



Relaciones filogenéticas del género *Lensia* Totton
(Hydrozoa, Siphonophora) y sus implicaciones en las
familias Diphyidae y Abylidae

TESIS QUE PRESENTA **ARTURO ISIDORO RUIZ VILLANUEVA**
PARA OBTENER EL GRADO DE **MAESTRO EN CIENCIAS**

Xalapa, Veracruz, México 2012

Aprobación final del documento de tesis de grado:

“RELACIONES FILOGENÉTICAS DEL GÉNERO *Lensia* TOTTON (HYDROZOA, SIPHONOPHORA) Y SUS IMPLICACIONES EN LAS FAMILIAS DIPHYIDAE Y ABYLIDAE”

	Nombre	Firma
Co-directora	Dra. Rebeca A. Gasca Serrano	
Co-director	Dr. Alejandro Espinosa de los Monteros S.	
Comité Tutorial	Dra. Carla Gutiérrez Rodríguez	
Jurado	Dr. Mario Enrique Favila Castillo	
	Dr. Eduardo Suárez Morales	

RECONOCMIENTOS

El trabajo que se presenta a continuación fue soportado en gran medida por el apoyo proporcionado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) a través de la beca #58627. Así mismo, tiene merito el Comité Académico de Posgrado del Instituto de Ecología, A.C. (INECOL) por el apoyo económico brindado en la última estancia en Chetumal, Quintana Roo entre junio y julio de 2012 y el laboratorio de Código de Barras de El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Chetumal, quienes por medio del proyecto Bold Systems nos proveyeron de las primeras secuencias de COI.

Un reconocimiento muy especial para a mis co-directores de tesis, la Dra. Rebeca Gasca (ECOSUR) y el Dr. Alejandro Espinosa de los Monteros (INECOL), por todo el esfuerzo, paciencia y tiempo que dedicaron a este proyecto, así como el apoyo en algunas de las estancias a Chetumal, Ensenada y La Paz. Sin ellos, los objetivos planteados posiblemente no se hubieran concretado.

Agradezco el apoyo brindado por la Dra. Bertha Lavaniegos del Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada (CICESE) y el Dr. Jaime Gómez-Gutiérrez del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) por haberme permitido separar material de las colecciones a su cargo. De igual manera reconozco la participación de la Dra. Carla Gutiérrez y el Dr. Eduardo Suárez-Morales, el Dr. Mario Favila y el Dr. Casey W. Dunn por el tiempo que dedicaron a la revisión del escrito y sus invaluable comentarios que ayudaron al perfeccionamiento del texto.

No puedo dejar de reconocer el apoyo de la Secretaría de Posgrado del INECOL, en especial al Dr. Trevor Williams, Bertha Ulloa y Emma Gómez, quienes más siguieron de cerca mi desempeño e hicieron de la tramitología un peso más ligero. A Mary Salazar por estar al tanto de las cuentas y dar soluciones cuando así se requirieron, siempre de la mejor manera. A los biólogos Iván Castellanos y Rosa Ma. Hernández del laboratorio de zooplancton de ECOSUR por echarme la mano en el mar infinito de material. Por último, a Doña Rosy por hacer de la hora de la comida en Chetumal uno de los mejores momentos del día y algo que extrañar de la capital quintanarroense.

DEDICACIONES

Antes que a nadie, este trabajo va dedicado a mis co-directores de tesis, Rebeca y Alejandro, porque sin su apoyo esta tesis ni siquiera pudiera haberse pensado. Gracias por haber aceptado respaldar mi propuesta pese a las dificultades técnicas que se conocían desde el principio. Gracias por haberse involucrado más allá de lo académico y por procurar que tuviera los medios necesarios para llevar a cabo mi investigación (que también es suya). ¡Gracias por su confianza!

... al Dr. Alfredo Salas (IIO-UABC), la Dra. María del Refugio González (UABC) y la Dra. Bertha Lavaniegos (CICESE), por haber fomentado mi interés hacia el maravilloso mundo de los invertebrados, el zooplancton y los sifonóforos.

... a mis padres y mi abuelita Eréndira, por formarme. Por guiar mis pasos. Por el amor que me han brindado. Por su absoluta confianza en mis decisiones. Por el apoyo que me han ofrecido en todas las etapas de mi vida, sin ser ésta una excepción. Por su respaldo en los momentos difíciles y por compartir mis éxitos. ¡No podría ser más afortunado de tenerlos conmigo!

... a mis hermanas Oxibellis y Alondra, mi hermano Emiliano y mi tía Citlali por crecer conmigo. Por su paciencia y su confianza. ¡Son el mejor regalo que la vida pudo haberme dado! ... a Daranih, Mar y Brisa, porque les vi crecer y son parte del motor que me impulsa a seguir adelante. A mis tías Rocío, Lilí y a mi familia en general, porque son parte de mí.

... a mis amigos bajocalifornianos de los que puedo presumir que pese a la distancia pareciera que siguen ahí como si estuviéramos a pocos kilómetros, en especial a Julio Ramírez, César Dozal, Melissa Alcaraz, Itzigueri Burgos, Gabriela 'Agüero', Raymundo Aguas, Griselda Cabrera, Alejandra Flores Vidrio, Paola Pérez y Viridiana García. A ellos sumo a Daniel Juárez y a Constanza Diaz McGregor, que aunque forasteros (just kidding), sé que me tienen presente.

No podría estar menos agradecido con mi familia xalapeña, esas personas que me han brindado su afecto durante estos dos años. Mis reconocimientos...

... a Martín y a su familia, Don Teo, Doña Alicia, Dora, Margory y Q-ko Sean, por haberme recibido de la mejor manera desde el primer día en que llegue a territorio veracruzano. Debo reconocer que con su apoyo mi camino fue menos difícil. A Martín en lo particular, por brindarme su amistad desde el momento que nos conocimos en Guanajuato hace ya algunos años. Por escucharme cuando he necesitado desahogarme sin importar que llegara a ser repetitivo. Por la confianza con la que hemos podido charlar. Por las tardes de pulque... y por lo que falta.

... a Ale Fabila, por siempre estar ahí cuando te he necesitado. Por tu apoyo incondicional en lo personal y académico. Por chiquearme aunque a veces no me lo merezca. Por tenerme paciencia. Porque en estos dos años, sería imposible hacer el recuento de todos los grandes momentos que hemos compartido juntos. Por ser mi amiga en mis buenas y malas rachas.

... a Jani, por tu nobleza y tu infinito apoyo en momentos cruciales. Por tenerme presente en tu vida y en tus decisiones. Por las pláticas que hemos compartido y los consejos que hemos intercambiado. Nos faltó tiempo...

... a Yosaira y a su familia, por abrirme las puertas de su casa en Puebla y tenerme presente hasta para el mole y los chiles en nogada. A Yosaira en lo particular por haberme brindado una amistad transparente. Por pasearme. Por lograr levantarme el ánimo cuando me has visto cabizbajo. Por regalarme una sonrisa cada vez que la necesitaba.

... a Vianey, porque has dejado una huella indeleble en mi vida. Porque los numerosos momentos gratos que hemos compartido y que llevaré conmigo entre mis recuerdos. Por la confianza que depositaste en mí. Por tu cara amable desde que nos conocimos antes si quiera de saber que seríamos aceptados en el posgrado y hasta la fecha.

... a Juan Ramón, porque no se puede pasar por alto todas estas historias que escribí contigo. Por haberme hecho compañía día tras día. Por las charlas y discusiones que muchas veces no tenían sentido pero que por alguna razón se han convertido en afortunados recuerdos. Por conquistar cimas y compartir destinos. Por las cenas de madrugada y las horas de Futurama. ¡Por los buenos tiempos!



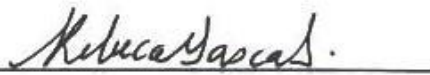
... a Ana, David, Marilú y Rafa por haber coincidido en tiempo y espacio y haberme dado cabida en algunos momentos de su vida.

Finalmente, a todos los que directa o indirectamente fueron parte de este camino.

DECLARACIÓN

Excepto cuando es explícitamente indicado en el texto, el trabajo de investigación contenido en esta tesis fue efectuado por el Biól. Arturo Isidoro Ruiz Villanueva como estudiante de la carrera de Maestro en Ciencias entre agosto de 2010 y agosto de 2012, bajo la supervisión del Dr. Alejandro Espinosa de los Monteros Solís y la Dr. Rebeca Adriana Gasca Serrano.

Las investigaciones reportadas en esta tesis no han sido utilizadas anteriormente para obtener otros grados académicos, ni serán utilizadas para tales fines en el futuro.

Candidato:	Arturo Isidoro Ruiz Villanueva	 _____
Co-directores de tesis:	Dr. Alejandro Espinosa de los Monteros S.	 _____
	Dra. Rebeca A. Gasca Serrano	 _____

Rechazo para fines de Nomenclatura

Este trabajo, en su actual presentación (tesis de grado), no debe considerarse como una publicación válida para fines de nomenclatura zoológica. Este es el disclaimer / dénégalion mencionado en el Código de Nomenclatura Zoológica (edición 1999), capítulo tres, artículos 8.2 y 8.3.

ÍNDICE

RELACIONES FILOGENÉTICAS DEL GÉNERO <i>LENSIA</i> TOTTON (HYDROZOA, SIPHONOPHORA) Y SUS IMPLICACIONES EN LAS FAMILIAS DIPHYIDAE Y ABYLIDAE.....	1
TESIS QUE PRESENTA ARTURO ISIDORO RUIZ VILLANUEVA.....	1
PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS.....	1
XALAPA, VERACRUZ, MÉXICO 2012.....	1
APROBACIÓN FINAL DEL DOCUMENTO DE TESIS DE GRADO: ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.	
RECONOCMIENTOS.....	3
DEDICACIONES.....	4
DECLARACIÓN..... ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.	
RECHAZO PARA FINES DE NOMENCLATURA.....	7
ÍNDICE.....	8
CAPÍTULO INTRODUCTORIO.....	11
SISTEMÁTICA MOLECULAR DE LA FAMILIA DIPHYIDAE: IMPLICACIONES EN TAXONOMÍA Y EVOLUCIÓN MORFOLÓGICA.....	15
MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
<i>Obtención del material.....</i>	18
<i>Métodos moleculares.....</i>	19
<i>Alineamiento, análisis filogenético y tratamiento de datos.....</i>	21
RESULTADOS.....	22
<i>Alineamiento, análisis filogenético y tratamiento de datos.....</i>	22
<i>Optimización de caracteres.....</i>	25
DISCUSION.....	27
<i>Nectóforos anteriores.....</i>	27
<i>Pérdida o retención del nectóforo larval.....</i>	35
<i>Monofismo: Convergencia evolutiva.....</i>	36
<i>Brácteas y gonóforos.....</i>	36
CONCLUSIÓN.....	38
Agradecimientos.....	38
REFERENCIAS.....	39

TAXONOMIC STATUS OF THE GENUS *LENSIA* TOTTON (SIPHONOPHORA, CALYCOPHORAE, DIPHYIDAE) WITH THE PROPOSAL OF NEW GENERA AND A NEW SPECIES..... 42

Abstract..... 42

Introduction..... 42

Material and methods..... 43

Results 44

Taxonomic proposal of the family Diphyidae..... 44

Diagnosis, etymology and remarks of the proposed clades 45

 Subfamily Dimophyinae Moser, 1925 45

 Genus *Pagesia* gen. nov. 46

Pagesia asymmetrica (Stepanjants, 1970) n.comb. (fig. 2 a)..... 47

Pagesia bargmannae (Totton, 1954) n.comb. 47

 Subfamily Lavaniegosiinae subfam.nov. 48

 Genus *Lavaniegosia* gen. nov..... 48

Lavaniegosia campanella (Moser, 1913) n.comb. (figs. 2b,c) 49

Lavaniegosia cossack (Totton, 1941) n.comb. (fig. 2e)..... 49

 Subfamily Mapstoniinae subfam. nov. 51

 Genus *Mapstonia* gen. nov. 51

Mapstonia havock (Totton, 1941) n.comb. 51

 Genus *Cuquita* gen. nov. 52

Cuquita multicristata (Moser, 1925) n.comb..... 53

Cuquita hunter (Totton, 1941) n.comb. 54

 “Insertae Sedis” 54

 Genus *Haddockia* gen. nov..... 54

Haddockia quadriculata (Pagès, Flood & Youngbluth, 2006) n.comb. 55

Haddockia ajax (Totton, 1941) n.comb. (fig. 4b) 55

Haddockia hostile (Totton, 1941) n.comb. 55

 Genus *Margulisia* gen. nov. 55

Margulisia zenkevitchi (Margulis, 1970) n.comb. 56

 Subfamily Dunninae subfam.nov. 56

 Genus *Dunnia* gen. nov. 57

Dunnia exeter (Totton, 1941) n.comb. (Fig. 4d)..... 57

Dunnia grimaldi (Leloup, 1933) n.comb. 57

Dunnia lelouveteau (Totton, 1941) n.comb. (Fig. 4c) 57

Dunnia meteori (Leloup, 1934) n.comb..... 58

 Subfamily Wolegibiinae subfam.nov. 58

 Genus *Wolegibia* gen. nov..... 59

Wolegibia fowleri (Bigelow, 1911) n.comb..... 59

 Subfamily Muggiinae Bigelow, 1911..... 59

 Genus *Lensia* Totton, 1932..... 60

Lensia subtiloides (Lens and van Riemsdijk, 1908) 61

Lensia achilles Totton, 1941..... 61

Lensia cordata Totton, 1965..... 63

Lensia challengerii (Totton, 1954) 63

Lensia beklemishevi Margulis and Alekseev, 1986 64

Lensia conoidea (Kefferstein & Ehlers, 1860) 65

Lensia hotspur Totton, 1941 65

Lensia quadriangulata sp. nov. 66

Lensia gnanamuthui Daniel y Daniel, 1963..... 67

Lensia leloupi Totton, 1954 67

Lensia panikkari Daniel, 1970..... 68

 ?*Lensia lebedevi* Alekseev, 1984..... 68

 ?*Lensia patritii* Alekseev, 1984 68

? <i>Lensia eugenioi</i> Alvariño & Wojtan, 1984	68
? <i>Lensia canopusi</i> Stepanjants, 1977	69
<i>Lensia tottoni</i> Daniel y Daniel, 1963	69
<i>Lensia hardy</i> Totton, 1941	69
Subfamily Carreinae subfam. nov.	69
Genus <i>Carreia</i> gen. nov.	69
<i>Carreia subtilis</i> (Chun, 1886) n.comb.	70
<i>Carreia chuni</i> (Totton, 1965) n.comb.	70
Invalid species	71
Discussion	71
Acknowledgements	73
CONCLUSIONES GENERALES	77

CAPÍTULO INTRODUCTORIO

Los sistemas de clasificación se han desarrollado conforme ha cambiado la percepción del hombre sobre las relaciones o similitudes de los organismos vivos. En los últimos años han existido tres principales escuelas, la evolutiva, la fenética y la cladista, la cual goza de mayor aceptación hoy en día. El cladismo se basa en el reconocimiento de caracteres derivados compartidos entre taxa y su aplicación en sistemas taxonómicos valida únicamente grupos monofiléticos, es decir, aquellos que comprenden a un ancestro común y todos sus descendientes. Sin embargo, las relaciones de ciertos grupos han sido pobremente exploradas y aún resta mucho trabajo por hacer. Con los avances en la biología molecular se han generado herramientas muy valiosas que han permitido mermar la subjetividad de la apreciación de un taxónomo experto, muchas veces coincidiendo con los estudios morfológicos pero en otras ocasiones dando resultados bastante controversiales.

Los sifonóforos (orden Siphonophora) son uno de los órdenes de la clase Hydrozoa (phylum Cnidaria) que fue objeto de numerosos estudios en el siglo XIX. Sin embargo, en las últimas décadas se ha reducido el número de investigadores que les estudian. Se trata de organismos coloniales polimórficos, cuyos zooides han sufrido una especialización que los limita a realizar sólo ciertas funciones dentro de la colonia. El origen de los zooides puede definirse en dos grandes categorías, polipoides y medusoides. En los sifonóforos, las estructuras polipoides están representadas por gastrozoides (estructuras digestivas), brácteas (estructuras de protección), palpones (estructuras de excreción y defensa) y el pneumatóforo, una estructura que da dirección y flotabilidad a la colonia. Los zooides de origen medusoides son los nectóforos (estructuras de propulsión), y los gonóforos (estructuras reproductivas). El orden se ha dividido tradicionalmente en tres subórdenes, Cystonectae, Physonectae y Calycophorae (Totton 1954). Al suborden Calycophorae pertenecen las familias que fueron estudiadas en el presente trabajo. El suborden se define por la ausencia de pneumatóforo y el desarrollo de nectóforos como las estructuras más prominentes de la colonia (Pugh 1974), así como por el desarrollo de un nectóforo larval.

Chun (1886) catalogó a los calicóforos en dos grandes grupos, Prayomorpha y Diphyomorpha. En el sistema actual de clasificación propuesto por Totton (1965), Calycophorae está representada por seis familias: Prayidae, Hippopodidae, Clausophyidae, Sphaeronectidae, Diphyidae y Abylidae, las últimas cuatro pertenecientes a Diphyomorpha. El primer y, hasta la fecha, único trabajo con un enfoque sistemático sobre sifonóforos es el

de la Dunn et al. (2005), quienes encontraron que Prayomorpha es parafilético, anidando al clado monofilético Diphyomorpha. Dentro de este último clado se mostró a Clausophyidae y Diphyidae como familias parafiléticas, la primera en la base del conjunto y la segunda anidando a Abylidae.

El presente trabajo enfatiza en el análisis del clado Diphyomorpha, especialmente en las familias Diphyidae y Abylidae. Aunque el trabajo de Dunn et al. (2005) sugiere un escenario general sobre las relaciones internas de este grupo, el número de taxa incluidos es reducido y la mayoría de los géneros reconocidos en las familias mencionadas no están representados en su análisis. Dentro de Diphyidae, el género más problemático en cuestión taxonómica es *Lensia* Totton, pero su estudio no puede excluir a los demás géneros de la familia. Como resultado final, se hace una nueva propuesta taxonómica y se comenta la validez de las especies que históricamente han sido referidas a *Lensia*.

Hipótesis

El género *Lensia* ha sido reconocido en base a caracteres diagnósticos como una forma pentagonal del nectóforo anterior en corte transversal y un nectóforo posterior cuyos canales radiales laterales siguen un curso ligeramente sigmoide. No obstante, los resultados de un estudio previo (Ortman et al. 2010) sugiere que dichos caracteres pudieran ser plesiomórficos a los distintos grupos dentro de la familia Diphyidae. Por lo tanto, *Lensia* no correspondería a un clado monofilético, sino a un género polifilético que contiene especies de distintos linajes ('trashcan' genus).

Objetivo general

- ☞ Dilucidar las relaciones entre las diferentes especies del género *Lensia* y su posición en la familia Diphyidae utilizando datos moleculares. La filogenia resultante servirá de base para inferir escenarios evolutivos sobre los caracteres morfológicos distintivos del grupo.

Objetivos particulares

- ☞ Crear una nueva diagnosis del género *Lensia* Totton en base a nuestros resultados.
- ☞ Aportar descripciones morfológicas detalladas de las especies poco conocidas del género.

- ∞ Asignar nuevas categorías taxonómicas (e.g. géneros y subfamilias) basándonos en un sistema de clados monofiléticos dentro de Diphyidae.

Estructura del trabajo

Los resultados del trabajo de tesis se presentan en dos capítulos. El primero de ellos se basa en la evidencia molecular a partir de secuencias del gen del Citocromo Oxidasa subunidad I (COI), sobre las cuales se hacen análisis filogenéticos de máxima verosimilitud y bayesiano para generar una topología, misma que sirvió para llevar a cabo la optimización de ciertos caracteres morfológicos, determinando así su naturaleza histórica, es decir, si son características simplesiomórficas o sinapomórficas. Adicionalmente, las discusiones conllevan comentarios relacionados con el arreglo taxonómico vigente. El estudio incluyó por lo menos una especie por cada género considerado válido dentro de la familia Diphyidae, con la excepción de *Gilia* Pugh y Pagès del cual no se obtuvo material. Dadas las evidencias morfológicas que sugieren que el género *Lensia* Totton no es monofilético, se incluyeron varias especies (e.g. especies sin crestas, multicrestadas, pentacrestas y heptacrestadas; incluyendo más de una dónde fue posible) de acuerdo a las categorías sugeridas por Margulis y Alekseev (1985).

El capítulo dos utiliza la información generada en el capítulo uno así como criterios taxonómicos actualizados para hacer una nueva diagnosis del género *Lensia* y limitar su uso a ciertas especies pentacrestadas. Se presenta una nueva propuesta sistemática para redistribuir las especies excluidas de *Lensia* en nuevos géneros y subfamilias, cuando se concluye que es la alternativa taxonómica más adecuada. Se guarda reserva en la mayoría de las especies pentacrestadas para evitar inestabilidad taxonómica, a no ser que exista evidencia suficiente para separarlas del género original propuesto por Totton (1932). Se proveen ilustraciones de las especies comentadas donde han sido identificadas en el material examinado, con la finalidad de que puedan ser referidas visualmente en el caso de existir conflictos de opinión relacionados con su identidad. Se describe una nueva especie y a la par se comenta sobre la validez de las especies y subespecies reconocidas en el género. Finalmente, se establecen algunas sinonimias derivadas de este análisis.

Citas mencionadas en el texto:

- Dunn, C. W., P. R. Pugh y S. H. D. Haddock. 2005. Molecular phylogeny of the Siphonophora (Cnidaria), with implications for the evolutions of functional specialization. *Systematic Biology*, 54, 916-935.
- Margulis, R. Ya. y D. O. Alekseev. 1985. On the genus *Lensia* (Siphonophora, Calycophora). *Zoologicheskii Zhurnal*, 64: 5-15. (en ruso)

- Ortman, B. D., A. Bucklin, F. Pagès y M. Youngbluth. 2010. DNA barcoding of the Medusozoa using mtCOI. *Deep-Sea Resesarch. II*, 57:2148-2156
- Pugh, P. R. 1974. The vertical distribution of the Siphonophores collected during the Sond Cruise, 1965. *J. Mar. Journal of Marine Biology Association of the United Kingdom*, 54:25-90.
- Pugh, P.R. 1999. 'Siphonophorae'. In "South Atlantic Zooplankton" (D. Boltovskoy, ed.), Backhuys Publishers, Leiden, pp. 467-511.
- Totton, A. K. 1932. Siphonophora. Scientific reports. Great Barrier Reef Expedition, 1928-29 4: 317-374.
- Totton, A. K. 1954. Siphonophora of the Indian Ocean together with systematics and biological notes on related specimens from other oceans. *Discovery Reports*, 27: 1-162.
- Totton, A. K. 1965. A Synopsis of the Siphonophora. London; Trustees of the British Museum (Natural History): 230 pp.

Sistemática molecular de la familia Diphyidae: Implicaciones en taxonomía y evolución morfológica

Arturo I. Ruiz Villanueva¹, Rebeca Gasca², Alejandro Espinosa de los Monteros¹

¹Instituto de Ecología, A.C., campus Xalapa

²El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Chetumal

La familia Diphyidae es un grupo de sifonóforos que comprende cerca de 50 especies descritas y es la más diversa del suborden Calycophorae (ver Totton 1965a y Pugh 1999). Se caracteriza por carecer de pneumatóforo, una estructura apical rellena de gas que tiene como función direccionar el movimiento de la colonia y en cierto grado, darle flotabilidad. Dunn et al. (2005) ubicaron al suborden Calycophorae dentro de Codonophora, un gran clado dentro de Siphonophorae que también incluye al suborden Physonectae. La estructura de las colonias de Codonophora está dividida en dos regiones, el nectosoma, donde se encuentran los nectóforos, estructuras natatorias de origen medusoide; y el sifosoma, con estructuras de tipo tanto medusoide (gonóforos, nectóforos especiales) como polipoide (e.g. brácteas, gastrozoides). En Calycophorae las estructuras sifosomales están organizadas en unidades discretas llamadas cormidios (Dunn et al. 2005).

Los calicóforos han sido divididos tradicionalmente en dos grandes ramas, Prayomorphae Chun y Diphyomorphae Brandt (Mackie et al. 1987), aunque solamente la segunda es monofilética (Dunn et al. 2005). La fase asexual o poligástrica de Diphyomorphae presenta dos nectóforos definitivos desiguales, los cuales no están opuestos como en Prayomorpha, sino que aparecen total o parcialmente superimpuestos. Debido a su diferenciación morfológica y la orientación de la colonia, los nectóforos se definen como anterior y posterior. En algunas especies se ha suprimido la formación del nectóforo posterior, produciendo especies monófidas. La fase sexual se caracteriza por el desarrollo de una fase sexual de vida libre conocida como eudoxia, cormidios individuales que se desprenden en cierto punto de su madurez. Esta fase sexual, también desarrollada en los géneros *Amphicaryon* Chun y *Maresearsia* Totton de Prayomorpha, está formada por una bráctea protectora y de flotación, uno o más gonóforos y un gastrozooide único, de ahí que también se le conozca como fase monogástrica. En tres especies del género *Diphyes*, las eudoxias también presentan un nectóforo especial o campana asexual. En *Sulculeolaria* De Blainville los cormidios maduran unidos a la colonia, por lo que la fase sexual no es de vida libre.

El arreglo taxonómico actual de las familias Diphyidae y Abylidae fue el establecido por Totton (1932). El género *Diphyes* Cuvier fue dividido en varios géneros, resultando en la creación de los géneros *Lensia* Totton y *Chelophyes* Totton y la reintroducción de *Eudoxoides* Huxley. Totton (1932) abandonó el uso de los géneros *Galeolaria* De Blainville y *Cuboides* Quoy y Gaimard y consecuentemente promovió el uso de los géneros *Galetta* Stechow, *Sulculeolaria* y *Enneagonum* Quoy y Gaimard; aunado a ello, separó a Abylinae en una familia propia. Bigelow y Sears (1937) y Sears (1953) rechazaron la idea de Totton de que Diphyidae y Abylidae deberían ser tratados como familias independientes, y continuaron considerando a la última como subfamilia. Sin embargo, la autoridad que ganó Totton con su monografía (1965a) provocó que ambos clados sigan vigentes hasta nuestros días. El género *Galetta* fue considerado sinónimo de *Sulculeolaria* (Totton 1954) aunque Stepanjants (1973) consideró ambos como válidos, sin que su opinión fuera adoptada por subsecuentes autores. Tradicionalmente, la familia Diphyidae se ha dividido en dos subfamilias (Totton 1954), Sulculeolariinae Totton para el género *Sulculeolaria* y Diphynae Moser para incluir a los seis géneros restantes. Anteriormente eran reconocidas las subfamilias Muggiinae Bigelow y Dimophyinae Moser, pero cayeron en desuso con los arreglos sugeridos por Totton (1932, 1954). Más recientemente, Pugh y Pagès (1995) crearon la subfamilia Giliinae, monotípica para *Gilia reticulata* (Totton).

Dunn et al. (2005) presentaron el primer análisis de sistemática molecular de Siphonophora utilizando los genes 16S y 18S. Sus resultados mostraron a la familia Abylidae anidada dentro de Diphyidae, y aunque en consecuencia esta última resultaba parafilética, no propusieron una alternativa taxonómica que resolviera grupos monofiléticos. Ortman et al. (2010) tuvo resultados similares con COI aunque su estudio no fue propiamente filogenético. Estos vacíos justifican nuevos esfuerzos y requieren del manejo de un mayor número de datos e información complementaria que permita una visión más detallada de la historia filogenética del grupo.

El género más numeroso de Diphyidae es *Lensia* (fig. 1). En su diagnosis, Totton (1932) estableció que a él pertenecían especies pentagonales (en corte transversal), no obstante, le atribuyó especies sin crestas y especies de siete crestas. Leloup (1933) agregó una especie de más de siete crestas al género, consideración que fue seguida por Totton (1941) con la descripción de nuevas especies multicrestadas. Aunado a esto, la estructura de las especies que el mismo Totton incluyó posteriormente (Totton 1941, 1954, 1965b), ocasionó la incorporación de cerca de cuarenta especies y subespecies nominales en este género (Daniel y

Daniel 1963a,b; Daniel 1970; Patrity 1970; Stepanjants 1967, 1970, 1977; Margulis 1970; Alekseev 1984; Alvariño y Wojtan 1984; Rengarajan 1973; Margulis y Alekseev 1986; Zhang y Lin 1988; Pagès et al. 2006). Las especies de *Lensia* han sido reunidas en cuatro grupos (Margulis y Alekseev 1985): 1) especies de cinco crestas; 2) especies de siete crestas; 3) especies con más de siete crestas; y 4) especies sin crestas. Más allá del trabajo general de Margulis y Alekseev (1985), el cual en realidad es poco más que un compendio general de las especies hasta entonces descritas, ningún otro autor ha revisado la situación de este género. Ortman et al. (2010) mencionaron que “members of the genus *Lensia* were removed from analysis of distances between species and genera, and analyzed separately due to phylogenetic evidence based on 28S rDNA that they do not represent a monophyletic group, but comprise at least three genetically and probably taxonomically distinct clades”. No obstante, la variación del gen 28S es mínima y resulta inadecuada para estudios de relaciones dentro de Diphyidae (Dunn, com. pers.).

El mayor problema de trabajar con dífidos es su ciclo de dos fases ya que al madurar, las eudoxias se desprenden de la colonia poligástrica, dificultando la asociación entre ambas fases. Esta situación ha llevado a describir especies únicamente a partir del nectóforo anterior de la fase poligástrica o bien, considerando únicamente la eudoxia (e.g. *Eudoxia galathea* Moser 1925; *E. macra* Totton 1954; *E. indica* Daniel 1985). Hoy en día, sólo se desconoce la afinidad de *Eudoxia galathea* Moser y *E. macra* Totton, aunque es posible que la primera sea la fase sexual de *Muggiaea bargmannae* descrita parcialmente por Margulis (1982) y Zhang y Lin (2001). El desarrollo de las herramientas moleculares representa una solución a este problema, en especial la implementación de código de barras (Ortman et al. 2010). Se puede de esta manera reconocer a qué especie pertenece una estructura cuando se tiene una secuencia previa de ejemplares correctamente identificados. La única limitación es la deformación de los organismos preservados en alcohol, lo que dificulta la descripción de la fase entonces desconocida.

El objetivo del presente trabajo es dilucidar las relaciones dentro de las familias Diphyidae y Abylidae a partir de nuevos datos moleculares que se suman a algunos previamente generados por Ortman et al. (2010). A partir de los resultados de análisis filogenéticos, de revisiones de material en distintas colecciones y de recolección de material nuevo se hace una interpretación del escenario evolutivo de estas familias de sifonóforos. Finalmente, se discute el arreglo taxonómico actualmente empleado.



Fig. 1. Fotografías de ejemplares de *Lensia* recolectados vivos en cruceros en el Golfo de California y el Mar Caribe. (a) *Lensia havock*, especie de siete crestas; (b) *Lensia quadriculata*, especie multicrestada; (c) *Lensia campanella*, especie sin crestas evidentes; (d) *Lensia beklemishevi*, especie de cinco crestas. Fotos: (a) y (c) por Rebeca Gasca; (b) y (d) Steve Haddock.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención del material

Los especímenes se obtuvieron de distintas colecciones biológicas: 1) Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada (CICESE) en Ensenada, Baja California recolectados durante el desarrollo del programa IMECOCAL; 2) Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) del Instituto Politécnico Nacional (IPN) en La Paz, Baja California Sur provenientes de los cruceros de CAPEGOLCA; y 3) El Colegio de la Frontera

Sur (ECOSUR) en Chetumal, Quintana Roo. Así mismo, se revisó material adicional recolectado con diversos métodos de muestreo: 1) muestras de redes Tucker obtenidas durante la expedición del Harbor Branch Oceanographic Institution en el Golfo de México a bordo del B/O Edwin Link en septiembre 1995; 2) con redes MOCNESS en la expedición de la National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) en el mar Caribe a bordo del B/O Gordon Gunter en abril del 2011; y 3) por buceo de aguas abiertas y el uso de vehículos operados remotamente (ROV) durante el crucero de aguas profundas del Monterey Bay Aquarium Research Institute (MBARI) en el Golfo de California durante febrero del 2012. Los ejemplares vivos o fijados en formol fueron utilizados para la revisión de caracteres morfológicos mientras que los que fueron preservados en etanol al 90% se utilizaron para los análisis moleculares.

Métodos moleculares

Se seleccionó una secuencia parcial del gen Citocromo Oxidasa subunidad I (COI) dada la disponibilidad de secuencias para un buen número de especies de Diphyomorpha en GenBank y a que éstas mostraban una variación adecuada para análisis filogenéticos a nivel género y especie. En la tabla 1 se resume la fuente de obtención de las secuencias, ya sea del trabajo de Ortman et al. (2010) o de las secuencias generadas a través de la colaboración ECOSUR-BoldSystems o en el laboratorio de Sistemática Filogenética en el Instituto de Ecología, A.C. (INECOL). Los primers utilizados para obtener las secuencias en ambos casos fueron obtenidos de Folmer et al. (2004).

Tabla 1. Especies utilizadas en el estudio molecular con su número de voucher, sitio de obtención, número de acceso en GenBank y resumen de los datos de colecta. MC = Mar Caribe, GC = Golfo de California, BWD = Buceo en aguas abiertas (Blue Water Diving).				
Taxon	Voucher	Lat.	# acceso GenBank	Prof.m
<i>Abyla trigona</i>	E36031	INECOL	-	0-200 MC
<i>Abylopsis eschscholtzi</i>	E36041	BoldSystem	-	0-200 MC
<i>Abylopsis tetragona</i>	E36051	BoldSystem	-	0-200 MC
<i>Bassia bassensis</i>	-	Ortman et al. 2010	GQ119959	-
<i>Ceratocymba dentata</i>	-	Ortman et al. 2010	GQ119963	-
<i>Ceratocymba sagittata</i>	-	Ortman et al. 2010	GQ119961	-
<i>Chelophyes appendiculata</i>	E35011	BoldSystem	-	0-200 MC
<i>Chuniphyes moserae</i>	E32031	BoldSystem	-	1187 GC
<i>Chuniphyes multidentata</i>	-	Ortman et al. 2010	GQ 119964	-
<i>Clausophyes moserae</i>	E31021	BoldSystem	-	2595 GC
<i>Dimophyes arctica</i>	-	Ortman et al. 2010	GQ119966	-

<i>Diphyes bojani</i>	E35061	BoldSystem	-	0-200 MC
<i>Diphyes dispar</i>	E35081	BoldSystem	-	0-200 MC
<i>Enneagonum hyalinum</i>	-	Ortman et al. 2010	GQ119975	-
<i>Eudoxoides mitra</i>	E35031	BoldSystem	-	0-200 MC
<i>Eudoxoides spiralis</i>	E35041	BoldSystem	-	0-200 MC
<i>Hippopodius hippopus</i>	-	Ortman et al. 2010	GQ119993	-
<i>Lensia achilles</i>	E35291	INECOL	-	2694 GC
<i>Lensia beklemishevi</i>	E35261	BoldSystem	-	1685 GC
<i>Lensia campanella</i>	-	Ortman et al. 2010	GQ120066	-
<i>Lensia challengerii</i>	E35251	BoldSystem	-	0-200 GC
<i>Lensia conoidea</i>	-	Ortman et al. 2010	GQ120002	-
<i>Lensia fowleri</i>	E35231	INECOL	-	0-200 MC
<i>Lensia exeter</i>	-	Ortman et al. 2010	GQ120003	-
<i>Lensia grimaldi</i>	-	Ortman et al. 2010	GQ120008	-
<i>Lensia havock</i>	E35121	BoldSystem	-	3108 GC
<i>Lensia hotspur</i>	-	Ortman et al. 2010	GQ120009	-
<i>Lensia meteori</i>	-	Ortman et al. 2010	GQ120010	-
<i>Lensia cf. multicristata</i> sp. 1	-	Ortman et al. 2010	GQ120011	-
<i>Lensia cf. multicristata</i> sp. 2	-	Ortman et al. 2010	GQ120012	-
<i>Muggiaea atlantica</i>	E35371	BoldSystem	-	BW GC
<i>Sphaeronectes fragilis</i>	E34031	BoldSystem	-	BW GC
<i>Sphaeronectes koellikeri</i>	-	Ortman et al. 2010	GQ120046	-
<i>Sulculeolaria biloba</i>	E35421	BoldSystem	-	BW GC
<i>Sulculeolaria chuni</i>	E35411	BoldSystem	-	0-200 MC
<i>Sulculeolaria monoica</i>	E35391	BoldSystem	-	0-200 MC
<i>Sulculeolaria quadrivalvis</i>	E35431	BoldSystem	-	0-200 MC
<i>Sulculeolaria quadrivalvis</i>	E35432	BoldSystem	-	0-200 GC
<i>Sulculeolaria turgida</i>	E35401	INECOL	-	0-200 MC

En el INECOL, para la extracción de ADN se utilizó el kit Zymo Research Genomic DNA™ Tissue MicroPrep. En general, los PCR se hicieron con los siguientes parámetros: desnaturalización a 94° C por 30 s, hibridación a 47° C por 30 s y extensión a 72° C por 90 s por un total de 35 ciclos. Sin embargo, para algunas muestras fue necesario variar la temperatura de hibridación $\pm 5^\circ$ C para obtener amplificaciones adecuadas. Las reacciones de PCR se realizaron en condiciones regulares (por reacción: 3µl de cada primer, 3µl de buffer, 3µl de dNTPs, 1.5µl de MgCl₂, 0.2 µl de polimerasa, 1µl de ADN y se afora con agua ultrapura para un volumen final de 30µl). La limpieza de los productos de PCR se llevó a cabo con GeneJet™ PCR Purification Kit de Fermentas. Para la secuenciación utilizamos

BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit de Applied Biosystems. Las condiciones para el PCR de secuenciación fueron una una desnaturalización a 96° C por 15 s, hibridación 50° C por 15 s y extensión 60° C por 120 s, esto repetido por 35 ciclos. La limpieza de las secuencias se hizo con una precipitación de alcohol agregando 100 µl de etanol al 95% a cada reacción, centrifugando las reacciones a 12000 rpm durante 45 minutos, se decantó el alcohol y se dejó evaporar a temperatura ambiente para evitar residuos. Para todos los kits se siguieron los protocolos especificados en las instrucciones del proveedor. Los productos se secuenciaron en ambas direcciones para asegurar la confiabilidad de los datos. La lectura de las secuencias fue llevada a cabo en el INECOL en un secuenciador automático 310 (Applied Biosystems).

Alineamiento, análisis filogenético y tratamiento de datos

Las secuencias fueron alineadas en ClustalX (Larkin et al. 2007) y fueron revisadas en Mesquite (Maddison y Maddison 2004) para revisar incongruencias. Se llevaron a cabo análisis de Máxima Verosimilitud (ML) y Bayesianos (BY). El análisis de ML fue llevado a cabo en RaxML (Stamatakis, 2006) seleccionando el modelo GTRGAMMA y los parámetros predeterminados para la búsqueda heurística de ML y la generación de valores de soporte de bootstrap (100 réplicas). BY fue llevado a cabo en MrBayes (Ronquist y Huelsenbeck 2003), siguiendo el modelo evolutivo y el valor de gama determinado con jModelTest (Posada 2008). Los árboles fueron muestreados cada 100 generaciones en una búsqueda de 10 millones de generaciones. La búsqueda se repitió tres veces más para ver si existían diferencias en topología, sólo que con menor número de generaciones (dos de cuatro millones, y una de un millón). El burn-in fue del 25% de los árboles muestreados. El hipopódido *H. hippopus* fue seleccionado como grupo externo, dado que se trata de un calicóforo que no pertenece a Diphyomorpha y se reduce el riesgo de que quede posicionado dentro del grupo de estudio, situación que es más incierta en los miembros de las familias Clausophyidae (*Kephyes ovata*, *Chuniphyes spp.*, *Clausophyes spp.*) o Spheronectidae. La visualización de los árboles generados se llevó a cabo en Mesquite (Maddison y Maddison 2004) y en Fig Tree (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

Optimización de caracteres

El material vivo y conservado en formol fue utilizado para construir una matriz de caracteres morfológicos en Mesquite (Maddison y Maddison 2004). Los caracteres evaluados fueron el número de crestas longitudinales, la longitud del canal pedicular, el desarrollo de nectóforo

larval, la presencia/ausencia de nectóforo posterior, el tipo de bráctea y el número de crestas en los gonóforos, todos ellos importantes en las diagnósis genéricas. Para las especies cuyo estado de preservación no permitió un análisis adecuado se utilizó información extraída de la literatura. Una vez obtenido el árbol de los datos moleculares se combinó con la matriz de caracteres morfológicos y se generaron escenarios evolutivos para inferir la distribución histórica de los caracteres en los taxa.

RESULTADOS

Alineamiento, análisis filogenético y tratamiento de datos

El alineamiento fue llevado a cabo sin mayores complicaciones entre las especies de Diphyidae y Abylidae, pero resultó más complejo con las especies de las familias Clausophyidae y Sphaeronectidae así como con el grupo externo y *Lensia campanella* que provocaron la inclusión de un número considerable de “gaps”.

En general, los análisis de ML tuvieron valores de soporte más bajos que los análisis BY (fig. 2). Si bien en los clados basales existe incongruencia entre ambos análisis y sus resultados tienen valores de soporte menores al 50% en el análisis de ML, la topología dentro de Diphyidae fue coherente entre ambos algoritmos. Las relaciones entre los géneros *Sulculeolaria*, *Muggiaea* y cinco especies del género *Lensia* (*L. challengerii*, *L. beklemishevi*, *L. hotspur*, *L. conoidea*, *L. achilles*) no coincidieron en topología entre los dos tipos de análisis, pero tanto en ML como en BY fueron soportadas como un conjunto monofilético (Truncata; fig. 3). Tanto los análisis de ML y BY recuperaron los clados monofiléticos *L. challengerii* + *L. beklemishevi* y *L. conoidea* + *L. hotspur*. La especie *L. achilles* se muestra independiente ya sea en la base de un grupo monofilético de éstas cinco especies de *Lensia* (fig. 2b) o como grupo hermano de *Muggiaea atlantica* (fig. 2a). El resultado general muestra que el género *Lensia* es polifilético representado por al menos cinco linajes. *Lensia fowleri* se presenta como basal a los géneros *Muggiaea*, *Sulculeolaria*, *Diphyes*, *Eudoxoides*, la familia Abylidae y las cinco especies de *Lensia* antes mencionadas. Cuatro especies de *Lensia* se muestran en una posición basal respecto al resto de la familia Diphyidae, formando dos clados independientes. El clado más basal es representado por las especies de siete crestas, *L. havock* y *L. multicristata* con dos formas crípticas. El clado siguiente es representado por la especie acrestada, *L. meteori* y las especies multicrestadas *L. grimaldi* y *L. exeter* (fig. 3).

Otra diferencia entre ambos análisis es la relación de *Abyla trigona*. En BY es recuperada como grupo hermano de *Ceratocymba sagittata* con un valor posterior de 84%, volviendo al

género *Ceratocymba* parafilético, sin embargo el clado conformado por las dos *Ceratocymba* y *Abyla trigona* se colapsa en un peine en ML.

Las ramas muestran una longitud considerable en las especies multicrestadas (siete o más crestas) y en *Abyla trigona*.

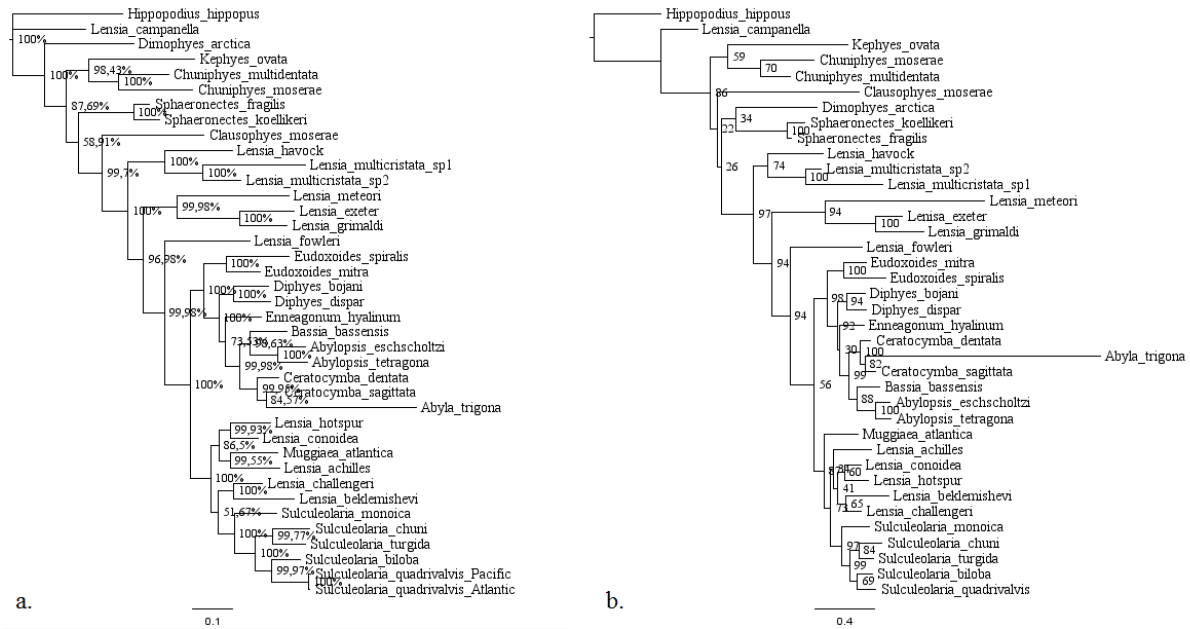


Fig. 2. Resultados independientes de los análisis filogenéticos que muestran las diferencias en la topología generados por los algoritmos bayesiano y de máxima verosimilitud, así como la longitud de las ramas. (a) Análisis bayesiano (BY). (b) Análisis de máxima verosimilitud (ML).

DIPHYOMORPHA

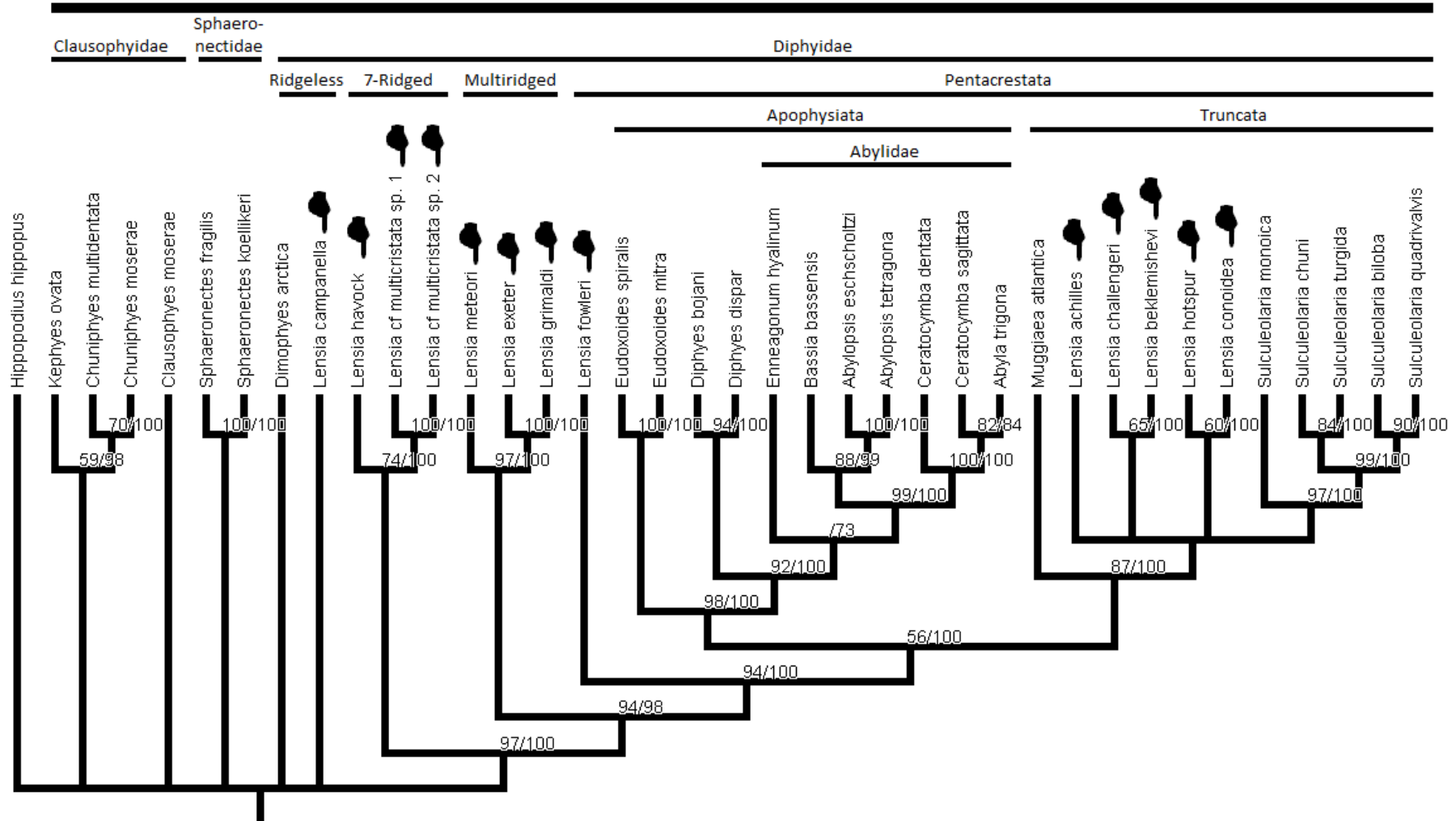
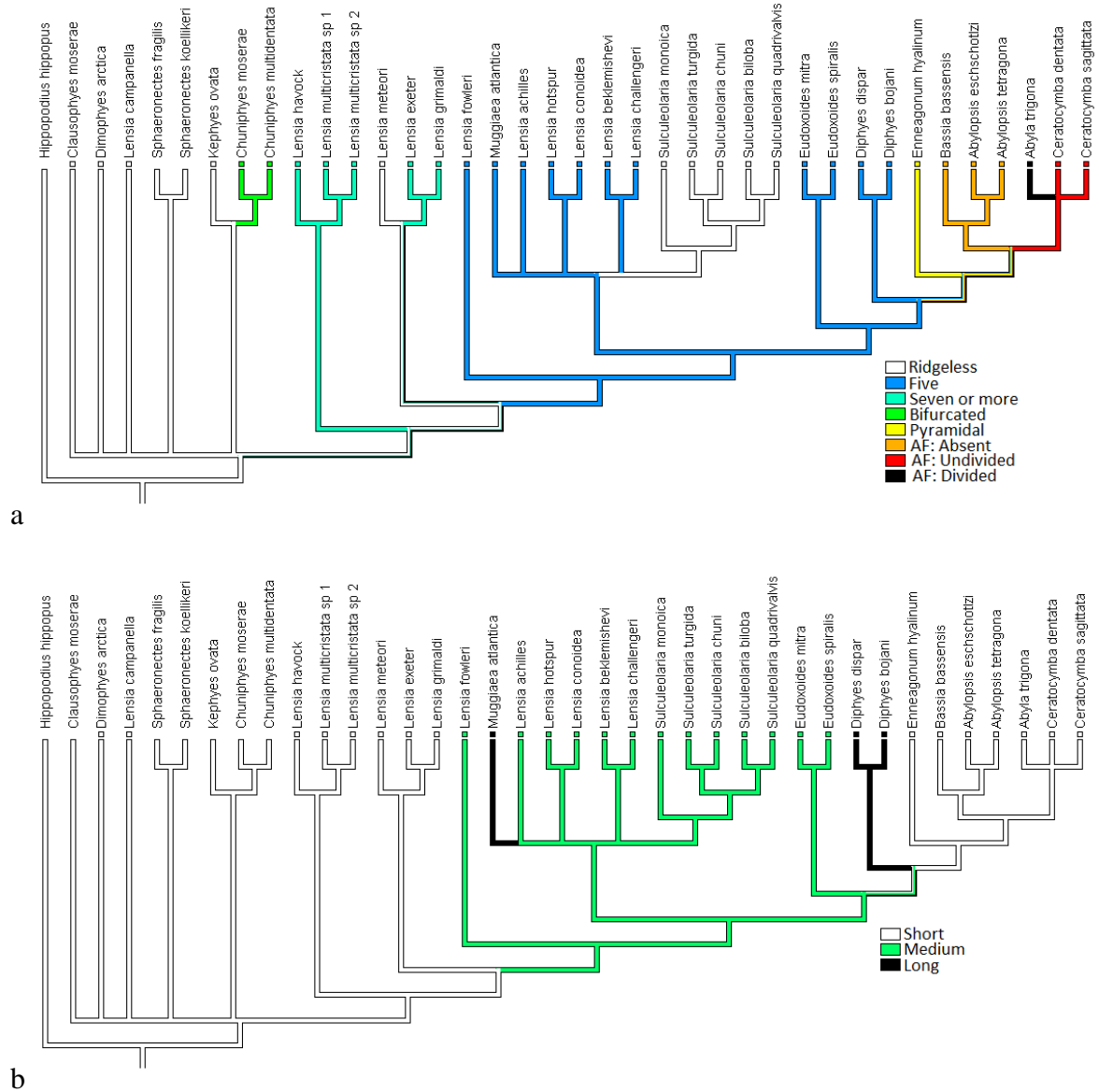
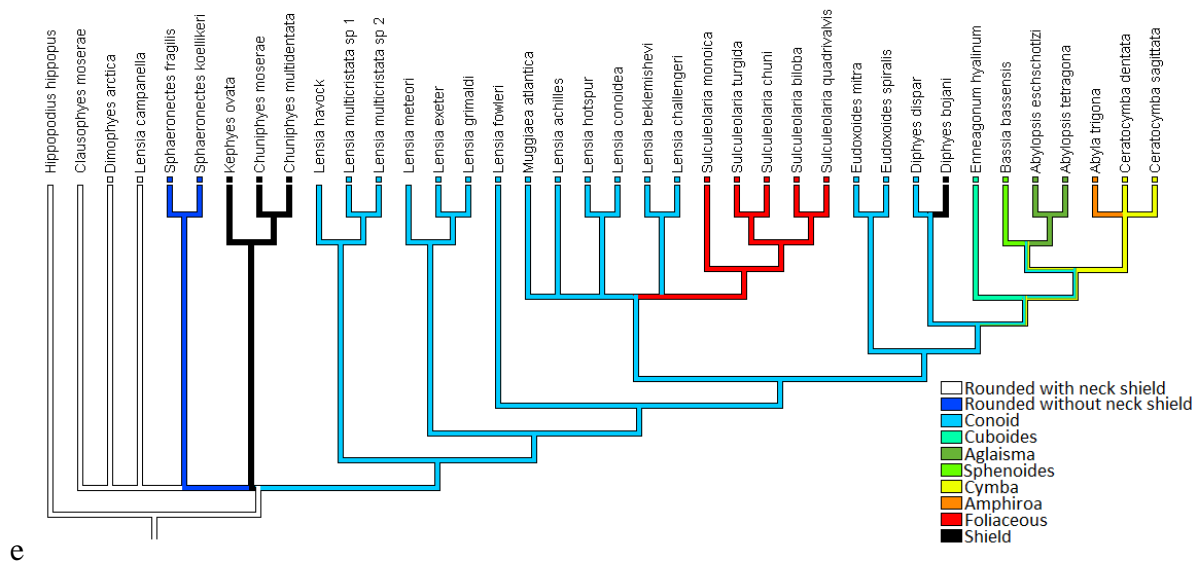
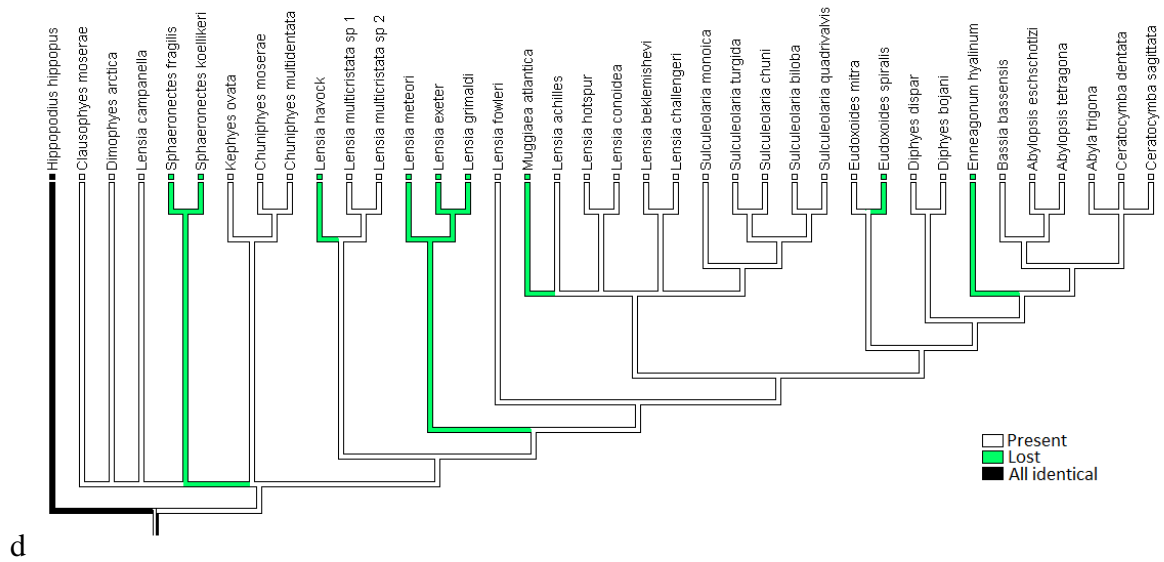
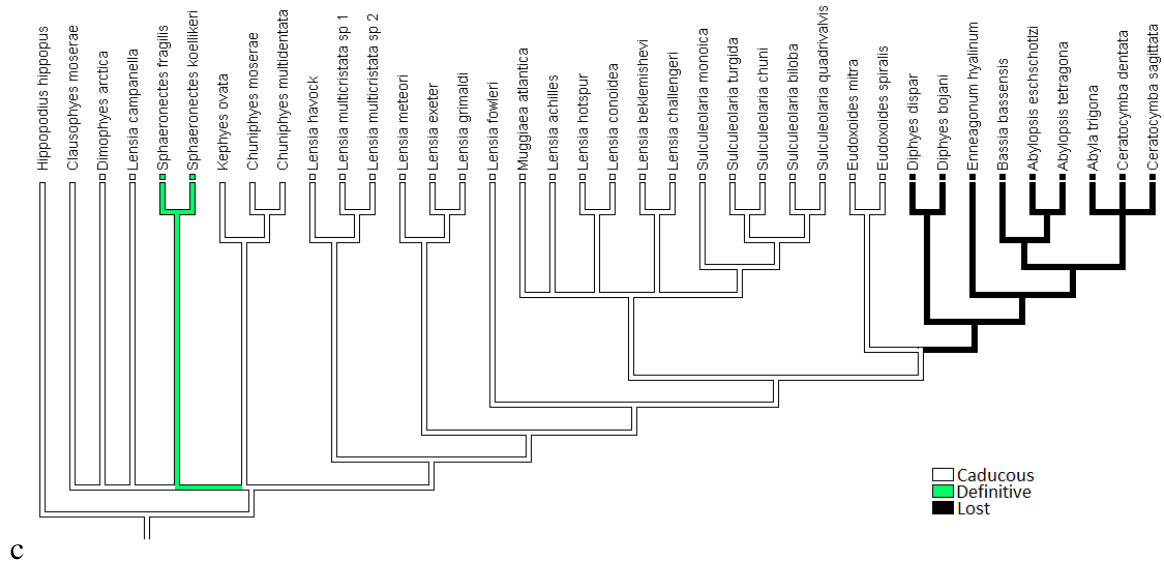


Fig. 3. Consenso de los árboles ML y BY mostrando los valores de soporte mayores al 50% (Bootstrap / Probabilidades posteriores). Si no se muestran valores al lado izquierdo o derecho de la diagonal es porque los grupos no fueron recuperados por uno de los dos análisis. ♣ = Especies del género *Lensia*.

Optimización de caracteres

Los cladogramas presentados en la fig. 4 muestran los resultados de la optimización de los caracteres analizados.





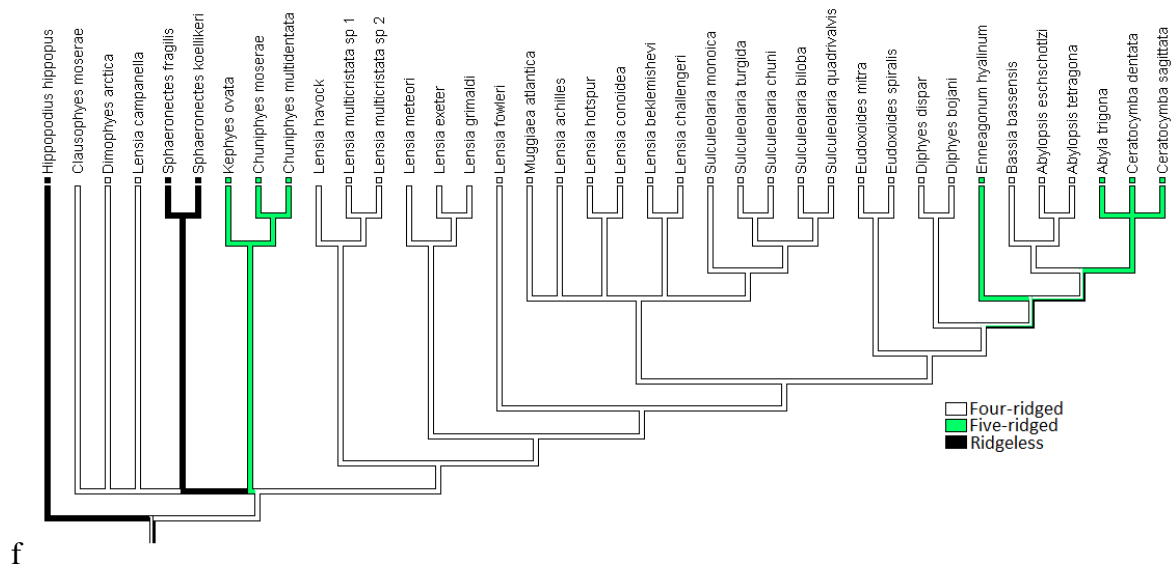


Fig. 4. (a) Condición de crestas y facetas del nectóforo anterior, AF = Apical facet. (b) Longitud del canal pedicular. (c) Naturaleza del nectóforo larval. (d) Taxa que han perdido la capacidad de desarrollar nectóforo posterior. (e) Distribución de los tipos de brácteas en Diphyomorpha. (f) Crestación de gonóforos.

DISCUSION

Nuestros resultados son congruentes con los presentados por Dunn et al. (2005), aunque dicho trabajo únicamente incluyó cinco especies de Diphyidae y una de Abylidae, contrastando con las 32 especies de ambas familias utilizadas en el presente estudio. En la interpretación de nuestros resultados no consideramos a Abylidae como una familia independiente, sino como parte de Diphyidae. De manera similar a los resultados de Dunn et al. (2005) se muestra a Clausophyidae parafilético, soportando también a *Kephyes ovata* como grupo hermano de *Chuniphyes* (representado por *Ch. moserae* y *Ch. multidentata*).

Nectóforos anteriores

Los nectóforos anteriores son la estructura mejor estudiada de la mayoría de las especies de Diphyidae, y es la única conocida para muchas de ellas. La crestación es una de las características más evidentes, aunque también lo son la naturaleza del hidroecio, el punto de inserción del canal pedicular y la forma del somatocisto. De acuerdo a nuestros resultados, existe un patrón filogenético en la condición de las crestas, siendo las crestas ausentes o indistintas la condición plesiomórfica a Diphyomorpha. Es probablemente una herencia del ancestro común con Prayomorpha, sin embargo, también es una condición que se ha adquirido como sinapomorfía en algunos grupos a partir de ancestros con crestas evidentes (e.g. género *Sulculeolaria*, *Lensia meteori*) (Fig. 4a).

La posición basal de *Lensia campanella* (Moser) (fig. 1c) resuelta por ambos análisis difícilmente puede ser sostenida de acuerdo a la evidencia morfológica. Esta especie comparte claras afinidades con Diphyidae sensu stricto como la naturaleza de sus nectóforos anterior y posterior, este último desprovisto de somatocisto, no obstante, no comparte similitud con la especie tipo del género *Lensia*. Si bien presentan cinco crestas rudimentarias, éstas no se unen en un punto común en el ápice, sino que se agregan en dos grupos de tres y dos crestas. El hidroecio y las lamelas de la placa basal se han reducido al grado de ser casi imperceptibles. Sus eudoxias no muestran características que permitan relacionarla directamente con otros dífidos mientras que su nectóforo posterior es similar al de *L. subtilis* (Chun), no incluida en el análisis. El nectóforo anterior presenta un canal pedicular corto, una condición aparentemente plesiomórfica. Un análisis de BLAST para las secuencia obtenida de COI, la aproxima en cerca del 80% a sifonóforos del orden Physonectae, como *Agalma elegans* Sars, *Athorybia rosacea* y *Marrus sp.*, así como a otros hidrozoarios no sifonóforos pero ciertamente no con calicóforos. La especie hermana, *L. cossack* Totton, ha sido secuenciada y ejemplares típicos de *L. campanella* deberán ser secuenciados para corroborar la secuencia de Ortman et al. (2010), y descartar la posibilidad de que se trate de un pseudogen. Por el momento, su posición exacta dentro del árbol filogenético de Diphyomorpha no puede ser dilucidada.

La posición de *Dimophyes arctica* (Chun) varió en los distintos análisis (fig. 2a y 2b). En el análisis BY (fig. 2a) se posiciona en un punto basal, promoviendo a la familia Diphyidae como polifilética, mientras que en el análisis de ML se posiciona como grupo hermano del género *Sphaeronectes* Huxley pero con un valor de soporte bajo (34%, fig. 2b). El primer escenario dejaría abiertas dos posibilidades en relación a su taxonomía, reducir a las familias Clausophyidae y Sphaeronectidae a subfamilias dentro de Diphyidae o bien, separar a *Dimophyes* Moser en una familia independiente como lo había propuesto Moser (1925) aunque con una diagnosis distinta. No obstante, es difícil sostener morfológicamente los resultados del análisis BY. La ausencia de un somatocisto en el nectóforo posterior de este género y la presencia de éste tanto en *Clausophyes* y el clado *Kephyes* + *Chuniphyes* hace suponer que la condición plesiomórfica es la presencia de esta estructura en todos los nectóforos, quizás como una herencia de un ancestro similar a un práyido. Se desconoce el desarrollo larval tanto de *Dimophyes* como de todas las especies de Clausophyidae. Pugh (2006) propuso que el nectóforo posterior de los clausófidos podría ser homólogo al nectóforo anterior de los dífidos, mientras que el nectóforo anterior podría ser el nectóforo larval

retenido. Se reconoce la necesidad de llevar a cabo estudios de desarrollo de estas especies, sin embargo, resulta poco probable el escenario propuesto por Pugh (2006). Parece más probable que Clausophyidae haya retenido las características primitivas hoy vistas en Prayidae, mientras que *Dimophyes* proviene del ancestro común con Diphyidae una vez que éste hubiera perdido la capacidad de desarrollar somatocisto en el nectóforo posterior. El escenario mostrado por el análisis de ML (fig. 2b), donde *Dimophyes* se presenta como el grupo hermano de *Sphaeronectes*, sugiere que este último género evolucionó por neotenia a partir de un ancestro dífido. Sea cual sea el escenario más plausible, resulta evidente la necesidad de reintroducir la subfamilia Dimophyinae Moser a la nomenclatura taxonómica para incluir a *D. arctica*. La similitud en la estructura del nectóforo anterior y las brácteas entre *D. arctica*, *Muggiaea bargmannae* Totton y *Lensia asymmetrica* Stepanjants, sugiere una afinidad taxonómica, aunque son necesarios datos moleculares para profundizar en el estudio de este conjunto de especies. De ambas especies se distingue por su placa basal no dividida.

De manera congruente con los resultados de Dunn et al. (2005), nuestros datos muestran a la familia Clausophyidae Totton como parafilética (fig. 3). Al género *Chuniphyes* Lens y van Riemsdijk corresponden especies crestadas, pero su crestación parece no ser homóloga a la de Diphyidae sensu stricto, y que proviene de un ancestro sin crestas, similar a *Kephyes ovata* (Keferstein y Ehlers), su grupo hermano. Esta característica también es mantenida en el género *Clausophyes* Lens y van Riemsdijk mientras que la posición filogenética y el origen de las crestas en los géneros *Heteropyramis* Moser y *Crystallophyes* Moser se desconoce. Mapstone (2009) creó la subfamilia Kephyinae, y reintrodujo Chuniphyinae Moser, Clausophyinae Bigelow y Heteropyramidinae Moser, sistema que adoptamos como válido.

De acuerdo con el resultado del consenso de los árboles ML y BY (fig. 3), el primer clado en separarse del resto de Diphyidae es el grupo de siete crestas, representado en el estudio por *Lensia havock* Totton (fig. 1a) y por dos especies crípticas de *Lensia multicristata* (Moser) (fig. 3). Al segundo clado pertenecen las especies multicrestadas *L. exeter* Totton y *L. grimaldi* (Leloup), así como la especie sin crestas *L. meteori* (Leloup) (fig. 3). Si la condición heptacrestada o multicrestada es plesiomórfica está aún por resolverse, ya que evidencias morfológicas (e.g. forma de placas basales, hidroecio, ausencia de cresta velar) sugieren que algunas especies multicrestadas podrían estar más relacionadas con *L. multicristata*. Leloup (1934) consideró variantes de esta última especie a un conjunto de formas después reconocidas como independientes (Totton 1941). La posición de una especie adicional, *L.*

quadriculata Pagès et al. (fig. 1b), podría ayudar a resolver esta interrogante, ya que de acuerdo con nuestras observaciones morfológicas, las especies multicrestadas caen dentro de tres grupos, dos de ellos representados en nuestro material: especies con cresta velar (*L. lelouveteau* Totton, *L. grimaldi* y *L. exeter*), y especies sin cresta velar (*L. ajax* Totton, *L. hostile* Totton, *L. quadriculata*). El tercer grupo es exclusivo para *L. zenkevitchi* Margulis, la cual carece de cresta velar, pero presenta un arreglo en los canales radiales muy particular aunque no podemos concluir nada sobre su posición dentro de Diphyidae (el arreglo de los canales laterales radiales es un argumento para rechazar la propuesta de Mapstone (2009) de sinonimizar a *L. zenkevitchi* con *L. hostile*, el espécimen ilustrado por ella en su libro parece pertenecer a la primera especie y no a la segunda como argumenta). La posición de la especie sin crestas *L. meteori* es justificada dentro de las especies multicrestadas con cresta velar dada la existencia de *L. lelouveteau* como forma intermedia (i.e., forma del somatocisto, hidroecio vertical), pero será necesario incluir a esta especie en un futuro análisis para detallar en las relaciones de este clado en particular.

La vasta mayoría de Diphyidae y la totalidad de Abylidae caen dentro de un gran clado al que denominamos Pentacrestata (fig. 3), dada su aparente sinapomorfía: reducción del número de crestas a sólo cinco: una superior, dos laterales y dos inferiores. Esta característica fue perdida en dos eventos independientes, el género *Sulculeolaria* y el complejo Abylidae. Dentro de Pentacrestata, el BY resuelve dos grupos bien soportados a los que de acuerdo a la naturaleza de su nectóforo posterior denominamos Truncata y Apophysata (fig. 3). El resultado del análisis de ML para el COI se colapsa en un peine de cuatro ramas, Truncata, Apophysata, *Lensia fowleri* (Bigelow) y *Chelophyes appendiculata* Eschscholtz, estas dos últimas recuperadas dentro de Apophysata como un grupo monofilético con un valor bajo de soporte en ML (30%, no mostrado), aunque con un valor de probabilidades posteriores de 100 en el BY (no mostrado). No obstante, este resultado no tiene sentido biológico. Dunn et al. (2005) encontraron a *Chelophyes* Totton como grupo hermano del conjunto *Diphyes dispar* + *Abylopsis tetragona* (clado ahora nombrado Apophysata), no existe semejanza alguna entre *C. appendiculata* y *L. fowleri*. Consideramos que este resultado se debe a una posible condición plesiomórfica de *L. fowleri* y a la posición basal de *C. appendiculata* respecto a Apophysata. La remoción de una de las dos especies presenta escenarios más congruentes con la evidencia morfológica. Si se remueve a *L. fowleri* del análisis se recuperan resultados similares a los de Dunn et al. (2005) en colocar a *Chelophyes* basal a Apophysata, con la novedad de que *Eudoxoides* (no incluido por los últimos autores) se posiciona en un clado

independiente más cercano a *Diphyes*. Si se remueve a *C. appendiculata* tenemos a *L. fowleri* como especie basal para todo el conjunto Pentacrestata (fig. 3), lo que contribuye a entender el problemático escenario de *Lensia* como una diagnosis basada en plesiomorfías.

Truncata tiene como sinapomorfía un nectóforo posterior con ápice trunco, aunque las especies del género *Muggiaea* Busch no desarrollan dicha estructura. Además de *Muggiaea* se incluyen dos géneros más, *Sulculeolaria* de Blainville y *Lensia*. El género *Sulculeolaria* agrupa cinco especies de dífidos sin crestas que presentan comisuras en los canales radiales que unen los canales laterales y el superior; sus gonóforos maduran en el sifosoma; sus brácteas son estructuras foliáceas; y llevan a cabo la renovación de sus nectóforos a lo largo de su ciclo de vida. La mayoría de estas características son propias de los miembros de la familia Prayidae, lo que llevó a Totton (1932) a considerar que se trataban de uno de los grupos más primitivos de la familia Diphyidae, por lo cual creó la subfamilia Sulculeolarinae (Totton 1954). Los análisis morfológicos (datos personales) y moleculares soportan la monofilia de la subfamilia Sulculeolarinae, sin embargo, no apoyan la posición basal propuesta por Totton sino que es agrupada como grupo hermano de algunas especies del género *Lensia*.

El género *Muggiaea* comprende a las especies *M. kochi* (Will), *M. delsmanni* Totton y *M. atlantica* Cunningham, pero sólo esta última fue representada en este trabajo. Dada la estrecha similitud entre *M. kochi* con *M. atlantica*, su relación filogenética es clara, mas aún cuando las eudoxias de ambas especies son indistinguibles. La inclusión de *M. delsmanni* en subsecuentes análisis ayudaría a resolver su posición dentro de Diphyidae dada su forma intermedia entre *Muggiaea* y *Lensia*. La especie *M. cantabrica* no está bien establecida, aunque autores recientes parecen no considerarla en las revisiones (e.g. Mapstone 2009) tratándola como un posible sinónimo de *M. atlantica*. *M. bargmannae* Totton no es considerada como una especie de *Muggiaea* y su posición dentro del género nunca tuvo sentido, por el contrario muestra afinidades con la especie *L. asymmetrica* Stepanjants y *Dimophyes arctica*.

El género *Lensia* Totton es una categoría taxonómica creada para especies de cinco crestas, siendo *L. subtiloides* (Lens y van Riemsdijk) la especie tipo, y aunque no fue incluida en el análisis, evidencias morfológicas sugieren que esta especie está estrechamente relacionada con *L. achilles* Totton. Las similitudes entre ambas especies pueden encontrarse en la naturaleza del hidroecio del nectóforo anterior, y en dos aspectos del nectóforo posterior: su

canal pedicular es directo y sus alas hidroeciales son simétricas y desarrollan una lengüeta apical en el ala izquierda.

La naturaleza del canal pedicular en el nectóforo posterior divide a las especies pentacrestadas de este género (excepto *L. fowleri*, ver arriba) en dos grupos relacionados pero a su vez independientes: las especies con un canal pedicular directo (i.e. las verdaderas especies de *Lensia*) y aquellas cuyo canal pedicular es disyunto (i.e. un posible género independiente) conformado por las especies *L. hotspur*, *L. conoidea*, *L. challenger* y *L. beklemishevi*. Los resultados de los análisis de ML y BY presentan un conflicto respecto a las relaciones inter- e intragenéricas. En los análisis de ML se ubica a este grupo (*L. achilles*, *L. conoidea*, *L. hotspur*, *L. challenger*, *L. beklemishevi*) como monofilético, pero con un bajo valor de soporte, siendo hermano de Sulculeolariinae (fig. 2b). Esta topografía concuerda con los resultados de Dunn et al. (2005). No obstante, el resultado de BY entra en conflicto con estos resultados, pues con altos valores de soporte colocan a *Lensia* parafilético (fig. 2a). *L. achilles* es resuelto como el grupo hermano de *Muggiaea atlantica* con un valor de 100%, y este clado es a su vez el grupo hermano de *L. conoidea* + *L. hotspur* con un 86% de soporte. El grupo monofilético *L. challenger* + *L. beklemishevi* es recuperado como grupo hermano de *Sulculeolaria* con un bajo valor de soporte (51%). Esta diferencia en las topologías no permite resolver las relaciones entre estas cinco especies de *Lensia* pero indica que se trata de especies cercanamente relacionadas. Ambos análisis coinciden en que *L. conoidea* es cercana a *L. hotspur* como lo es *L. beklemishevi* a *L. challenger*, mientras que *L. achilles* es un linaje lejano a ellas.

Nuestros análisis rechazan la afinidad de *Lensia fowleri* y las especies de más de cinco crestas con el género *Lensia* como lo definió Totton (1932, 1954, 1965a). Existe una latente necesidad de crear nuevos géneros dentro de las especies pentacrestadas de *Lensia*, pero dada la exclusión de *L. subtiloides* (Lens y van Riemsdijk), la especie tipo, no es posible tomar una decisión irrevocable. Por el momento, lo más prudente es mantener *Lensia* como parafilética para evitar inestabilidad taxonómica innecesaria, pues finalmente estamos tratando con especies relacionadas. Por el contrario, la posición basal de *Lensia fowleri*, así como las especies basales de siete o más crestas, justifican la creación de nuevos géneros, por lo que se está trabajando en un nuevo arreglo taxonómico que incluya las diagnósticos que permitan tener un escenario más adecuado de Diphyidae (Villanueva et al. in prep.).

El género *Lensia* fue establecido para pequeños dífidos cuya característica aparentemente universal era el curso ligeramente sigmoide de los canales radiales laterales en el nectóforo posterior (Totton 1965a), aunque el mismo Totton reconoció que se desconocía, como hasta la fecha, la presencia de dicha estructura en varias especies. Previendo el fenómeno de monofismo observado en otros géneros Totton (1954) procedió a incluir especies en *Lensia* por similitud del nectóforo anterior con especies cuyo nectóforo posterior era conocido. Subsecuentes autores hicieron algo similar. La posición basal de *L. multicristata* respecto a toda la familia Diphyidae, sugiere que la condición sigmoide de los canales laterales es una simplesiomorfia que se heredó a Diphyidae y que fue perdida en ciertos linajes, por lo tanto, no es un carácter válido para definir un género evidentemente polifilético.

Totton (1965a) sugería que un posible género podría ser creado para incluir tres especies de *Lensia* (*L. fowleri*, *L. hardy* Totton y *L. challengeri*). Posteriormente, Margulis y Alekseev (1985) apoyaron la relación entre *L. fowleri* y *L. challengeri* pero pusieron en duda la afinidad de *L. hardy* la cual relacionaron con *L. minuta* Patrítii. Nuestros análisis demuestran que no existe afinidad directa entre dos de las tres especies, posicionando a *L. fowleri* como una especie basal y a *L. challengeri* con afinidad a *L. beklemishevi* dentro del grupo compuesto por *L. achilles*, *L. conoidea* y *L. hotspur*. La naturaleza de las eudoxias de estas cinco especies es más similar que la encontrada en *L. fowleri* y *L. hardy*, esta última no analizada en el presente estudio, pero cuyo nectóforo posterior, descrito independientemente por tres autores (Daniel 1974; Palma 1974; Pagès y Gili 1992), difiere de todos los dífidos donde esta estructura es conocida, en especial por la ausencia de alas hidroeciales, aunque su región apical muestra cierta similitud con *L. achilles* y *L. subtiloides*. La descripción de las eudoxias de *L. hardy* (Daniel 1985), lejos de mostrar un escenario más claro oscurecen las relaciones de esta especie, pues las brácteas recuerdan a las de *Chelophyes* (ver Daniel 1985) y en la descripción del gonóforo se mencionó la presencia de cinco crestas, condición atípica para la mayoría de los dífidos que presentan cuatro, y no reconocida en ningún miembro de Truncata. Revisión de material fresco y claramente referible a esta especie, así como material genético deberá ser utilizados para finalmente dar luz a las relaciones del género *Lensia* sensu stricto.

Apophysata está conformada por los géneros *Chelophyes*, *Eudoxoides* y *Diphyes*, tradicionalmente referidos a Diphyidae, y *Enneagonum* Quoy y Gaimard, *Bassia* Agassiz, *Abylopsis* Chun, *Abyla* Q. y G., y *Ceratocymba* Chun, que conforman la familia Abylidae. De manera congruente con Dunn et al. (2005) (fig. 3), Abylidae fue anidada en Diphyidae, lo que resulta en una condición parafilética de esta última. En el trabajo citado, los autores pudieron

haber tomado una decisión respecto a la validez de la familia Abylidae, pero no lo hicieron. Existen dos alternativas, mantener en uso la familia Abylidae y deshacer Diphyidae en una serie de pequeñas familias para garantizar grupos monofiléticos, o reducir a nivel de subfamilia a los abílidos. Nosotros optaremos por la segunda opción. Totton (1954) dividió la familia Abylidae en dos subfamilias: Abylinae y Abylopsinae. Los resultados tanto de ML como de BY aceptan la validez de Abylinae con los géneros *Abyla* y *Ceratocymba*, pero excluyen a *Enneagonum hyalinum* Q. y G. de Abylopsinae, haciendo necesaria la creación de una subfamilia monotípica, Enneagoniinae subfam. nov., cuya diagnosis será la misma que la del género *Enneagonum*. La familia Abylopsinae quedará limitada a los géneros *Bassia* L. Agassiz y *Abylopsis* Chun. *Ceratocymba* es rescatado como parafilético anidando a *Abyla*, pero la rama larga mostrada en los filogramas para *A. trigona*, el soporte morfológico de ambos géneros y la no inclusión de una especie de *Ceratocymba* y dos de *Abyla* no nos permiten tomar decisiones taxonómicas en este momento.

El género *Chelophyes*, forma un clado independiente, el más basal de Apophysata. Se caracteriza por la reducción de la cresta superior a una pequeña porción en el margen del ostio. Este clado es jerarquizado como subfamilia, y se le asigna el nombre de Chelopyiinae subfam. nov. El género *Eudoxoides* Huxley, también conformado por dos especies, es recuperado como monofilético, y la creación de otra subfamilia es necesaria, la cual se nombra Eudoxoidiinae subfam. nov. Ortman et al. (2010), mostraron que las distancias intragenéricas de *Eudoxoides* son más grandes que en otros dífidos, y dadas las marcadas diferencias entre *E. mitra* (Huxley) y *E. spiralis* (Bigelow) tanto en el nectóforo anterior como en la eudoxia podrían garantizar la separación en dos géneros independientes, siendo *E. spiralis* la especie sobre la cual un nuevo género debería ser creado, sin embargo, preferimos no introducir un nombre adicional por el momento.

Finalmente, el género *Diphyes* Cuvier estuvo representado en nuestro análisis por dos de las cuatro especies reconocidas. La subfamilia Diphyinae Moser incluirá únicamente a éste género y excluirá a *Lensia*, *Muggiaea*, *Chelophyes*, *Eudoxoides* y *Dimophyes*, tradicionalmente clasificados en ella. Las dos especies no muestreadas, *D. antarctica* Moser y *D. chamissonis* Huxley, comparten con las especies analizadas un buen número de sinapomorfías morfológicas que las mantienen dentro de este antiguo género. *D. antarctica*, sin embargo, presenta la placa basal dividida como en otros dífidos (e.g. *Chelophyes*, *Eudoxoides*, *Lensia*, *Muggiaea*) y no presenta una campana asexual, sino que la estructura homóloga aún funciona como gonóforo. Es por esta razón que se ha considerado a esta

especie como la forma más primitiva del grupo (Totton 1965a) pero estudios moleculares ayudarían a reafirmar esta propuesta. El hecho de que las placas basales de los géneros tradicionalmente referidos a Abylidae tampoco estén divididas deja abierta la posibilidad a que *D. antarctica* sea el grupo hermano de un clado comprendido por las otras especies de *Diphyes* más Abylidae y por lo tanto requeriría la erección de un nuevo género y una subfamilia independiente.

Pérdida o retención del nectóforo larval

De acuerdo a nuestros resultados (fig. 4c), el escenario evolutivo sugiere que el nectóforo larval es caduco en origen. La formación de esta estructura previa al desarrollo de los nectóforos característicos de la fase poligástrica ha sido observada en los géneros *Chelophyes* (Lochmann 1914), *Muggiaea* (Russell 1938; Carré 1972; Carré y Carré 1991), *Lensia* (Carré 1967) y *Sulculeolaria* (Carré 1979). De manera contrastante, el primer nectóforo desarrollado en *Abylopsis tetragona* es retenido como el nectóforo anterior de la colonia sexualmente madura (Carré 1967), lo que llevó a concluir que el nectóforo larval es retenido durante la fase adulta como sucede en la familia Sphaeronectidae, grupo hermano de Diphyidae (Dunn et al. 2005).

La permanencia del primer nectóforo desarrollado como nectóforo definitivo en *Abylopsis tetragona* no necesariamente demuestra que el nectóforo larval es retenido. De hecho, es más probable que el nectóforo larval sea un elemento suprimido en el ciclo de vida de los abílidos, y por extensión, en *Diphyes*, el cual se ha demostrado en repetidas ocasiones que está estrechamente relacionado con Abylidae (Dunn et al. 2005; Ortman et al. 2010; presente trabajo). La idea de que *Diphyes* omita la formación de un nectóforo larval puede ser apoyada si consideramos que Totton (1965) sugirió que, en el caso de este género, el nectóforo definitivo (nectóforo anterior) era el nectóforo larval, lo cual puede traducirse como “el primer nectóforo en ser desarrollado”.

La homología entre los nectóforos larvales de *Sphaeronectes*, *Truncata* y *Chelophyes* con los nectóforos anteriores de *Abylopsis* y *Diphyes*, mencionada por Carré (1967) y Totton (1965a), no puede sostenerse. Una explicación más parsimoniosa nos habla de una homología evidente entre el nectóforo anterior del género *Diphyes* con el del resto de los dífidos no abílidos si se hace notar la disposición de crestas y placas basales, ausentes en los nectóforos larvales. Los nectóforos anteriores de los abílinos presentan también crestación, aunque la estructura es más compleja por la aparición nuevas crestas y facetas y la supresión de la cresta superior

(excepto en *Enneagonum hyalinum*). Por otro lado, los nectóforos posteriores de *Diphyes* y los abílidos muestran también marcadas homologías (e.g. dientes ostiales, hidroecio). En base a estos elementos se concluye que los nectóforos anteriores de *Diphyes* y las especies de Abylidae son homólogos al nectóforo anterior de las otras especies de la familia como es evidente cuando analizamos las características estructurales como crestas, hidroecio y somatocisto. Por tanto, aunque un análisis de expresión de genes sería necesario para corroborarlo, completar el ciclo de vida de representantes de los géneros *Diphyes* y *Enneagonum* podría ayudarnos a resolver esta incógnita.

Monofismo: Convergencia evolutiva

Si bien se desconoce la condición primitiva del suborden Calycophorae, esta debió tener una similitud con Prayidae o con Clausophyidae. Dada la similitud entre los distintos nectóforos de Prayidae y de un grupo ajeno, Physonectae, es posible que esta homogeneidad fuera la condición plesiomórfica y por lo tanto, es más fácil imaginar un ancestro del tipo prayino con lo que Haeckel (1888) llamaría polifismo. La transición a un número reducido de nectóforos, como es visto en Calycophorae (excepto los géneros *Stephanophyes* Chun, *Hippopodius* y *Vogtia*), nos sugiere que la diferenciación entre un nectóforo anterior y uno posterior fue un paso posterior, dado en el ancestro Diphyomorpha (fig. 4d). La condición vista en Clausophyidae es que sus dos nectóforos están parcialmente opuestos, parcialmente superimpuestos, mientras que en Diphyidae (incluyendo Abylidae) esta condición es totalmente superimpuestos. No obstante, el fenómeno del monofismo ha ocurrido en escenarios independientes, aunque alguna vez fue considerado de carácter diagnóstico (e.g. Haeckel 1888, Bigelow 1911). Así, los géneros *Muggiaea*, *Enneagonum*, *Heteropyramis*, ciertos clados de *Lensia* sensu lato y las especies *Eudoxoides spiralis* y *Diphyes chamissonis* perdieron la capacidad de generar nectóforos posteriores. Las implicaciones ecológicas o biomecánicas de esta transición es un campo abierto a la investigación, pero el hecho de que la pérdida del nectóforo posterior proviene de eventos independientes y a partir de ancestros dífidos parece ser el escenario más sólido (ver fig. 4d).

Brácteas y gonóforos

Los cornidios de los calicóforos pueden o no ser liberados como eudoxias. El elemento protector, la bráctea, es desarrollado en casi todas las especies, salvo en los géneros *Gymnopraila* Haddock et al., *Hippopodius*, *Vogtia* y posiblemente en *Clausophyes*. Esta estructura varía de forma, y en Diphyomorpha la forma más extendida, aunque con un amplio

grado de variación, es la cónica (fig. 4e), vista en los géneros *Heteropyramis*, *Sphaeronectes*, *Dimophyes*, *Gilia*, *Lensia* (sensu lato), *Muggiaea*, *Chelophyes*, *Eudoxoides* y *Diphyes*.

Los miembros tradicionalmente referidos a Abylidae han experimentado cierta variación en esta estructura, formando estructuras prismáticas características de cada género (fig. 4e). De acuerdo a nuestros resultados, la forma más básica y primitiva es la eudoxia tipo ‘cuboides’, característica de *Enneagonum*. Esta estructura pudo haber dado origen por un lado a las forma ‘aglaisma’ del género *Abylopsis* y ‘sphenoides’ del género *Bassia* y por otro al ancestro de las formas ‘cymba’ y ‘amphiroa’ de *Ceratocymba* y *Abyla* respectivamente. La forma cuboides se caracteriza por la ausencia de un canal descendente, encontrado en las otras formas. En los géneros *Bassia* y *Abylopsis*, este canal descendente se mantiene como una extensión delgada del filocisto, mientras que en *Ceratocymba* y *Abyla* muestra un engrosamiento evidente. Por el contrario, los brazos laterales robustos en *Enneagonum* se mantienen así en *Abylopsis*, se pierden totalmente en *Bassia*, y quedan como proyecciones delgadas en *Ceratocymba* y *Abyla*. El divertículo apical, presente en la forma ancestral mantenida por *Enneagonum* encuentra su máxima exageración en *Bassia*, representando casi la totalidad del filocisto, mientras que se mantiene mínima en *Abylopsis* y se pierden en los géneros *Ceratocymba* y *Abyla*. El aumento o reducción de facetas es parcialmente mostrado por Totton (1932) y descrito a detalle por Sears (1953) y no será mencionado en este trabajo.

El género *Sulculeolaria* ha experimentado la formación de brácteas foliáceas (fig. 4e), que en algunos casos pueden presentar cierto grosor de mesoglea que permite la flotabilidad. De cualquier manera, la naturaleza rudimentaria de sus brácteas es muy particular y recuerda a las brácteas inmaduras de otras especies de dífidos. El filocisto es apenas perceptible y en sus márgenes muestras algunas dentaciones que de acuerdo con Carré (1979) tienen un número constante dependiendo de la especie.

Los gonóforos en Diphyidae son estructuras difíciles de identificar a nivel especie, aunque en Abylidae son característicos de cada especie. Si bien la característica más extendida es la presencia de cuatro crestas longitudinales, el género *Gilia* y los géneros *Enneagonum*, *Abyla* y *Ceratocymba* muestran cinco (fig. 4f), en los últimos tres se extienden a manera de dientes ostiales. La presencia de una apófisis como en el nectóforo posterior es vista también en los gonóforos de Apophysata, aunque de acuerdo con Daniel (1985) esta apófisis también está presente en *Lensia hardy*.

El género *Diphyes* es único en presentar en sus eudoxias un tipo de zooide del tipo medusa que no tiene una función reproductiva, y se le conoce como campana natatoria o nectóforo asexual. Está presente en tres de las cuatro especies, y sólo está ausente en *D. antarctica*, que como fue mencionado anteriormente, se considera la especie más primitiva del género (Totton 1965a).

CONCLUSIÓN

Se reconoce a la familia Diphyidae como monofilética una vez que reducimos a subfamilias a los géneros de la familia Abylidae que deberá desaparecer de los sistemas taxonómicos actuales (figs. 2 y 3). La incertidumbre en cuanto a las interrelaciones evolutivas de algunos linajes (e.g., *Dimophyes* Moser) tal vez pudiera ser resuelta con la inclusión de un número mayor de caracteres moleculares. El género *Lensia* Totton es probado polifilético (fig. 3) y se han reconocido cuatro linajes independientes, los cuales podrían conformar un número mayor de géneros una vez que sus características diagnósticas sean definidas. Existen aún enormes lagunas sobre el conocimiento de los dífidos, pero los datos que se han generado nos permiten tener un mejor conocimiento de las relaciones entre los principales grupos de los mismos. La generación de secuencias de los géneros *Gilia*, *Heteropyramis* y *Crystallophyes* nos permitirán tener un mejor escenario de Diphyomorpha, y el conocimiento del desarrollo embrionario y la fase reproductiva de ciertas especies clave perfeccionarán nuestro entendimiento de cómo se han dado los cambios evolutivos en ciertos aspectos fundamentales de la biología de estos organismos. El interés naciente sobre estos organismos, y las herramientas que nos permiten recolectar vivos organismos de aguas abiertas y profundas promete dar respuesta a varias interrogantes que se han acumulado desde los tiempos de Totton. La exploración del Océano Índico, y un mayor esfuerzo taxonómico en los océanos polares y tropicales nos permitirán determinar la validez de ciertas especies dudosas, la mayoría de ellas atribuidas al género *Lensia*. Finalmente, estudios genéticos de poblaciones, nos permitirán determinar los límites entre especies y detectar especies crípticas como parece ser el caso de los complejos *L. campanella-L. cossack*, *L. hotspur-tottoni*, *L. multicristata* y *L. beklemishevi* (esta última, habiendo sido oscurecida por *L. challengerii* desde su descripción).

Agradecimientos

Se agradece al laboratorio de Código de Barras de El Colegio de la Frontera Sur, campus Chetumal, quienes por medio del proyecto Bold Systems nos proveyeron de las primeras secuencias de COI. Agradecemos también a la Dra. Bertha Lavaniegos (CICESE) y al Dr. Jaime Gómez-Gutiérrez (CICIMAR) por habernos permitido separar material de las

colecciones a su cargo. Finalmente, se agradece al Dr. Eduardo Suárez-Morales, al Dr. Mario Favila y a la Dra. Carla Gutiérrez por sus comentarios para mejorar este documento. AIRV fue apoyado por una beca del gobierno mexicano (CONACYT, número de beca: 58627) y el Comité Académico de Posgrado del Instituto de Ecología, A.C.

REFERENCIAS

- Alekseev D.O. 1984. New species and subspecies of the siphonophore genus *Lensia* (Calycophorae). *Zoologicheskii Zhurnal*, 63:965-970 (en ruso).
- Alvariño, A. y J. M. Wojtan. 1984. Three new species of *Lensia* and description of the eudoxia stages of *Lensia reticulata* and *Lensia lelouveteau* (Calycophorae: Siphonophorae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 97(1):49-59.
- Bigelow, H. B. 1911. Biscayan plankton collected during a cruise of H.M.S. "Reserch"1900. XIII. The Siphonophora. *Trans. Linnean Soc. London. ser. 2.* 10:337-358.
- Bigelow, H. B. y M. Sears. 1937. Siphonophorae. *Report of the Danish Oceanographic Expedition to the Mediterranean. II. (Biology). H.2,* 1-144.
- Carré, C. 1967. Le développement larvaire d'*Abylopsis tetragona* Otto 1823 (Siphonophore, Calycophore, Abylidae). *Cahiers de Biologie Marine*, **8**: 185-193.
- Carré, C. 1979. Sur le genre *Sulculeolaria* Blainville, 1834 (Siphonophora, Calycophorae, Diphyidae). *Ann. Inst. Océanogr.*, 55 (1):27-48.
- Carré, C. y D. Carré. 1991 A complete life cycle of the calycophoran siphonophore *Muggiaea kochi* (Will) in the laboratory, under different temperature conditions: ecological implications. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, **334**: 27-32.
- Carré, D. 1967. Etude du développement larvaire de deux Siphonophores: *Lensia conoidea* (Calycophore) et *Forskalia edwardsi* (Physonecte). *Cahiers de Biologie Marine*, **8**: 233-251.
- Carré, D. 1972. Etude du développement des cnidocystes dans le gastrozoïde de *Muggiaea kochi* (Will, 1844) (Siphonophore calycophore). *C. R. Heb. Seanc. Acad. Sci. Paris*, 275: 1263–1266.
- Daniel, A. y R. Daniel. 1963a. On a new species of *Lensia* from the Bay of Bengal. *Annals and Magazine of Natural History*, Ser. 13 5(58): 1962, 621-623.
- Daniel, A. y R. Daniel. 1963b. *Lensia gnanamuthui* a new siphonophore from the Madras plankton. *Journal of the Bombay Natural History Society*, 60(3): 751-753.
- Daniel, R. 1970. Some new species of Siphonophora (Coelenterata) from the Indian Ocean. *Journal of the Zoological Society of India*, 22(1 and 2): 147-156.
- Daniel, R. 1974. Siphonophora from the Indian Ocean. *Memoirs of the Zoological Survey of India*. 15(4):1-242.
- Daniel, R. 1985. Coelenterata: Hydrozoa Siphonophora. *The fauna of India and adjacent countries*, Zoological Survey of India, 440 pp.
- Dunn, C. W., P. R. Pugh y S. H. D. Haddock. 2005. Molecular phylogeny of the Siphonophora (Cnidaria), with implications for the evolutions of functional specialization. *Systematic Biology*, 54, 916-935.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz y R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 3: 294-299.
- Haeckel, E. 1888. Report on the Siphonophorae collected by HMS Challenger during the years 1873-1876.

- Report on the Scientific Results of the voyage of H.M.S. Challenger. Zoology*, 28: 1-380.
- Larkin, M. A., G. Blackshields, N. P. Brown, R. Chenna, P. A. McGettigan, H. McWilliam, F. Valentin, I. M. Wallace, A. Wilm, R. Lopez, J. D. Thompson, T. J. Gibson & D. G. Higgins. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23, 2947-2948.
- Leloup, E. 1933. Siphonophores calycophorides provenant des campagnes du Prince Albert 1er de Monaco. *Résult. Camp. Sci. Monaco*, Fasc. 87, 1-67.
- Leloup, E. 1934. Siphonophores calycophorides de l'océan Atlantique tropical et austral. *Bulletin du Musée Royale d'Histoire Naturelle Belgique* 10: 1-87.
- Lochmann, L. 1914. Zur Entwicklungsgeschichte der Siphonophoren. *Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie*, 108(2): 258-289.
- Mackie, G.O., P.R. Pugh y J.E. Purcell. 1987. Siphonophore biology. *Advances in Marine Biology* 24: 97-262.
- Maddison, W. y D. Maddison. 2004. Mesquite: A modular system for evolutionary analysis. Version 1.04. www.mesquiteproject.org.
- Mapstone, G.M. 2009. Siphonophora (Cnidaria, Hydrozoa) of Canadian Pacific Waters. NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canada. 302 pp. including 65 figs.
- Margulis, R. Ya. 1970. A new species *Lensia zenkevitchi* sp. n. (Siphonanthae, Calycophorae) from the Atlantic Ocean. *Zoologicheskii Zhurnal*, 49(1): 148-149 (en ruso).
- Margulis, R.Ya. y D. O. Alekseev. 1985. On the genus *Lensia* (Siphonophora, Calycophora). *Zoologicheskii Zhurnal*, 64: 5-15. (en ruso)
- Margulis, R. Ya. y D. O. Alekseev. 1986. *Lensia beklemishevi* sp. n. (Siphonophora, Calycophora) from the Indian Ocean. *Zoologicheskii Zhurnal*, 65(5): 789-791. (en ruso)
- Moser, F. 1925. Die Siphonophoren der Deutschen Südpolar Expedition, 1901-03. *Deutsche Südpolar Expedition*, 17 *Zoology* 9: 1-541.
- Nylander, J. A. A. 2002. MrModeltest v1.1b. Program distributed by the author. Department of Systematic Zoology, Uppsala University.
- Ortman, B. D., A. Bucklin, F. Pagès y M. Youngbluth. 2010. DNA barcoding of the Medusozoa using mtCOI. *Deep-Sea Resesarch*. II, 57:2148-2156
- Page, R. D. 1996. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comput. Appl. Biosci.* 12: 357-358.
- Pagès, F., P. Flood y M. Youngbluth. 2006. Gelatinous zooplankton net-collected in the Gulf of Maine and adjacent submarine canyons: new species, new family (Jeanbouilloniidae), taxonomic remarks and some parasites. *Scientia Marina* 70: 363-379.
- Pagès, F. y J.-M. Gili. 1992. Siphonophores (Cnidaria, Hydrozoa) of the Benguela Current (southeastern Atlantic). *Scientia Marina*, Barcelona 56 (Suppl. 1): 65-112.
- Palma, S. 1974. Contribución al estudio de los sifonóforos encontrados frente a la costa de Valparaíso. I. Taxonomía. *Investigaciones marinas*. 4(2): 17-88.
- Patrity, G. 1970. Note sur deux nouvelles espèces du genre *Lensia*, recueillies dans les eaux du large de Tulear (S.W. de L'Océan Indien, Madagascar). *Rec. Trav. Stn. Mar. Recueil des travaux de la station marine d'Edoume-Marseille*.
- Posada, D. 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1253-1256

- Pugh, P.R. 2006. Reclassification of the clausophyid siphonophore *Clausophyes ovate* into the genus *Kephyes* gen. nov. *Journal of Marine Biology Association of the United Kingdom*, 86:997-1004.
- Pugh, P. R. y F. Pagès. 1995. Is *Lensia reticulata* a diphyine species (Siphonophorae, Calycofophora, Diphyidae)? A redescription. *Scientia Marina*, 59: 181-192.
- Rengarajan, K. 1975. Distribution of siphonophores along the West coast of India and the Laccadive Sea. *Journal of the Marine Biological Association of India*, 17: 56-72.
- Ronquist, F. y J. P. Huelsenbeck. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19:1572-1574.
- Russell, F. S. 1938. On the development of *Muggiaea atlantica* Cunningham. *Journal of Marine Biology Association of the United Kingdom*, 22(2):441-446.
- Sears, M. 1953. Notes on siphonophores. 2. A revision of the Abylinae. *Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard Coll.* 109(1):1-119.
- Stamatakis, A. 2006. RAxML-VI-HPC: Maximum Likelihood-based Phylogenetic Analyses with Thousands of Taxa and Mixed Models. *Bioinformatics* 22:2688–2690.
- Stepanjants, S. D. 1967. Siphonophores of the seas of the USSR and the north western part of the Pacific Ocean. *Opredeliteli po Faune SSSR, Izdavemye Zoologicheskim Museum* 96: 216 pp (en ruso).
- Stepanjants, S. D. 1970. Siphonophora of the southern part of the Kurile-Kamchatka Trench and adjacent marine areas. *Trudy Instituta Okeanologii*, 86: 222-236 (en ruso).
- Stepanjants, S. D. 1973. Revision of the subfamily Galettinae (Diphyidae, Siphonophora). *Zoologicheskii Zhurnal*, 52(5): 649-658 (en ruso, resumen en inglés).
- Stepanjants, S. D. 1975. Species composition and distributional pattern of Siphonophora of the Caribbean, Gulf of Mexico and adjacent waters of the Atlantic. *Trudy Instituta Okeanologii* 100: 96-126 (en ruso).
- Stepanjants, S. D. 1977. Siphonophora of the central part of the Pacific Ocean. In: "Explorations of the Fauna of the Seas" XX (XXVIII) Marine Plankton. (Systematics and Faunistics), pp. 54-81 (en ruso).
- Totton, A. K. 1932. Siphonophora. Scientific reports. Great Barrier Reef Expedition, 1928-29 4: 317-374.
- Totton, A. K. 1941. New species of the Siphonophoran Genus *Lensia*, 1941. *Annals and Magazine of Natural History* (II), 8: 145-168.
- Totton, A. K. 1954. Siphonophora of the Indian Ocean together with systematics and biological notes on related specimens from other oceans. *Discovery Reports* 27: 1-162.
- Totton, A. K. 1965a. A Synopsis of the Siphonophora. London; Trustees of the British Museum (Natural History): 230 pp.
- Totton, A. K. 1965b. A new species of *Lensia* (Siphonophora: Diphyidae) from the coastal waters of Vancouver, B.C.; and its comparison with *Lensia achilles* Totton and another new species *Lensia cordata*. *Annals and Magazine of Natural History*, 8: 71-76.
- Zhang, J. y M. Lin. 1988. On a new species of deep-water Siphonophora, *Lensia multicristoides* sp. nov. from middle South China Sea. *Acta Oceanologica Sinica*, 7(1): 115-118.
- Zhang, J. y M. Lin. 2001. The siphonophores and its distribution in Southern Edge Waters of Canada Basin, Arctic Ocean. *Chinese Journal of Polar Research* 13(4): 253-263. (en chino).

Taxonomic status of the genus *Lensia* Totton (Siphonophora, Calyphorae, Diphyidae) with the proposal of new genera and a new species

Arturo I. Ruiz Villanueva¹ & Rebeca Gasca²

¹Instituto de Ecología, A.C., campus Xalapa

²El Colegio de la Frontera Sur, campus Chetumal

Abstract. Molecular and morphological data suggest the polyphyly of the genus *Lensia*, so a new taxonomic arrangement is proposed to accommodate 34 species formerly included in this genus. The evidence presented resulted in the creation of nine new genera and six new subfamilies of the Diphyidae. New records are also provided. *Lensia zenkevitchi* Margulis is reinstated as a valid species and *L. beklemishevi* Margulis & Alekseev is validated from the examination of specimens. The posterior nectophores and eudoxids are first described for *L. beklemishevi* and *L. challengerii*, and reexamined for *L. achilles* thus complementing the morphological knowledge of these species. Finally, a new species, *L. quadriangulata* sp. n. is described based on one specimen collected from the Caribbean Sea.

Introduction

The siphonophore genus *Lensia* was proposed by Totton (1932) to contain diphyids with pentagonal anterior nectophores (five-ridged species), but also introduced some confusion to the limits of the genus by including ridgeless and seven-ridged species to this new genus. Later on, Leloup (1933) added *L. grimaldi*, a multiridged species but reconsidered his position a year after to allocate *L. grimaldi* as a variety of *L. multicristata*. In 1941, Totton described several new species of *Lensia* and recognized *L. grimaldi* as a valid species, one of the five multiridged species and in 1954 included Leloup's *Galetta meteori* (Leloup, 1934) as a *Lensia* species based only on the similarity with *L. subtilis*. He considered a variety of the latter (*L. subtilis* var. *chuni* in 1965) as an intermediate form. Other authors have added more species to this genus *Lensia*, which is currently known to contain 47 nominal species and subspecies.

The genus *Lensia* had been recognized as a trashcan genus (Mackie et al. 1987) and partial attempts to solve this situation include Pugh & Pagès (1995) proposal of the genus *Gilia* and the subfamilia *Giliinae* to accommodate *Lensia reticulata* Totton when they found that this species shares intermediate characteristics of Diphyidae and Clausophyidae. A taxonomical rearrangement of this multifacetic group has not been proposed. Margulis & Alekseev (1985) made a division of the species of *Lensia* in four categories: (1) five-ridged species, (2) ridgeless species, (3) seven-ridged species, and (4) species with more than seven ridges.

Ortman et al. (2010) showed the first molecular evidence that separates *Lensia* in at least four lineages, but their study has not been supported by a strict phylogenetic analysis.

A recent molecular analysis (Villanueva et al. in prep.) of the Diphyomorpha revealed that *Lensia* is a polyphyletic taxon containing species representing at least five different lineages. Two additional lineages are also suspected for *L. subtilis* (Chun) and *L. asymmetrica* Stepanjants. Based on this new information and following taxonomic criteria, we propose here the creation of nine new genera and six subfamilies to improve the previous arrangement and to represent the phylogenetic structure of the family Diphyidae.

Material and methods

Specimens of *Lensia* from distinct geographic areas were made available to us by different institutions. This material includes samples from the California Current deposited in the Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada (CICESE) in Ensenada, Baja California Mexico, obtain from several cruises of the program IMECOCAL. Specimens from the Gulf of California were obtained from the Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) in La Paz, Baja California Sur, Mexico, collected during the CAPEGOLCA cruises. In addition, specimens from the Gulf of California, Gulf of Mexico and the Caribbean Sea were obtained from El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR) in Chetumal, Quintana Roo, Mexico. Additional material was collected during a cruise of NOAA's ship Gordon Gunter by MOCNESS trawls in April 2011 in the Caribbean Sea. Several samples were obtained by open water divers and a remotely operated vehicle (ROV) in an expedition of the Monterey Bay Aquarium Research Institute (MBARI) to the Gulf of California in February 2012.

The specimens were examined with the aid of optical microscopy to evaluate morphological characters. The arrangement of taxa is follow the results from phylogenetic analysis based on DNA sequences of the mitochondrial COI gene. Details of those analyses are presented on an independent publication (Villanueva et al. in prep.). The final phylogenetic tree, nonetheless, is presented in the figure 1. When molecular data were not available for key lineages we based our results on morphological evidence supported by homologous characters shared with some resolved clades. The morphological characters and their states were captured in a matrix assembled with the software package Mesquite version 2.75 (Maddison & Maddison 2004). The phylogenetic tree was used in order to optimize the evolutionary scenarios of characters and define plesiomorphic states, sinapomorphies and putative diagnostic features.

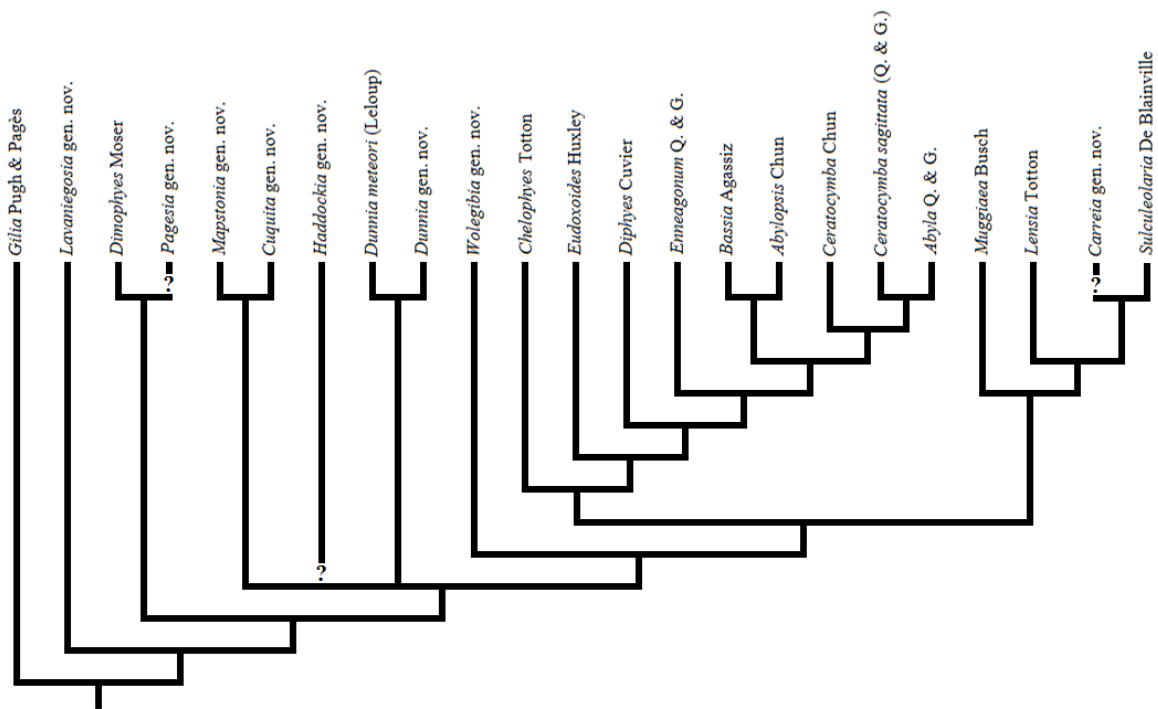


Fig. 1. Cladogram partially based on the phylogeny provided by Villanueva et al. (in prep.) but with presumed position of unsampled taxa. The new genera *Carreia*, *Pagesia* and *Haddockia* are marked with a question mark (?).

Results

From our molecular and morphological analysis of the material examined we propose a new structure of the taxonomic arrangement of the family Diphyidae. This taxon should be divided into 14 subfamilies of which 8 represent new, independent lineages. The current morphological characters, therefore, do not fit the diagnostic characters historically used to define Diphyidae subunits. Consequently, a taxonomic review and update for this family is performed.

Taxonomic proposal of the family Diphyidae

Diphyidae Quoy & Gaimard, 1827

Subfamily **Dimophyinae Moser, 1925**

Genus *Dimophyes* Moser, 1925

Genus *Pagesia* gen. nov.

Subfamily **Lavaniegosiinae subfam.nov**

Genus *Lavaniegostia* gen. nov.

Subfamily **Mapstoniinae subfam.nov.**

Genus *Mapstonia* gen. nov.

Genus *Cuquita* gen. nov.

Subfamily **Dunninae subfam.nov.**

Genus *Dunnia* gen. nov.

Inserta Sedis

Genus *Haddockia* gen. nov.

Genus *Margulisia* gen. nov.

Pentacrestata

Subfamily **Wolegibiinae subfam.nov.**

Genus *Wolegibia* gen. nov.

Truncata

Subfamily **Muggiinae Bigelow, 1911**

Genus *Lensia* Totton, 1932

Subfamily **Carreiinae subfam. nov.**

Genus *Carreia* gen. nov.

Subfamily **Sulculeolariinae Totton, 1954**

Apophysiata

Subfamily **Chelophyinae Villanueva et al., in prep**

Subfamily **Eudoxoidiinae Villanueva et al., in prep**

Subfamily **Diphyinae Moser, 1925**

Subfamily **Enneagoniinae Villanueva et al., in prep**

Subfamily **Abylopsinae Totton, 1954**

Subfamily **Abylinae Agassiz, 1862**

Diagnosis, etymology and remarks of the proposed clades

Subfamily Dimophyinae Moser, 1925

Diagnosis: Diphyids with ridgeless nectophores; anterior nectophore with deep hydroecium opening to the lower facet. The very short pedicular canal joints to nectosac well above ostium level. Posterior nectophore (when developed) with short and undivided mouthplate and direct pedicular canal. Lateral radial canals run straight; hydroecial wings; hemispherical bract with an extensive and rounded mouthplate.

Type genus: *Dimophyes* Moser.

Remarks: Two genera are proposed to be contained by this subfamily: *Dimophyes* Moser and *Pagesia* gen. nov. The main difference between these genera is the divided mouthplate of the anterior nectophore in *Pagesia*, vs. a fused condition in *Dimophyes*; additional differences

exist in the apical half of the posterior nectophore of *Dimophyes* and *Pagesia asymmetrica* (= *Lensia asymmetrica*) (Pugh & Pagès, 1997). A COI molecular analysis of Medusozoa (Ortman *et al.* 2010) result in a clade in which *Dimophyes* is revealed as the sister group of *Sphaeronectes* in a basal position with respect to the Diphyidae. Villanueva *et al.* (in prep.) found similar results using the same gene. However, the last results had a low support value (33 maximum likelihood bootstrap) and the Bayesian analysis did not fit in this topology. Nevertheless, all the available evidence suggests a basal position of *Dimophyes* respect to all other diphyids, so, the reinstatement of Dimophyinae proposed in Villanueva *et al.* (in prep.) is fully justified. The relationship of this subfamily with the neotenic genus *Sphaeronectes* is yet to be explored.

The bracts of *Pagesia* and *Dimophyes* are very distinct from those of other diphyids. In both taxa, the head piece is conical with a rounded apex; the neck shield is extensive and it is interrupted only by one side where the stem joins the corium. The phyllocyst vary greatly between the three species proposed for this subfamily.

Genus *Pagesia* gen. nov.

Diagnosis: Anterior nectophore soft, ridgeless, apically rounded. Hydroecium extends to well above ostial level. Mostly open to the lower facet. No basal facet. Mouth plate divided in two rounded lappets, which extend to well below ostial level. Somatocyst variable in size and shape but it is on a short stalk. Short pedicular canal joints the nectosac well above ostial level. Posterior nectophore apically truncated with a rounded central prominence. Mouth plate very short and rounded. Direct pedicular canal. Eudoxid bracts rounded and smooth walled. Rounded neck shield occupies the lower two-thirds of the bract. Phyllocyst variable in size and shape, on short stalk. Gonophores apically truncated, only hydroecial ridges could be discerned. Short, rounded mouth plate.

Type species: *Pagesia asymmetrica* (Stepanjants, 1970) n.comb.

Etymology: This genus was named in honour of the late siphonophore researcher Francesc Pagès.

Remarks: This genus is created to include two ridgeless species previously contained in other genera: *Lensia asymmetrica* Stepanjants and *Muggiaea bargmannae* Totton. Although no molecular evidence is available, their structure closely resembles *Dimophyes arctica*. Both species have a combination of distinctive characters not found in other diphyid species with indistinct ridges. Their inclusion in a group with *Lensia campanella*, *L. cossack*, *L. subtilis*, and the genus *Sulculeolaria* is discarded base on their open and deep hydroecium, absent or

reduced in the other taxa. Their lateral canals originate well above the ostium level unlike *Lensia meteori*, another ridgeless species with an open hydroecium. Their pedicular canal is short as in most basal diphyids. The only genus with which these species could be linked with is *Dimophyes*, but the anterior nectophore of the two species herein referred to *Pagesia* bear a divided mouth plate. As the posterior nectophore is only known for *P. asymmetrica*, the diagnosis is based in this species. Although is a very simple structure is easily distinguished from that of *D. arctica* mainly on the direction of the ostium and the apical torsion. It is different for that of *Lensia campanella*, *L. cossack* and *L. subtilis* by the presence of an apical rounded prominence unlike the shallow funnel seen in the latter species. An apical triangular projection is present in the upper side of the nectophore, similar to that of *L. multicristata*, *L. hunter*, *L. hardy*, *L. achilles* and *L. subtiloides*. This projection is unlikely homologous with those species but correspond to the lower opening of the hydroecium in the anterior nectophore. Lateral radial canals run straight.

***Pagesia asymmetrica* (Stepanjants, 1970) n.comb. (fig. 2a)**

=*Lensia asymmetrica* Stepanjants, 1970

Remarks: This species was described from anterior nectophores from the Kurile-Kamchatka Trench in the North Pacific Ocean (Stepanjants 1970). Little can be added to the last review of this species by Pugh and Pagès (1997) except for a new geographical record from the Gulf of California. Pugh and Pagès (1997) presumed that if a Yucatan Basin record is confirmed, then this species does not have a truly bipolar distribution. Our specimen was found in subtropical waters in the Gulf of California, so it is confirmed here that this is not a true bipolar species as suggested by Margulis (1992). Furthermore, it is possible that its absence in general identification guides of siphonophores (e.g. Totton 1965; Pugh 1999) concealed it as an "unidentified" form or synonymized with *Pagesia bargmannae* (= *Muggiaea bargmannae*) or *Dimophyes arctica*. We included a figure (fig. 2a) of our specimen from de GOC and photos are also available. The specimen was deposited in the collection of siphonophores in El Colegio de la Frontera Sur in Chetumal, Mexico.

***Pagesia bargmannae* (Totton, 1954) n.comb.**

=*Muggiaea bargmannae* Totton, 1954

Remarks: It is difficult to understand why Totton (1954) included this ridgeless species in the five-ridged genus *Muggiaea*. In addition, Pugh (1974, p. 57) stated that this species "has very distinct ridges". Margulis (1982) added some figures and a brief description of the bracts, and Zhang and Lin (2001), recently described again this structure. Judging by the

figures, it is possible that the species *Eudoxia galathea* of Moser (1925) represents the sexual phase of *Pagesia bargmannae*, and although it is widely considered that (as *Muggiaea*) this species doesn't develop a posterior nectophore, this point is yet to be solved. Records from the Maga Dann expedition (Gili & Pagès 1987) did not report posterior nectophores for this species although in the station 208 it was found 20 anterior nectophores. Unlike the known species of *Muggiaea* species, *P. bargmannae* is not a neritic diphyid, but a meso- and bathypelagic form (Pagès & Schnack-Schiel 1996, Pugh et al. 1997).

Subfamily Lavaniegosinae subfam.nov.

Diagnosis: Monotypic family. See diagnosis of the genus.

Type genus: *Lavaniegosia* gen. nov.

Genus Lavaniegosia gen. nov.

Diagnosis: Anterior nectophore somewhat rigid with five uncrested ridges not joining together at the apex. Nectophore apically rounded. Virtual hydroecium. Basal facet is oblique. Mouth plate divided, the two rounded lappets are very small and sometimes it is difficult to discern. Ovoid somatocyst with no stalk. The short pedicular canal joints the nectosac at ostial level. Posterior nectophore is apically truncate, with short hydroecial wings restricted to the apical third. Direct pedicular canal. Mouth plate short, wide and rounded without a notch. Eudoxid bracts are rounded and smooth walled. Rounded neck shield occupies the lower one-half of the bract. Club-shaped or ovoid phyllocyst without stalk. Gonophores apically truncated without basal contraction. The four ridges could be discerned, but only the hydroecial ones are obvious, forming an apical shallow hydroecium with two short hydroecial wings.

Type species: *Lavaniegosia campanella* (Moser 1913) n.comb.

Etymology: This genus was named after the Mexican zooplankton researcher Bertha Lavaniegos.

Remarks: The genus is proposed to include two species: *Lensia campanella* (Moser) and *L. cossack* Totton. Although their position is still not resolved by molecular data, the COI sequence of *L. campanella* excludes species from other diphyid clades (Villanueva et al. in prep.). There is no evidence (molecular or morphological) to retain these species within the genus *Lensia*, and cannot be referred to another genus so a new taxon is needed to accommodate them. Their short pedicular canal suggests a basal position of this genus and prevents their inclusion as species of *Sulculeolaria* or a link with the ridgeless species *L.*

subtilis, with a well-developed pedicular canal. The nature of the posterior nectophores, their rounded bracts and the free-living eudoxids also diverge from *Sulculeolaria*. Because of the point of insertion of the pedicular canal, close to the ostial ring and the virtual absence of the hydroecium, these species could be referred neither to the genus *Dimophyes* nor to the new genus *Pagesia*.

***Lavaniegosia campanella* (Moser, 1913) n.comb. (figs. 2b,c)**

= *Lensia campanella* (Moser, 1913)

This species is widely distributed in temperate, subtropical and tropical waters around the world. Little could be added to the excellent descriptive work of Carré (1968).

***Lavaniegosia cossack* (Totton, 1941) n.comb. (fig. 2e)**

= *Lensia cossack* Totton, 1941

The eudoxid of this species is hardly differentiated from that of *L. campanella*, except by the size and proportion of the phyllocyst and the mouthplate. The validity of this species has been questioned more than once, most recently by Mapstone (2009), deeming it as a junior synonym of *L. campanella*. For Pugh (1999) both species are valid, thus agreeing with our results. When both species are present in the same sample, *L. cossack* is always twice the size of *L. campanella*, it never shows an apical torsion, and the somatocyst is vertical, vs. an oblique condition in *L. campanella*. Pugh (1999) consider that *L. cossack* does not develop a posterior nectophore, but other authors have described it (Stepanjants, 1967; Alekseev, 1984; Daniel, 1985). We have found posterior nectophores associated with anterior nectophores of this species, but they are almost identical with those of *L. campanella* but larger. The characteristics are briefly mentioned in the generic diagnosis.

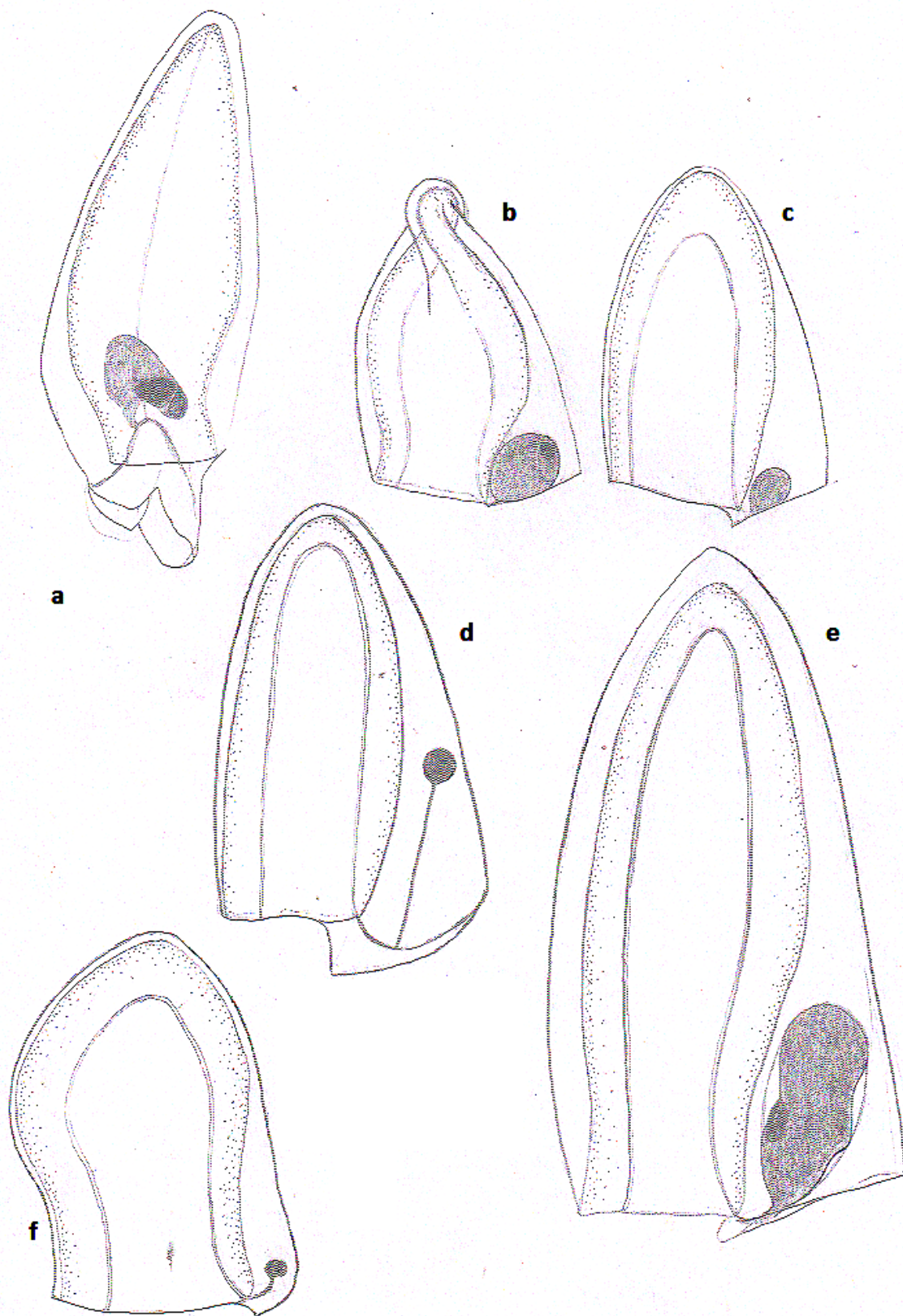


Fig. 2. Ridgeless species and species with ridges difficult to discern. (a) *Pagesia asymmetrica* (Stepanjants), lower view; (b) *Lavaniegosia campanella* (Moser), with the apical torsion, lateral view; (c) *L. campanella* (Moser), straight form, lateral view; (d) *Carreia subtilis* (Chun), lateral view; (e) *Carreia chuni* (Totton), lateral view; (f)

Lavaniegosia cossack (Totton) lateral view.

Subfamily Mapstoniinae subfam. nov.

Diagnosis: Seven-ridged anterior nectophore. Velar ridge absent. Pedicular canal short. Hydroecium opens to lower facet of nectophore. Posterior nectophore absent or present.

Type genus: *Mapstonia* gen. nov.

Remarks: This subfamily is supported by molecular and morphological data. The COI molecular analysis performed by Villanueva et al. (in prep.) solved a seven-ridged monophyletic clade with support values above 50% (posterior probabilities in BY analysis: 100, ML bootstrap values: 74). Three species previously referred to the genus *Lensia* are now included in this clade: *L. havock*, *L. multicristata*, and *L. hunter*. Two new genera are proposed in this subfamily. According the COI analysis, this is the first branch that separates from the rest of diphyids (Villanueva et al. in prep.).

Genus *Mapstonia* gen. nov.

Diagnosis. Anterior nectophore soft with seven complete ridges, apically pointed. Infra-lateral ridges bend lowerly to run in the lateral sides of the mouth plate. No basal facet. Hydroecium deep. Inverted heart-shaped somatocyst on a short stalk. Short pedicular canal joints the nectosac well above the ostial level. Posterior nectophore unknown, probably not developed. Sexual phase remains unknown.

Type species: *Mapstonia havock* Totton, 1941 n. comb.

Etymology: This genus was named after the Canadian siphonophore specialist Dr. Gillian Mapstone, who made the last detailed description of the only species included herein (see Mapstone 2009).

***Mapstonia havock* (Totton, 1941) n.comb.**

=*Lensia havock* Totton, 1941; *Muggiaea havock* Stepanjants, 1967; Zhang, 2005

Remarks: This species has been recorded several times since its original description (Totton, 1941), unfortunately, very little has been added to the basic knowledge of its morphology and biology. Based on the depth of the hydroecium and the absence of a posterior nectophore, Stepanjants (1967) proposed the inclusion of this species in the genus *Muggiaea*; she was followed by Margulis & Alekseev (1985) and Zhang (2005). Pugh (1974) observed that the nature of the hydroecium (opening "ventrally" or to lower facet) and a seven-ridged condition is not found in *Muggiaea* species; furthermore, the actual absence of a posterior nectophore

was not proved, so he considered that the species is more related with the genus *Lensia*, thus he retained the species in Totton's genus. A detailed description of this species is provided by Mapstone (2009) but she did not identify a posterior nectophore and the eudoxids. The specimen we used to carry out molecular studies (Villanueva et al. in prep.) was collected by an ROV in the Farallon Basin (Gulf of California) and no trace of a posterior nectophore was found, so we considered that such structure is not developed (the nature of the hydroecium could hardly harbor a posterior nectophore as in *Muggiaea*). Molecular data does not allow link of this species with the five-ridged diphyids (with *Lensia* or with *Muggiaea*), but as a sister group of another seven-ridged diphyid *L. multicristata* (Villanueva et al. in prep.), neither of them related with the five-ridged diphyids, so this would justify the erection of the new genera proposed. Some morphological variation was found in a specimen from the Gulf of Mexico, it has lappets with jagged inner margins, whereas the specimen collected in the Gulf of California does not. If this variation is of taxonomic relevance is yet to be explored.

Genus *Cuquita* gen. nov.

Diagnosis. Anterior nectophore soft with seven ridges, apically pointed. Upper-lateral ridges not reaching ostial level. Nectosac follows the nectophore contour closely. Shallow hydroecium at or below the ostium level, open to lower facet. Basal facet absent. Somatocyst variable in size and shape. Short pedicular canal joints the nectosac at ostial level. Posterior nectophore with triangular apical projection and short but wide mouth plate. Eudoxid bract conical with rounded apex. Only sutural ridges discernible. No neck shield is developed. Spindle-shaped phyllocyst.

Type species: *Cuquita multicristata* Moser 1925 n.comb.

Etymology: This genus was named after the Mexican oceanologist Dr. María del Refugio González Esparza, whose nickname is Cuquita.

Remarks: The species *Eudoxia tenuis* Patrity is proposed by Kirckpatrick and Pugh (1983) and Pugh (1999) as the possible eudoxid of *Cuquita multicristata* (as *Lensia multicristata*) species complex and we agree. Mapstone (2009) disagreed and considered *E. dhorni* Gamulin as the eudoxid of *C. multicristata*. However, Kirckpatrick and Pugh (1983) and Pugh's (1999) assumption can be supported from the revision of Patrity's data. His results suggest an association between the two forms because *C. multicristata* was captured in the same trawls together with *E. tenuis*. We consider that *E. dhorni* is referable to a species related with *Lensia challengerii* Totton or *L. beklemishevi* Margulis & Alekseev whose eudoxids will be described and figured below.

***Cuquita multicristata* (Moser, 1925) n.comb.**

= *Galeolaria multicristata* Moser 1925; ?*Diphyes bigelowi* Browne 1926;

Lensia multicristata (Moser, 1925); *Lensia multicristoides* Zhang & Lin, 1988

Remarks: Moser (1925) described this species as *Galeolaria multicristata*, although she showed an incomplete upper ridge doesn't reaching the ostium. Totton (1932) included this species in his new genus *Lensia*. Bigelow and Sears (1937) noted the omission in the original description and redescribed and illustrated the species, their figures were reproduced by Totton (1965a), Kirckpatrick and Pugh (1983), and Pugh (1999). Zhang and Lin (1988) described a similar species, *L. multicristoides*, and they compared it with the other known seven-ridged species. Two characteristics were considered as diagnostic for *L. multicristoides*, a shorter somatocysts (1/3 the height of the nectophore) and longer infra-lateral ridges almost reaching the mouthplates, but these characteristics were actually the same used by Moser (1925) in the original description. Mapstone (2009) considered *L. multicristoides* as a junior synonym of *L. multicristata*, because in her opinion, the diagnostic features are actually variable ones. Later on, Ortman et al. (2010) recognized two cryptic forms of this species based on their COI analysis. Their four specimens, two for each form, were identified by Francesc Pagès, but no additional information was provided about the morphological variability. The molecular distance between the two forms is so clear that population differences could be refuted. Unfortunately, our specimens come from formaline-preserved samples, but there are at least four different types: two in the Caribbean Sea (fig. 3a & 3b) (although judging by the sizes could be referred to different stages of development), one form for the Gulf of Mexico (fig. 3c) and the most typical one from the west coast of northern Baja California and that could be referred to as the California Current form. No specimens were found in the Gulf of California. A detailed molecular study with emphasis in morphological variation must be conducted to clarify this complex of cryptic species. It remains clear that *L. multicristoides* is actually a junior synonym of *L. multicristata* as concluded Mapstone (2009), but if *multicristata* is assignable to Bigelow and Sears' form is still an unresolved question. It is probable that the second species should be named "bigelowi" as *Diphyes bigelowi* (currently a synonym of *L. multicristata*) introduced by Browne (1926) could be the same as the widely reproduced figured of Bigelow and Sears.

The short pedicular canal between the nectosac and the pedicel of the somatocyst is a good character that distinguishes this species from the five-ridged species when the infra-lateral ridges are indiscernible.

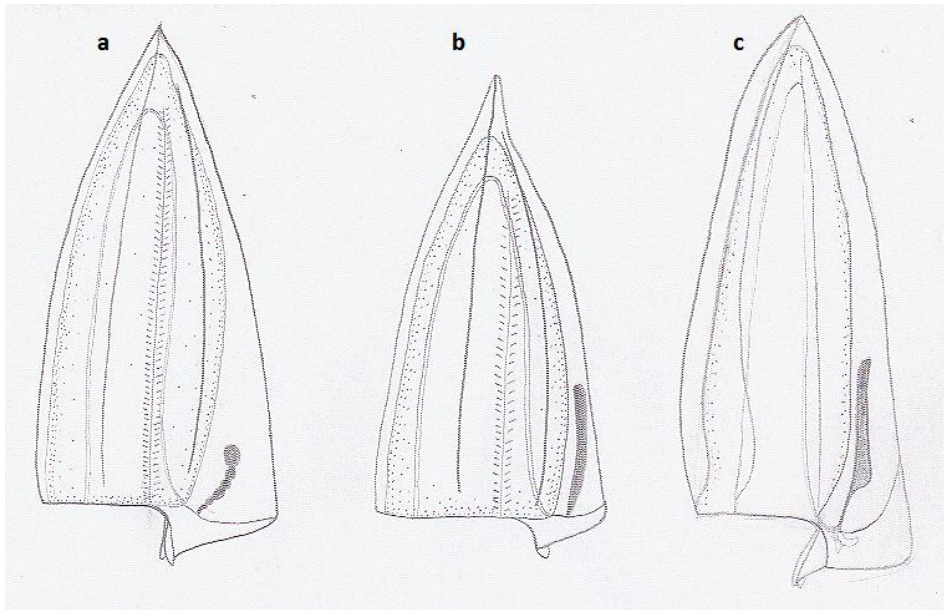


Fig. 3. Three forms of *Cuquita multicristata* (Moser). (a) & (b) From shallow waters in the Caribbean Sea. (c) From deep waters in the Gulf of Mexico.

***Cuquita hunter* (Totton, 1941) n.comb. (Fig. 4a)**

= *Lensia hunter* Totton 1941; ?*Lensia landrumae* Alvariño y Wojtan, 1984

Remarks: Unfortunately, no molecular data are available for this species. Because of the similarity of *L. multicristata* and *L. hunter* we decided to allocate both species in the new genus *Cuquita*. We considered more probable that the share characteristic between these two forms (point of insertion of the pedicular canal, incomplete accessory ridges, course of lateral radial canals) are the most plesiomorphic condition because of the similarity with some multiridged species and the true *Lensia*. Alvariño & Wojtan (1984) introduced a new species, *L. landrumae*, which was considered by Mapstone (Hydrozoa Database) and Pugh (pers. comm.) as a junior synonym of *L. hunter* although the shape of the somatocyst of *L. landrumae* is quite different for that of *L. hunter*, and the supra-lateral ridges reach the ostium. We found a form of *L. landrumae* from the Gulf of Mexico, and the supra-lateral ridges do not reach the ostium, but the somatocyst is an intermediate form of both *hunter* and *landrumae*.

“Insertae Sedis”

Genus *Haddockia* gen. nov.

Diagnosis. Anterior nectophore soft with more than seven ridges, apically pointed. Up to 12 mm. Without horizontal velar ridge, but with basal contraction in upper half of basal lateral walls of nectophore. Nectosac follows the nectophore contour at short distance. Hydroecium slightly above the ostial level. Open to lower facet. No basal facet. Inverted heart-shaped or

irregular ovoid somatocyst on a short pedicel. Short pedicular canal joints the nectosac at ostial level or slightly above. Mouth plate divided. Posterior nectophores probably developed. Sexual phase unknown. Deep-water species.

Type species: *Lensia quadriculata* Pagès, Flood & Youngbluth, 2006

Etymology: This genus was named after the zooplankton specialist Dr Steve Haddock.

***Haddockia quadriculata* (Pagès, Flood & Youngbluth, 2006) n.comb.**

= *Lensia quadriculata* Pagès, Flood & Youngbluth, 2006

Remarks: Pagès et al. (2006) mentioned a poorly preserved posterior nectophore for description, but our both ROV collected specimens have no signs of bearing a posterior nectophore. Our two specimens were collected from the Gulf of California.

***Haddockia ajax* (Totton, 1941) n.comb. (fig. 4b)**

= *Lensia ajax* Totton, 1941

Remarks: This species is probably related to *Haddockia quadriculata* and *H. hostile*, only represented in molecular analysis for *H. quadriculata*. These three species are the more primitive of the multiridged species. Its primitive nature is seen when we compare the nectophores with those of some deep water *L. muticristata* forms, if not for the number of ridges, no other differences is found.

***Haddockia hostile* (Totton, 1941) n.comb.**

= *Lensia hostile* Totton, 1941

The only comment can be added is the absence of serrations in the inner margins of the posterior nectophore and that the pedicular canal joins the nectosac close to the ostial ring. As in *H. quadriculata* y *H. ajax*, there is no a velar ridge, but there are a contraction in the lateral upper half of the nectophore, as is showed but not mentioned by Totton (1941) in the original description.

Genus *Margulisia* gen. nov.

Diagnosis. Anterior nectophore soft with more than seven ridges, some of them incomplete. Apically pointed. Up to 5 mm. Without horizontal velar ridge. Nectosac follows closely the contour of the nectophore. Hydroecium well above the ostial level. Open to the lower facet. No basal facet. Short pedicular canal joints the nectosac well above the ostial level. Extensive mouth plate. Huge somatocyst on a short stalk. Mouth plate divided. Are prominent and

extends well above the ostial level. Rounded with inner margins jagged. Sexual phase is unknown. Deep-water species.

Type species: *Margulisia zenkevitchi* Margulis, 1970 n.comb.

Etymology: This genus was named after the Russian siphonophore specialist Dr. R. Ya. Margulis who described the type species.

***Margulisia zenkevitchi* (Margulis, 1970) n.comb.**

= *Lensia zenkevitchi* Margulis, 1970

Remarks: Pugh (1999) found more nectophores for this odd species, but Mapstone (2009) stated that it is a junior synonym of *Lensia* (= *Haddockia*) *hostile*. To us, the minute specimen figured by Mapstone as *Lensia hostile* is actually assignable to *L. zenkevitchi*, because in *H. hostile*, the lateral radial canals run from the base of the nectophore, not from the middle height of the nectosac. On the other hand, it is expected that in polar waters, most specimens are larger than those of tropical or temperate waters, not as small as those reported from Mapstone's samples. The phylogenetic relationships of this taxon remain unknown. According to its radial canal system, it resembles *Mapstonia havock*, and some specimens of the last species have also lappets with jagged inner margins, but are quite different in other respects. Molecular data are needed to clarify the position of this little known species.

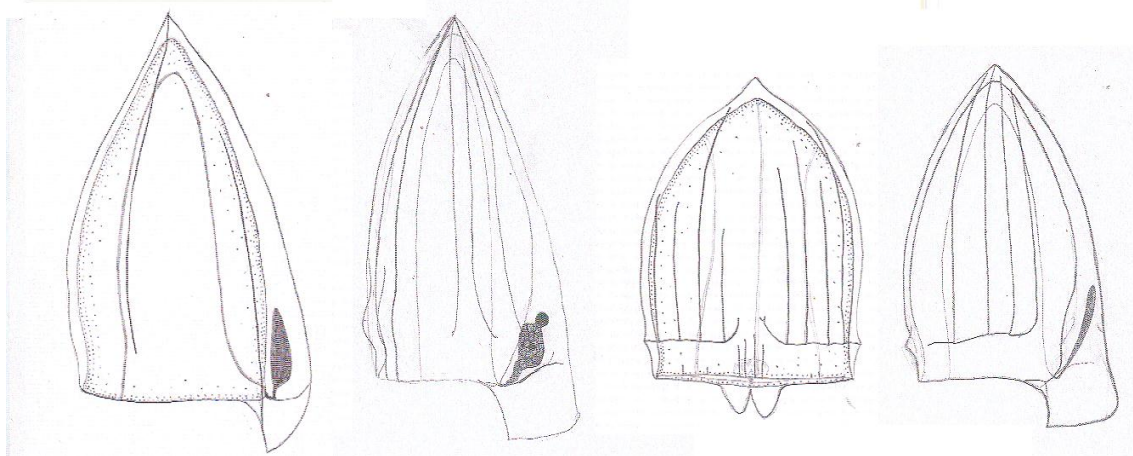


Fig. 3. (a) *Cuquita hunter* (Totton), lateral view; (b) *Haddockia ajax* (Totton), lateral view; (c) *Dunnia lelouveteau* (Totton), upper view; (d) *Dunnia exeter* (Totton), lateral view.

Subfamily Dunninae subfam.nov.

Diagnosis: Monotypic subfamily. See diagnosis of genus.

Type genus: *Dunnia* gen. nov.

Remarks: A monophyletic clade was revealed for *Lensia grimaldi*, *L. exeter* and *L. meteori* from the molecular analysis performed by Villanueva et al. (in prep.). Except for the third

species, they are multiridged diphyids with velar ridge. The inclusion of *L. leloveteau* could help us to understand the relationship between the multiridged species with velar ridge and *L. meteori*. Although the last species does not fit with the diagnosis, we prefer to link the species to this genus instead of creating a new one before knowing the position of *D. leloveteau* from molecular data. The support values given by Maximum Likelihood and Bayesian analysis (Villanueva et al., in prep.) could not be ignored. Divergence must be alleged.

Genus *Dunnia* gen. nov.

Diagnosis. Anterior nectophore soft with more than seven ridges. Apically pointed. Up to 12 mm. With horizontal velar ridge. Nectosac follows the nectophore contour at short distance. Hydroecium at or slightly above the ostial level. Open to the lower facet. No basal facet. Somatocyst variable in size and shape. Short pedicular canal joints the nectosac at ostial level. Mouth plate divided. Sexual phase is unknown. Deep water species (except for *D. meteori*).

Type species. *Dunnia exeter* Totton 1941 n.comb.

Etymology: This genus was named after the siphonophore specialist Dr Casey W. Dunn, who made the first siphonophore phylogeny.

***Dunnia exeter* (Totton, 1941) n.comb. (Fig. 4d)**

=*Lensia exeter* Totton, 1941

Remarks: This species is probably the most common multi-ridged species, at least in Mexico. It is easily distinguished from the other species by its filiform somatocyst and a well-defined velar ridge.

***Dunnia grimaldi* (Leloup, 1933) n.comb.**

=*Lensia grimaldi* (Leloup, 1933)

Remarks: No specimens were found. The molecular data (COI) suggest a close relationship with *Dunnia exeter*, but no more multiridged species were sampled. Anyway, only *Dunnia leloveteau* could be close to these species, by the presence of a well-developed velar ridge.

***Dunnia leloveteau* (Totton, 1941) n.comb. (Fig. 4c)**

=*Lensia leloveteau* Totton, 1941

Remarks: It is easily distinguished by its lateral-expanded somatocyst and the well-defined velar ridge. No molecular data is available, but it is probably related with *D. exeter* and *D. grimaldi* on the similarity given by the velar ridge. It is seen as an intermediate form between the multiridged species and the ridgless *D. meteori*. Alvariño & Wojtan (1984) described the

eudoxid of this species, but it is concluded by Pugh & Pagès (1997) that what the former authors described was actually the eudoxid of *Dimophyes arctica*, so, its sexual phase remains unknown. The species has a wide distribution from the Atlantic Ocean (Totton, 1965; Fraser, 1967) to the Pacific Ocean (Alvariño, 1981). Gili & Pagès (1987) reported its presence in the Antarctic waters.

***Dunnia meteori* (Leloup, 1934) n.comb.**

=*Lensia meteori* (Leloup, 1934)

Remarks: It is a ridgeless species. It is probably a complex of cryptic species; we found some nectophores with differences in the proportion of the nectosac and somatocyst, the length of the mouthplates, and the shape of the somatocyst, although this last character is very variable in diphyids. The provisional inclusion in the genus *Dunnia* is due to the results of molecular data, which support with 100% of bootstrap values and posterior probabilities the affinities of the three species sampled (Villanueva et al. in prep.). The ridgeless condition could give some doubt, but actually the nature of the mouth plates and the shape of the somatocyst is similar with that of *D. lelouveteau*, which is proposed as an intermediate form as is commented above. If a monophyletic clade is found to be true for *D. lelouveteau* + *D. exeter* + *D. grimaldi*, then we will be able to create a new genus for *D. meteori*, but as molecular data of *D. lelouveteau* is still lacking we defer that decision for future research.

A posterior nectophore presumably belonging to this species is referred to by Daniel (1974), some years later she recorded more associated posterior nectophores (Daniel, 1985). The structure described by Daniel cannot be associated with the structure described by Daniel with another species.

Some discussion comes from the existence of “*Lensia subtilis* var. *chuni*” (see Fig. 1f as *Carreia chuni*). The *D. meteori* specimens from the Pacific are very similar with those described and figured by Leloup (1934) and Totton (1954). On the other hand, specimens “*Lensia subtilis* var. *chuni*” identified from the Caribbean Sea share more similarity with *D. meteori* although they do not resemble the original description of the latter. For this time, until molecular data for *L. subtilis* and *L. subtilis* var. *chuni* become available, we treat these both forms as congeneric in the new genus *Carreia* (see below), but we are inclined to think that the “var. *chuni*” actually represent a species related with *D. meteori*.

Subfamily Wolegibiinae subfam.nov.

Diagnosis: Monotypic subfamily. See diagnosis of the genus.

Type genus: *Wolegibia* gen. nov.

Remarks: Monotypic for *Lensia fowleri* (Bigelow). Molecular data suggests a basal position of this species within Pentacrestata.

Genus *Wolegibia* gen. nov.

Diagnosis. Anterior nectophore somewhat rigid with five complete ridges. Apically pointed. Nectosac follows the nectophore contour at short distance. Hydroecium is shallow, well above ostial level. No open to the lower facet. Basal facet is horizontal. Divided mouth plate with smooth asymmetric lappets; left lappet above the right one in upper view. Ovoid somatocyst positioned below the level of the ostium. Medium-sized pedicular canal, almost vertical. It joints the nectosac at ostial level. Posterior nectophore somewhat rigid. All ridges are complete. Apically truncated without a rounded central prominence, instead has a shallow funnel. Hydroecial wing symmetrical and acute in apical view. Mouth plate slightly rounded and smooth, well above ostium level. Direct pedicular canal. Eudoxid bract conical with somewhat pointed apex. Only sutural ridges are discernible. Ovoid phyllocyst which is unique between all the diphyids. Four-ridged gonophores without mouth plate. Epi- and mesopelagic species.

Type species: *Wolegibia fowleri* (Bigelow, 1911) n.comb.

Etymology: This genus was named after the late American siphonophore specialist Dr. Henry Bigelow, by spelling his name backwards. Bigelow (1911) described the only species included in the new genus.

***Wolegibia fowleri* (Bigelow, 1911) n.comb.**

=*Lensia fowleri* (Bigelow, 1911)

A common species in the Caribbean Sea and Gulf of Mexico, it seems to be allopatric with *Lensia challengerii* in the west coast of the Baja California peninsula, being most common in subtropical waters. The posterior nectophore is easily distinguished from other species by the symmetrical and acute hydroecial wings in apical view, only could be confused with that of *L. hotspur* but the nectophore of the former is larger and does not present a central rounded notch in the mouth plate.

Subfamily Muggiinae Bigelow, 1911

Diagnosis: Five-ridged anterior nectophore, three ridges are always complete (upper and lower ridges) but the laterals could be incomplete basally. The somatocyst is above the ostium level and the pedicular canal is horizontal or oblique; hydroecium varies in deep, from virtual

in *Lensia hotspur* to deep in *Muggiaea atlantica*. Posterior nectophore could be present or absent. When it is present, it is five-ridged. Lateral ridges could be incomplete, but upper and lower ridges always are complete. Hydroecial wings could be present or absent. Conical bracts with pointed apex in lateral view. Phyllocyst fusiform. Gonophores are four-ridged with a rounded mouth plate that could or could not be notched.

Type genus: *Muggiaea* Busch 1851.

Remarks: Provisionally we refer the five-ridged *Lensia* (except *L. fowleri*) to this subfamily, here reintroduced. Molecular analysis do not resolve the sister group of the genus *Lensia* sensu stricto. If the most accurate scenario is that of the phylogenetic analysis where the genus *Sulculeolaria* is the sister group of a monophyletic *Lensia*, then a new subfamily must be created, and the subfamily Muggiinae should be reintroduced for *Muggiaea*. Alternative phylogenetic hypothesis (Villanueva et al. in prep.), however, support that at least three species of *Lensia* (*L. achilles*, *L. conoidea* and *L. hotspur*) should be added to Muggiinae with *Muggiaea* and two others, *L. beklemishevi* and *L. challengerii* must be separate in a new subfamily. Until one of these hypothesis is not rejected, we will not do any attempt to introduce changes in taxonomy more than the reintroduction of Muggiinae, warranted in the two scenarios. This decision is based in the fact that Diphyinae now is restricted to the genus *Diphyes* Cuvier (Villanueva et al. in prep.).

Genus *Lensia* Totton, 1932

Diagnosis. Diphyid species with five-ridged anterior and posterior nectophores. Anterior nectophore with pointed apex. Nectosac closely follows the nectophore contour. Shallow hydroecium, at or slightly above the ostium level not open in the lower facet, except for a not pronounced notch in inverted V-shape in some species (*achilles*, *minuta*, *subtiloides*). Somatocyst variable in size and shape. Upper and lower ridges always complete. Lateral ridges always reach the apex, but in some species could not join with the ostial margins (*leloupi*, *panikkari*, *tottoni*). Posterior nectophore has no somatocyst. Truncated apex. Symmetric and obvious mouth plate. Pedicular canal is direct. Hydroecium bounded by a pair of hydroecial wings (except in *Lensia hardy*), the left one develops a tongue-like projection in the apical inner region. Conic bracts with an asymmetrical and obvious neck shield, which represent 1/3 the height of the bract. Phyllocyst fusiform. Gonophores with truncated apex (except in *Lensia hardy*), and an obvious but short mouthplate, not easily distinguished from that of the genera *Muggiaea* Busch.

Remarks: According to morphological observation there are three distinct groups of *Lensia* species: (1) those species (including the type species) with a direct pedicular canal in the posterior nectophore and tongue-shaped projection in the apical portion of the inner wall of the left hydroecial wing; (2) those with a disjunct pedicular canal, without a tongue-shaped projection but with asymmetrical hydroecial wings in apical view; (3) and *Lensia hardy* Totton with a direct pedicular canal and without hydroecial wings. In other times, this evidence could be enough to erect three distinct genera, but it is providing the possibility to introduce taxonomic instability. It is preferable to wait to have better morphological evidence, or at least has more complete morphological description to make changes in taxonomy.

Currently 18 species are still assignable to this genus: *L. subtiloides* (Lens & van Riemsdijk) (type species), *L. achilles* Totton, *L. cordata* Totton, *L. gnanamuthui* Daniel & Daniel, *L. patriti* Alekseev, *L. tottoni* Daniel & Daniel, *L. hotspur* Totton, *L. conoidea* (Kefferstein & Ehlers) *L. lebedevi* Alekseev, *L. challengerii* Totton, *L. beklemishevi* Margulis & Alekseev, *L. panikkari* Daniel, *L. leloupi* Totton, *L. canopusi* Stepanjants, *L. minuta* Patriti, *L. hardy* Totton and the new species, *L. quadriangulata* sp. n. The species could be divided by the completeness of the lateral ridges, and by the nature of the pedicular canal of the posterior nectophore as it was mentioned above.

***Lensia subtiloides* (Lens and van Riemsdijk, 1908)**

Remarks: This species, originally described by as *Diphyes subtiloides*, was selected as the “genotype” (type species) of *Lensia* by Totton (1932). This species is common in shallow waters in the Indian Ocean but is not abundant in Mexico, though some records are provided by previous authors.

***Lensia achilles* Totton, 1941
= *Lensia baryi* Totton, 1965**

Fig. 5

Remarks: Originally, we consider that the orientation of the basal portion of the lateral ridges was enough to consider a generic distinction. But as this species is seemly related with *L. subtiloides* in the nature of both nectophores, we prefer to retain by this time the species in the genus, also by the similarity of *L. minuta* as an intermediate form from straight ridges to bent ridges. *Lensia baryi* was synonymized with *L. achilles* by Mapstone (2009), and though we consider that molecular analysis will be convenient, for this moment we accept this synonymy. The drawings provided of the posterior nectophore and huge eudoxid are

positively identified by the fact that the posterior nectophore comes from an specimen collected by ROV, and the eudoxid (also collected by ROV) was sequenced for COI available from *L. achilles* (Ortman et al., 2010). The posterior nectophore show some differences from that described by Mapstone (2009) but it is probable that it is due to intraspecific variation and preservation alterations.

Description:

Posterior nectophore (fig. 5b). The posterior nectophore measures up to 13 mm in height. It is a somewhat rigid structure. Five complete longitudinal ridges are present; the upper one is projected apically some distance to form a well-defined apical triangular projection. It presents a circular apical prominence by which the pedicular canal runs. The nectosac spreads apically some distances from the point of insertion of the pedicular canal. The lateral radial canals follow a typical s-shaped course. The lateral ridges follow a similar pattern as seen in the anterior nectophore. Apically they run straight but in the distal half they curve in some degree forming a kind of lateral wings. Between the lower and lateral ridges there are well-formed folds. The lower ridges form a deep hydroecium, the left lower ridge present a tongue-shaped projection in the inner side of its apical region as seen in *L. subtiloides* (see Totton 1965a). The obvious mouth plate is divided in three parts, the central one has a straight margin and the two laterals are basally rounded and slightly larger than the central part.

Bract. It is the larger bract known for diphyids. It measures up to 10 mm. Three fourths comprise the head piece and the remaining fourth is represented by the neck shield. Its shape is an elongate cone. The upper wall is slightly oblique in lateral view, while the sutural surface is almost vertical. The angle of the base of the bract and the neck shield is nearly 90°. The fusiform phyllocyst is orange and reach slightly over half the height of the head piece. Young bract associated to the polygastric phase are foliaceous as is typical, and somewhat resemble those of *Sulculeolaria* in the toothed margins.

Gonophore. Except by the size (more than 10 mm in height), it is difficult to find some diagnostic feature for the gonophore. Truncate at the apex, there are four longitudinal ridges and the gonad origins slightly above the apex of the gonosac on its lower face. It has a small but evident rounded mouth plate. The four typical radial canals of the other diphyids are found in the same disposition. The hydroecium is somewhat deep in the apical third whilst it is shallow in the basal portion. The orange color of the somatocyst, phyllocyst and gonophores it is not evident but very faintly in the gonad.

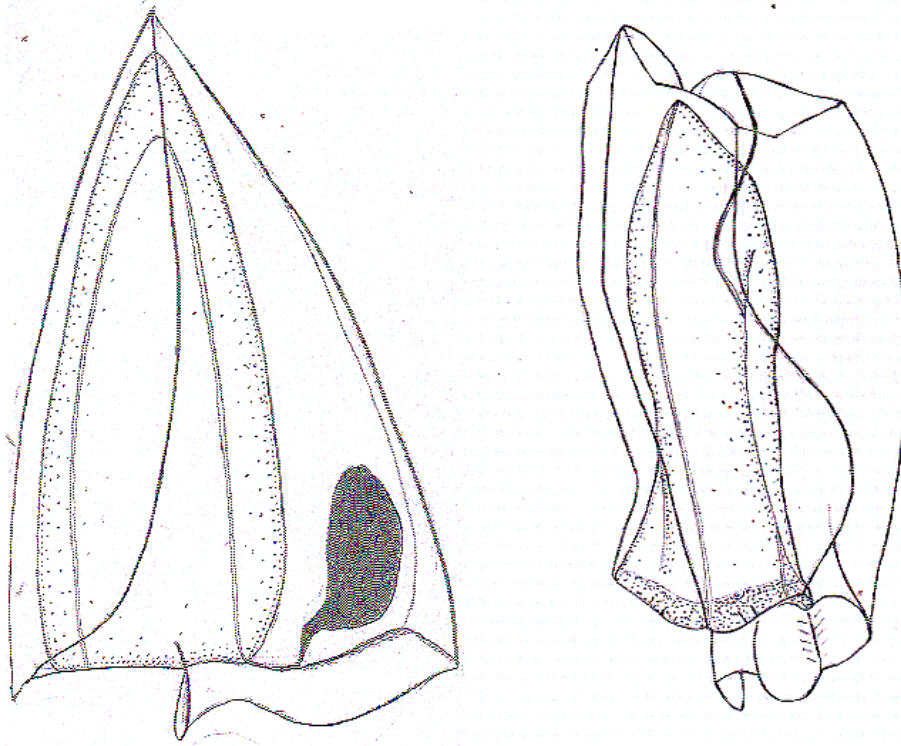


Fig. 4. *Lensia achilles* collected with ROV from the Farallon Basin (Gulf of California, Mexico). (a) Anterior nectophore, lateral view; (b) Posterior nectophore, lateral view.

***Lensia cordata* Totton, 1965**

=*Lensia achilles bigelowi* Stepanjants, 1967

Remarks: It is a poorly known species described by Totton (1965b). Clearly related with *L. achilles*, but the nature of the somatocyst make a good distinction. This species was recorded by Zhang and Lin (1997) for the South China Sea.

***Lensia challengerii* (Totton, 1954)**

Remarks: It is harder to distinguish from the next species, *L. beklemishevi*, and impossible from its eudoxids, but the molecular data clearly show two different species. A zoogeography could help us, meanwhile *L. challengerii* is from temperate to cold waters, *L. beklemishevi* is distributed in warmer waters, though are found in deeps near to 2,000 m. The posterior nectophore and eudoxid were known for Totton (1954, 1965a) but he didn't describe them. We found large numbers of posterior nectophores and eudoxid associated with anterior nectophores and are figured.

Description:

Posterior nectophore. They have truncated apex, disjunct pedicular canal that insert the nectosac below the apex of the same, the upper and lower canals run straight while the laterals have the typical s-shaped course. The hydroecial wings are in the same condition described and figured by Totton (1954) for *Lensia conoidea*. The mouth plate is square or slightly rounded without a central notch, a feature that allows us to distinguish from that of *L. beklemishevi* described below. The ridges are slightly serrated or with undulate margins.

Bracts. The bracts are pointed apical in lateral view, the neck shield is asymmetric and the phyllocyst is curve to one side and oblique in lateral view.

Gonophores. Gonophores have the typical four ridges, which are slightly serrated or with undulate margins. Otherwise they are identical with those of another *Lensia* species.

***Lensia beklemishevi* Margulis and Alekseev, 1986**

(Fig. 6)

Remarks: Described by Margulis & Alekseev (1986) by the Indian Ocean, this species was not widely recognized. Pugh (pers. comm.) considered that this could not be referred directly with a previously described species. A lot of specimens were collected recently by net and ROV from the Gulf of California. We found that they have well serrated ridges but the posterior nectophores and eudoxids are hardly distinguishable from those of *Lensia challengerii*. The only difference in the posterior nectophore is the well-defined central rounded notch of the mouth plate in *L. beklemishevi* which consequently gives an asymmetrical shape in upper or lower view. The anterior nectophore is well-serrated and the pedicel of its somatocyst is not always evident but in most of the specimens is discernible, a characteristic not seen in *L. challengerii*. The eudoxid is certainly undistinguishable (fig. 6c & 6d). Molecular data suggest that with a great distance, both *L. beklemishevi* and *L. challengerii* are sister species (Villanueva et al. in prep.).

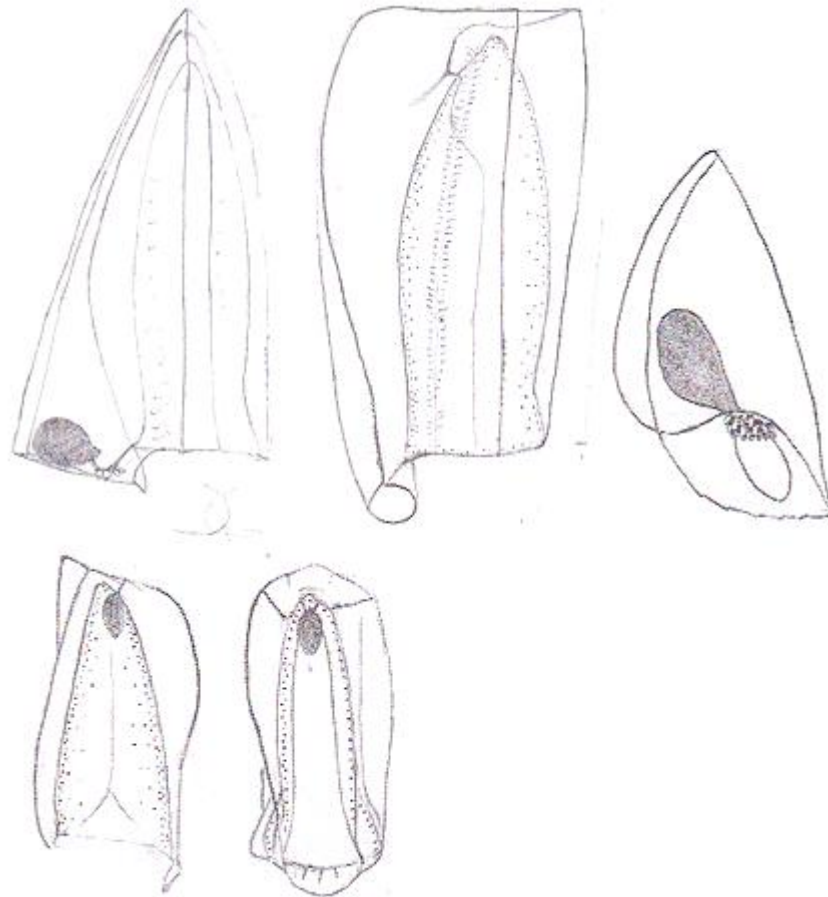


Fig. 6. *Lensia beklemishevi* (Margulis & Alekseev). (a) Anterior nectophore, lateral view; (b) Posterior nectophore, lateral view; (c) Bract, lateral view; (d) Gonophore, lateral (left) and lower (right) views.

***Lensia conoidea* (Kefferstein & Ehlers, 1860)**

=*Diphyes truncata* Sars 1846 non *Diphyes truncata* Quoy & Gaimard 1827; *Lensia conoidea pacifica* Stepanjants, 1967

(Fig. 7a)

It is well known species. It was originally described by Sars (1846) as *Diphyes truncata*, but that name was preoccupied by an unidentified species of Quoy & Gaimard (1827), probably an abylid (*Ceratocymba leuckarti*?). Stepanjants (1967) introduced a new subspecies, *Lensia conoidea pacifica* based on specimens with wrinkles around the ostium and a deeper hydroecium, but Mapstone (2009) comment that these features are not enough to separate as a distinct subspecies and it was not recognized, and we agree.

***Lensia hotspur* Totton, 1941**

(Fig. 7b)

Remarks: Molecular data suggest that this species is the sister one of *Lensia conoidea*, but morphological data do not support this hypothesis. *L. conoidea* shares more characteristics with *L. beklemishevi* and *L. challenger*, as is the particular apical view of the posterior nectophore with a square left hydroecial wing, contrasting with the two acute hydroecial wings of *L. hotspur*. It is remarkable that is a small species, unlike the other species referred herein to the genus *Lensia*. More evidence is required for erect a new genus for this species and some probably related forms (e.g. *Lensia tottoni*, *L. canopusi* if valid). Totton (1954) once suggested the possibility of that this species actually represent a complex of cryptic species that is not discarded.

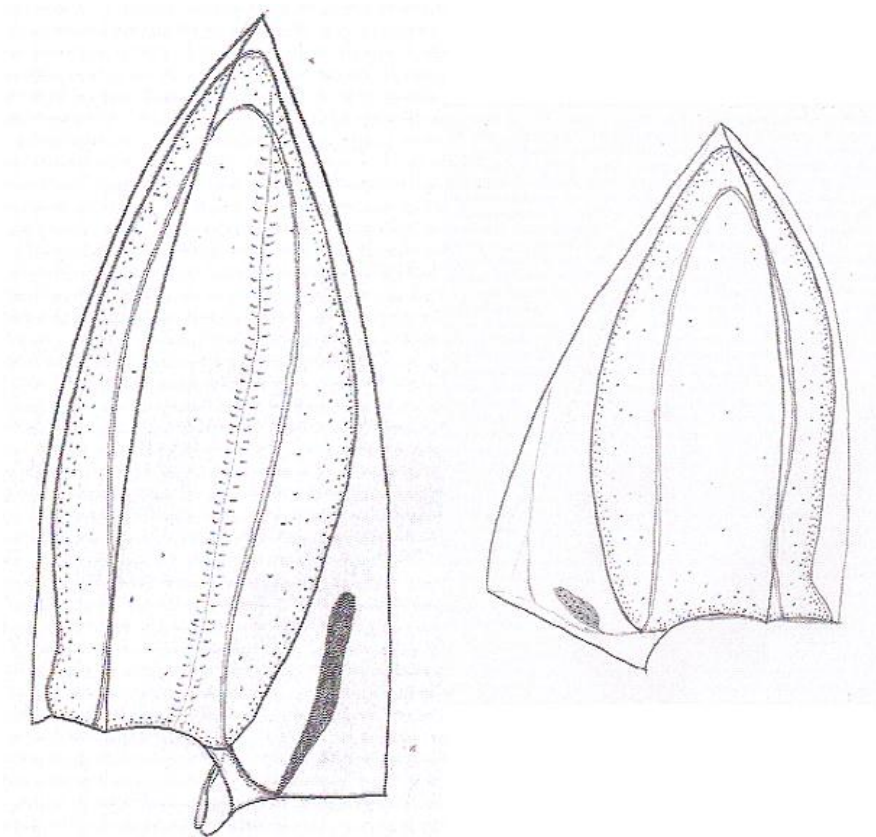


Fig. 7. Two common species of diphyids. (a) *Lensia conoidea* (Kefferstein & Ehlers), lateral view; (b) *Lensia hotspur* (Totton), lateral view.

***Lensia quadriangulata* sp. nov.**

(Fig. 8)

Description:

Remarks: We were tempted to include this new species as a variety of *Lensia hotspur*, but the absence of the upper ridge has not be detected in other diphyine species except for the genus *Chelophyes*, which actually has a reduced upper ridge. The provisional inclusion as a

new species will be able for future students to prove its validity, otherwise, the species could eventually overlap or confuse with *L. hotspur*, which is identical except for the presence of the upper ridge.

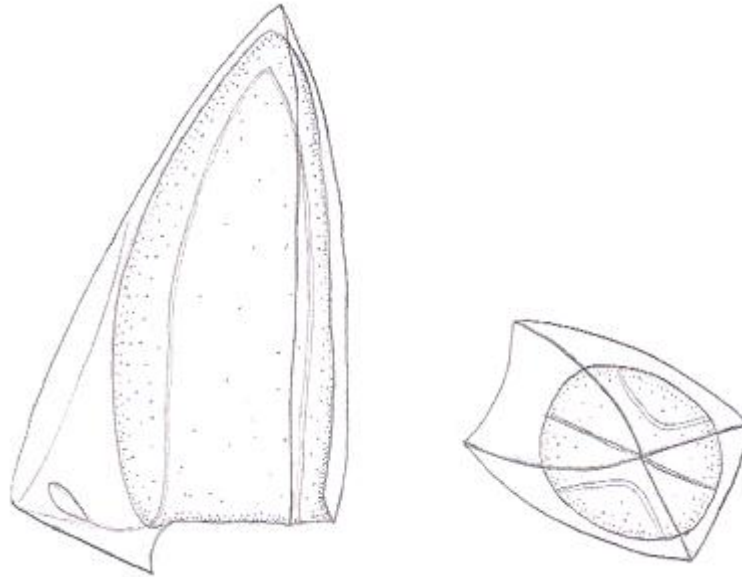


Fig. 8. A new species of diphyid, *Lensia quadriangulata* sp. nov. (a) Lateral view; (b) Apical view.

***Lensia gnanamuthui* Daniel y Daniel, 1963**

Remarks: Described by Daniel & Daniel (1963b). Mapstone (online database) consider this species as a synonym with *L. hotspur*, but the deep of the hydroecium, the evident pedicel, are alone, enough to separate both species. It was recorded several times by Gibbons and Thibault-Botha (Gibbons & Thibault-Botha, 2002; Thibault-Botha et al., 2004; Thibault-Botha & Gibbons, 2005). As the deep of the hydroecium, we deal this species within the genus *Lensia*. It seems to be endemic from the Indian Ocean, but as *Pagesia asymmetrica*, the absence of figures in guides, could carry to overlook the species.

***Lensia leloupi* Totton, 1954**

=?*Lensia nagabushanami* Daniel, 1970

Remarks: Although some anterior nectophores were found in some samples from the Gordon Gunter Expeditions (2006, 2011) nothing could be added to our knowledge of the species. Although Pugh (1999) stated that the posterior nectophore is unknown, Daniel (1985) poorly illustrates and figures this structure, from which could be noted that the laterals are incomplete. It seems probable that the lateral ridges from the anterior and posterior nectophores are homologous inasmuch as resemble each other in nature (e.g. the bent ridges

in *L. achilles*, incomplete ridges in *L. leloupi* and *C. multicristata*, and straight and complete ridges in other species). No more details are given by Daniel, so, the nature of the pedicular canal (if direct or disjunct) or the presence or absence of a tongue-shaped projection are features still unknown.

Daniel (1970) introduces a new species under the name *Lensia nagabushanami*, but we consider that the diagnostic characteristics given by the author do not warranted the specific identity and only one nectophore is recorded in the literature (that from which the species is described). It is probable that actually belongs to a distorted or young nectophore of *L. leloupi*, but due the limited knowledge of the siphonophores in the Indian Ocean we take some doubts.

***Lensia panikkari* Daniel, 1970**

Remarks: Described by Daniel (1970) from one specimen from the Indian Ocean, this species was record again by Pugh (1990) in the Atlantic Ocean as is recorded in some reports of the Southampton Oceanographic Center. This species has escaped from notice because has been excluded from the most consulted guides, even that of Pugh (1999). This species was recorded again in three papers of Thibault-Botha and Gibbons (Gibbons & Thibault-Botha, 2002; Thibault-Botha et al., 2004; Thibault-Botha & Gibbons, 2005) for the eastern coast of South Africa, and in the last of their work they include a brief description and a good illustration for their nectophore.

?*Lensia lebedevi* Alekseev, 1984

Remarks: Doubtful validity, similar to *Lensia conoidea*, but the lateral ridges don't reach the base of the nectophore. Mapstone and van der Land considered this species a junior synonym of *L. achilles* on the website UNESCO-IOC Register of Marine Organisms (last taxonomic scrutiny 2000-2007), but this is improbable due the straight and incomplete lateral ridges. For the present it seems convenient to consider as a valid species in the genus *Lensia*.

?*Lensia patritii* Alekseev, 1984

Remarks: Doubtful validity, similar to *Lensia hotspur*, but the lateral ridges don't reach the base of the nectophore. For the present it seems convenient to consider as a valid species in the genus *Lensia*.

?*Lensia eugenioi* Alvariño & Wojtan, 1984

Remarks: Doubtful validity. Pugh (1999) considered this species as a junior synonym of *Lensia campanella*, but according to the figures given by Alvariño & Wojtan (1984) that

conclusion makes non-sense. We could not refer that species to another already described. It is similar to *Lensia achilles* but with a short mouth plate.

?*Lensia canopusi* Stepanjants, 1977

Remarks: Described by Stepanjants (1977). Doubtful validity. We concluded that the nectophore recorded by Gasca & Suárez (1993) belongs to *L. cossack* with no somatocyst as a result of starvation or preservation artifact (observed in other species and also in *L. cossack* as a result of reduction of the opaque mass). Zhang and Lin (1997) recorded this species from the South China Sea, but we consider it as a dubious record because only is listed and no figures or description is given. Zhang (2005) reproduced a figure of this species based on other from 1984. This species is a probable synonym of *Lensia hotspur* Totton.

***Lensia tottoni* Daniel y Daniel, 1963**

Remarks: Described by Daniel & Daniel (1963a). Although this species is similar to *L. hotspur*, the characteristic orientation and incompleteness of its lateral ridges makes difficult to state that they are conspecific. Zhang and Lin (1997) recorded this species from the China Sea. Mapstone (2009) recognized the possibility that this species is valid as we are.

***Lensia hardy* Totton, 1941**

Remarks: Although Pugh (1999) mentioned that the posterior nectophore of this species is undescribed, Daniel (1974, 1985), Palma (1974) and Pagès & Gili (1992) had provided figures and description. Furthermore, Daniel (1985) has some illustrations of the eudoxids, although we have some doubts about their true identity and the fact mentioned by Daniel that the gonophores are five-ridged. If true, is unique between the diphyids (except some abyloid genera and *Gilia*).

Subfamily Carreiinae subfam. nov.

Diagnosis: Monotypic subfamily. See diagnosis of the genus.

Type genus: *Carreia* gen. nov.

Genus *Carreia* gen. nov.

Diagnosis: Anterior nectophore somewhat rigid and devoid of ridges. Apically rounded. Nectosac follows the nectophore contour at short distance. Hydroecium is shallow, below the ostium level. Basal facet oblique. Mouth plate divided in two short rounded lappets, which extend below the ostium a short distance. Somatocyst is ovoid borne on an oblique stalk (pedicel). Medium-sized pedicular canal, slightly oblique, joints the nectosac at ostial level.

Posterior nectophore apically truncated without a rounded central prominence but a shallow funnel. Mouth plate very short and rounded. Disjunct pedicular canal. Eudoxid bract rounded with a minute and rounded somatocyst. Smooth walled. No neck shield. Gonophores apically truncated, with a basal contraction. The four ridges could be discerned, but only the hydroecial ones are obvious, forming an apical shallow hydroecium with two short hydroecial wings.

Type species: *Carreia subtilis* (Chun, 1886).

Remarks: Molecular data for *Lensia subtilis* is still unavailable, but morphological evidence allows us to provide a distinct genus for the species. Unlike other ridgeless species, the pedicular canal is long. This feature could be seen as an intermediate phase between the genus *Lensia* and *Sulculeolaria*, but molecular data are required for establish its phylogenetic relationships. Totton (1954, 1965a) described and illustrated a variety of this species, *Lensia subtilis* var. *chuni* that is herein dealt with as a separate species. We have suspicious that this form is actually a species related with *Dunnia meteori* as was commented above. The new genus is named *Carreia* after Daniëlle & Claude Carré.

***Carreia subtilis* (Chun, 1886) n.comb.**

= *Diphyes subtilis* Chun 1986; *Lensia subtilis* (Chun, 1986)

(Fig. 2d)

Remarks: It is a well-known species with a worldwide distribution in temperate and subtropical waters, although it is abundant in the Mediterranean Sea. Little could be added to our knowledge of this species, but must be noted that the pedicular canal is long, which suggests its inclusion in Pentacrestata. We are inclined to think that this species is related with the genus *Sulculeolaria* but we must to wait for molecular data.

***Carreia chuni* (Totton, 1965) n.comb.**

= *Lensia subtilis* var. Totton, 1954; *Lensia subtilis* var. *chuni* Totton, 1965

(Fig. 2f)

Remarks: Totton (1954) tempted to find a link between *Lensia meteori* and *L. subtilis* considered than some nectophores of the last were at some degree a variation. Totton (1965a) named this form as *Lensia subtilis* var. *chuni*, but for us, this form is very constant, and it is found in subtropical and tropical waters from the Caribbean Ocean, Gulf of Mexico and Pacific Ocean. We never found specimens with a long pedicel though they were abundant, and present a swelling in the upper face of the nectophore (see Fig. 1f). The pedicular canal is

very short. These nectophores were always delicate and minute ones, unlike those of *Carreia subtilis*. In lower view, some somatocyst presented a heart shape. We then respect the Totton's name "*chuni*" but remove the "*subtilis*" name. Posterior nectophore is unknown.

Invalid species

Lensia achilles bigelowi Stepanjants, 1967 = *Lensia cordata* Totton, 1965

Lensia baryi Totton, 1965 = *Lensia achilles* Totton, 1941

Lensia campanella elongata Margulis, 1984 = *Sulculeolaria chuni* (Lens & van Riemsdijk, 1908)

Lensia eltanin Alvariño & Wojtan, 1984 = *Lensia achilles* Totton, 1941

Lensia landrumae Alvariño & Wojtan, 1984 = *Lensia hunter* Totton, 1941

Lensia nagabushanami Daniel, 1970 = *Lensia leloupi* Totton, 1954

Lensia peresi Patrity, 1970 = *Lensia hostpur* Totton, 1941

Lensia roonwali Daniel, 1970 = *Lavaniegosia campanella* (Moser, 1913)

Lensia tiwarii Daniel, 1970 = *Sulculeolaria chuni* (Lens y van Riemsdijk, 1908)

Discussion

Several five-ridged *Lensia* were not included in the molecular analysis by Villanueva et al. (in prep.), but could be morphologically related to some of the represented species, except for *L. hardy* whose status remains unknown as the nature of its posterior nectophore and eudoxids is peculiar. At this time it is tentative retained in *Lensia*. Ridgeless, seven-ridged and multi-ridged species, as well as the five-ridged *L. fowleri*, have no relation with the group of true *Lensia*, defined by the five-ridged type species, *L. subtiloides*. The new proposed arrangement is therefore required and fully justified. On the light of the new molecular data, *L. achilles* Totton, a species sharing several morphologic characters with the type species, is not closely related with other five-ridged species and differs from them in the structure of its pedicular canal of the posterior nectophore, a character often overlooked but important. Unfortunately, the low support values resulting from the phylogenetic analyses (Villanueva et al. in prep.) and the topologic conflict with the alternative tree, do not allow us to propose a fully-supported taxonomic alternative. The provisional diagnosis of the genus *Lensia* excludes the species with more or less than five ridges, and also those five-ridged species with an ovoid phyllocyst in the bract. It also excludes the five-ridged species whose ridges do not join apically and have a rounded apex, as in *L. campanella*.

The monophyly of the multiridged forms is still not supported. The molecular analysis, however, suggests that the multiridged condition is plesiomorphic and morphological analysis

suggests that the species *L. hostile* Totton + *L. ajax* Totton + *L. quadriculata* represent a monophyletic clade at the base of the seven-ridged species. The species *L. grimaldi* Leloup + *L. exeter* Totton form a related but distinct clade which includes also the ridgeless species *L. meteori* (Leloup). So, it is probable that the multiridged species are paraphyletic and thus, two genera are required for comprise all the species. Although the species *L. lelouveteau* Totton was not included in molecular analysis the presence of velar ridge seems to link it with the *grimaldi* + *exeter* clade. Overall, the seven-ridged species appear to constitute a monophyletic group, but both molecular and morphological data indicate enough distance between them to erect at least two distinct genera. Ortman et al. (2010) first showed the existence of two cryptic species of *L. multicristata*, based on COI sequences, but Ortman (pers. comm.) noted that with 28S molecular analysis no variation is detected. Indeed, 28S sequences in siphonophores are very conservative and such differences are not expected to be detected (Dunn, pers. comm.).

Totton (1932) probably included *Galeolaria multicristata* Moser (a seven-ridged species) in his genus *Lensia* based on the similarity between this species and *Diphyes conoidea* Keferstein & Elhers (= *Lensia conoidea*). Such similarity is observed mainly in the structure of the anterior nectophore (size, somatocyst shape and height/width ratio) and the course of the lateral radial canals in the posterior nectophore. All these characters are deemed as plesiomorphies (Villanueva et al. in prep) and some of them are found to be retained in *Wolegibia fowleri*, as a basal species of the Pentacrestata.

After describing his *Lensia grimaldi*, Leloup (1934) realized that his multiridged specimens show a degree of variation in shape of the somatocyst and number of ridges, so, he considered his new species only as a variety of *Lensia multicristata* (named *Lensia multicristata* var. *grimaldi*) but Totton (1941) considered (correctly) that that variation was result of the presence of several species in the Leloup's material. Judging by the material analyzed, there are obvious similarities between *L. multicristata* complex and multiridged species, mainly with *L. ajax*, but these similarities are probably due to the pleisomorphic features.

Molecular data, combined with morphological observations, allow us to deal with this polyphyletic grouping and consequently erect new taxonomic categories (genera and subfamilies), therefore, a new taxonomic arrangement for the Diphyidae. Although the phylogenetic relationships of some species (e.g. *Lensia asymmetrica* Stepanjants) are still unknown, their inclusion in the five-ridged genus *Lensia* could not be permissible, so, we

based our generic diagnosis only on morphological evidence. We do not consider that this implies taxonomic instability.

We considered the possibility that the species now ascribed to the genera *Dunnia* could be conspecific with the genus *Gilia*, but what could be the bract of a multiridged species is more similar with *Muggiaea* than with *Gilia*, and has several longitudinal ridges and a fusiform phyllocyst, unlike *Gilia reticulata*. So, although COI sequences for this reticulate species are required seems to be improbable that is related with the multiridged diphyids.

Currently, *Lensia* continues to be a trashcan genus, but the result of the molecular data allowed us to clarify some of the intra-generic relationships to retain only five-ridged species. In our opinion, *Lensia hardy* has enough synapomorphies to be considered in a separate genus, but additional molecular evidence is necessary to confirm this. The importance of the completeness of the lateral ridges in some species is still unweighted, so, further research is required.

Molecular data suggest that some recognized species are actually cryptic species complexes, as is the case of *Cuquita multicristata* (see Ortman et al. 2010; Villanueva et al. in prep.). The similarity between *Lensia challengerii* and *L. beklemishevi* would have been a conclusion of synonymy without molecular data. We have suspicions that the complex *campanella-cossack* is another case of cryptic species. Alive-collected material that allow us to check morphological features before ethanol preservation for molecular analysis, and a geographical approach survey will be helpful for resolve some problems with cryptic species. Similar scenario is seen in the genus *Sulculeolaria*, were four species are still doubtful: *S. pacifica* Stepanjants, *S. xishaensis* Hong & Zhang, *S. britoni* Alvariño and *S. bigelowi* Sears, the last two, considered on synonymy by Carré (1979).

Finally, more research effort is required in the Indian Ocean, a region with very special oceanographic conditions, to allow us to test the validity of the species described from this region (In 2005, Thibault-Botha & Gibbons reintroduced two previously doubtful species of *Lensia*).

Acknowledgements

We are grateful to Dr. Bertha Lavaniegos (CICESE) and Dr. Jaime Gomez-Gutierrez (CICIMAR) for allowing us to obtain material from the collections in their care. Finally, we express our sincere thanks to Dr. Eduardo Suárez-Morales, Dr. Mario Favila and Dr. Carla Gutierrez for their comments to improve this paper. AIRV was supported by a grant from the

Mexican Government (CONACYT, grant number: 58627) and the Graduate Academic Committee (CAP, for its acronymy in Spanish) of the Instituto de Ecología, A.C. (INECOL).

References

- Alekseev D.O. 1984. New species and subspecies of the siphonophore genus *Lensia* (Calycophorae). *Zoologicheskii Zhurnal*, 63:965-970 (in Russian).
- Alvariño, A. & J. M. Wojtan. 1984. Three new species of *Lensia* and description of the eudoxia stages of *Lensia reticulata* and *Lensia lelouveteau* (Calycophorae: Siphonophorae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 97(1):49-59.
- Bigelow, H. B. 1911. Biscayan plankton collected during a cruise of H.M.S. "Reserch"1900. XIII. The Siphonophora. *Trans. Linnean Soc. London.* ser. 2. 10:337-358.
- Bigelow, H. B. & M. Sears. 1937. Siphonophorae. *Report of the Danish Oceanographic Expedition to the Mediterranean.* II. (Biology). H.2, 1-144.
- Browne, E. T. 1926. Siphonophorae from the Indian Ocean. III. The Percy Sladen Trust Expedition to the Indian Ocean in 1905. *Ser. 2, 19: 55-86.*
- Carré, C. 1968. L'eudoxie de *Lensia campanella* Moser 1925, avec des précisions sur le stade polygastrique (Siphonophore Calycophore Diphyidae). *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle*, 40(2): 438-445.
- Carré, C. 1979. Sur le genre *Sulculeolaria* Blainville, 1834 (Siphonophora, Calycophorae, Diphyidae). *Ann. Inst. Océanogr.*, 55 (1):27-48.
- Daniel, A. & R. Daniel. 1963a. On a new species of *Lensia* from the Bay of Bengal. *Annals and Magazine of Natural History*, Ser. 13 5(58): 1962, 621-623.
- Daniel, A. & R. Daniel. 1963b. *Lensia gnanamuthui* a new siphonophore from the Madras plankton. *Journal of the Bombay Natural History Society*, 60(3): 751-753.
- Daniel, R. 1970. Some new species of Siphonophora (Coelenterata) from the Indian Ocean. *Journal of the Zoological Society of India*, 22(1 and 2): 147-156.
- Daniel, R. 1974. Siphonophora from the Indian Ocean. *Memoirs of the Zoological Survey of India.* 15(4):1-242.
- Daniel, R. 1985. Coelenterata: Hydrozoa Siphonophora. *The fauna of India and adjacent countries*, Zoological Survey of India, 440 pp.
- Gasca, R. & E. Suárez-Morales. 1993. Primer registro de *Lensia canopusi* Stepanjants (Cnidaria: Siphonophora) en el Océano Atlántico. *Caribbean Journal of Science* 29(1-2):126-127
- Gibbons, M.J. & D. Thibault-Botha, 2002. Zoogeography and diversity of epipelagic siphonophores around southern Africa. *Journal of Marine Biological Association, U.K.*, 82 (5): 801-810
- Gili, J.M. & F. Pagès. 1987. Sifonóforos recolectados en aguas antárticas por la expedición "Maga Dann" (1966-1967). *In: Castellví, J. (ed.), Actas de II Symposium Español de Estudios Antárticos.* 343-352. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
- Kirckpatrick, P. A. & P. R. Pugh. 1984. Siphonophores and vellelids. *In Synopses of the British Fauna (New Series).* No. 29. *Edited by D. M. Kermack and R. S. K. Barnes.* E. J. Brill, Leiden, The Netherlands.
- Leloup, E. 1933. Siphonophores calycophorides provenant des campagnes du Prince Albert 1er de Monaco. *Résult. Camp. Sci. Monaco*, Fasc. 87, 1-67.
- Leloup, E. 1934. Siphonophores calycophorides de l'océan Atlantique tropical et austral. *Bulletin du Musée*

- Royale d'Histoire Naturelle Belgique 10: 1-87.
- Mackie, G.O., P.R. Pugh & J.E. Purcell. 1987. Siphonophore biology. *Advances in Marine Biology* 24: 97-262.
- Maddison, W. & D. Maddison. 2004. Mesquite: A modular system for evolutionary analysis. Version 1.04. www.mesquiteproject.org.
- Mapstone, G.M. 2009. Siphonophora (Cnidaria, Hydrozoa) of Canadian Pacific Waters. NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canada. 302 pp. including 65 figs.
- Margulis, R. Ya. 1970. A new species *Lensia zenkevitchi* sp. n. (Siphonanthae, Calycophorae) from the Atlantic Ocean. *Zoologicheskii Zhurnal*, 49(1): 148-149 (in Russian).
- Margulis, R. Ya. 1982. A new genus and species of the Siphonophora (Coelenterata, Hydrozoa) from the Polar Basin, with some notes on other Siphonophora. *Zoologicheskii Zhurnal*, 31(3): 440-444 (in Russian).
- Margulis, R. Ya. 1992. Siphonophora from the Indian Sector of the Antarctic. pp. 125–134 in “*The Antarctic*”. The Committee Reports No. 30. Nauka, Moscow.
- Margulis, R. Ya. & D. O. Alekseev. 1985. On the genus *Lensia* (Siphonophora, Calycophora). *Zoologicheskii Zhurnal*, 64: 5-15 (in Russian).
- Margulis, R. Ya. & D. O. Alekseev. 1986. *Lensia beklemishevi* sp. n. (Siphonophora, Calycophora) from the Indian Ocean. *Zoologicheskii Zhurnal*, 65(5): 789-791 (in Russian).
- Moser, F. 1925. Die Siphonophoren der Deutschen Südpolar Expedition, 1901-03. *Deutsche Südpolar Expedition*, 17 Zoology, 9: 1-541.
- Ortman, B. D., A. Bucklin, F. Pagès & M. Youngbluth. 2010. DNA barcoding of the Medusozoa using mtCOI. *Deep-Sea Research*. II, 57:2148-2156.
- Pagès, F., P. Flood & M. Youngbluth. 2006. Gelatinous zooplankton net-collected in the Gulf of Maine and adjacent submarine canyons: new species, new family (Jeanbouilloniidae), taxonomic remarks and some parasites. *Scientia Marina* 70: 363-379.
- Pagès, F. & J.-M. Gili. 1992. Siphonophores (Cnidaria, Hydrozoa) of the Benguela Current (southeastern Atlantic). *Scientia Marina*, Barcelona 56 (Suppl. 1): 65-112.
- Pagès, F. & S. B. Schnack-Schiel. 1996. Distribution patterns of the mesozooplankton, principally siphonophores and medusa, in the vicinity of the Antarctic Slope Front (easter Weddell Sea). *Journal of Marine Systems*, 9: 231-248
- Palma, S. 1974. Contribución al estudio de los sifonóforos encontrados frente a la costa de Valparaíso. I. Taxonomía. *Investigaciones marinas*. 4(2): 17-88.
- Pugh, P. R. 1974. The vertical distribution of the Siphonophores collected during the Sond Cruise, 1965. *J. Mar. Journal of Marine Biology Association of the United Kingdom*, 54:25-90.
- Pugh, P.R. 1990. Biological Collections made during Discovery Cr. 175 to BIOTRANS Site (c. 470N,200W). Vol.277 of Report/Institute of Oceanographic Sciences, Institute of Oceanographic Sciences Deacon Laboratory (Great Britain)
- Pugh, P.R. 1999. ‘Siphonophorae’. In “South Atlantic Zooplankton” (D. Boltovskoy, ed.), Backhuys Publishers, Leiden, pp. 467-511.
- Pugh, P. R. & F. Pagès. 1995. Is *Lensia reticulata* a diphyine species (Siphonophorae, Calycophora, Diphyidae)? A redescription. *Scientia Marina* 59: 181-192.
- Pugh, P.R. & F. Pagès. 1997. A re-description of *Lensia asymmetrica* Stepanjants, 1970 (Siphonophorae,

- Diphyidae). *Scientia Marina*, 61(2):153-161.
- Pugh, P.R., F. Pagès & B. Boorman. 1997. Vertical distribution and abundance of pelagic cnidarians in the eastern Weddel Sea, Antarctica. *Journal of Marine Biology Association of the United Kingdom*, 77(2): 341-360.
- Quoy, J. R. C. & J. P. Gaimard. 1827. Observations zoologiques faites à bord de 'l'Astrolabe', en mai 1826, dans le detroit de Gibraltar. *Ann. Sci. nat.* X, 5-21, 172-193.
- Stepanjants, S. D. 1967. Siphonophores of the seas of the USSR and the north western part of the Pacific Ocean. *Opredeliteli po Faune SSSR, Izdavemye Zoologicheskim Museum* 96: 216 pp (in Russian).
- Stepanjants, S. D. 1970. Siphonophora of the southern part of the Kurile-Kamchatka Trench and adjacent marine areas. *Trudy Instituta Okeanologii* 86: 222-236 (in Russian).
- Stepanjants, S. D. 1977. Siphonophora of the central part of the Pacific Ocean. In: "Explorations of the Fauna of the Seas" XX (XXVIII) Marine Plankton. (Systematics and Faunistics), pp. 54-81 (in Russian).
- Thibault-Botha D. and M. J. Gibbons. 2005. Epipelagic siphonophores off the East Coast of South Africa. *African Journal of Marine Science*
- Thibault-Botha D., J. R. E. Lutjeharms and M. J. Gibbons. 2004. Siphonophore assemblages along the East Coast of South Africa. Mesoscale distribution and seasonal variations. *Journal of Plankton Research*, 26(9), 1115-1128.
- Totton, A. K. 1932. Siphonophora. Scientific reports. Great Barrier Reef Expedition, 1928-29 4: 317-374.
- Totton, A. K. 1941. New species of the Siphonophoran genus *Lensia*, 1941. *Annals and Magazine of Natural History*, (II), 8: 145-168.
- Totton, A. K. 1954. Siphonophora of the Indian Ocean together with systematics and biological notes on related specimens from other oceans. *Discovery Reports*, 27: 1-162.
- Totton, A. K. 1965a. A Synopsis of the Siphonophora. London; Trustees of the British Museum (Natural History): 230 pp.
- Totton, A. K. 1965b. A new species of *Lensia* (Siphonophora: Diphyidae) from the coastal waters of Vancouver, B.C.; and its comparison with *Lensia achilles* Totton and another new species *Lensia cordata*. *Annals and Magazine of Natural History*, 8: 71-76.
- Zhang, J. 2005. Pelagic Siphonophora in China Seas. China Ocean. Press, Beijing. 151 pp.
- Zhang, J. & M. Lin. 1988. On a new species of deep-water Siphonophora, *Lensia multicristoides* sp. nov. from middle South China Sea. *Acta Oceanologica Sinica*, 7(1): 115-118.
- Zhang, J. & M. Lin. 1997. Study on the ecogeography of Siphonophora in the South China Sea. *Acta Oceanologica Sinica*, 19(4): 121--131.
- Zhang, J. & M. Lin. 2001. The siphonophores and its distribution in Southern Edge Waters of Canada Basin, Arctic Ocean. *Chinese Journal of Polar Research*, 13(4): 253-263. (in Chinese).

CONCLUSIONES GENERALES

De acuerdo con los resultados de los análisis moleculares y morfológicos, el género *Lensia* Totton es polifilético e incluye por lo menos especies de cuatro linajes independientes que pueden definirse de manera general por el número de crestas. Estos resultados soportan la hipótesis propuesta inicialmente. No es posible hablar del género *Lensia* como una entidad aislada de Diphyidae, razón por la cual el presente trabajo tuvo repercusiones a nivel familia y no únicamente genérico o interespecífico. El género *Lensia* sensu stricto es definido por *L. subtiloides* (Lens y van Riemsdijk), la especie tipo seleccionada por Totton (1932), y comprende únicamente especies de cinco crestas. Las características diagnósticas que Totton propuso en 1965 son resultado de características plesiomórficas a toda la familia Diphyidae, entre estas características destacan la ausencia de dientes ostiales, la placa basal dividida del nectóforo anterior y el nectóforo posterior con canales radiales laterales en forma ligeramente sigmoide. Totton (1932) nunca respetó el principio (sugerido por él mismo) de que los nectóforos, en corte transversal, son pentagonales, ya que desde la creación del género agregó a él especies de siete crestas (i.e. *Lensia multicristata* (Moser)) e incluso especies sin crestación evidente (i.e. *Lensia subtilis* (Chun), *L. campanella* (Moser)).

Nuestros análisis le dan peso a una característica que ha sido ignorada en las diagnósis y descripciones de Diphyidae, la longitud del canal pedicular. La condición ancestral es un canal pedicular corto, visto en los linajes de siete y múltiples crestas, así como en la mayoría de las especies sin crestas (géneros *Dimophyes*, *Pagesia*, *Lavaniegosia*, *Cuquita*, *Mapstonia*, *Dunnia* y *Haddockia*). En Pentacrestata se observan canales pediculares que tienen longitud considerable, lo que provoca una separación evidente entre el somatocisto y la base del nectosaco, aunque esto a veces no resulta evidente en el género *Muggiaea* Busch dada la orientación vertical de la pared superior del hidroecio.

El trabajo realizado por Totton (1932, 1954, 1965) fue un gran adelanto al manejo taxonómico de la familia Diphyidae en particular. Su arreglo ha sido recuperado por los análisis moleculares con la notable excepción del género *Lensia*. Por otro lado, aunque la familia Abylidae no puede ser sostenida sin comprometer la monofilia de Diphyidae, sus observaciones intergenéricas han sido probadas en el estudio molecular (quizás la única excepción fue el género *Enneagonum* que se excluye de Abylopsinae). No obstante, hay que reconocer que en su tiempo el cladismo no se había aún desarrollado y por lo tanto, su enfoque evolutivo tenía bastante sentido.

En base a los resultados obtenidos con las secuencias de COI para 39 especies, y con el soporte de la evidencia morfológica, se proponen diez nuevos géneros. Aunque por sí solos los análisis moleculares deben ser tratados con cuidado, son una herramienta invaluable para entender las relaciones entre taxa cuando un gen con variación adecuada es seleccionado como es el caso del presente estudio. Un ejercicio donde se analicen de manera conjunta el COI y 16S podría proveer información más precisa, así como la inclusión de un mayor número de especies.

El entendimiento de la evolución de los sifonóforos está aún en desarrollo, y falta aún cubrir ciertas áreas de estudio, como son la biología del desarrollo y aspectos de histología. El primer aspecto fue ampliamente tratado por Claude y Danièle Carré en las décadas de los 60s y 70s del siglo pasado, pero hoy en día es un campo abandonado. Los aspectos de histología son una de las lagunas más grandes en el conocimiento de los sifonóforos, aunque algunos trabajos han sido realizados sobre nematocistos en tiempos recientes (e.g. Kass-Simon y Scappaticci 2002).

Las nuevas herramientas con las que la biología cuenta el día de hoy prometen un avance considerable en el conocimiento, no sólo de este grupo, sino de la biodiversidad en general. Por otro lado, es evidente la necesidad de explorar de aguas profundas. El potencial de México en cuanto al conocimiento de los sifonóforos es grande, debido a su posición entre dos océanos que a su vez se dividen en varias provincias marinas.

Cita mencionada en el texto:

Kass-Simon, G. y Scappaticci, A.A. 2002. The behavioral and developmental physiology of nematocysts. *Can. J. Zool.* 80: 1772-1794.