<b>Mín.</b>
Largo	Infértil	16,4 ± 11,4 cm	63,0 cm	1,8 cm
	Fértil	25,9 ± 14,9 cm	68,0 cm	5,4 cm
Ancho	Infértil	3,1 ± 1,5 cm	7,0 cm	0,5 cm
	Fértil	4,6 ± 2,3 cm	12,5 cm	0,9 cm
Peso individual	Infértil	7,4 ± 13,6 g	95,0 g	0,1 g
	Fértil	13,6 ± 15,1 g	81,0 g	0,25 g



**Figura 14:** Relación largo-peso de los ejemplares de *Grateloupia turuturu* en la zona de la Armada Nacional en la Bahía Grande de La Paloma (-34.6580, -54.1450), divididos en fértiles e infértiles. Como fértiles se tomaron a los individuos gametofíticos y tetraesporofitos, y como infértiles se tomaron a los organismos que no presentaran estructuras reproductivas visibles.

La mayor temperatura de agua registrada durante los muestreos (23,6°C) fue en el mes de febrero del 2022 y la mayor salinidad (35,00) en diciembre del 2021. Los valores mínimos de temperatura (12,4°C) y salinidad (22,84) fueron registrados en agosto del 2021. El mayor valor de turbidez (128 NTU) del agua fue en junio del 2021 mientras que el menor valor (4,6 NTU) fue en abril de 2022. El mayor valor de

sólidos disueltos totales (TDS) así como el de oxígeno disuelto (OD) en agua (30,70 g/L y 34,90 mg/L, respectivamente) fueron tomados en el mes de agosto del 2021. El menor valor de TDS (25,90 g/L) fue en setiembre del 2021 y el menor valor de OD (4,40 mg/L) fue en julio del 2021. El pH mostró un mínimo de 7,86 en agosto del 2021 y un máximo de 9,64 en setiembre del 2021 (Fig. 15).



**Figura 15:** Valores de las principales variables ambientales: temperatura, salinidad, pH, solidos disueltos totales (TDS), turbidez y oxígeno disuelto. Tomadas en la zona de la Armada Nacional en la Bahía Grande de La Paloma (-34.6580, -54.1450) entre junio 2021 y abril 2022.

## Discusión

### Grateloupia en Uruguay

Los registros para el género comenzaron en la década del 1920, siendo el primero en 1925 a partir de algas colectadas en La Paloma por Carmen de Franco, una maestra escolar y naturalista reconocida en la zona. Las algas herborizadas por esta colectora están presentes en el herbario del MNHN, el MACN, el herbario de la *University of California, Berkeley, EEUU* y el herbario de la *University of Michigan, EEUU*. Se puede afirmar que estos ejemplares constituyen los primeros registros conocidos del género para Uruguay. El alga colectada en el año 1926 depositada en el MACN (Anexo B, Fig. X) posiblemente haya sido colectada por la misma naturalista, aunque no se explicita. En ninguno de estos herbarios se encontraron registros de *G. turuturu* provenientes de Uruguay. Debido a esto, se puede afirmar que los primeros registros de esta especie para el país, que se encuentran actualmente depositados en el MNHN, corresponden a los del presente estudio (Tabla 2).

Morfológicamente, los ejemplares analizados en este estudio coinciden con las descripciones originales (Agardh 1822; Agardh 1849; Yamada 1941) y las descripciones hechas para Uruguay (Coll 1976; Coll & Olivera 1999). Cabe destacar que las descripciones originales de *G. cuneifolia* y *G. filicina* son poco detalladas, sin descripciones posteriores a partir de los ejemplares tipo o de ejemplares provenientes de la localidad tipo, dificultando una caracterización puramente morfológica.

Como se mencionó anteriormente, el género *Grateloupia* en sí es reconocido por poseer diversidad críptica o pseudo-críptica (de Clerk et al. 2005b; Figueroa et al. 2007). En Uruguay se habían determinado morfológicamente a las tres especies (González-Etchebehere et al. 2017) con ejemplares distinguibles presentes. Sin embargo, algunos ejemplares recolectados a lo largo de los últimos años presentaron morfologías solapadas entre sí. Aunque estas especies tengan morfologías solapadas, el estudio molecular del gen *rbcL* aquí presentado confirma la presencia de tres especies separadas en clados identificables: el clado *G. turuturu*, el clado *G. gibbesii* y, con mayor divergencia interna, el clado *G. filicina* (Figs. 8-9).

### Grateloupia cuneifolia

Esta especie se encuentra registrada para el país desde el año 1925. Las algas que coinciden morfológicamente con *G. cuneifolia* (Coll 1976; González-Etchebehere et al. 2017; Vélez-Rubio et al. 2021) en este estudio, coinciden molecularmente con secuencias identificadas como *G. gibbesii*, originalmente descrita para la costa este de EEUU (Harvey 1853). Esto puede ser debido a que existe un grupo de especies del género *Grateloupia*, incluyendo *G. gibbesii* y *G. cuneifolia*, que históricamente han sido agrupadas y desagrupadas como polimorfismos de una misma especie según varios autores.

En primer lugar, la agrupación de varias especies de *Grateloupia* fue propuesta por André & Gayral (1961), luego de que Taylor (1960) propuso que *G. gibbesii* podría ser una variación morfológica de *G. cuneifolia*. Propusieron unificar un grupo de especies provenientes del Atlántico (incluyendo *G. cuneifolia* y *G. gibbesii*) y del Pacífico como polimorfismos de la especie *Grateloupia lanceola* (J. Agardh) J. Agardh

(por ser el nombre más antiguo del grupo). Dawson et al. (1964) propusieron unir a varias especies de *Grateloupia* del Pacífico como polimorfismos de *G. doryphora* (siendo el nombre más antiguo de estas) sin hacer referencia a las especies del Atlántico. Posteriormente de Masi & Gargiulo (1982) registraron morfológicamente a *G. doryphora* en el Mediterráneo y en base a la propuesta de André & Gayral (1961) propusieron agregarla al complejo *G. lanceola*, pero cambiando el nombre del complejo a *Grateloupia doryphora*.

Más recientemente, Gavio & Fredericq (2002) hallaron por métodos moleculares que el alga que estaba registrada como *G. doryphora* para el Atlántico norte coincidía morfológicamente y molecularmente con *G. turuturu*. Se cuestionó la agrupación de especies del Atlántico-Pacífico, y se indicó que la distribución de *G. doryphora* probablemente esté acotada a la costa del Pacífico sudamericano. En una publicación posterior, Figueroa et al. (2007), separan a *G. lanceola* de este gran complejo, también basado en caracteres moleculares, definiéndola como una especie aparte.

Las algas depositadas en el MACN bajo el nombre *G. doryphora* fueron identificadas (por W. F. Farnham en 1981) cuando *G. cuneifolia* aún se consideraba por algunos autores dentro del complejo *G. doryphora*. Probablemente esto se haya debido a la difícil diferenciación morfológica entre estas especies. En Uruguay, Coll & Oliveira (1999) identificaron dos especies de *Grateloupia*: *G. filicina* y *G. doryphora*. Por su morfología (Anexo B, Figs. X-XI). Conociendo ahora el rango de distribución de *G. doryphora* y entendiendo que estas especies se han podido confundir en el pasado, se puede considerar que los ejemplares del MACN y los ejemplares identificados por Coll & Oliveira (1999) probablemente correspondan a *G. cuneifolia*. Esto se podría considerar como un sesgo histórico de identificación de estas especies en Uruguay previo a Gavio & Fredericq (2002).

A nivel regional, en la tesis doctoral de Azevedo (2016) se menciona la casi nula diferencia morfológica entre *G. cuneifolia* y *G. gibbesii*, que se encontraron diferenciadas molecularmente de las especies del Pacífico. Las descripciones originales de ambas especies son muy poco detalladas y falta una descripción de ejemplares topotípicos de *G. cuneifolia*. La autora propone que podrían ser el mismo taxón, entre la falta de características suficientemente contrastantes para diferenciarlas morfológicamente y la semejanza genética. Además, es difícil encontrar diferencias genéticas entre *G. gibbesii* y *G. cuneifolia* por la falta de secuencias provenientes de la localidad tipo de *G. cuneifolia* (La Guaira, Venezuela) y la inexistencia de secuencias identificadas como *G. cuneifolia* en *GenBank*. Azevedo (2016) denomina a los ejemplares morfológicamente caracterizados *G. cuneifolia* como *G. gibbesii*, nombre que decide mantener hasta que haya secuencias disponibles de *G. cuneifolia* para comparar. En caso de corroborar que ambas son la misma especie, indica que se deberían sinonimizar bajo el nombre *G. cuneifolia* (por antigüedad). Las secuencias de *Grateloupia gibbesii* (vouchers IBC 2030, 2037, 2040 y 2029, subidas como *Grateloupia* sp. a *GenBank*) provenientes de dicha tesis, que se agrupan molecularmente con los ejemplares de *G. cuneifolia* de este estudio y *G. gibbesii* internacionales, fueron morfológicamente identificados como *G. cuneifolia* (Azevedo 2016).

En cuanto a los registros de Uruguay, algunos de los primeros ejemplares de *Grateloupia* fueron identificados como *G. gibbesii* en la *University of California, Berkeley*, reafirmando esa difícil diferenciación histórica entre ambos taxones. Al ser un taxón descrito para la costa atlántica

norteamericana, es posible que naturalistas de dicha región se hayan inclinado a identificar estos ejemplares con el nombre *G. gibbesii*.

Recientemente, ejemplares provenientes de Egipto de *G. gibbesii*, fueron reasignados al género *Phyllymenia* manteniendo el mismo epíteto específico, por sus estructuras reproductivas y datos moleculares (Rodríguez-Prieto et al. 2022). Esta especie fue registrada como exótica en la costa egipcia del Mar Mediterráneo hace poco tiempo (Rodríguez-Prieto et al. 2021). Esto indica aún más la necesidad de revisar el material del Atlántico sur para actualizar la taxonomía de estos organismos. Es común, además, que taxones dentro de la familia Grateloupiaceae hayan sido (y sigan siendo) denominados *Grateloupia* por cuestiones históricas, aunque existan una variedad de géneros dentro de la misma (Fredericq et al. 2021).

En cuanto a la historia nomenclatural de estas especies, *G. cuneifolia* fue descrita en 1849 (Agardh 1849), *G. gibbesii* fue descrita en 1853 (Harvey 1853) y el nombre *P. gibbesii* fue designado como sinónimo *G. gibbesii* en 2022 (Rodríguez-Prieto et al. 2022). En caso de sinonimizar *G. cuneifolia* y *P. gibbesii*, sería necesario tener en cuenta esta nueva clasificación, manteniendo el nombre del género, pero cambiando el epíteto específico, denominándose *Phyllymenia cuneifolia*, por ser el nombre más antiguo.

Las secuencias de *G. cuneifolia* obtenidas en este estudio fueron agregadas a la base de datos de *GenBank* bajo el nombre *Phyllymenia* sp. hasta que no se compruebe una diferencia entre *G. gibbesii* y *G. cuneifolia*, similar al procedimiento de Azevedo (2016).

### *Grateloupia filicina*

Las secuencias de *Grateloupia filicina* analizadas se dispusieron en dos clados principales en cuanto al marcador *rbcL* (Figs. 8-9). Uno de ellos contiene secuencias de ejemplares de la región tipo de la especie (Mar Mediterráneo, Italia), con la divergencia interna de este grupo menor a 0,7%. La secuencia del alga identificada como *G. filicina* de Uruguay está dentro de un clado de varias secuencias de *G. filicina* de diferentes partes del mundo, que se diferencian de las secuencias de la región original y tienen una relativamente elevada divergencia entre sí (Tabla 5). Esto probablemente se deba a que, históricamente, como tendencia se ha asociado casi cualquier individuo de *Grateloupia* con una morfología similar a *G. filicina* mediterránea a este nombre. Ejemplares con morfologías levemente distintas han sido considerados taxones infraespecíficos, sin importar el origen geográfico, y esto ha llevado a la descripción de varios morfotipos y variedades de *G. filicina* en la mayoría de los océanos del mundo (de Clerk et al. 2005a). No obstante, se ha comprobado que varios de estos ejemplares, identificados como *G. filicina* o como taxones infraespecíficos de *G. filicina*, pertenecían a otras entidades taxonómicas (Wang et al. 2000; Kawaguchi et al. 2001; de Clerk et al. 2005a). Los valores de divergencia interespecíficos para el género en cuanto al gen *rbcL* varían entre 5% y 10%, aunque se ha visto divergencia más baja, de 1,5% a 2,8% (Wang et al. 2001, Gavio & Fredericq 2002). Esto implica la posibilidad de que existan una variedad de especies del morfotipo *G. filicina* alrededor del mundo, incluyendo la del presente estudio. Se observa en este trabajo que las divergencias de este marcador dentro del clado de *G. turuturu* fueron de hasta 1,12%, dentro del clado formado por los ejemplares de

*G. gibbesii* fue menor o igual a 1,30%, mientras que dentro del clado de *G. filicina* fue de hasta 6,49% (Tabla 5). Esta variación genética es mayor a la que se espera entre individuos de una misma especie.

La secuencia de *rbcL* obtenida está dentro de un clado bien soportado con una secuencia denominada *G. filicina* proveniente de Sri Lanka, y un ejemplar morfológicamente muy similar a *G. filicina* proveniente de Rio de Janeiro, Brasil (*Grateloupia* cf. *filicina* 2, voucher IBC 0506, Azevedo 2016) (Figs. 8-9). Las tres secuencias tienen una variación relativamente baja entre sí (de 0,36% y 1,8%, respectivamente) teniendo en cuenta las distancias geográficas entre las localidades donde fueron colectadas. Están dentro del complejo de algas de morfología muy similar a *G. filicina*, de origen tropical que se consideran poco divergentes y sin un patrón biogeográfico claro, atribuido a una divergencia más reciente (de Clerck et al. 2005a). Como se observa en este caso, la secuencia más similar al alga denominada *G. filicina* de Uruguay proviene de Sri Lanka, a más de 14000 km de distancia y sin conexiones biogeográficas claras. Esto podría deberse a una convergencia, a un error en algunos de los datos de colección/secuenciación o una introducción desapercibida en alguna de las dos localidades en el pasado, indicando una especie criptogénica para Uruguay (o Sri Lanka). Es posible que haya una relación de parentesco entre ejemplares uruguayos con los de la secuencia de Rio de Janeiro y, si pertenecieran al mismo taxón, este podría tener una distribución conocida por lo menos acotada a la costa central del Atlántico Sudoccidental, abarcando parte de Brasil y la costa atlántica uruguaya.

La secuencia obtenida en este trabajo fue subida a *GenBank* bajo el nombre *Grateloupia* sp. Son necesarios más análisis morfológicos y moleculares a mayor escala con ejemplares de este morfotipo de la región para determinar la especie a la que pertenecen los ejemplares presentes en Uruguay. Hasta el momento, para Uruguay se podría considerar la denominación *Grateloupia* cf. *filicina*

### *Grateloupia turuturu*

Morfológicamente, en relación a los caracteres macroscópicos, los ejemplares aquí analizados de *G. turuturu* coinciden con la descripción original de la especie de Yamada (1941). En cuanto a las características observadas al microscopio, el grosor de las frondes, la visualización de transición abrupta entre córtex y médula filamentosas con presencia de células estrelladas caracteriza en parte al género (Fig. 7). Sin embargo, las características morfológicas macroscópicas (textura, morfología del talo, cantidad y ubicación de las proliferaciones) y microscópicas relacionadas a estructuras vegetativas (médula y córtex), así como la ubicación y tamaño de estructuras reproductivas, son de relativamente poca confianza en cuanto a su caracterización ya que son altamente homoplásicas dentro de este género (Wang et al. 2001). En este caso se pueden confirmar que las algas analizadas pertenecen al género *Grateloupia* en cuanto a su morfología. Serían de mayor utilidad para la identificación a nivel específico análisis detallados de las estructuras reproductivas femeninas pre y post fertilización debido a que son estructuras más complejas (Rodríguez-Prieto et al. 2022).

En este caso los datos moleculares obtenidos posicionan a todas las secuencias analizadas dentro del clado de *Grateloupia turuturu* (Figs. 8-11). *Schizymenia dubyi* (Chauvin ex Duby) J. Agardh es una especie de un género superficialmente similar a *Grateloupia*, registrada como exótica en la costa atlántica de la provincia de Buenos Aires, Argentina (Ramírez et al. 2012). Algunos ejemplares (por ej. MVM 23499) de *G. turuturu* son confundibles morfológicamente y sin un análisis detallado con *S. dubyi*;

pero el análisis aquí conducido descarta esa posibilidad. Los análisis moleculares realizados en la presente tesis, también descartan la posibilidad de confundir ambas especies.

La población de la zona de la Armada en La Paloma se encuentra establecida, con individuos fértiles y vegetativos presentes durante todo el año, los individuos fértiles presentando mayores dimensiones en verano (Fig. 12). Esto puede deberse a una mayor temperatura superficial del mar en la época estival. Se vio que la temperatura óptima para el ritmo fotosintético, correlacionado con el crecimiento, de *G. turuturu* está cercano a los 20°C (Simon et al. 1999), similar a la media de temperatura superficial del mar en la costa de Uruguay durante el verano y otoño austral (Framiñan et al. 1999; Trinchin et al. 2021). El rango de tolerancia de temperatura de *G. turuturu* hace que su presencia anual sea esperable, ya que durante todo el año en La Paloma las condiciones ambientales, principalmente temperatura y salinidad del agua, se mantienen dentro de sus límites de tolerancia: entre 5°C y 30°C, y de 12 a más de 40 de salinidad (Simon et al. 1999). Las medidas de estas variables tomadas durante los muestreos para este estudio están también dentro de ese rango de tolerancia (Fig. 15). Los otros datos abióticos tomados (Fig. 15) no mostraron un patrón claro en relación a las medidas de *G. turuturu* y sería de interés tener un monitoreo a una escala temporal menor, para conducir futuros estudios relacionándolos con cambios sobre la biología de organismos del intermareal.

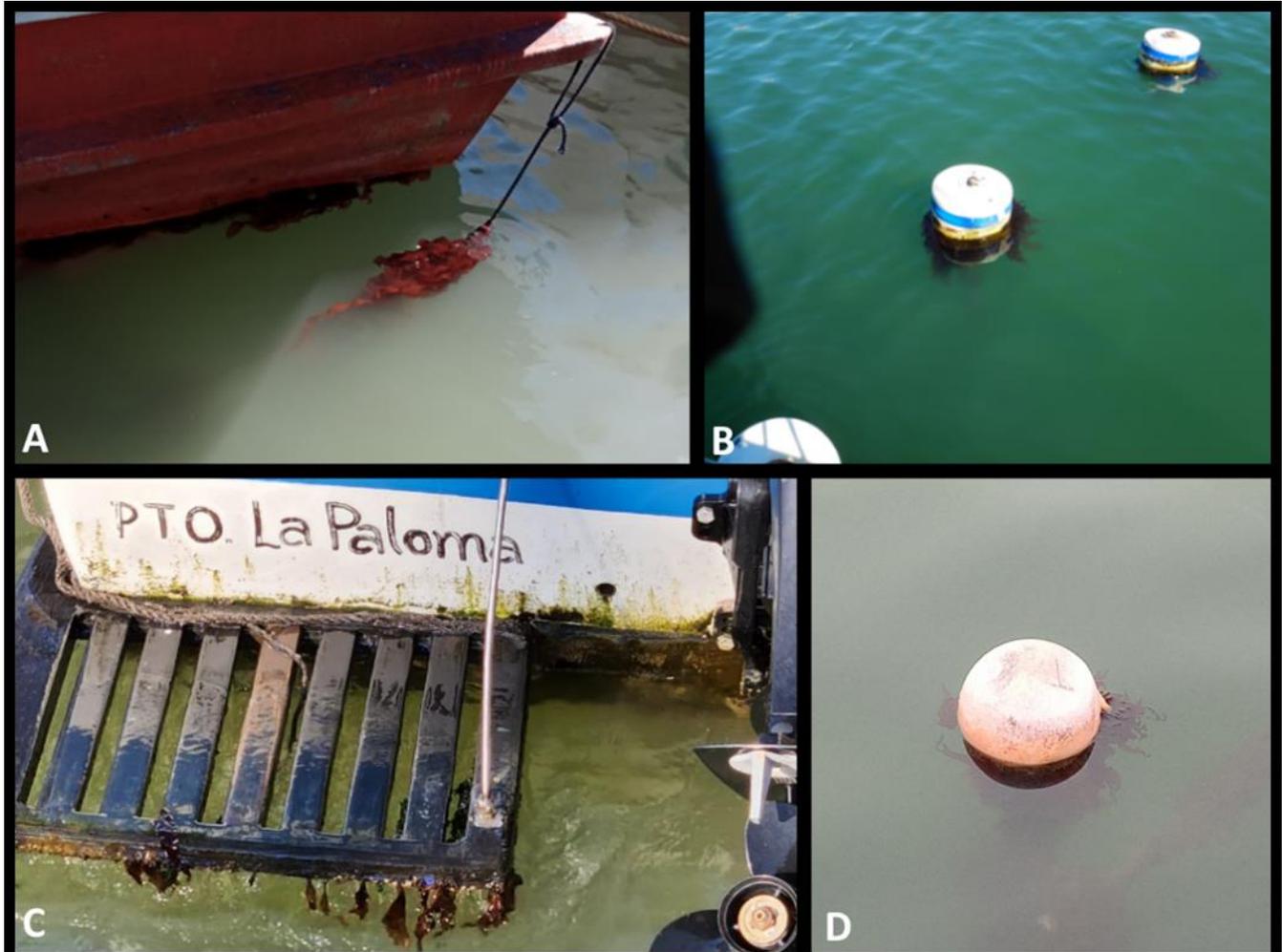
Por otro lado, los meses de mayor temperatura (otoño) coinciden con tamaños de individuos infértiles más pequeños, indicando la posibilidad de que ésta fuera la temporada post reclutamiento. En este caso, las algas recién asentadas estarían comenzando a crecer, y las algas fértiles de mayor tamaño ya se habrían reproducido. Esto podría estar ocurriendo directamente después del período de verano donde se observan los mayores tamaños de individuos fértiles, indicando el momento de mayor reproducción y dando un primer acercamiento a la fenología de esta especie en la costa uruguaya. No obstante, faltarían más estudios para tener un mayor entendimiento de su situación, ya que se desconocen las interacciones bióticas que puedan estar afectando a la población, como facilitación, competencia por sustrato y luz con macroalgas nativas, herbivoría o patógenos/parásitos (p. ej. Tomás et al. 2011; Thompson & Schiel 2012)

Las curvas largo-peso de los organismos son de importancia para futuros estudios, por ejemplo, relacionando biomasa con características individuales como es el largo de los organismos. Se espera que estas primeras aproximaciones a los tamaños de *G. turuturu* en Uruguay sean de utilidad para trabajos posteriores sobre el crecimiento e historia de vida y ecología de esta especie.

### *Grateloupia turuturu* como especie exótica invasora

El GMMU ha mantenido la hipótesis de que la llegada de *G. turuturu* fue mediante *fouling* sobre una embarcación recreativa desde Brasil o Argentina, o una secuencia de arribos en distintos períodos de tiempo. Esto es debido a que el primer registro fue en el puerto de La Paloma, que tiene principalmente embarcaciones de pesca artesanal local y recreativas. De estos dos tipos de embarcaciones, las que tienen conexión con otros puertos de la región son las recreativas, como veleros y yates que pueden atracar en puerto con *biofouling* sobre sus cascos (Mineur et al. 2008). La presencia visible de *G. turuturu* creciendo sobre estructuras antrópicas como embarcaciones, boyas y cabos en el puerto (Fig. 16), y sobre otros organismos como mejillones en la zona de la Armada de La Paloma, reafirma esta

posibilidad. La presencia de organismos en las localidades de Piriápolis y Punta del Este, ambas con zonas portuarias dedicadas principalmente a embarcaciones recreativas (MTOP), podría indicar una secuencia de llegadas de la especie a aguas uruguayas sobre embarcaciones de esta clase o traslocación dentro de la zona.



**Figura 16:** Fotografías de ejemplares de *Grateloupia turuturu* creciendo sobre cabo y barca de pesca (A), boyas (B y D) y sobre una embarcación recreativa (C) en el puerto de La Paloma, Rocha.

El arribo debido al efecto de la deriva en corrientes costeras, sin intervención antrópica directa desde el norte es poco probable, ya que en Brasil *G. turuturu* está registrada para la costa del estado de Santa Catarina y no para la de Rio Grande do Sul (Steigleder 2015), estado que colinda con Uruguay. Sin embargo, hay posibilidades de que la distribución actual de la especie en la región esté subestimada y no se haya registrado para Rio Grande do Sul aún.

Otros vectores hipotéticos podrían ser de *biofouling* sobre embarcaciones de mayor tamaño, desde mayores distancias geográficas. Los individuos desprendidos de estos barcos llegarían a la zona costera y se asentarían ya que esta especie tiene capacidad de reproducirse asexualmente, ya sea por fragmentación o por el desprendimiento de talos tetraesporofíticos (Harlin & Villalard-Bohnsack

2001). Existe también la posibilidad de dispersión sobre residuos antrópicos (por ej. fragmentos plásticos) dispersados por corrientes marinas, viendo que esta especie puede crecer sobre una variedad de sustratos de este tipo (Kiesling et al. 2015; Simkanin et al 2019). Si bien estos casos pueden ser considerados, serían necesarios nuevos estudios para conocer la probabilidad de que esto ocurra en Uruguay.

Es difícil inferir el origen de la introducción de *G. turuturu* utilizando solamente los marcadores genéticos disponibles en *Genbank*. El marcador *COI* es aceptado como una secuencia que tiene suficiente variabilidad intraespecífica en algas rojas como para hacer inferencias poblacionales (Yang et al. 2007), pero en este caso, hasta ahora solo se encontraron 7 secuencias del gen *COI* de *G. turuturu* disponibles en *GenBank*, provenientes de Brasil, España y Corea del Sur. La secuencia de Uruguay en este caso estaría menos emparentada con las secuencias de Brasil que con las secuencias de Corea del Sur y de España (Figs. 10-11), dando a entender que el vector de entrada a Uruguay no provendría de las mismas localidades de origen de las secuencias brasileñas. Sin embargo, hacen falta más secuencias de este marcador provenientes de otras partes del mundo para tener un mejor acercamiento. Por ejemplo, no se encontraron secuencias de Argentina. Este país ha tenido registros de *G. turuturu* (Pan et al. 2019) por lo cual también se tiene en cuenta la posibilidad de que vectores de llegada a Uruguay provengan de allí.

En este sentido, el análisis con microsatélites o espaciadores intergenicos es de interés (Zuccarello, J., com. pers.) a nivel regional, ya que estos marcadores tienen mayor variabilidad aún y pueden resultar en mejores inferencias a nivel poblacional (Zuccarello et al. 1999b; Guzinski et al. 2016).

### Consideraciones finales y perspectivas

El presente estudio actualiza la situación taxonómica de dos géneros de algas rojas en Uruguay y constituye el primer análisis filogenético molecular de macroalgas en el país. En este contexto, se confirmó la presencia de dos especies del género *Grateloupia*: *G. cf. filicina* y el alga exótica invasora *G. turuturu*, la cual se encuentra en estado de establecimiento en la costa atlántica uruguaya. Se confirma además la presencia de *Phyllymenia gibbesii*, especie cuya nomenclatura podría actualizarse a *P. cuneifolia* por principio de prioridad del epíteto específico, anteriormente perteneciente al género *Grateloupia*. Esto constituye el primer reporte del género *Phyllymenia* para Uruguay.

Las principales perspectivas a futuro en esta área están relacionadas al seguimiento de la invasión de *G. turuturu* en el intermareal rocoso uruguayo, así como el estudio de posibles introducciones de macroalgas en el futuro dentro de un contexto de aumento de introducciones biológicas marinas a nivel global. Por otro lado, es necesario esclarecer incertidumbres relacionadas a la taxonomía tanto de *Grateloupia cf. filicina*, como de *P. cuneifolia*, mediante técnicas moleculares y morfológicas en mayor detalle y abarcando una mayor zona geográfica.

## Referencias Bibliográficas

- Agardh, C. A. (1822). *Species algarum rite cognitae, cum synonymis, differentiis specificis et descriptionibus succinctis*. Volumen primum pars posterior. Lundae [Lund]: ex officina Berlingiana, 169–398.
- Agardh, J.G. (1849). Algologiska bidrag. *Öfversigt af Kongl. Vetenskaps-Adademiens Förhandlingar*, 6, 79-89.
- Ardré, F. & Gayral, P. (1961). Quelques *Grateloupia* de l'Atlantique et du Pacifique. *Revue Algologique*, 6, 405-409.
- Azevedo, C. A. A. de, Cassano, V., Júnior, P. A. H., Batista, M. B., & de Oliveira, M. C. (2015). Detecting the non-native *Grateloupia turuturu* (Halymeniales, Rhodophyta) in southern Brazil. *Phycologia*, 54(5), 451–454. <http://dx.doi.org/10.2216/15-25.1>
- Azevedo, C. A. A. de. (2016). *Diversidade e Filogenia da Ordem Halymeniales (Rhodophyta) no litoral do Brasil*. [Tesis de Doctorado, Universidade de São Paulo, Depto. de Botânica], São Paulo, Brasil.
- Brazeiro, A., Bresciano, D., Brugnoli, E. & Iturburu, M. (2021). *Especies exóticas invasoras de Uruguay: distribución, impactos socioambientales y estrategias de gestión*. RETEMA-UdelaR, CEEI-Ministerio de Ambiente, Montevideo.
- Carlton, J. T. (1985). Transoceanic and interoceanic dispersal of coastal marine organisms: the biology of ballast water. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 23, 313-371.
- Carlton, J. T. (1996). Biological invasions and cryptogenic species. *Ecology*, 77(6), 1653–1655. <http://dx.doi.org/10.2307/2265767>
- Carlton, J. T. (2001). *Introduced species in US coastal waters: pew oceans commissions report*. Washington, DC: Pew Oceans Commissions.
- Casas, G., Scrosati, R. & Luz Piriz, M. (2004) The Invasive Kelp *Undaria Pinnatifida* (Phaeophyceae, Laminariales) Reduces Native Seaweed Diversity in Nuevo Gulf (Patagonia, Argentina). *Biological Invasions*, 6, 411–416. <http://dx.doi.org/10.1023/B:BINV.0000041555.29305.41>
- Chase, M. W., Soltis, D. E., Olmstead, R. G., Morgan, D., Les, D. H., Mishler, B. D., Duvall, M. R., [...], & Albert, V. A. (1993). Phylogenetics of Seed Plants: An Analysis of Nucleotide Sequences from the Plastid Gene rbcL. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 80(3), 528. <http://dx.doi.org/10.2307/2399846>
- Coll, J. F. (1976). *Algas marinhas bentônicas do Uruguai*. [Tesis de Doctorado, Universidade de São Paulo, Depto. de Botânica] São Paulo, Brasil.
- Coll, J. F., & Oliveira, E. C. (1999). The benthic marine algae of Uruguay. *Botanica Marina*, 42, 129-135. <http://dx.doi.org/10.1515/BOT.1999.016>
- Dawson, E. Y., Acleto, C., & Foldvik, N. (1964). *The seaweeds of Peru*. Schweizerbart Science Publishers.

D'Archino, R., Nelson, W. A., & Zuccarello, G. C. (2007). Invasive marine red alga introduced to New Zealand waters: First record of *Grateloupia turuturu* (Halymeniaceae, Rhodophyta). *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 41(1), 35-42. <http://dx.doi.org/10.1080/00288330709509894>

de Masi, F. & Gargiulo, G. M., (1982). *Grateloupia doryphora* (Mont.) Howe (Rhodophyta, Cryptonemiales) en Méditerranée. *Allionia*, 25, 105–108.

De Clerck, O., Gavio, B., Fredericq, S., Bárbara, I., & Coppejans, E. (2005a). Systematics of *Grateloupia filicina* (Halymeniaceae, Rhodophyta), based on *rbcL* sequence analyses and morphological evidence, including the reinstatement of *G. minima* and the description of *G. capensis* sp. Nov. *Journal of Phycology*, 41(2), 391-410. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1529-8817.2005.04189.x>

De Clerck, O., Gavio, B., Fredericq, S., Cocquyt, E. & Coppejans E. (2005b). Systematic reassessment of the red algal genus *Phyllymenia* (Halymeniaceae, Rhodophyta). *European Journal of Phycology*, 40, 169–178. <http://dx.doi.org/10.1080/09670260500128343>

Ferdouse, F., Holdt, S. L., Smith, R., Murua, P., & Yang, Z. (2018). *The global status of seaweed production, trade and utilization*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Figueroa, F. L., Korbee, N., Clerck, O. D., Bárbara, I., & Gall, E. A. (2007). Characterization of *Grateloupia lanceola* (Halymeniales, Rhodophyta), an obscure foliose *Grateloupia* from the Iberian Peninsula, based on morphology, comparative sequence analysis and mycosporine-like amino acid composition. *European Journal of Phycology*, 42(3), 231-242. <http://dx.doi.org/10.1080/09670260701327702>

Freshwater, D. W., Fredericq, S., Butler, B. S., Hommersand, M. H., & Chase, M. W. (1994). A gene phylogeny of the red algae (Rhodophyta) based on plastid *rbcL*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(15), 7281–7285. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.91.15.7281>

Freshwater, D. W., & Rueness, J. (1994). Phylogenetic relationships of some European *Gelidium* (Gelidiales, Rhodophyta) species, based on *rbcL* nucleotide sequence analysis. *Phycologia*, 33, 187-194. <http://dx.doi.org/10.2216/i0031-8884-33-3-187.1>

Framiñan, M. B., Etala, M. P., Acha, E. M., Guerrero, R. A., Lasta, C. A., & Brown, O. B. (1999). Physical Characteristics and Processes of the Río de la Plata Estuary. *Estuaries of South America*, 161–194. [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-60131-6\\_8](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-60131-6_8)

Gargiulo, G.M., Morabito, M. & Manghisi, A. (2013). A reassessment of reproductive anatomy and postfertilization development in the systematics of *Grateloupia* (Halymeniales, Rhodophyta). *Cryptogamie Algologie*, 34, 3–35. <http://dx.doi.org/10.7872/crya.v34.iss1.2013.3>

Gavio, B., & Fredericq S. (2002). *Grateloupia turuturu* (Halymeniaceae, Rhodophyta) is the correct name of the non-native species in the Atlantic known as *Grateloupia doryphora*. *European Journal of Phycology*, 37(3), 349-359. <http://dx.doi.org/10.1017/S0967026202003839>

Geller, J. B. (1999) Decline of a native mussel masked by sibling species invasion. *Conservation Biology*, 13(3), 661-664.

González-Etchebehere, L., Kruk, C., Scarabino, F., Laporta, M., Zabaleta, M., González, L., & Vélez-Rubio, G. M. (2017). Comunidades de macroalgas en puntas rocosas de la costa de Rocha, Uruguay. *INNOTEC: Revista del Laboratorio Tecnológico del Uruguay*, 14, 17-30. <http://dx.doi.org/10.26461/14.07>

Guerrero, R. A., Osiroff, A. P., Molinari, G., & Piola, A. R. (2003). Análisis de datos históricos de temperatura y salinidad del Río de la Plata y la plataforma adyacente. Informe técnico. FREPLATA-INIDEP-SIHN. [www.freplata.org](http://www.freplata.org).

Guiry, M. D., & Guiry, G. M. (2020). *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>

Guzinski, J., Mauger, S., Cock, J.M. & Valero, M. (2016) Characterization of newly developed expressed sequence tag-derived microsatellite markers revealed low genetic diversity within and low connectivity between European *Saccharina latissima* populations. *Journal of Applied Phycology*, 28, 3057–3070. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-016-0806-7>

Hall, T.A. (1999) BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95-98. [http://dx.doi.org/10.14601/phytopathol\\_mediterr-14998u1.29](http://dx.doi.org/10.14601/phytopathol_mediterr-14998u1.29)

Harlin, M. M., & Villalard-Bohnsack, M. (2001). Seasonal Dynamics and recruitment strategies of the invasive seaweed *Grateloupia doryphora* (Halymeniaceae, rhodophyta) in Narragansett Bay and Rhode Island sound, Rhode Island, USA. *Phycologia*, 40(5), 468–474. <http://dx.doi.org/10.2216/i0031-8884-40-5-468.1>

Harvey, W.H. (1853). *Nereis boreali-americana*; or, contributions towards a history of the marine algae of the atlantic and pacific coasts of North America. Part II. Rhodospermeae. *Smithsonian Contributions to Knowledge* 5(5). 1-258.

Herbert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., & Dewaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313-321. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>

Howe, M. A. (1930). Notes on the Algae of Uruguay. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 57(9), 605-610. <http://dx.doi.org/10.2307/2480570>

Kawaguchi, S. (1997). Taxonomic notes on the Halymeniaceae (Gigartinales, Rhodophyta) from Japan. III. Synonymization of *Pachymeniopsis* Yamada in Kawabata with *Grateloupia* C. Agardh. *Phycological Research* 45, 9–21. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1835.1997.tb00057.x>

Kawaguchi, S., Wang, H. W., Horiguchi, T., Sartoni, G., & Masuda, M. (2001). A comparative study of the red alga *Grateloupia filicina* (Halymeniaceae) from the northwestern Pacific and Mediterranean with the description of *Grateloupia asiatica*, sp. Nov. *Journal of Phycology*, 37(3), 433–442. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1529-8817.2001.037003433.x>

Kiessling, T., Gutow, L., & Thiel, M. (2015). Marine litter as habitat and dispersal vector. *Marine Anthropogenic Litter*, 141–181. [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3\\_6](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_6)

Knowlton N. Sibling species in the sea. *Annual Revue of Ecology, Evolution and Systematics*, 24, 189–216.

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, 35(6), 1547-1549. <http://dx.doi.org/10.1093/molbev/msy096>

Lajus D., Sukhikh N., Alekseev V. (2015) Cryptic or pseudocryptic: can morphological methods inform copepod taxonomy? An analysis of publications and a case study of the *Eurytemora affinis* species complex. *Ecology and Evolution*, 5(12), 2374-2385. <http://dx.doi.org/10.1002/ece3.1521>.

Leandro, A., Pereira, L., & Gonçalves, A. M. M. (2019). Diverse Applications of Marine Macroalgae. *Marine Drugs*, 18(1), 17. <http://dx.doi.org/10.3390/md18010017>

Liu, F., & Pang, S. J. (2010). Stress tolerance and antioxidant enzymatic activities in the metabolisms of the reactive oxygen species in two intertidal red algae *Grateloupia turuturu* and *Palmaria Palmata*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 382(2), 82–87. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jembe.2009.11.005>

Martínez, A. S. (2011). Spatial distribution of the invasive bivalve *Isognomon bicolor* on rocky shores of Arvoredo Island (Santa Catarina, Brazil). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 92(03), 495–503. <http://dx.doi.org/10.1017/s0025315411000865>

Martínez de la Escalera, G. M., Kruk, C., Segura, A. M., Nogueira, L., Alcántara, I., & Piccini, C. (2017). Dynamics of toxic genotypes of *Microcystis aeruginosa* complex (MAC) through a wide freshwater to marine environmental gradient. *Harmful Algae*, 62, 73-83. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2016.11.012>

Mathieson, A. C., Dawes, C. J., Pederson, J., Gladych, R. A., & Carlton, J. T. (2007). The Asian red seaweed *Grateloupia turuturu* (Rhodophyta) invades the Gulf of Maine. *Biological Invasions*, 10(7), 985–988. <http://dx.doi.org/10.1007/s10530-007-9176-z>

McDermott, J. J. (1998). The western Pacific brachyuran *Hemigrapsus sanguineus* (Grapsidae) in its new habitat along the Atlantic coast of the United States: reproduction. *Journal of Crustacean Biology*, 18(2), 308-316. <http://dx.doi.org/10.2307/1549324>

Minchin, D., & Gollasch, S. (2002). Vectors—how exotics get around. En E. Leppakoski, S. Gollasch, & S. Olenin (Eds) *Invasive Aquatic Species of Europe. Distribution, Impact and management*, (pp 183–192). Kluwer Academic Publishers.

Mineur, F., Johnson, M. P., & Maggs, C. A. (2008). Macroalgal Introductions by Hull Fouling on Recreational Vessels: Seaweeds and Sailors. *Environmental Management*, 42(4), 667–676. <http://dx.doi.org/10.1007/s00267-008-9185-4>

Ministerio de Transporte y Obras Públicas (MTO). (sin fecha). *Puertos deportivos*. Ministerio de Transporte y Obras Públicas. Recuperado el 08-07-2022, de <https://www.gub.uy/ministerio-transporte-obras-publicas/puertos-deportivos>

Molnar, J. L., Gamboa, R. L., Revenga, C., & Spalding, M. D. (2008). Assessing the global threat of invasive species to marine biodiversity. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6(9), 485–492. <http://dx.doi.org/10.1890/070064>

- Mormul, R., Vieira, D., Bailly, D., Fidanza, K., Silva, V., Graça, W., & Pontara, V., Bueno, M., & Thomaz, S. & Mendes, R. (2022). Invasive alien species records are exponentially rising across the Earth. *Biological Invasions*. <http://dx.doi.org/10.1007/s10530-022-02843-1>
- Nei, M., & Kumar, S. (2000). *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.0923a.x>
- Nyberg, C. D., & Wallentinus, I. (2005). *Can species traits be used to predict marine macroalgal introductions?* *Biological Invasions*, 7(2), 265–279. <http://dx.doi.org/10.1007/s10530-004-0738-z>
- Padial, J. M., Miralles, A., De la Riva, I., & Vences, M. (2010). The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, 7(1), 16. <http://dx.doi.org/10.1186/1742-9994-7-16>
- Pan, J., Marcoval, M. A., Arzoz, N. S., Tironi, V. A. (2019) *First report and seasonal characterization of the invasive rhodophyte Grateloupia turuturu in coastal Argentina. XVIII Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar*, Mar del Plata, BA, Argentina.
- Piola, A.R., Moller, O.O.Jr., Palma, E.D. (2004) El impacto del Plata sobre el océano Atlántico. *Ciencia Hoy*, 14(82), 28-37.
- Petrocelli, A., Alabiso, G., Cecere, E., Ricci, P., & Carlucci, R. (2020). Invasive or not? The case of *Grateloupia turuturu* (Rhodophyta, Halymeniales) in the Northern Ionian Sea (Mediterranean Sea). *Marine Pollution Bulletin*, 161, 111748. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111748>
- Pyšek, P., Hulme, P.E., Simberloff, D., Bacher, S., Blackburn, T.M., Carlton, J.T., [...], & Richardson, D.M. (2020), Scientists' warning on invasive alien species. *Biological Reviews*. <http://dx.doi.org/10.1111/brv.12627>
- Raffo, M. P., Lo Russo, V., & Schwindt, E. (2014). Introduced and native species on rocky shore macroalgal assemblages: Zonation patterns, composition and diversity. *Aquatic Botany*, 112, 57–65. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquabot.2013.07.011>
- Ramírez, M., Nuñez, J., Ocampo, E., Matula, C., Suzuki, M., Hashimoto, T., & Cledón, M. (2012). *Schizymenia dubyi* (Rhodophyta, Schizymeniaceae), a new introduced species in Argentina. *New Zealand Journal of Botany*, 50(1), 51–58. <http://dx.doi.org/10.1080/0028825x.2011.642887>
- Rilov, G., & Crooks, J. A. (Eds.). (2009). Biological Invasions in Marine Ecosystems. *Ecological Studies*, 204. Springer Publishers. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-79236-9>
- Robba, L., Russell, S. J., Barker, G. L., & Brodie, J. (2006). Assessing the use of the mitochondrial *cox1* marker for use in DNA barcoding of red algae (Rhodophyta). *American Journal of Botany*, 93(8), 1101–1108. <http://dx.doi.org/10.3732/ajb.93.8.1101>
- Rodríguez-Prieto, C., Shabaka, S. H., Shams El-Din, N., & De Clerck, O. (2021). Morphological and molecular assessment of *Grateloupia* (Halymeniales, Rhodophyta) from Egypt revealed a new introduced species in the Mediterranean Sea, *Grateloupia gibbesii*. *Phycologia*, 60(1), 83–95. <http://dx.doi.org/10.1080/00318884.2020.1857113>

Rodríguez-Prieto, C., De Clerck, O., Guiry, M.D. & Lin, S.-M. (2022). Revisiting the systematics of the genera *Grateloupia*, *Phyllymenia*, and *Prionitis* (Halymeniaceae, Rhodophyta) with a description of a new species—*Prionitis taiwani-borealis*. *J. Phycol.*, 58, 234-250. <http://dx.doi.org/10.1111/jpy.13226>

RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>

Saunders, G. W. (2005). Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B, Biological Sciences*, 360(1462), 1879–1888.

Scarabino, F., Zelaya, D., Orensanz, J. M., Ortega, L., Defeo, O., Schwindt, E., Carranza, A., Zaffaroni, J. C., Martínez, G., Scarabino, V., & García-Rodríguez, F. (2016). Cold, warm, temperate and brackish: Bivalve biodiversity in a complex oceanographic scenario (Uruguay, southwestern Atlantic). *American Malacological Bulletin*, 31(2), 284-301.

Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671–675. <http://dx.doi.org/10.1038/nmeth.2089>

Seebens, H., Bacher, S., Blackburn, T. M., Capinha, C., Dawson, W., Dullinger, S., ... Essl, F. (2020). Projecting the continental accumulation of alien species through to 2050. *Global Change Biology*. <http://dx.doi.org/10.1111/gcb.15333>

Sejas, C. (2020). *Fotografías de ejemplares de Grateloupia* [Fotografía]. Instagram: @carolinaasejas

Simkanin, C., Carlton, J. T., Steves, B., Fofonoff, P., Nelson, J. C., Clarke Murray, C., & Ruiz, G. M. (2019). Exploring potential establishment of marine rafting species after transoceanic long-distance dispersal. *Global Ecology and Biogeography*, 28(5), 588–600. <http://dx.doi.org/10.1111/geb.12878>

Steigleder, K., M. (2015) *Estrutura das comunidades de macroalgas no mesolitoral rochoso do atlântico sudoeste central (26° S – 34° S)*, [Tesis de Maestría, Fundação Universidade Federal do Rio Grande], Rio Grande, Brasil.

Taylor, W.R. (1960) *Marine algae of the eastern tropical and subtropical coasts of the Americas*. The University of Michigan press.

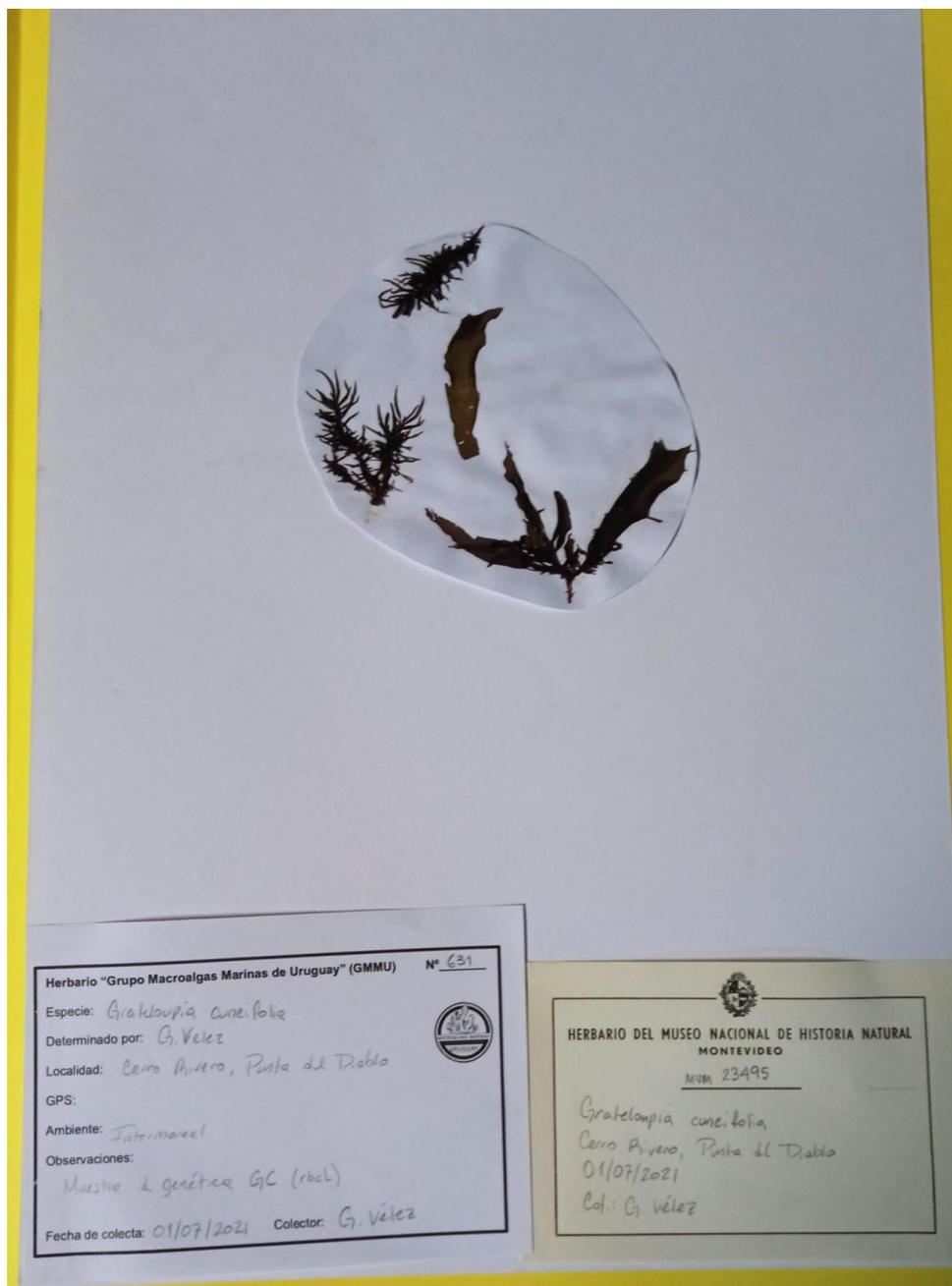
Thompson, G. A., & Schiel, D. R. (2012). Resistance and facilitation by native algal communities in the invasion success of *Undaria pinnatifida*. *Marine Ecology Progress Series*, 468, 95-105.

Tomás, F., Cebrian, E., & Ballesteros, E. (2011). Differential herbivory of invasive algae by native fish in the Mediterranean Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 92(1), 27-34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecss.2010.12.004>

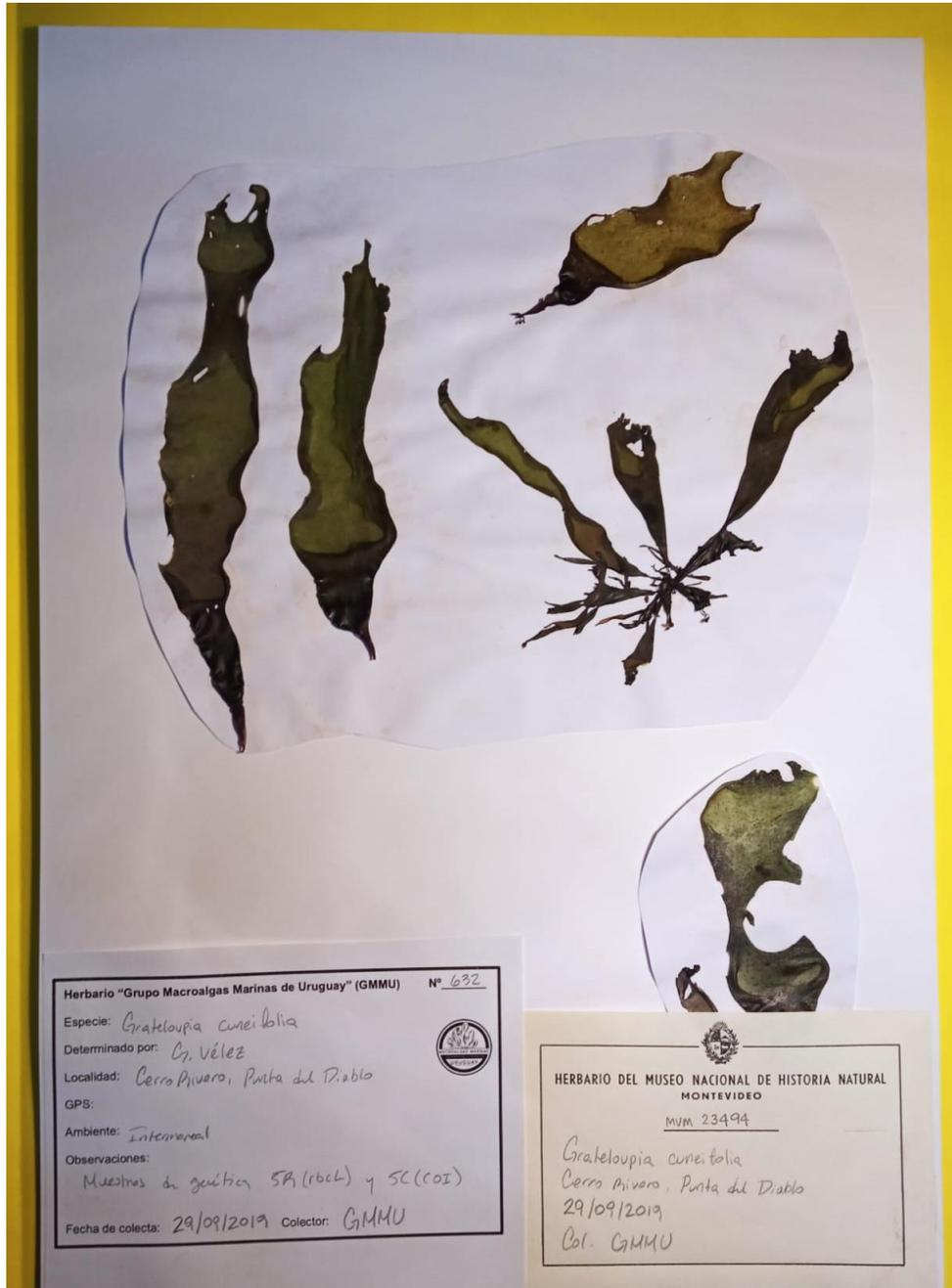
Trinchin, R., Manta, G., Santana, R., Rubio, L., Horta, S., Passadore, C., de Mello, C., Szephegyi, M. N., Barreiro, M. (2021). Hacia un monitoreo continuo de variables oceanográficas en el Parque Nacional Isla de Flores. Uruguay. *INNOTEC: Revista del Laboratorio Tecnológico del Uruguay*, 21, 89–108. <http://dx.doi.org/10.26461/21.03>

- Schwindt, E., Carlton, J. T., Orensanz, J. M., Scarabino, F., & Bortolus, A. (2020). Past and future of the marine bioinvasions along the Southwestern Atlantic *Aquatic Invasions* 15(1): 11–29, <http://dx.doi.org/10.3391/ai.2020.15.1.02>
- Vélez-Rubio, G. M., Zabaleta, M., Kruk, C., Fabiano, G., González-Etchebehere, L., Laporta, M., & Scarabino, F. (2019a, noviembre, 2-5). *Presencia del alga exótica invasora Grateloupia turuturu (Rhodophyta) en la costa atlántica uruguaya*. [Poster]. XVIII Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar, Mar del Plata, BA, Argentina.
- Vélez Rubio, G.M., Scarabino, F., Kruk C., Zabaleta, M., González-Etchebehere, L., Laporta, M., Fabiano, G. (2019b) Análisis de riesgo del alga turuturu (*Grateloupia turuturu*) en Uruguay. *Taller Nacional de Análisis de Riesgo de Especies Exóticas Invasoras*. MVOTMA. Montevideo, Uruguay.
- Vélez-Rubio, G. M., González-Etchebehere, L., Scarabino, F., Trinchin, R., Manta, G., Laporta, M., [...] & Kruk, C. (2021). Macroalgae morpho-functional groups in Southern marine ecosystems: rocky intertidal in the Southwestern Atlantic (33°–35° S). *Marine Biology*, 168(10). <http://dx.doi.org/10.1007/s00227-021-03960-6>
- Wahl, M. (Ed) (2009). Marine Hard Bottom Communities. *Ecological Studies*. 206 Springer Publishers. <http://dx.doi.org/10.1007/b76710>
- Wang, H. W., Kawaguchi, S., Horiguchi, T. & Masuda, M. (2000). Reinstatement of *Grateloupia catenata* (Rhodophyta, Halymeniaceae) on the basis of morphology and rbcL sequences. *Phycologia*, 39, 228–37.
- Wang, H. W., Kawaguchi, S., Horiguchi, T. & Masuda, M. (2001). A morphological assessment of the genus *Prionitis* J. Agardh (Halymeniaceae, Rhodophyta). *Phycol. Res.*, 49, 251–61
- Wilkes, R.J., McIvor, L.M. & Guiry, M.D. (2005). Using rbcL sequence data to reassess the taxonomic position of some *Grateloupia* and *Dermocorynus* species (Halymeniaceae, Rhodophyta) from the north-eastern Atlantic. *European Journal of Phycology*, 40, 53–60.
- Yang, E. C., Kim, M. S., Geraldino, P. J. L., Sahoo, D., Shin, J.-A., & Boo, S. M. (2007). Mitochondrial cox1 and plastid rbcL genes of *Gracilaria vermiculophylla* (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 20(2), 161-168. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-007-9201-8>
- Yamada, Y. (1941). Notes on some Japanese algae IX. *Scientific Papers of the Institute of Algological Research, Faculty of Science, Hokkaido Imperial University*. 2, 195-215.
- Zuccarello, G. C., West, J. A., Karsten, U., & King, R. J. (1999a). Molecular relationships within *Bostrychia tenuissima* (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Phycological Research*, 47(2), 81-85.
- Zuccarello, G. C., Burger, G., West, J. A., & King, R. J. (1999b). A mitochondrial marker for red algal intraspecific relationships. *Molecular Ecology*, 8(9), 1443–1447. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-294x.1999.00710>

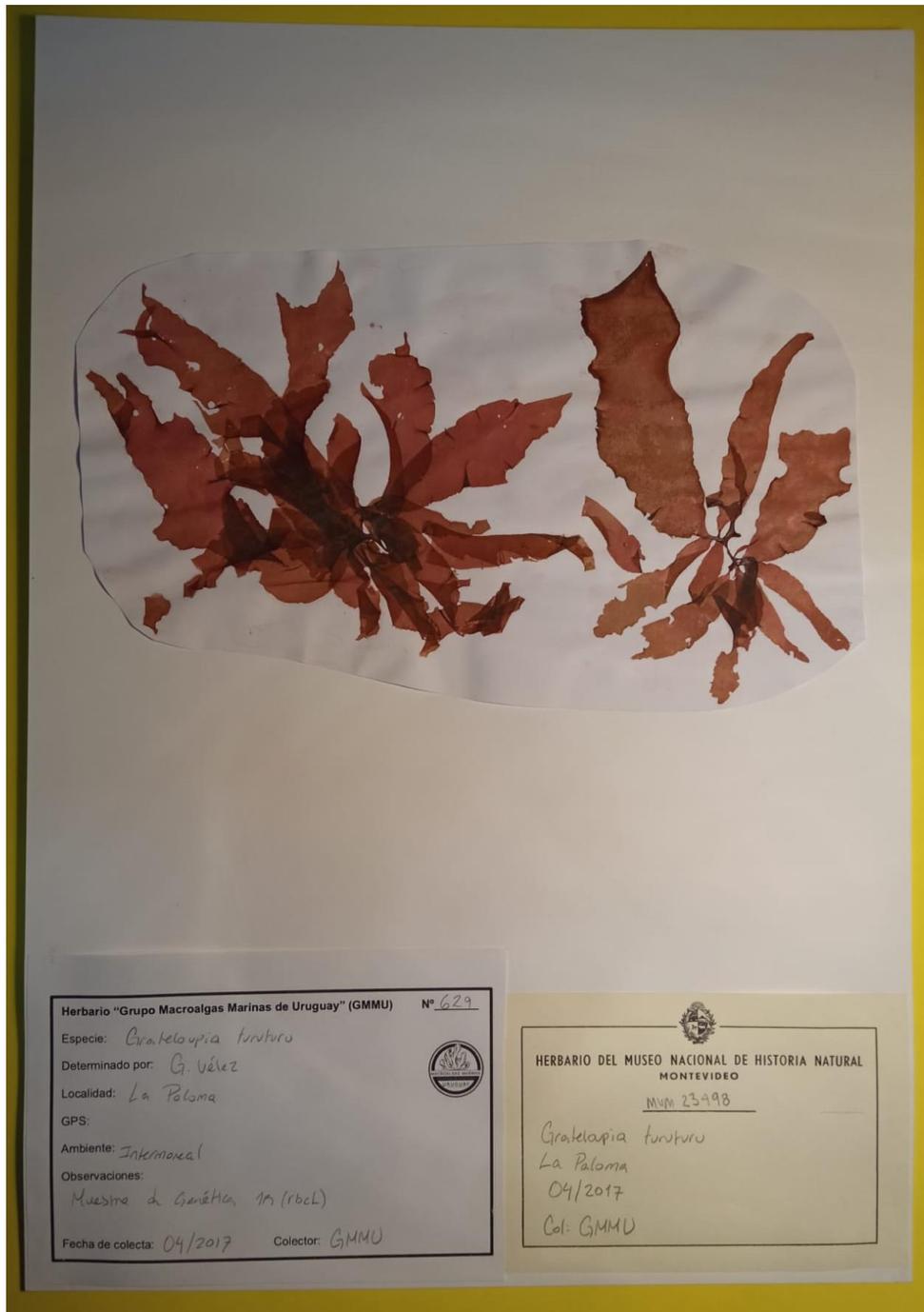
**Anexo A: Imágenes de los ejemplares depositados en el herbario del MNHN en este estudio**



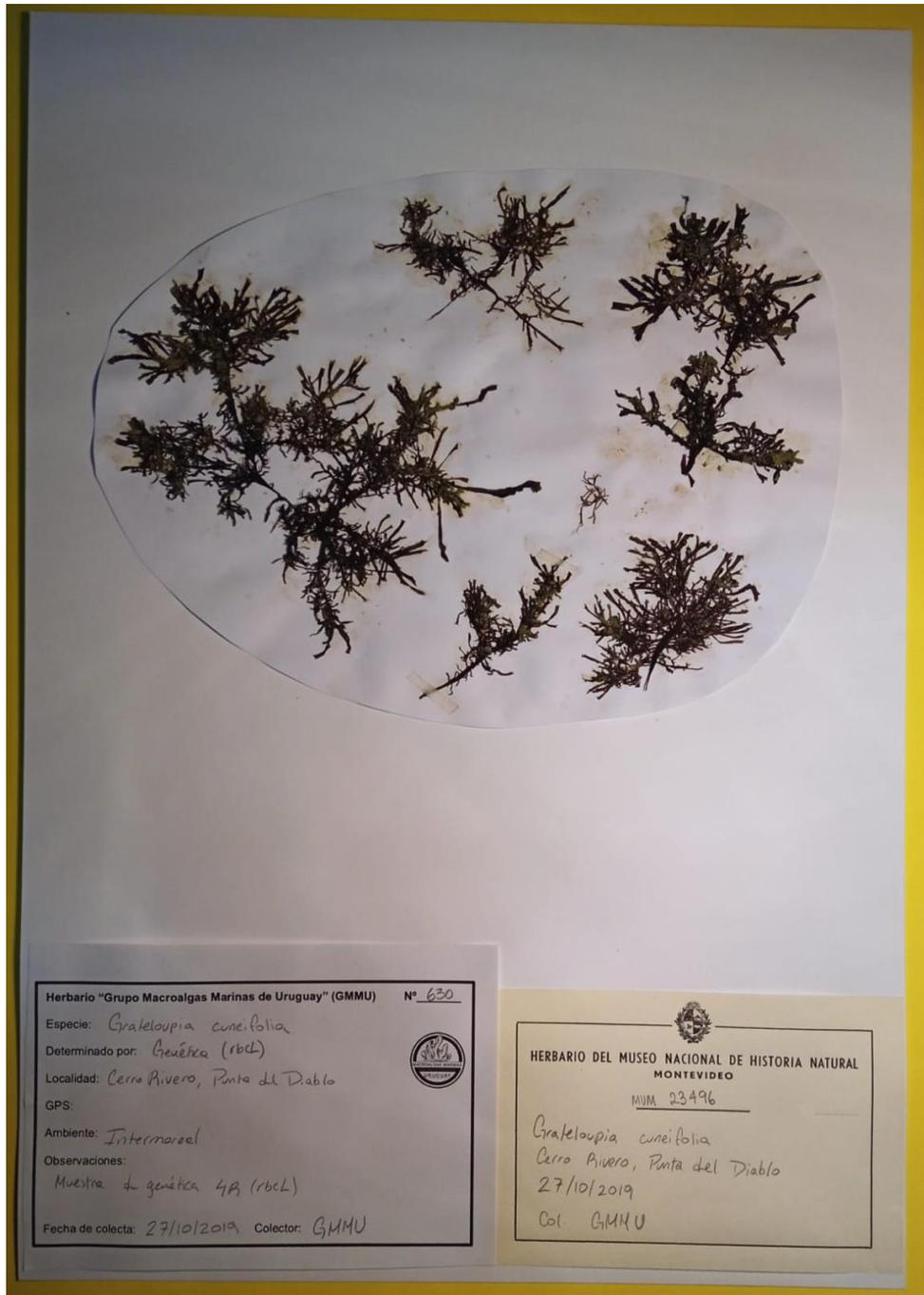
**Figura 1:** Imagen del ejemplar herborizado MVM 23495. Este ejemplar no está asociado a una secuencia genética.



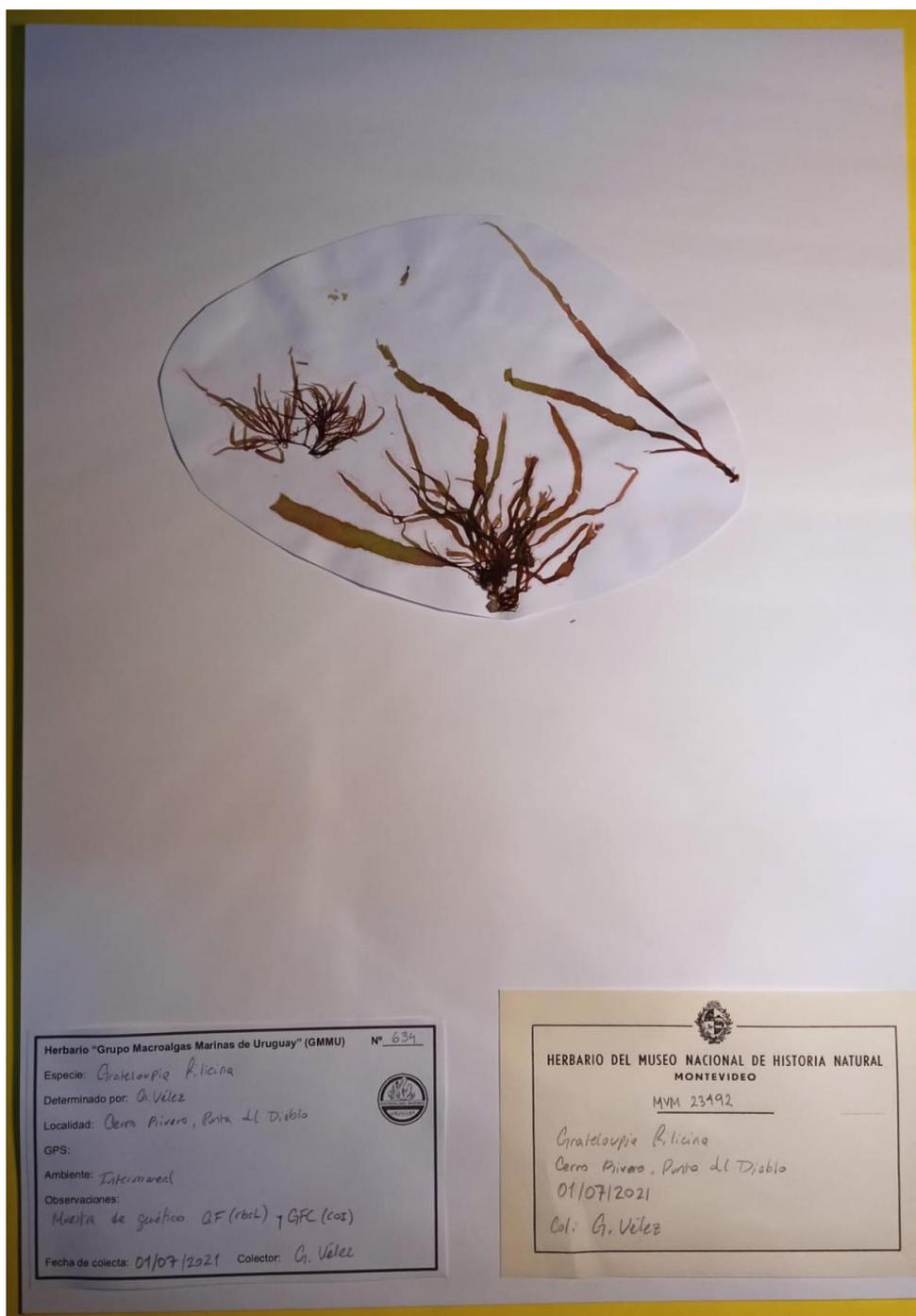
**Figura II:** Imagen del ejemplar herborizado MVM 23494. Este está asociado a las secuencias *rbcl*: ON952414 y *COI*: ON959264



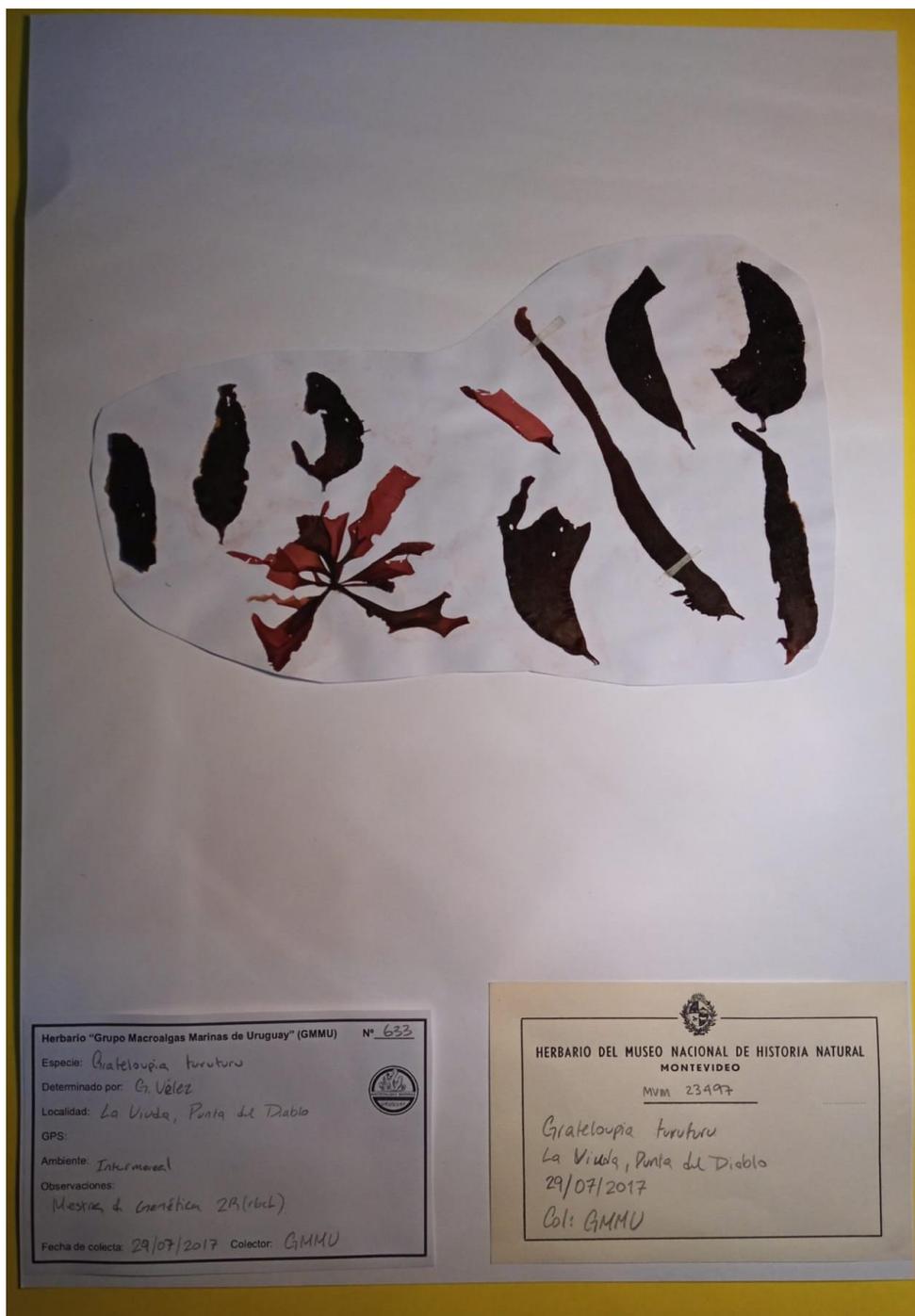
**Figura III:** Imagen del ejemplar herborizado MVM 23498. Este ejemplar no está asociado a una secuencia genética.



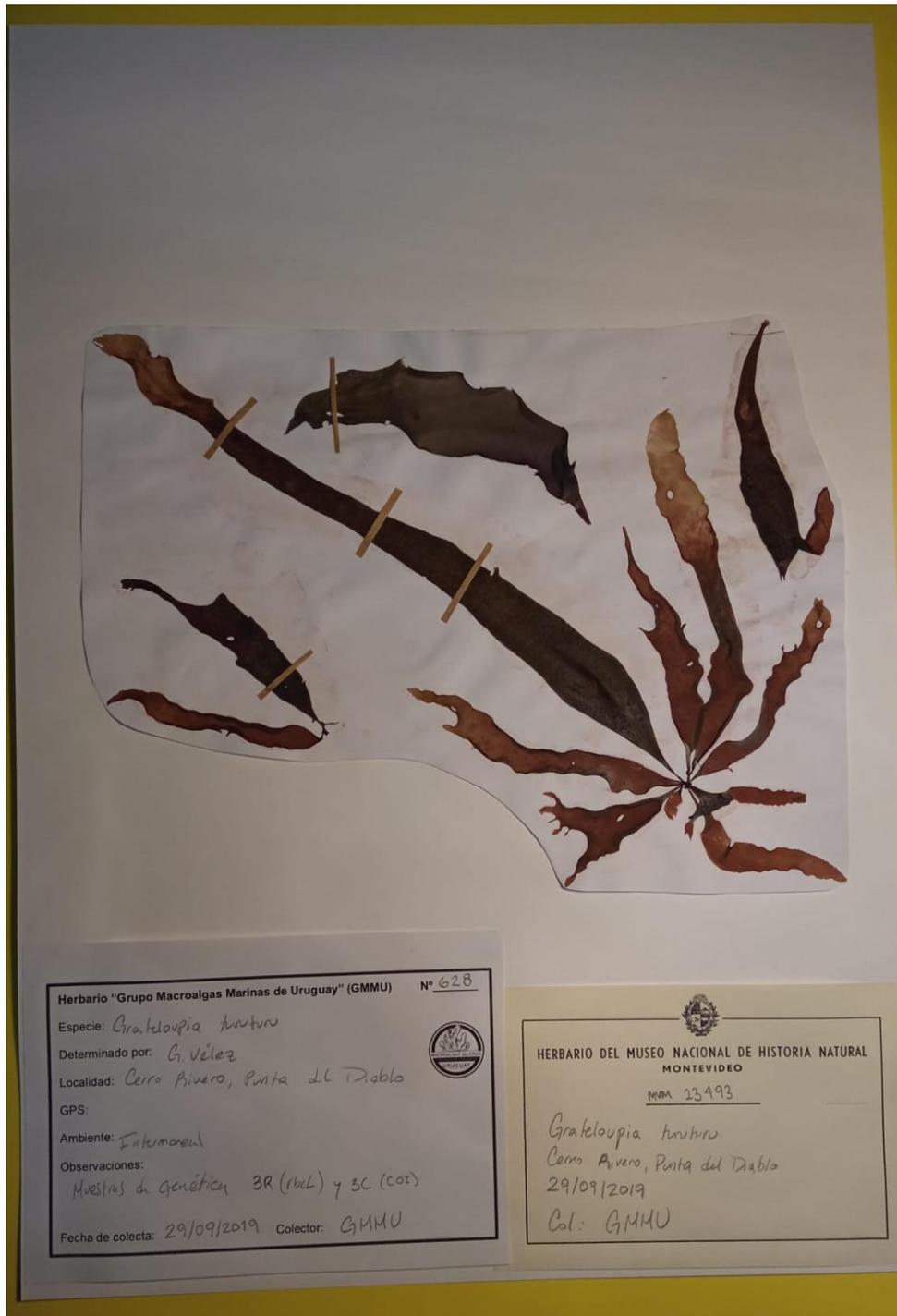
**Figura IV:** Imagen del ejemplar herborizado MVM 23496. Está asociado a la secuencia de *rbcl*: ON952413.



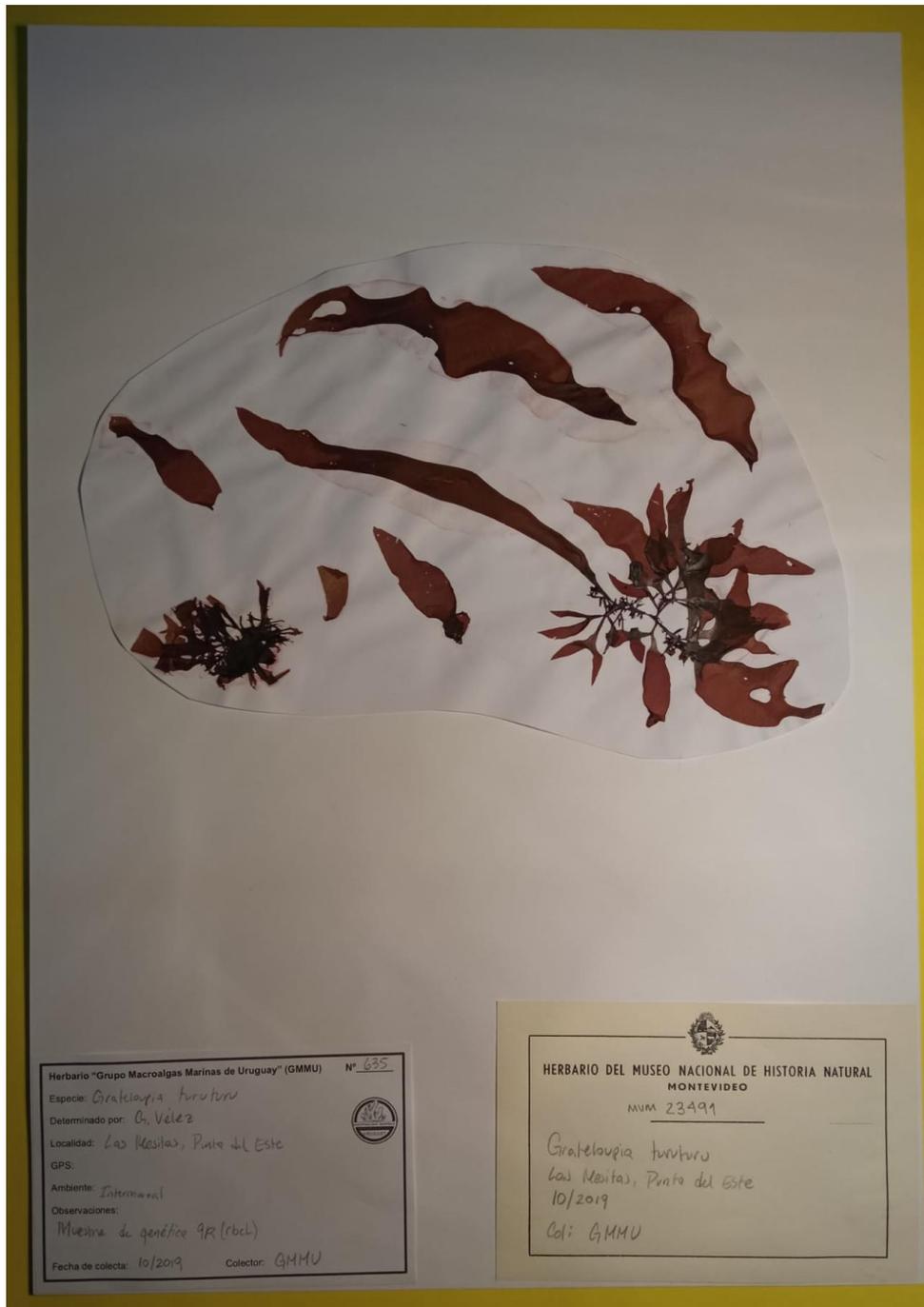
**Figura V:** Imagen del ejemplar herborizado MVM 23492. Está asociado a la secuencia de *rbcl* ON952415.



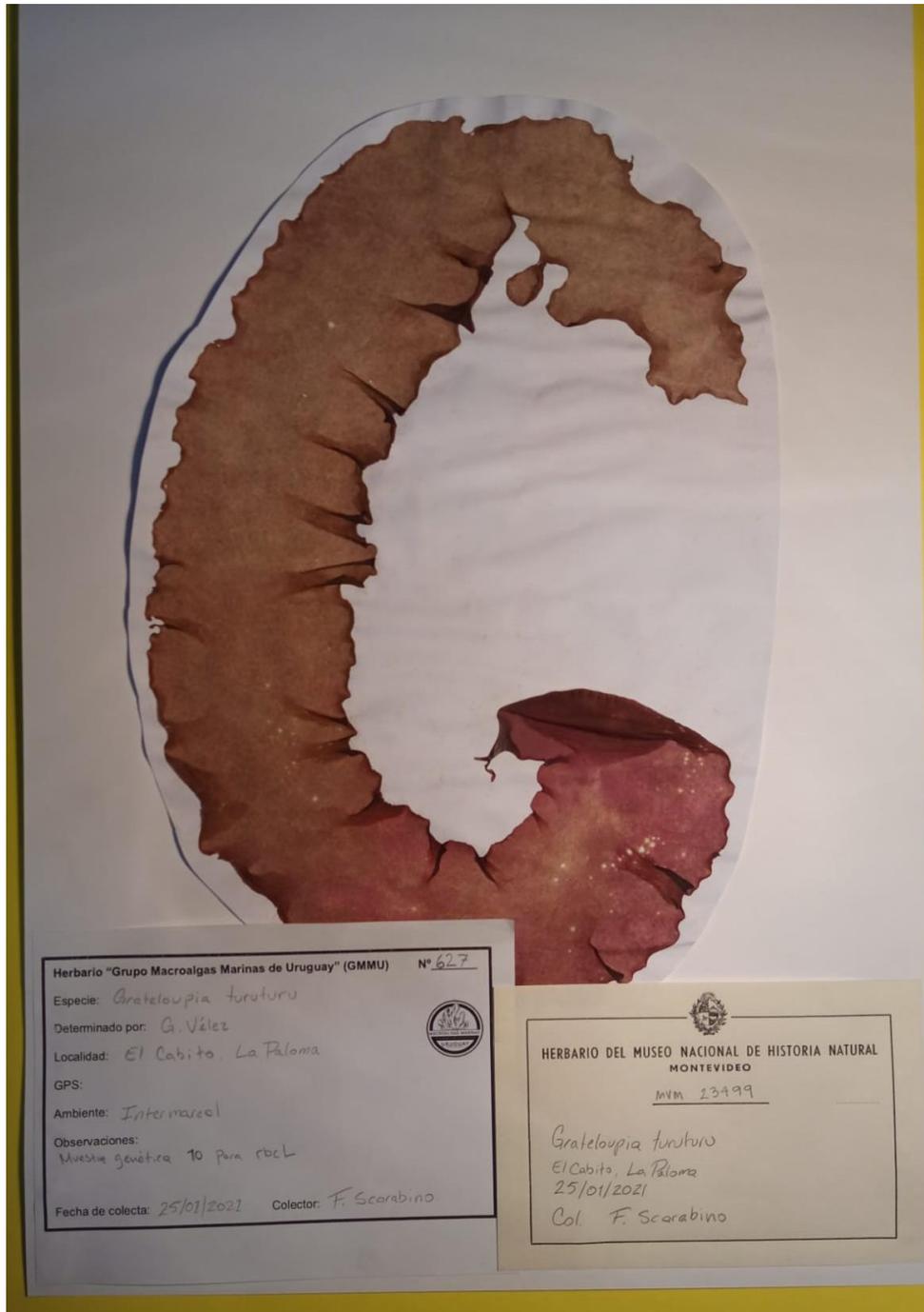
**Figura VI:** Imagen del ejemplar herborizado MVM23497. Este ejemplar está asociado a la secuencia de *rbcl* ON952409.



**Figura VII:** Imagen del ejemplar herborizado MVM 23493. Esta muestra está asociada a las secuencias ON952410 (*rbcl*) y ON959263 (*COI*).



**Figura VIII:** Imagen del ejemplar herborizado MVM 23491. Este ejemplar está asociado a la secuencia de *rbcl* ON952411



**Figura IX:** Imagen del ejemplar herborizado MVM 23499. Este ejemplar está asociado a la secuencia de *rbcl* ON952412.

## Anexo B: Imágenes de ejemplares del género *Grateloupia* del herbario del MACN

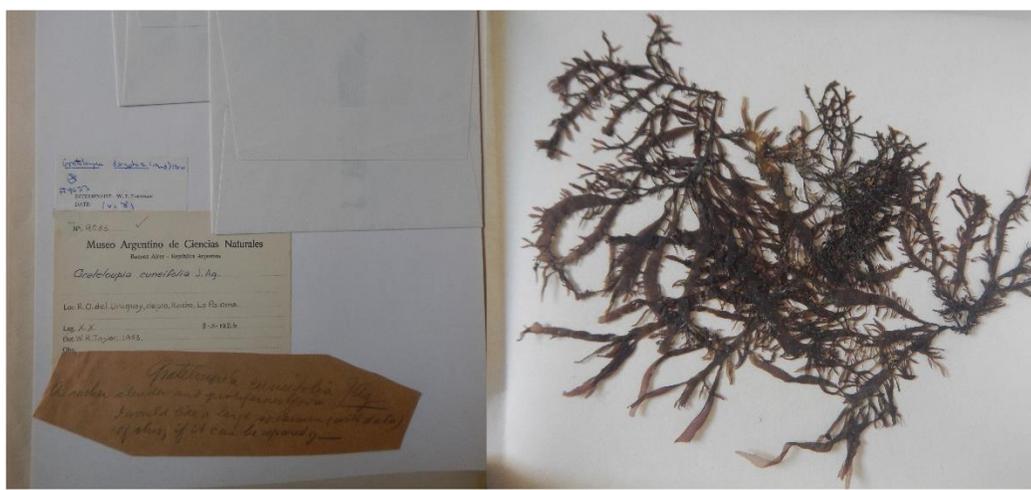
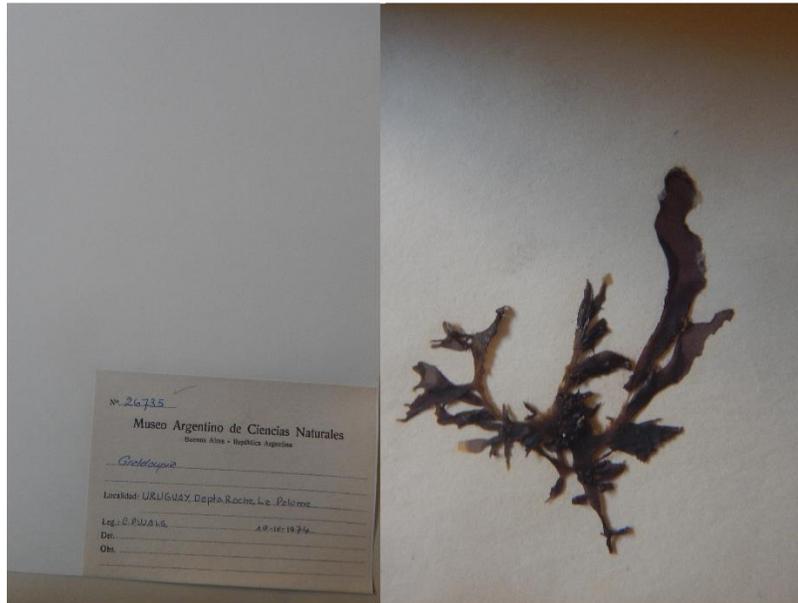


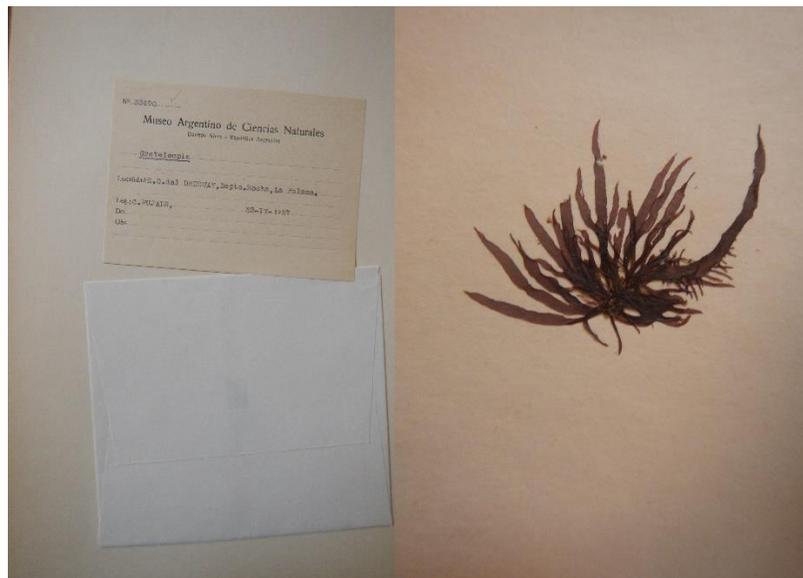
Figura X: Imagen del ejemplar BA9033, depositado en el Museo Argentino de Ciencias Naturales (MACN).



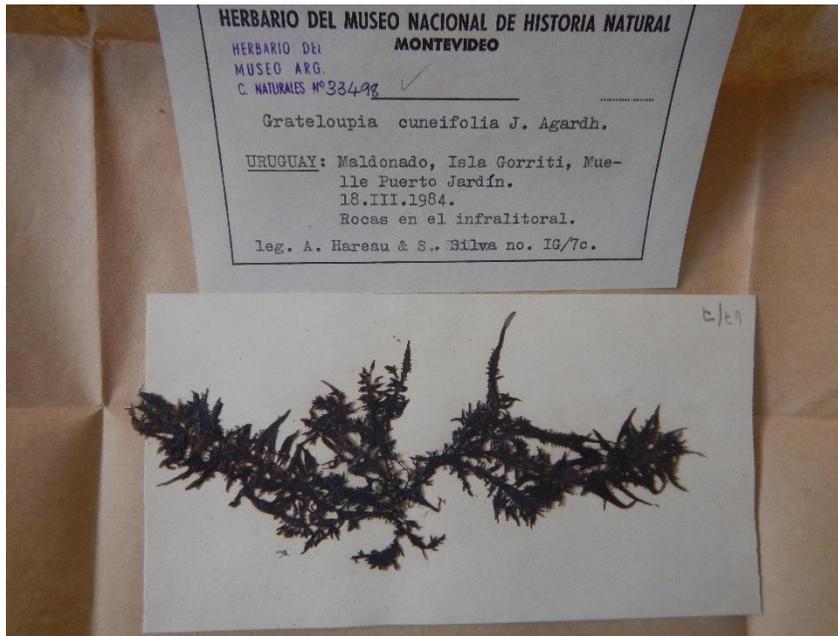
Figura XI: Imagen del ejemplar BA17668, depositado en el Museo Argentino de Ciencias Naturales (MACN).



**Figura XII:** Imagen del ejemplar BA26735, depositado en el Museo Argentino de Ciencias Naturales (MACN).



**Figura XIII:** Imagen del ejemplar BA33690, depositado en el Museo Argentino de Ciencias Naturales (MACN).



**Figura XIV:** Imagen del ejemplar BA33498, depositado en el Museo Argentino de Ciencias Naturales (MACN).

**Anexo C: Imágenes de algunos ejemplares de *Grateloupia* de museos internacionales**



**Figura XV:** Imagen del ejemplar de *Grateloupia* más antiguo para Uruguay, colectado en 1925 por Carmen de Franco en La Paloma. Voucher MICH656506, depositado en el herbario de la *University of Michigan*, EEUU.

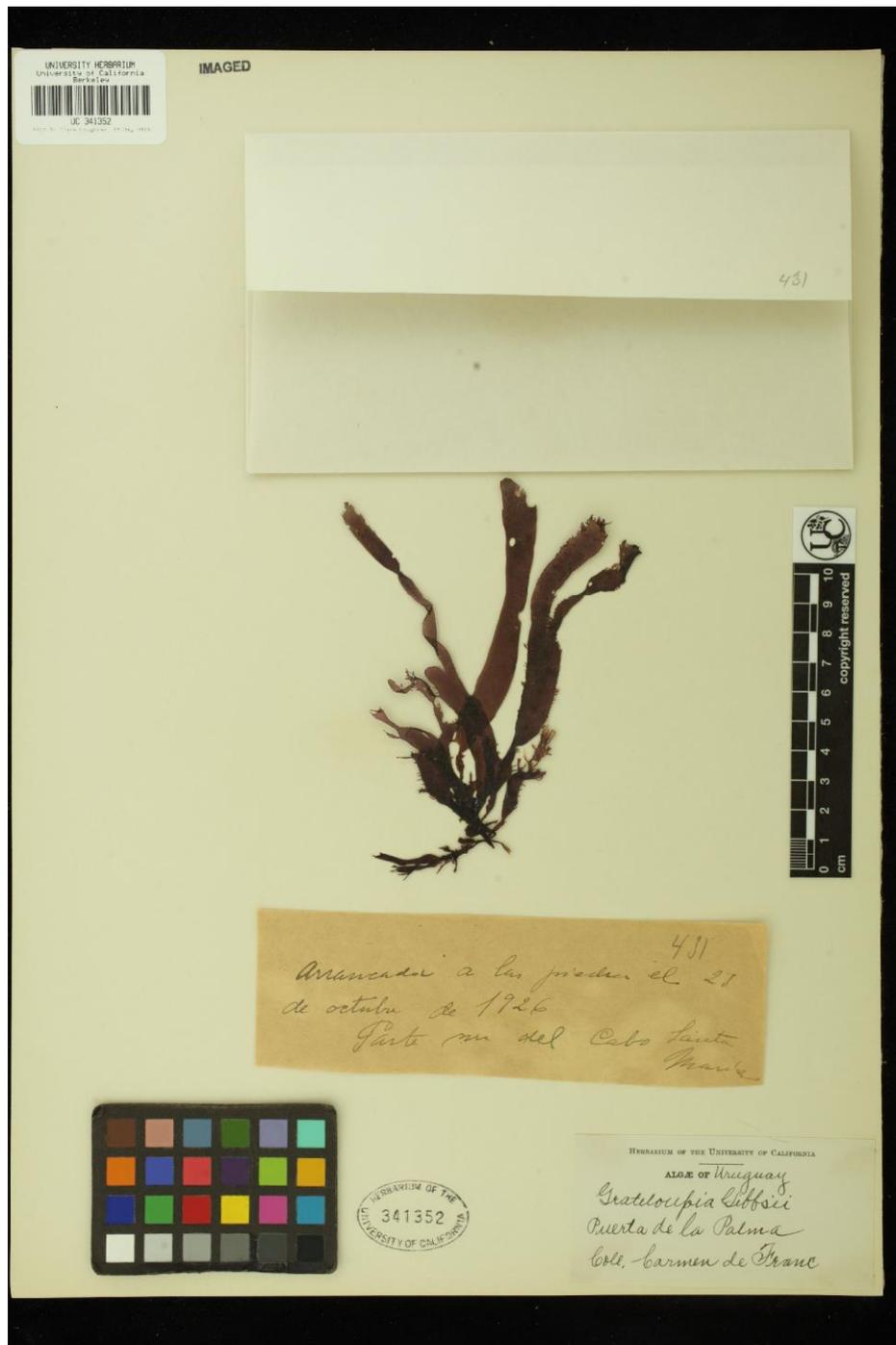


Figura XVI: Imagen del ejemplar UC341352, depositado en el herbario de la *University of California*, EEUU.

## Anexo D: Resúmenes de trabajos presentados en congresos internacionales con resultados de este estudio

### 1) 12th International Phycological Congress (IPC), Chile (virtual), Marzo, 2021. Formato *pitch-poster*.

#### **Morphological and molecular features of the genus *Grateloupia* (Rhodophyta: Halymeniales): key traits to detect invasive seaweed species in Uruguay (33°-35°S)**

de León-Mackey A.<sup>1</sup>, Vélez-Rubio G.<sup>1 2</sup>, Kruk C.<sup>1 2</sup>, Piccini C.<sup>3</sup>, Scarabino F.<sup>2</sup>

- (1) Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Iguá 4225, Montevideo, Uruguay.
- (2) Centro Universitario Regional Este (CURE), Universidad de la República, Ruta nacional 9 intersección con ruta 15, Rocha, Uruguay.
- (3) Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Avenida Italia 3318, Montevideo, Uruguay.

The frequency of biological invasions has been on the rise in recent years, with the increase of transport by humans moving many species out of their native ranges all across the globe. Uruguayan waters harbor dozens of non-native species and have been considered a critical biogeographical and ecological crossroad because of the complex interaction of currents and water masses. This region is thus a particularly well-suited system for the study of processes underlying biodiversity patterns. The red algae *Grateloupia turuturu* Yamada, native to Japan and Korea, has been reported as an introduced species in Europe, Oceania, North America and South America. Since 2015, *G. turuturu* has been recorded along the Atlantic coast of Uruguay, where there have been growing records of its presence. According to previous studies there are two putatively native species of *Grateloupia* on the coast, *G. cuneifolia* and *G. filicina*, reported since 1926. However, these three species possess variable morphological features implying possible misidentification. Morphological characterization is an efficient tool, but the addition of molecular markers adds confidence to the characterization of cryptic and morphologically variable species. Here we analyze samples collected in the last five years and retrieved from the MVM herbarium. Based on morphology, the three species of *Grateloupia* were detected along the Uruguayan coast. The molecular features are being attained via DNA barcoding using *rbcL* and *COX* genes, which are expected to further contribute to the understanding of the origin and diversity of *Grateloupia* in the temperate Southwestern Atlantic.

**Symposium:** SYM04 Connectivity, speciation and biogeography of algae in the Southern Hemisphere.

2) XXXVIII Jornadas Argentinas de Botánica, Entre Ríos, Argentina (virtual), Setiembre, 2021. Formato póster.

**Uso de Análisis Moleculares para la Caracterización de Macroalgas Exóticas Invasoras en Uruguay: el Género *Grateloupia* (Rhodophyta: Halymeniales) como Caso de Estudio.**

Use of Molecular Analyses for the Characterization of Exotic Invasive Seaweed in Uruguay: the Genus *Grateloupia* (Rhodophyta: Halymeniales) as a Case Study.

de León-Mackey A.<sup>1</sup>, Vélez-Rubio G.<sup>1 2</sup>, Kruk C.<sup>1 2</sup>, Piccini C.<sup>3</sup>, Scarabino F.<sup>2</sup>

- (1) Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Iguá 4225, Montevideo, Uruguay.
- (2) Centro Universitario Regional Este (CURE), Universidad de la República, Ruta nacional 9 | intersección con ruta 15, Rocha, Uruguay.
- (3) Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Avenida Italia 3318, Montevideo, Uruguay.

La frecuencia y distribución global de las invasiones biológicas marinas está en aumento, asociado al tráfico marítimo transportando especies fuera de sus rangos nativos. La costa uruguaya es una zona de interés biogeográfico y ecológico por albergar decenas de especies exóticas y donde interactúan aguas y biotas subantárticas, subtropicales y continentales. El alga roja *Grateloupia turuturu* Yamada (1941), nativa de Asia, ha sido introducida en varias regiones del mundo y se registra en la costa atlántica uruguaya desde el año 2015. En Uruguay se conocen desde 1926 dos especies de este género, *G. cuneifolia* y *G. filicina*. Las tres especies presentan morfologías variables y posiblemente solapadas, dificultando la identificación, el análisis y el seguimiento de *G. turuturu*. La caracterización morfológica es una herramienta efectiva, que al combinarse con marcadores moleculares permite caracterizar eficazmente especies crípticas y morfológicamente variables. Para aclarar errores de identificación se analizaron muestras históricas del herbario del Museo Nacional de Historia Natural (Montevideo) y colectadas en los últimos cinco años. En base a morfología se detectaron las tres especies del género. Resultados preliminares de los análisis filogenéticos con genes *rbcL* y *COI* confirman la presencia de *G. turuturu* en Uruguay. Con este estudio se espera contribuir al seguimiento de esta especie exótica y al conocimiento sobre la diversidad del género en la región.