

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS



**“DELIMITACIÓN DE ESPECIES DE LOS GÉNEROS
Pyropia/Porphyra (BANGIALES, RHODOPHYTA) DE LA COSTA
PERUANA EN BASE A MARCADORES MOLECULARES”**

Presentada por:

DIEGO ARTURO MÁRQUEZ CORIGLIANO

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

**Lima-Perú
2019**

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS

**“DELIMITACIÓN DE ESPECIES DE LOS GÉNEROS
Pyropia/Porphyra (BANGIALES, RHODOPHYTA) DE LA COSTA
PERUANA EN BASE A MARCADORES MOLECULARES”**

Presentada por:

DIEGO ARTURO MÁRQUEZ CORIGLIANO

Tesis para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGO

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Mg. Sc. Abelardo Calderón Rodríguez
PRESIDENTE

Mg. Sc. Rosa Espejo Joya
MIEMBRO

Mg. Sc. Roberto Mansilla Samaniego
MIEMBRO

Dra. Patricia Liliana Gil Kodaka
ASESORA

Dra. Natalia Cristina Arakaki Makishi
Co - ASESORA

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es el fruto del esfuerzo no solo de mi persona, sino de todo un grupo de personas que con mucho entusiasmo me brindaron todo su apoyo. Por ello me veo en la necesidad de darles la debida gratitud y respeto que se merecen.

En primer lugar, quiero agradecer al creador de todo lo visible e invisible, que me da la vida y la inteligencia para poder continuar con mis metas personales y seguir avanzando profesionalmente. Quiero agradecer a mis padres Omar Márquez Loja y Piedad Corigliano Espinal que de forma incondicional me dieron todo su apoyo y su amor. A mis hermanas Lucía Márquez Corigliano y Mariester Márquez que a través de sus preocupaciones y consejos fueron mi soporte durante mis dudas y flaquezas.

Esta tesis no pudo haberse realizado sin el apoyo del Proyecto de cofinanciamiento 017-2016 FONDECYT - CONCYTEC “Estudio poblacional y delimitación de especies de macroalgas de la costa peruana usando herramientas moleculares, para su aprovechamiento en la alimentación e industria”. Mi agradecimiento mas sincero y profundo para la Dra. Natalia Arakaki Makishi (coordinadora del proyecto) y a la Dra. Patricia Gil Kodaka (asesora de tesis) que han estado conmigo en todo momento dándome su apoyo y sugerencias para que este trabajo sea mucho mejor. Muchas gracias profesoras porque desde el primer día que me puse en contacto con ustedes me otorgaron toda su confianza. Les aseguro que los consejos que me brindaron durante este tiempo los tengo guardado como un memorial en mi corazón.

De una forma especial quiero a agradecer a la Dra. Florence Tellier de la Universidad Católica de la Santísima Concepción, Chile que gracias a sus conocimientos y su experiencia en el campo de la investigación me dieron muchas sugerencias que le dieron mayor calidad a mi trabajo. Muchas gracias profesora porque a pesar de no disponer de mucho tiempo por todas sus actividades académicas se ha dispuesto a corregir este trabajo confiando en la calidad de esta tesis. Todos los consejos que me ha brindado durante este tiempo de trabajo, los he tomado constructivamente para mejorar no solo la calidad de esta tesis, sino también mejorar como biólogo profesional.

Quiero agradecer también al Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos del Instituto del Mar del Perú que me brindó el espacio y me dio muchas facilidades para poder realizar los análisis que la tesis requería. No quiero dejar de mencionar a sus

trabajadores: Carla Aguilar, Cecil Tenorio, Pedro Sánchez y Hanna Hernández que a través de su compañía y experiencia hicieron que mi estadía en el laboratorio fuera muy acogedora. También a sus tesoreras que de alguna forma les tengo mucha estima y cariño: Melissa Perez Alania y Jorman Enriquez. No puedo dejar pasar la oportunidad de agradecer a mi compañero del proyecto Sigfried Suárez Alarcón que con sus ocurrencias y habilidades hicieron que los objetivos del proyecto se realizaran de la mejor forma.

Si tendría que mencionar a todas las personas que de alguna forma se involucraron con este proyecto, no me alcanzarían las paginas ni las palabras para mostrar mi gratitud. Solo espero que en este camino que quiero tomar como biólogo e investigador sigan depositando su confianza en mí.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. FAMILIA BANGIACEAE	4
2.2. EL GÉNERO <i>PORPHYRA SENSU STRICTO</i>	6
2.3. EL GÉNERO <i>PYROPIA</i>	6
2.4. <i>PORPHYRA SENSU LATO</i> EN LA COSTA TEMPERADA DEL PACÍFICO SUDAMERICANO	7
2.5. IMPORTANCIA ECONÓMICA DE BANGIALES FOLIOSAS	9
2.6. CONCEPTO FILOGENÉTICO DE ESPECIE Y DELIMITACIÓN DE ESPECIE	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS	14
3.1 MUESTREO	15
3.2. EXTRACCIÓN DE ADN	15
3.3. AMPLIFICACIÓN, SECUENCIAMIENTO Y ALINEAMIENTO	19
3.4. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS.....	20
3.5. DELIMITACIÓN DE ESPECIES EN BASE A SECUENCIAS DE ADN.....	20
3.6. DISTANCIA GENÉTICA	22
3.7. REDES DE HAPLOTIPOS	22
3.8. ANALISIS MORFOLÓGICO	22
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
4.1. FILOGENIA Y DELIMITACIÓN DE ESPECIES DE <i>PORPHYRA</i> Y <i>PYROPIA</i> ..	23
4.2. VARIACIÓN INTRAESPECÍFICA E INTERESPECÍFICA	25
4.3. ANÁLISIS FILOGEOGRÁFICOS.....	30
4.4. ANÁLISIS MORFOLÓGICO DE 2 ESPECIES DE <i>PYROPIA</i>	31
4.5. DISCUSIÓN	31

V. CONCLUSIONES	46
VI. RECOMENDACIONES.....	47
VII. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	48
VIII. ANEXOS	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Datos de colecta, códigos de colecta y resultado de los procesamientos alcanzados para los especímenes evaluados en este trabajo.	16
Tabla 2: Resumen de los resultados arrojados por los métodos GMYC y ABGD.....	34
Tabla 3: Distancia genética promedio de las entidades delimitadas por ABGD y GMYC en base al marcador <i>rbcL</i>	35
Tabla 4: Distancia genética promedio de la entidades delimitadas por ABGD y GMYC en base al marcador COI.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Puntos de colecta de los especímenes de foliosas de la familia Bangiaceae estudiados en esta tesis, incluyendo material colectado en trabajos previos.....	18
Figura 2: Árbol de Máxima Verosimilitud (ML) del orden Bangiales para las secuencias <i>rbcL</i> (875 pb) donde colocaron los géneros propuestos por Sutherland et al. (2011).....	26
Figura 3 Ampliación del clado de <i>Porphyra</i> en base al marcador <i>rbcL</i> . Los arboles están contruidos en base al método ML incluyendo el soporte ML e IB (ML/IB).....	27
Figura 4: Ampliación del clado de <i>Pyropia</i> en base al marcador <i>rbcL</i> . Los arboles están contruidos en base al método ML incluyendo el soporte ML e IB (ML/IB).....	28
Figura 5: Árbol de Máxima Verosimilitud (ML) del orden Bangiales para las secuencias COI (508 pb). Cada nodo presenta el soporte otorgado por las correcciones ML y las probabilidades de la Inferencia Bayesiana (ML/IB).	29
Figura 6: Árbol de especies en base al método IB usando BEAST para la obtención del árbol ultramétrico. Las especies putativas fueron definidas en base a 4 análisis de delimitación de especies: GMYCsingle para COI, ABGD para COI, GMYCsingle para <i>rbcL</i> y ABGD	33
Figura 7: Mapa de distribución de especies de <i>Porphyra</i> y <i>Pyropia</i> registradas en la costa peruana, incluyendo el género <i>Miuraea</i>	36
Figura 8: Red de haplotipos de <i>Pyropia</i> sp. CHI con el marcador COI y <i>rbcL</i> . Las poblaciones muestreadas se ubicaron en un mapa y sus colores corresponden a las regiones de muestreo..	37
Figura 9: Red de haplotipos de <i>Pyropia orbicularis</i> en base a los marcadores COI y <i>rbcL</i> . Para más información véase la leyenda de la Figura 8.....	38

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Registro histórico de <i>Porphyra</i> en el Perú.....	58
Anexo 2: Secuencias COI extraídas del GenBank.	60
Anexo 3: Secuencias <i>rbcL</i> extraídas del GenBank.....	64
Anexo 4: Especímenes de Bangiales foliosas colectados en este trabajo.....	69

RESUMEN

A nivel global se están realizando cambios significativos en la sistemática de Bangiales foliosas debido a la inclusión de nuevos géneros como *Pyropia*. En Chile, la aplicación de herramientas moleculares ha evidenciado una alta diversidad de especies de los géneros *Porphyra* y *Pyropia*, resaltando la descripción de *Pyropia orbicularis* a partir de *Porphyra columbina* (ahora *Pyropia columbina*). En el Perú, los registros históricos reconocen cinco especies de *Porphyra*: *P. columbina*, *P. pseudolanceolata*, *P. tenera*, *P. thuretii* y *P. umbilicalis*. Sin embargo, el estatus taxonómico de esas especies aún no ha sido contrastado con la evidencia molecular, como tampoco se ha evaluado la presencia del género *Pyropia* en la costa peruana. Por ello, este trabajo tuvo como objetivo delimitar las especies del género *Porphyra* y *Pyropia* en la costa peruana en base al marcador mitocondrial COI y cloroplastidial *rbcL*, mediante la combinación del análisis filogenético y métodos de delimitación de especies. El Modelo Generalizado de Yule – Coalescencia (GMYC), el Descubridor Automático de la Brecha del Código de Barras (ABGD) y la reconstrucción filogenética usando Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana determinaron 3 especies de *Porphyra* (*Porphyra* sp. CHF, *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB) y 4 especies de *Pyropia* (*Pyropia orbicularis*, *Pyropia* sp. CHI, *Pyropia* sp. 6POR y *Pyropia suborbiculata*). No hubo coincidencia entre las especies analizadas molecularmente y los registros históricos disponibles de Bangiales foliosas. De todas las especies determinadas, *Pyropia* sp. CHI es la especie de mayor distribución en la costa peruana. *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB son especies de reciente divergencia. Además, se constata por primera vez la presencia del género *Miuraea* en la costa del Perú (*Miuraea* sp. PEC).

Palabras claves: *Porphyra*, *Pyropia*, Costa peruana, COI, *rbcL*, GMYC y ABGD

ABSTRACT

In a global level, significant changes on the systematic bladed Bangiales are being made in the systematic of the bladed Bangiales due to the inclusion of new genera such as *Pyropia*. In Chile, the application of molecular tools has shown a high diversity of species of *Porphyra* and *Pyropia*. A new species, *Pyropia orbicularis*, has been described. This species was incorrectly known previously as *Porphyra columbina* (now *Pyropia columbina*). In Peru, five species were cataloged: *P. columbina*, *P. pseudolanceolata*, *P. tenera*, *P. thuretii* y *P. umbilicalis*. However, the taxonomic status of these species has not yet been contrasted with molecular evidence. The diversity of *Pyropia* has not been either by molecular evidence. Therefore, this work aimed to define the species of the genus *Porphyra* and *Pyropia* in the peruvian coast based on the mitochondrial marker COI and the chloroplastidial marker *rbcL*, by combining phylogenetics análisis and methods of delimiting species. The General Mix Yule-Coalescent (GMYC), Automatic Barcoding Gap Discovery (ABGD) and the phylogenetic reconstruction using Maximum Likelihood (ML) and Bayesian Inference (BI) determined three species of *Porphyra* (*Porphyra* sp. CHF, *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB) and four species of *Pyropia* (*Pyropia orbicularis*, *Pyropia* sp. CHI, *Pyropia* sp. 6POR y *Pyropia suborbiculata*). None of the species determined by molecular evidence matched those that had been reported for Perú. *Pyropia* sp. CHI is the most widely distributed species in the peruvian coast. *Porphyra* sp. PEA and *Porphyra* sp. PEB are species of recently divergence.

Key words: *Porphyra*, *Pyropia*, Peruvian coast, COI, *rbcL*, GMYC y ABGD

I. INTRODUCCIÓN

La división Rhodophyta (o algas rojas) está compuesta por organismos que viven principalmente en ambientes marinos desde la zona intermareal hasta las aguas profundas. Presenta una morfología que varía desde la forma unicelular, filamentosa hasta las formas taloides multicelulares (Yoon et al., 2016). Tradicionalmente, la división Rhodophyta estaba conformada por las clases Bangiophyceae y Florideophyceae (Gabrielson et al., 1985; Oliveira y Bhattacharya, 2000). Posteriormente, en base al análisis molecular, se estableció un total de 7 clases (Yoon et al., 2006). La clase Bangiophyceae, con un solo orden denominado Bangiales, reúne organismos con talos filamentosos simples sin ramificaciones o foliosos en forma de hojas.

Los primeros géneros asignados al orden Bangiales fueron *Bangia* y *Porphyra*, en base a características morfológicas (Mols-Mortensen et al., 2014), el primero de estructura filamentosa y el segundo de conformación foliosa. Posteriormente, Sutherland et al. (2011), en base al análisis molecular, reconocieron un total de 15 géneros, de los cuales 7 son filamentosos y 8 son foliosos. *Boreophyllum*, *Clymene*, *Fuscifolium*, *Lysithea*, *Miuraea*, *Porphyra*, *Pyropia* y *Wildemania* fueron descritos como géneros foliosos. Sánchez et al. (2014) establecieron un nuevo género folioso denominado *Neothemis*.

El orden Bangiales ha sido registrado en todos los océanos del mundo (Brodie et al., 2008). En la Costa Templada del Pacífico de Sudamérica, las especies foliosas fueron una de las primeras en ser abordadas en los estudios relacionados a las algas marinas. En Perú, los estudios se remontan a Piccone (1886) que registró por primera vez el género *Porphyra* con la especie *Porphyra laciniata*, colectada en la Isla San Lorenzo. Luego, Howe (1914) registró a *P. kunthiana* Kützing. Taylor (1947) incluyó la especie *P. umbilicalis* (Linnaeus) Kützing. Posteriormente, Dawson et al. (1964) denominaron como *P. columbina* Montagne

a las algas registradas previamente por Howe y Taylor, indicando su amplia variedad morfológica. Las especies *P. pseudolanceolata* Krishnamurthy, *P. tenera* Kjellman y *P. thuretii* Dawson fueron registrados por Acleto y Endo (1977) para la costa peruana. Por último, Acleto (1984) mencionó a *P. crispata* Kjellman como un nuevo registro; sin embargo, esta especie fue transferida a *Monostroma nitidum* Wittrock (Yoshida, 1997). Un total de 5 especies de *Porphyra* se registran en el Perú, mientras que en Chile se consideran 6 especies: *P. capensis* Kützinger, *P. columbina* Montagne, *P. miniata* (C. Agardh) C. Agardh, *P. umbilicalis* (Linnaeus) Kützinger, *P. woolhousiae* Harvey y *Porphyra* sp. (Ramírez y Santelices, 1991).

La inclusión de herramientas moleculares ha revelado el alto cripticismo dentro del orden Bangiales (Stiller y Waaland, 1993; Kucera y Saunders, 2012), estimándose una mayor diversidad de lo que se conocía (Brodie et al., 2008, Nelson y Broom, 2010). Por ello en la actualidad muchas publicaciones relacionadas a las Bangiales foliosas están enfocadas en determinar su diversidad local (Mateo-Cid et al., 2012; Mols-Mortensen et al., 2012; Lindstrom et al., 2015), denotando la incongruencia entre los resultados moleculares y los registros de las especies taxonómicamente aceptadas en base a la morfología (Mols-Mortensen et al., 2014; Dumilag y Monotilla, 2018). Con el desarrollo de la bioinformática, la taxonomía molecular se ha vuelto esencial para la identificación y entendimiento de las Bangiales (Sutherland et al., 2011), siendo la filogenia y la delimitación de especie los métodos más empleados para ello (Leliaert et al., 2014). La filogenia (árbol filogenético) muestra la historia evolutiva del grupo taxonómico en estudio y se construye usando varios especímenes por especie (Peña, 2011). La delimitación determina los límites de especies en base a las secuencias de ADN (De Queiroz, 2007) y se realiza bajo un criterio topológico en base a la longitud de la rama y algunas medidas de soporte (Carstens et al., 2013); considerando a las especies como metapoblaciones que evolucionan separadamente (De Queiroz, 2005, Leliaert et al., 2014). Investigaciones realizadas en Chile, aplicando estas metodologías, ¿han registrado el nuevo género? y la nueva especie *Pyropia orbicularis*, anteriormente identificada como *P. columbina* (Ramírez et al., 2014). En ese país también se reportaron especies de los géneros *Fuscifolium* (*Fuscifolium* sp. CHA), *Porphyra* (*Porphyra munfordii*, *Porphyra* sp. CHB, CHC, CHD, CHE, CHF, FIG y FIH), *Pyropia* (*Pyropia* sp. CHG, CHH, CHI, CHJ, CHK, FIA y FID) y *Wildemia* (*Wildemia* sp. FII) en sus costas (Guillemin et al., 2016).

Dentro del orden Bangiales se encuentran las algas marinas más valoradas para el cultivo acuícola a nivel mundial debido a su valor nutricional y por ser fuente de alimento humano directo (Aguilar-Rosas y Aguilar-Rosas, 2003). Es por ello que se ha establecido toda una industria relacionada al cultivo y comercialización de *Porphyra* y *Pyropia* (Blouin et al., 2011) que anualmente genera billones de dólares en los países asiáticos (Yang et al., 2017). En el Perú, las algas denominadas como “cochayuyo” son identificadas como “*Porphyra columbina*” y son altamente consumidas en la zona sur del Perú (Acleto, 1984). Aunque, por los cambios realizados en la sistemática del orden Bangiales, el “cochayuyo” podría estar representada por más de una especie. Sin embargo, el análisis molecular de este grupo no ha sido abordado, lo cual representa un problema debido a que para poder desarrollar programas de conservación, manejo y cultivo de cualquier especie de *Porphyra* o *Pyropia* en el Perú (incluyendo las algas “cochayuyo”) se debe tener la información correcta de las especies y su distribución como información base para investigaciones futuras relacionadas a estas algas.

El presente trabajo tiene como objetivo general delimitar las especies de los géneros *Pyropia/Porphyra* de la costa peruana utilizando el marcador mitocondrial COI y el marcador cloroplastidial *rbcL*, teniendo como objetivos específicos construir la filogenia de las especies de los géneros *Pyropia/Porphyra* de la costa peruana en base a los marcadores COI y *rbcL*, establecer secuencias código de barras del ADN de las especies de *Pyropia/Porphyra* de la costa peruana en base al marcador COI y determinar las características morfológicas de los diferentes taxones evaluados molecularmente

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. FAMILIA BANGIACEAE

La familia Bangiaceae es la única definida dentro del orden Bangiales (Nelson et al., 1999; Yoon et al., 2010). Tradicionalmente, dentro de esta familia, dos géneros habían sido reconocidos en base a la morfología de los gametofitos: *Bangia* con los filamentos uniseriados a multiseriados sin ramificaciones y *Porphyra* de morfología foliosa (Sutherland et al., 2011). Inicialmente las foliosas de la familia Bangiaceae fueron clasificadas dentro del género *Ulva* por Linnaeus (1753) junto con otras algas membranosas. Posteriormente Agardh (1824) describe el género *Porphyra*, y separa definitivamente estas foliosas rojas de las algas verdes. Por casi dos siglos, *Porphyra sensu lato* se utilizó para clasificar a las foliosas del orden Bangiales (Yang et al., 2017). Sin embargo, por su alta plasticidad morfológica, la clasificación de estos especímenes tendió a ser dificultosa debido a la diversidad críptica de este género (Stiller y Waaland, 1993; Brodie et al., 2008).

A través de los análisis moleculares realizados con las secuencias del gen nuclear de la subunidad menor del ARN ribosomal (SSU rRNA) y del gen cloroplastidial de la subunidad mayor de la RUBISCO (*rbcL*) se han establecido nuevos géneros de algas filamentosas y foliosas de la familia Bangiaceae, siendo muchos de ellos monotípicos (géneros con una sola especie). Dentro de *Bangia* se han desprendido tres géneros monotípicos que son *Dione*, *Minerva* (Nelson et al., 2005) y *Pseudobangia* (Müller et al., 2005) y en el género *Porphyra* se han establecido siete nuevos géneros (además de *Porphyra*): *Boreophyllum*, *Clymene*, *Fuscifolium*, *Lysithea*, *Miuraea*, *Pyropia* y *Wildemia* (Sutherland et al., 2011). *Dione* es endémico de la región sur de Nueva Zelanda y solo se ha encontrado en los meses de verano (noviembre y diciembre), en la zona norte de la Península Kaikora; su única especie es *Dione*

arcuata (Nelson et al., 2005; Sutherland et al., 2011). *Minerva* también es endémico de Nueva Zelanda y se distribuye desde el norte de la Isla Norte hasta el sur de la Isla Sur; generalmente se encuentra en los sustratos rocosos o en la zona intermareal, su única especie es *Minerva aenignata* (Nelson et al., 2005). *Pseudobangia* es un género que ha sido colectado en las Islas Vírgenes al norte de las Antillas; su única especie es *Pseudobangia kaycoleia* (Müller et al., 2005). *Boreophyllum* se encuentra en los océanos del Pacífico y Atlántico Norte de América, presenta cuatro especies aceptadas taxonómicamente, incluyendo la especie tipo *Boreophyllum aestivale*, colectada en Alaska (Sutherland et al., 2011, Mols-Mortensen et al., 2014). *Clymene* contiene individuos distribuidos solo en Nueva Zelanda y Australia y presenta tres especies, siendo *Clymene coleana*, colectada en Kaikoura (región sur de Nueva Zelanda), la más representativa. El género *Fuscifolium* fue creado para dos especies morfológicamente similares que viven en aguas templadas frías del Pacífico Norte; la especie tipo de este género es *Fuscifolium papenfussi* que fue colectada en Washington, Estados Unidos (Sutherland et al., 2011). La otra especie es *Fuscifolium tasa*, colectada en las Islas Kuriles y Onekotan en Rusia. Posteriormente, Guillemín et al. (2016) han reportado la presencia de este género en el Pacífico Sur Este, siendo el único registro de *Fuscifolium* en el trópico sur. *Lysithea* es un género registrado solo en las islas sub-antárticas al sur de Nueva Zelanda; la especie representativa es *Lysithea adamsiae* (Sutherland et al., 2011). El género monotípico *Miuraea*, con la especie *Miuraea migitae*, convive con las conchas de bivalvos y es conocido en la Isla Este del Japón, aunque también se ha reportado en las costas de Corea (Koh et al., 2016). El género *Porphyra sensu stricto* es el segundo género con mayor diversidad dentro de la familia Bangiaceae con 57 especies aceptadas taxonómicamente distribuidas en casi todos los océanos del mundo (revisar el subcapítulo 2.2). El género *Pyropia* es el género con mayor diversidad del orden Bangiales con 68 especies aceptadas taxonómicamente y está presente en todos los océanos del mundo (revisar el subcapítulo 2.3). El género *Wildemanía* agrupa a algas que viven en las regiones frías del Pacífico Norte y Atlántico Norte y de los océanos australes. Este género cuenta con 7 especies aceptadas taxonómicamente siendo *Wildemanía amplissima* la especie tipo; en el sur de Chile también se reporta la presencia de este género (Guillemín et al., 2016). Recientemente, a los ocho géneros de Bangiales foliosas propuestos por Sutherland et al., (2011). Sánchez et al. (2016) agregaron el nuevo género *Themis* (ahora *Neothemis*) para las Bangiales foliosas, siendo *Themis ballesterosii* (ahora *Neothemis ballesterosii*) la especie tipo, colectada en la costa mediterránea de la Península Ibérica, en el área de Palamós, España.

2.2. EL GÉNERO *PORPHYRA SENSU STRICTO*

Anteriormente, a todas las Bangiales foliosas se les clasificaba dentro de *Porphyra sensu lato*. Sin embargo, a partir Sutherland et al. (2011) se desprendieron 8 géneros foliosos del Orden Bangiales, siendo uno de ellos *Porphyra sensu stricto*.

Porphyra sensu stricto se caracteriza por tener un talo gametofítico monostromático ovado a lanceolado, ocasionalmente falcado (Guiry y Guiry, 2018). Presenta márgenes enteros, planares, dentados, ondulados o arrugados y la célula vegetativa con un solo plastidio estrellado. El talo de *Porphyra* es de color verde olivo, marrón rojizo o marrón. Los individuos monoicos o dioicos presentan el soro reproductivo marginal o disperso, a veces confinado a distintos sectores del folio. El soro masculino está formado por paquetes de espermatangios y el femenino por gametos a menudo con tricomas conspicuos. Cada gameto femenino después de la fertilización forma paquetes de 8 a 16 cigotosporangios (Sutherland et al., 2011; Guiry y Guiry, 2018).

Las especies incluidas en el género *Porphyra sensu stricto* están extensamente distribuidas en la mayoría de las zonas templadas de los océanos del mundo, sin embargo, un gran grupo de estas especies todavía no ha sido descrito, especialmente las pertenecientes al hemisferio sur que incluyen Sudamérica, Sudáfrica, Australia, Nueva Zelanda y las islas subantárticas (Sutherland et al., 2011). En la actualidad, debido a la formación de nuevos géneros dentro de Bangiales, el número de especies en *Porphyra* disminuyó, contando hasta la fecha con 57 especies reconocidas taxonómicamente, siendo la especie tipo *Porphyra purpurea* (Roth) C. Agardh colectada en Eckwarden, Baja Sajonia, Alemania (Guiry y Guiry, 2018).

2.3. EL GÉNERO *PYROPIA*

El género *Pyropia* fue descrito originalmente por Agardh (1899) para la especie *Pyropia californica*. *Pyropia* se distinguió de *Porphyra* debido a que en la zona distal de la fronda poseía células en forma de apéndices pequeños. Sin embargo, por los constantes intentos de encontrar esta característica en el género, la especie *Pyropia californica* pasó a ser sinónimo de *Porphyra nereocystis* (Guiry y Guiry, 2018) y el género *Pyropia* quedó en desuso hasta que Sutherland et al. (2011) lo volvieron a usar. En la actualidad, para aceptar una especie dentro de *Pyropia* ya no depende de la descripción original o de alguna característica

morfológica, sino más bien, de que las secuencias de ADN de los especímenes se asocien al clado que incluye la muestra tipo de *Pyropia* (Sutherland et al., 2011).

La descripción general para este género es: talo gametofítico monostromático con forma lineal, ovado, orbicular o de embudo. Los márgenes enteros o dentados, planares, ondulados o arrugados. Color variable (rosado, rojo, morado, verde, marrón o una combinación de los colores ya mencionados). Células con un solo plastidio en muchas especies, en algunas hasta dos. El talo sexual presenta monoecia o dioecia. En general los espermatangios y cigotosporangios se encuentran en la zona marginal de la fronda (Sutherland et al., 2011; Guiry y Guiry, 2018).

Pyropia es el género con la mayor cantidad de especies dentro de Bangiales, desde su resurrección hasta la fecha cuenta con 68 especies aceptadas taxonómicamente (Guiry y Guiry, 2018). Sus especímenes presentan la mayor variedad morfológica y amplia distribución geográfica encontrándose en casi todos los océanos del mundo, siendo la especie tipo *Pyropia californica* J. Agardh, sinónimo de *Pyropia nereocystis* (C.L. Anderson) S. C. Lindstrom colectada en Santa Cruz, California y Estados Unidos.

2.4. PORPHYRA SENSU LATO EN LA COSTA TEMPERADA DEL PACÍFICO SUDAMERICANO

Los estudios que mencionan o registran las especies del género *Porphyra sensu lato* en la costa temperada del Pacífico sudamericano se remontan a partir del siglo XIX. En el Perú, en el año 1883, la expedición de la corbeta Vettor Pisani, perteneciente a la marina de guerra italiana, desembarca en varios puertos de la costa peruana. El teniente de la corbeta Cesare Marcacci recoge diferentes muestras de algas provenientes de la Isla San Lorenzo, Ancón y Paita durante la expedición. Estos especímenes colectados fueron revisados por Piccone (1886), que registró por primera vez para Perú el género *Porphyra* con la especie *Porphyra laciniata* var. *umbilicalis* C. Agardh, colectada en la Isla San Lorenzo. Posteriormente, en base a los ejemplares colectados en Isla Pescadores, Isla Chincha y Mollendo por el Dr. Coker, experto en pesca contratado por el gobierno peruano en los años 1906, 1907 y 1908, Howe (1914) registró *Porphyra kunthiana* Kützing. Años después, a partir de los ejemplares colectados por Schmitt en Salaverry, La Libertad en el año 1926, Taylor (1947) también registró *Porphyra kunthiana* e incluyó otra especie: *Porphyra umbilicalis* (Linnaeus) Kützing. Luego, Dawson et al. (1964) denominaron como *Porphyra columbina* Montagne a

los especímenes de *Porphyra kunthiana* registrados por Howe y Taylor. Además, a las algas colectadas por Acleto en 1960 en Pucusana y Lima, les designaron como próximos a *Porphyra leucosticta* Thuret o vinculados a *Porphyra thuretii* Dawson del este del Pacífico Norte. Posteriormente, Acleto (1971) recalcó que los especímenes registrados como *P. columbina* en la costa del Perú presentaban amplia variedad morfológica, lo cual hizo suponer que dentro de ella estaban incluidas otras especies. En base a esto, se realizó la revisión taxonómica de varias muestras colectadas (Acleto y Endo, 1977) y se registraron (además de *P. columbina*) 3 especies: *Porphyra pseudolanceolata* Krishnamurthy, *Porphyra tenera* Kjellman y *Porphyra thuretii* Dawson. Finalmente, Acleto (1984) mencionó a *Porphyra crispata* Kjellman como un nuevo registro para la flora marina peruana.

De las 6 especies de *Porphyra sensu lato* que fueron registradas para Perú, Acleto (1986) recalcó a *P. columbina* y *P. pseudolanceolata* como las especies de mayor valor económico, siendo *P. columbina* el alga de consumo humano llamado “cochayuyo”, consumido principalmente en la costa sur del Perú. Posteriormente, Ramírez y Santelices (1991) ratifican solo 5 especies de *Porphyra* para la costa peruana en su catálogo de algas bentónicas (Anexo 1), puesto que no consideraron a *Porphyra crispata* debido a que esta especie correspondía a *Monostroma nitidum* (Yoshida, 1997).

Távora (1992) realizó una revisión de la morfología y reproducción de *Porphyra pseudolanceolata* de diferentes partes de la costa peruana, siendo uno de los últimos trabajos relacionados a la taxonomía de *Porphyra* en Perú. En el año 1994, se realiza un listado de macroalgas de Tacna (León et al., 1995), donde se reporta *Porphyra columbina* y *Porphyra pseudolanceolata* en la playa Boca del Río, Tacna. En los siguientes años, los estudios relacionados a *Porphyra sensu lato* estuvieron ligados a la ciencia aplicada como la evaluación del efecto alimenticio de *Porphyra* sp. en animales de granja (Guevara, 2015) o el análisis de la estructura de los polisacáridos de *Porphyra columbina* (Aguilar, 2015). El último trabajo registrado relacionado a las foliosas es la tesis de Calderón (2017), que realizó una revisión de las algas rojas (Rhodophyta) del Perú en base al marcador molecular *rbcL* incluyendo muestras de *Porphyra sensu lato*. En este trabajo, solo se hace mención de dos especies nuevas en el género *Pyropia* (denominadas *Pyropia* sp. 1 y *Pyropia* sp. 2) encontradas en Perú. Sin embargo, desde que *Porphyra sensu lato* se ha desprendido en 8 géneros (Sutherland et al., 2011), en el Perú todavía no se ha realizado un estudio profundo en la sistemática de *Porphyra* y *Pyropia*.

En base a la morfología, en Chile se registraron un total de 6 especies de *Porphyra sensu lato*: *P. capensis* Kützing, *P. columbina* Montagne, *P. miniata* (C. Agardh) C. Agardh, *P. umbilicalis* (Linnaeus) Kützing, *P. woolhousiae* Harvey y *Porphyra* sp. (Ramírez y Santelices, 1991). Desde los cambios propuestos por Sutherland et al. (2011). En Chile, a diferencia de Perú, los estudios de Bangiales foliosas fueron abordados recientemente por el análisis molecular con los trabajos de Ramírez et al. (2014) y de Guillemín et al. (2016). En el primer trabajo se registró la nueva especie *Pyropia orbicularis* M.E. Ramírez, L. Contreras Porcia y M.-L. Guillemín (antes llamada *Porphyra columbina*) en base al marcador *rbcL*. En el segundo se estimó una alta diversidad de especies de Bangiales foliosas en base a los marcadores COI y *rbcL*, registrándose las especies de *Fuscifolium* (*Fuscifolium* sp. CHA), *Porphyra* (*Porphyra munfordii*, *Porphyra* sp. CHB, CHC, CHD, CHE, CHF, FIG y FIH), *Pyropia* (*Pyropia* sp. CHG, CHH, CHI, CHJ, CHK, FIA y FID) y *Wildemanina* (*Wildemanina* sp. FII) en la costa chilena. Ninguna de las especies de *Porphyra sensu lato* catalogadas por Ramírez y Santelices (1991) para Chile fueron encontradas en el análisis molecular, denotando el problema de distinguir las especies en base a morfología y el mal uso de los nombres asignados a estas muestras en diferentes partes del mundo (Guillemín et al., 2016). Con estos resultados presentados en Chile, la posibilidad de encontrar una mayor diversidad de Bangiales foliosas en la costa peruana es alta.

2.5. IMPORTANCIA ECONÓMICA DE BANGIALES FOLIOSAS

Porphyra sensu lato es comúnmente llamada como “laver” en Reino Unido, Canadá y Estados Unidos; “laver morado” en Irlanda; “karengo” en Nueva Zelanda; “kim” en Corea; “nori” en Japón; “zicai” en China (Levine y Sahoo, 2010); “luche” en Chile; y “cochayuyo” en Perú (Acleto, 1984). El género ha sido reconocido como una fuente importante para la alimentación y medicina y es uno de los recursos marinos más cultivados a nivel global, especialmente en países asiáticos como China, Japón y Corea, generando un excedente global de 1.5 billones de dólares (Yang et al., 2017). La alta demanda de estas algas es debido a su alto contenido de minerales, vitaminas (B_s y C) y proteínas (25-30 por ciento en material seco) que es superior con respecto a otras algas o vegetales de campo (Blouin et al., 2011).

La producción y consumo de *Porphyra sensu lato* se remontan a los primeros asentamientos humanos, siendo la recolección de estas algas una de las primeras actividades realizadas. Comunidades nativas en Australia y Nueva Zelanda consumían *Porphyra columbina*

(Acleto, 1986). Posteriormente, en ciertas regiones como en China, la evidencia arqueológica muestra restos de herramientas rudimentarias fabricadas para la extracción y cultivo incipiente de estas algas. En Japón, los primeros cultivos de *Porphyra* se remontan al siglo XVII, en el cual se utilizaban palos de bambú como sustrato para la fijación del alga (Yang et al., 2017). Después de la Segunda Guerra Mundial, en la región de Asia la demanda, tecnificación y producción de *Porphyra* aumentaron. A nivel global, seis especies de *Porphyra sensu lato* son ampliamente usadas para el cultivo: *Porphyra yezoensis* Ueda, *Porphyra tenera* Kjellman, *Porphyra pseudolinearis* Ueda, *Porphyra kuniedai* Kurogi, *Porphyra akasakai* Miura y *Porphyra seriata* Kjellman (Acleto, 1986; Yang et al., 2017).

En América, el consumo humano de las algas marinas es en estado fresco o desecado (Acleto, 1986). En México, las algas de mayor consumo pertenecen a *Porphyra sensu lato*. Estas algas son el sustento de vida de varias poblaciones a lo largo de las costas del Pacífico y el Atlántico (Rosas y Ávalos, 1998). En Perú, según los cronistas e historiadores, algunas algas marinas han formado parte de la dieta humana desde la época pre-incaica, destacándose el consumo de “cochayuyo” (*Porphyra columbina*) por parte de los habitantes de las regiones andinas que las obtenían de las localidades costeñas a través del intercambio (Acleto, 1986). En la actualidad, los lugares donde mayormente se comercializa *Porphyra sensu lato* son en los mercados del centro y sur de Perú (desde Lima hasta Tacna); sin embargo, a pesar de su importancia no se tiene un estimado real de la cantidad de biomasa que se comercializa en el Perú (Acleto, 1986; Noriega, 2016).

En las regiones asiáticas, los aspectos económicos y taxonómicos de las algas de *Porphyra* y *Pyropia*, consideradas como el oro del mar, están bien estudiados (Levine y Sahoo, 2010; Yang et al., 2017). En Perú, se conoce muy poco sobre la cadena de valores de este recurso pesquero, a pesar de su importancia y abundancia (Noriega, 2016). El Ministerio de la Producción (PRODUCE) provee escasa información con respecto al manejo en general de las macroalgas, a pesar de que a lo largo de la costa existen diferentes asociaciones de algueros que recolectan diferentes algas (*Chondracanthus chamissoi*, *Macrocystis pyrifera*, *Porphyra* sp. etc.) como sustento de vida.

Con el uso de las herramientas moleculares se podrá determinar cuáles son las especies de *Porphyra sensu lato* que realmente son consumidas en el Perú, permitiendo un mejor estudio de la cadena de valores de estas algas.

2.6. CONCEPTO FILOGENÉTICO DE ESPECIE Y DELIMITACIÓN DE ESPECIE

La especie se ha considerado como la base para la construcción de clasificaciones, árboles evolutivos y de ecosistemas, por la cual a la especie no solo se le considera como una unidad taxonómica, sino también como la unidad funcional en los procesos ecológicos y evolutivos (Mishler y Luna, 1997). A pesar de que el concepto de especie ha tenido un papel muy importante en muchas áreas de la biología, todavía no se ha llegado a un consenso de lo que es realmente especie (Leliaert et al., 2014). Mayden (1997) listó 25 diferentes conceptos de especies que en mucho de los casos ni siquiera son compatibles entre sí, debido a que cada concepto se le atribuye diferentes propiedades biológicas (Mayden, 1997; De Queiroz, 2007). Viendo este problema, De Queiroz (2005) propuso el concepto unificado de especie, el cual separa la parte teórica común de los diferentes conceptos y considera a las especies como linajes (serie ancestro – descendiente) de metapoblaciones (población inclusiva formada por subpoblaciones conectadas) que evolucionan por separado.

El concepto filogenético de especie (CFE) define a la especie como la entidad biológica más pequeña de característica monofilética o diagnosticable (Torretti, 2010). Esta característica suele estar basada en caracteres fenotípicos o genotípicos (Leliaert et al., 2014). CFE también se define como el patrón de ramas en los linajes de especies en proceso de especiación (Maddison, 1997). En estos últimos años, el CFE está siendo ampliamente utilizado en la sistemática, especialmente en las algas rojas (Payo et al., 2012), debido a que, en filogenética, el árbol de genes suele ser congruente con el árbol de especie. Esta congruencia se genera cuando las comunidades reproductivas se dividen por especiación y las copias de los genes pertenecientes a estas comunidades también se dividen (copia de replicación), formando diferentes grupos (ramificaciones) de descendientes (Mortazavi et al., 2008). Sin embargo, la incongruencia surgida entre el árbol de genes y el árbol de especies es causada por factores como la transferencia horizontal, la coalescencia profunda y la duplicación/extinción de los genes (De Queiroz, 2007). El árbol de genes contiene información importante sobre el proceso de especiación, por ello las secuencias de ADN están siendo ampliamente usadas para la identificación de especie (Código de Barras de ADN), para el descubrimiento y delimitación de especie (Taxonomía en base a ADN), y para evaluar la taxonomía tradicional de las especies (Rosenberg y Nordborg, 2002). Sin embargo, aunque estos términos estén bien diferenciados, en la práctica suele haber mucha

confusión debido a que las metodologías utilizan los mismos paquetes de datos de secuencias de ADN (Leliaert et al., 2014).

El código de barras es una herramienta que permite la rápida identificación de las especies en base a la similitud de las secuencias del ADN (Zhao et al., 2013; Shen et al., 2016). Cuando se trabaja a nivel de código de barras, para el análisis en general se utiliza el método Neighbor Joining propuesto por Saitou y Nei (1987), un método que no establece relaciones filogenéticas ni relaciones evolutivas. Sólo es una representación del grado de similitud de las secuencias de ADN, por ello las agrupaciones de sus miembros no pueden ser considerarse clados ni grupos monofiléticos (Peña, 2011). Aunque el código de barra no fue concebido como una herramienta para construir filogenias, se establece como un estudio base para la delimitación de las especies en base a ADN (Talavera et al., 2013).

La delimitación de especie es el acto de identificar la diversidad biológica a nivel de especie (Carstens et al., 2013), determina los límites y los números de especies presentes en una data empírica (De Queiroz, 2007). De forma práctica, los métodos de delimitación de especies en base a ADN se dividen en dos categorías: métodos de un solo locus y de varios locus.

Los métodos de delimitación de especies en base a un solo locus se apoyan en la suposición de que la genealogía de un solo gen es representativa de la filogenia de la especie. Para evaluar los límites entre las especies, varios de estos métodos se basan en la variación de las secuencias de ADN. Una de las formas es determinando la transición entre las distancias intraespecífica e interespecífica, denominada brecha (Čandek y Kuntner, 2015). Sin embargo, en el caso de las especies estrechamente relacionadas (especies hermanas) puede existir sobreposiciones entre las distancias intraespecíficas e interespecíficas, indicando que la brecha entre ellas no estaría definida y la delimitación tampoco (Meyer y Paulay, 2005). En la actualidad, se han desarrollados métodos automatizados que ofrecen la posibilidad de que la delimitación de especies en base a un solo locus sea más eficiente y menos subjetiva. Uno de ellos es el Detector Automático de la Brecha del Código de Barras (ABGD por sus siglas en inglés), que detecta de forma automática la brecha del código de barras (midiendo la distancia intraespecífica más larga con la distancia interespecífica más corta), realizando particiones en el paquete de los datos moleculares (Puillandre et al., 2012). En los métodos de un solo locus no solo se utilizan métodos de distancia, sino también métodos de verosimilitud, que incluyen modelos de evolución para determinar estadísticamente los límites de las especies en base a las longitudes de las ramas de los árboles filogenéticos. Uno

de los métodos más utilizados es el modelo Generalizado Mixto de Yule y Coalescencia (GMYC), el cual no requiere conocimientos previos sobre las poblaciones a definir (Pons et al., 2006). GMYC combina la teoría del proceso de nacimiento de linajes independientes (especies) y la teoría de la coalescencia dentro de la especie, utilizando la variación genética de un grupo de secuencias (Fujisawa y Barraclough, 2013). La tasa de ramificación en un árbol ultramétrico es analizada en base a la separación de especies y poblaciones, donde la longitud de la rama entre especies está determinada por procesos macroevolutivos como especiación y extinción. Por su parte, la longitud de las ramas dentro de las especies refleja los procesos microevolutivos de coalescencia neutral en las poblaciones (Pons et al., 2006; White et al., 2014). GMYC encuentra los nodos que definen a las especies putativas y aplica una prueba de razón de verosimilitud (LRT por sus siglas en inglés) para evaluar el ajuste de la longitud de las ramas a un modelo mixto de nacimiento del linaje y coalescencia neutral poblacional (Monaghan et al., 2009).

Aunque los métodos en base a un solo locus han probado ser efectivos para la identificación rápida de las especies, algunas inquietudes se han planteado con respecto a su precisión, puesto que cada locus puede presentar un árbol filogenético que no necesariamente sea congruente con la especiación (Leliaert et al., 2014). A partir de esto, métodos de delimitación de especies en base a varios locus se han desarrollado. Estos métodos están ganando rápidamente popularidad en los estudios que buscan delimitar especies estrechamente relacionadas y cuyas características morfológicas son difíciles de distinguir (Payo et al., 2012). En particular, el método Bayesiano para la Filogenética y Filogeografía (BPP) es un método multilocus ampliamente utilizado que estima la distribución posterior para los modelos de delimitación de especies. BPP utiliza un árbol de especie fijo, información previa de la población y tiempos de divergencia multilocus (Yang y Rannala, 2010). Otro método multilocus ampliamente utilizado es SpeDeSTEM (Ence y Carstens, 2011), un método de máxima verosimilitud que estima los límites de la especie en los árboles de especies para los diferentes modelos en base al criterio de información de Akaike.

En este trabajo, los análisis de delimitación en base a un solo locus se utilizaron debido a la versatilidad de estos métodos y la confiabilidad que generan. Los métodos multilocus no se aplican para esta investigación.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MUESTREO

Las muestras que potencialmente parecieron ser *Porphyra/Pyropia* (talos gametofíticos) fueron colectadas de los roqueríos con baja exposición a las olas durante el año 2017. Estos roqueríos se encontraron en la zona intermareal a lo largo del litoral peruano desde Chicama, La Libertad (9°19'S / 78°28'W) hasta Morro Sama, Tacna (17°59'S / 70°53'W) (Figura 1). Las muestras fueron extraídas mediante la extracción directa (con la mano se arrancó el talo de la peña desde el disco de fijación). Inmediatamente, estas muestras fueron almacenadas en bolsas de plástico y transportadas hacia el laboratorio dentro de una caja conservadora de temperatura con bloques de hielo para mantener temperaturas de 5 a 7°C y poder preservar las muestras. En el laboratorio, los especímenes colectados fueron agrupados en una bandeja de plástico y se seleccionaron las muestras que presentaban forma, color y textura diferenciadas. Las muestras seleccionadas fueron lavadas con agua de caño por lo menos 2 minutos. Cada muestra fue herborizada con su respectivo código de colecta y fotografiada con una cámara digital. almacenada en el Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos (BGOA) del Instituto del Mar del Perú (IMARPE) ubicado en el Callao, Perú. Para el análisis molecular, una pequeña porción de talo fue extraída de cada material herborizado para ser preservada dentro de bolsas herméticas con sílica gel.

Dentro de este trabajo también se incluyeron muestras provenientes de colectas anteriores en la costa peruana. Once muestras fueron concedidas por el proyecto 129-2015-FONDECYT-DE: “Diversidad de macroalgas de la costa central del Perú usando código de

barras de ADN, en la perspectiva de sus usos potenciales y aplicaciones biotecnológicas” o por la Dra. Natalia Arakaki. En total se obtuvieron un total de 47 especímenes de Bangiales foliosas (Tabla 1).

3.2. EXTRACCIÓN DE ADN

Para la extracción de ADN de las macroalgas se usó el kit de extracción GF-1 (Vivantis). La extracción se realizó en 6 etapas. La primera consistió en la digestión mecánica de la muestra, donde se molió cada tejido algal (0.3 mg de muestra aproximadamente) con la ayuda de nitrógeno líquido para formar pequeñas partículas de tejido. La segunda etapa fue la suspensión, en la cual se añadió 280 μL de Buffer PL y 20 μL de proteinasa K a la muestra y se les dejó incubar a 65 °C por una hora. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a velocidad máxima (16000 x g) durante cinco minutos. La tercera etapa fue la separación, donde las muestras una vez centrifugadas formaron dos fases: la fase líquida (sobrenadante) y la fase sólida. La fase líquida de las muestras se separó de la fase sólida con la ayuda de una micropipeta, transfiriéndola a un microtubo limpio. La cuarta etapa fue la combinación, en base a la cantidad de sobrenadante recuperado (250 μL aproximadamente) se agregó dos volúmenes de Buffer PB (500 μL) al microtubo. Luego, estos microtubos fueron incubados por 10 minutos a 65 °C. Después de eso, a los microtubos se les añadió 200 μL de etanol absoluto y se procedió a homogenizarlos mediante agitación. Inmediatamente, el sobrenadante de las muestras se transfirió a una columna con filtro instalada dentro de un microtubo limpio para ser centrifugada a 10000 x g por un minuto. La quinta etapa fue el lavado; al ADN retenido sobre el filtro de la columna se le añadió 650 μL de Wash Buffer y se centrifugó a 10000 x g por un minuto (este paso se repitió por lo menos 2 veces). Luego, estas columnas se centrifugaron sin la adición de algún buffer para arrastrar cualquier líquido retenido en el filtro. Por último, la sexta etapa fue la resuspensión, en la cual las columnas fueron colocadas dentro de nuevos microtubos y se le añadió 100 μL de Elution Buffer previamente calentada a 65 °C para centrifugarlos a 10000 x g durante un minuto. Esta solución de elución interaccionó con el ADN, por lo tanto al caer dentro del microtubo arrastró a esta molécula a través del filtro quedando almacenado en este recipiente. Cada microtubo fue etiquetado con su respectivo rotulo.

Tabla 1: Datos de colecta, códigos de colecta y resultado de los procesamientos alcanzados para los especímenes evaluados en este trabajo.

	Sitio de Colecta	Coordenadas	Fecha	Código de Colecta	Herbario	COI	rbcL
1	Departamento de la Libertad, Chicama, Playa La Barca	7°42.600'S / 79°26.420'W	23/09/2017	Psp-lb-1	SÍ	SÍ	SÍ
2	Departamento de la Libertad, Chicama, Playa La Barca	7°42.600'S / 79°26.420'W	23/09/2017	Psp-lb-2	SÍ	SÍ	SÍ
3	Departamento de la Libertad, Chicama, Playa La Barca	7°42.600'S / 79°26.420'W	23/09/2017	Psp-lb-3	SÍ	SÍ	SÍ
4	Departamento de la Libertad, Huanchaco	8°0,292'S / 79°3.337'W	4/05/2015	Psp-lb-3	SÍ	SÍ	SÍ
5	Departamento de Ancash, Casma, Playa La Mesa	9°46.565'S / 78°14.676'W	30/05/2016	LM-523	SÍ	SÍ	SÍ
6	Departamento de Ancash, Casma, Playa La Mesa	9°46.565'S / 78°14.676'W	21/09/2017	Psp-lme-1	SÍ	SÍ	SÍ
7	Departamento de Ancash, Casma, Playa La Mesa	9°46.565'S / 78°14.676'W	21/09/2017	Psp2-lme-1	SÍ	SÍ	SÍ
8	Departamento de Ancash, Casma, Playa La Mesa	9°46.565'S / 78°14.676'W	21/09/2017	Psp1-lme-2	SÍ	SÍ	SÍ
9	Departamento de Ancash, Huarmey, Playa Tuquillo	10°02.260'S / 78°18.780'W	30/05/2016	TUQ-566	SÍ	SÍ	SÍ
10	Departamento de Ancash, Huarmey, Playa Tuquillo	10°02.260'S / 78°18.780'W	30/05/2016	TUQ-598	SÍ	SÍ	SÍ
11	Departamento de Lima, Huacho, Playa Albufera	10°56.023'S / 78°15.015'W	1/11/2014	NAM-0329	SÍ	NO	SÍ
12	Departamento de Lima, Ancón, Bahía de Ancón	11°44.441'S / 77°09.202'W*	1/11/2014	NAM-0342	SÍ	SÍ	SÍ
13	Departamento de Lima, Ancón, Bahía de Ancón	11°44.441'S / 77°09.202'W*	16/10/2016	AN-713	SÍ	SÍ	SÍ
14	Departamento de Lima, Ancón, Playa San Francisco	11°46.441'S / 77°11.202'W	11/11/2016	AN-912	SÍ	SÍ	SÍ
15	Provincia Constitucional del Callao, Ventanilla, Bahía Blanca	11°50.290'S / 77°11.066'W	20/05/2017	Psp-bb-1	SÍ	SÍ	SÍ
16	Provincia Constitucional del Callao, Ventanilla, Bahía Blanca	11°50.290'S / 77°11.066'W	20/05/2017	Psp-bb-2	SÍ	SÍ	SÍ
17	Provincia Constitucional del Callao, Ventanilla, Bahía Blanca	11°50.290'S / 77°11.066'W	20/05/2017	Psp-bb-3	SÍ	SÍ	SÍ
18	Provincia Constitucional del Callao, Ventanilla, Bahía Blanca	11°50.290'S / 77°11.066'W	20/05/2017	Psp-bb-4	SÍ	SÍ	SÍ
19	Departamento de Lima, Punta Hermosa	12°2.350'S / 77°1.417'W	30/08/2008	NAM-201	SÍ	SÍ	SÍ
20	Departamento de Lima, Pucusana, El Boquerón del Diablo	12°28.916'S / 76°48.037'W	30/08/2008	NAM-0212	SÍ	NO	SÍ
21	Departamento de Lima, Pucusana, Playa las Ninfas	12°28.829'S / 76°48.062'W	5/05/2016	PU-868	SÍ	SÍ	SÍ
22	Departamento de Lima, Pucusana, Playa las Ninfas	12°28.829'S / 76°48.062'W	5/05/2016	PU-869	SÍ	SÍ	SÍ
23	Departamento de Lima, Pucusana, Playa las Ninfas	12°28.829'S / 76°48.062'W	17/06/2017	Psp-ln-1	SÍ	SÍ	SÍ
24	Departamento de Lima, Pucusana, Playa las Ninfas	12°28.829'S / 76°48.062'W	17/06/2017	Psp-ln-2	SÍ	SÍ	SÍ

Continuación...

	Sitio de Colecta	Coordenadas	Fecha	Código de Colecta	Herbario	COI	rbcL
25	Departamento de Lima, Pucusana, Playa las Ninfas	12°28.829'S / 76°48.062'W	17/06/2017	Psp-ln-4	SÍ	SÍ	SÍ
26	Departamento de Ica, Paracas, Paya Mendieta	14°10.167'S / 76°18.521'W*	6/10/2016	ME-625	SÍ	SÍ	SÍ
27	Departamento de Ica, San Juan de Marcona, Bahía San Nicolás	15°40.333'S / 75°19.510'W*	29/04/2016	BSN-247	SI	NO	SÍ
28	Departamento de Ica, San Juan de Marcona, Playa Los Leones	15°55.333'S / 75°19.521'W	27/04/2016	LL-167	SÍ	NO	SÍ
29	Departamento de Ica, San Juan de Marcona, Playa Siete Huecos	15°23.118'S / 75°09.545'W	21/10/2016	SH-775	NO	SÍ	SÍ
30	Departamento de Ica, San Juan de Marcona, Playa Hermosa	15°23.426'S / 75°10.308'W	3/09/2017	Psp-ph-1	SÍ	NO	SÍ
31	Departamento de Ica, San Juan de Marcona, Playa Hermosa	15°23.426'S / 75°10.308'W	3/09/2017	Psp-ph-2	SÍ	SÍ	SÍ
32	Departamento de Ica, San Juan de Marcona, Playa Hermosa	15°23.426'S / 75°10.308'W	3/09/2017	Psp-ph-3	SÍ	NO	NO
33	Departamento de Ica, San Juan de Marcona, Playa Hermosa	15°23.426'S / 75°10.308'W	3/09/2017	Psp-ph-4	SÍ	SÍ	SÍ
34	Departamento de Ica, San Juan de Marcona, Playa Los Leones	15°55.333'S / 75°19.521'W	4/09/2017	Psp-lle-1	SÍ	SÍ	SÍ
35	Departamento de Ica, San Juan de Marcona, Playa Los Leones	15°55.333'S / 75°19.521'W	4/09/2017	Psp-lle-2	SÍ	NO	SÍ
36	Departamento de Ica, San Juan de Marcona, Playa Los Leones	15°55.333'S / 75°19.521'W	4/09/2017	Psp-lle-3	SÍ	SÍ	SÍ
37	Departamento de Ica, San Juan de Marcona, Playa Los Leones	15°55.333'S / 75°19.521'W	4/09/2017	Psp-lle-4	SÍ	NO	SÍ
38	Departamento de Ica, San Juan de Marcona, Playa Los Leones	15°55.333'S / 75°19.521'W	4/09/2017	Psp-lle-5	SÍ	SÍ	SÍ
39	Departamento de Arequipa, Atico, Playa Punta Blanca	16°13.480'S / 73°41.483'W	29/09/2017	Psp-pb-1	SÍ	SÍ	SÍ
40	Departamento de Arequipa, Atico, Playa Punta Blanca	16°13.480'S / 73°41.483'W	29/09/2017	Psp-pb-2	SÍ	SÍ	SÍ
41	Departamento de Arequipa, Atico, Playa el Gramadal	16°13.549'S / 73°38.083'W	29/09/2017	Psp-gmd-1	SÍ	SÍ	SÍ
42	Departamento de Tacna, Morro Sama, Playa el Faro	17°59.944'S / 70°53.157'W	1/09/2017	Psp-mor-1	SÍ	SÍ	SÍ
43	Departamento de Tacna, Morro Sama, Playa el Faro	17°59.944'S / 70°53.157'W	1/09/2017	Psp-mor-2	SÍ	SÍ	SÍ
44	Departamento de Tacna, Morro Sama, Playa el Faro	17°59.944'S / 70°53.157'W	1/09/2017	Psp-mor-3	SÍ	SÍ	SÍ

Continuación...

Sitio de Colecta	Coordenadas	Fecha	Código de Colecta	Herbario	COI	rbcL
Departamento de Tacna, 45 Morro Sama, Playa el Faro	17°59.944'S / 70°53.157'W	1/09/2017	Psp-mor-4	SÍ	SÍ	SÍ
Departamento de Tacna, 46 Morro Sama, Playa el Faro	17°59.944'S / 70°53.157'W	1/09/2017	Psp-mor-5	SÍ	SÍ	SÍ
Departamento de Tacna, 47 Morro Sama, Playa el Faro	17°59.944'S / 70°53.157'W	1/09/2017	Psp-mor-6	SÍ	SÍ	SÍ
Total				46	39	46

*Coordenadas aproximadas extraídas del Google Maps.

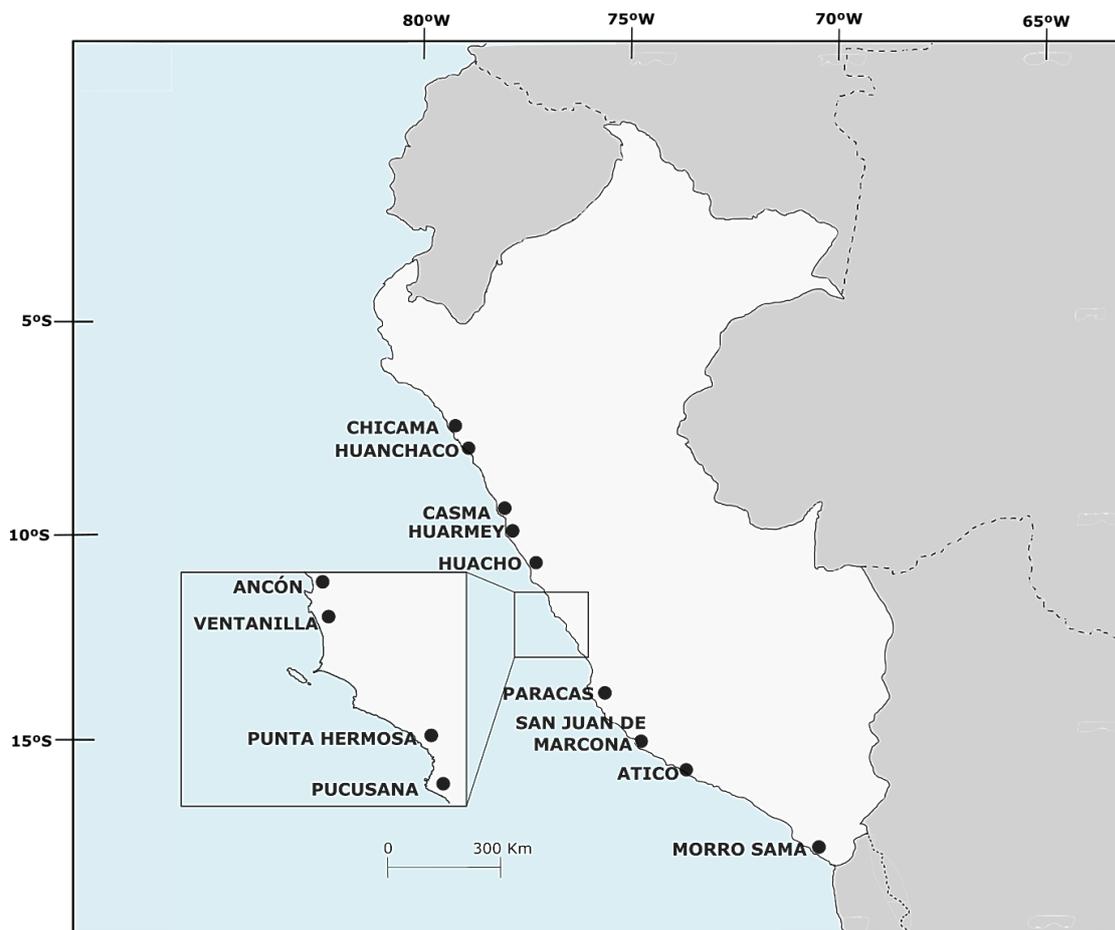


Figura 1: Puntos de colecta de los especímenes de foliosas de la familia Bangiaceae estudiados en esta tesis, incluyendo material colectado en trabajos previos.

3.3. AMPLIFICACIÓN, SECUENCIAMIENTO Y ALINEAMIENTO

Para la amplificación del gen mitocondrial citocromo oxidasa 1 (COI), se utilizaron los cebadores GazF1 (5'-TCA ACA AAT CAT AAA GAT ATT CG-3') y GazR1 (5'-ACT TCT GGA TGT CCA AAA AAY CA-3') diseñados por Saunders (2005) siguiendo su protocolo de amplificación que fue modificado para este trabajo: 95°C por 2 minutos para la denaturación inicial y 30 segundos para las denaturaciones posteriores, 30 segundos para el alineamiento a 45°C, 1 minuto para la extensión a 72°C. Todo esto realizado en 40 ciclos contando además con 7 minutos para la extensión final. Para el gen plastidial ribulosa 1.5-bifosfato carboxilasa/oxidasa sub-unidad mayor (*rbcL*), se usaron las siguientes combinaciones de cebadores diseñados por Hommersand et al. (1994): F-*rbcL* (5'-TTG CAT AYG ATA TTG ATY TAT TTG AA-3') y R-*rbcS* (5'-RAG CTG TTT KTA AAG GWC CAC AA-3') y F-57 (5'-GTA ATT CCA TAT GCT AAA ATG GG-3') y R-753 (5'-GCT CTT TCA TAC ATA TCT TCC-3'). Se siguió la programación descrita por Hommersand et al. (1994) con ciertas modificaciones: 94°C por 5 minutos para la denaturación inicial y 2 minutos para las denaturaciones posteriores, 1.20 minutos para el alineamiento a 50°C, 5 minutos para la extensión a 72°C repetidos en 40 ciclos, contando además con 7 minutos para la extensión final. Independientemente de la combinación de cebadores utilizada para ambos marcadores, cada tubo de PCR tuvo como volumen final 22.3 µL de solución conteniendo 10.5 µL de agua ultra pura, 4 µL de dNTPs 1.2 mM, 2.5 µL de buffer 10x, 1.5 µL de MgSO₄ 25 mM, 1.5 µL de betaína, 1 µL de cebadores forward y reverse (10 mM cada uno), 0.3 µL de Taq polimerasa 5U/µL (Applied Biological Material) y 1 µL de ADN de la muestra.

La electroforesis se realizó en un gel en base a agarosa y tampón bórax 1X (1.2 por ciento de agarosa) con 2 µL de Safe DNA Gel Stain (InvitrogenTM). En la cámara de electroforesis, el gel fue sumergido en tampón bórax 1X y en cada pocillo del gel se cargó 5 µL de muestra amplificada teñida con 2 µL de Loading Buffer 6x (Geneon). Las muestras cargadas en el gel fueron corridas durante 20 minutos a 100 V. Para la visualización de las bandas formadas se usó un transiluminador con el cual se procuró a hacer el registro fotográfico con un captador de imágenes.

Para secuenciar se extrajeron aproximadamente 17 µL de las muestras amplificadas y luego traspasadas a microtubos estériles de 0.2 mL, los cuales fueron enviados junto con alícuotas de cada cebador forwards a la empresa Macrogen Inc. (Seúl, Corea).

En este trabajo, se obtuvieron 39 secuencias COI (508 pb) y 46 secuencias *rbcL* (875 pb), las cuales fueron editadas con el programa Codon Code Aligner versión 2.0 (CodonCode Corporation MA, Estados Unidos). El alineamiento múltiple se realizó mediante Clustal W (Thompson et al., 1994) en BioEdit v7.2.6., añadiendo las secuencias extraídas del GenBank, correspondientes a 82 secuencias para COI (Anexo 2) y 149 secuencias para *rbcL* (Anexo 3). A las secuencias alineadas se le cortaron los extremos de todas las secuencias para que tengan la misma longitud.

3.4. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS

El análisis filogenético se realizó en base a los marcadores COI y *rbcL*, cada uno con un paquete de datos que incluye las secuencias obtenidas en este trabajo y las secuencias extraídas del GenBank. Cada paquete de datos fue evaluado con el programa JModelTest2 (Darriba et al., 2015) para identificar el modelo apropiado de evolución de secuencias seleccionado en base al Criterio de Información de Akaike (AIC); AIC para cada marcador escogió coincidentemente el modelo GTR+I+G. Independientemente para cada marcador, las relaciones filogenéticas fueron inferidas en base a los modelos de Máxima Verosimilitud con el programa RAxML 7.2.6 (Stamatakis, 2014) con 1000 replicaciones bootstrap; e Inferencia Bayesiana usando MrBayes 3.2.1 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001) con 5 millones de generaciones. Durante la corrida los arboles fueron muestreados cada 1000 generaciones y en el proceso final el 30 por ciento de los primeros arboles muestreados fueron eliminados. Cada árbol terminado fue visualizado y editado con el programa Figtree v1.4.3 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

3.5. DELIMITACIÓN DE ESPECIES EN BASE A SECUENCIAS DE ADN

Para la delimitación de especies se trabajó con cuatro grupos de secuencias, dependiendo del marcador molecular usado y de los géneros evaluados: *Porphyra* con el marcador COI, *Porphyra* con el marcador *rbcL*, *Pyropia* con el marcador COI y *Pyropia* con el marcador *rbcL*.

Dos métodos empíricos se aplicaron para definir los límites de las especies. El primero en base a una aproximación de distancia que es el método ABGD. Este método permite separar las distancias genéticas intraespecífica e interespecífica - independientemente de si estas dos

distribuciones se superpongan - detectando la brecha del código de barras. ABGD realiza una primera partición que delimita las primeras especies posibles y luego, en base a estas especies posibles, el programa las sigue separando hasta que no se detecten más brechas generando la segunda partición. El análisis ABGD se realizó en el servidor web <http://www.abi.snv.jussieu.fr> (Puillandre et al., 2011; Puillandre et al., 2012), seleccionando la distancia JC69 y usando los parámetros por defecto de ancho relativo de la brecha 1.5, $P_{min} = 0.001$, $P_{max} = 0.1$, pasos = 10 y número de compartimentos = 20. Para este estudio solo se hará referencia a la partición primaria, debido a que la segunda partición tiende a sobrestimar el número de agrupaciones.

El segundo método usado fue GMYC, el cual combina el método Yule para la especiación y el modelo de Coalescencia que describe por separado las poblaciones (Pons et al., 2006). Para ello, se requiere de un árbol ultramétrico (misma distancia de rama), el cual se construyó con el programa BEAST 1.7 (Drummond et al., 2012) usando el modelo GTR+I+G, seleccionado por JModelTest2 (Darriba et al., 2015) en base al Criterio de Información Bayesiana (BIC), bajo un modelo de reloj molecular relajado *log-normal* no correlacionado y usando como modelo a priori para el árbol el modelo Yule constante con una corrida de 50 millones de cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC). Para cada marcador los cálculos MCMC fueron muestreados cada 1000 generaciones. Debido a la complejidad del procesamiento, los resultados se diagnosticaron usando Tracer v. 1.5 (Rambaut et al., 2018) para corroborar que los cálculos realizados por BEAST 1.7 con respecto a los tamaños estimados de muestra (ESS) de los parámetros del árbol fueran mayor a 200. Los árboles consensos fueron inferidos por TreeAnnotator v. 1.5.3 (Drummond et al., 2012); que eliminó el 30 por ciento de los primeros árboles calculados, pero por la cantidad de secuencias analizadas y la complejidad de los cálculos, el árbol consenso fue realizado en la opción TreeAnnotator on X SEDE 1.8.4 del portal web CIPRES (www.phylo.org/portal2/createTask!changeTab.action?tab=Select+Tool). Con los árboles consensos, los análisis GMYC fueron realizados usando el paquete SPLITS de R (www.r-forge.r-project.org/projects/splits/) (Fujisawa y Barraclough, 2013) en base a los modelos del umbral simple para la delimitación de especies.

3.6. DISTANCIA GENÉTICA

Para determinar las distancias de las especies putativas se alineó las secuencias usando ClustalW en BioEdit v7.2.6. y se calculó las distancias intraespecífica e interespecífica usando Kimura 2-parametros (K2P; Kimura, 1980) en MEGA v7 (Kumar et al., 2016). Algunos autores cuestionan que el modelo de K2P sea la medición adecuada, por ello se calcularon los valores de distancia generada por el método estadístico de la distancia p (Collins et al., 2012). Cabe mencionar que K2P es el estándar en la literatura relacionada al Código de Barras del ADN.

3.7. REDES DE HAPLOTIPOS

Algunas especies de Bangiales foliosas (*Pyropia* sp. CHI y *Pyropia orbicularis*) presentaron amplia distribución, por la cual se procedió a analizar los patrones filogeográficos. Para poder visualizar las relaciones entre los haplotipos de estas especies, se construyó redes de haplotipos en base a COI y *rbcL* usando el algoritmo de Median Joining implementado en el programa Network v 5.0.0.3 (Bandelt et al., 1999).

3.8. ANALISIS MORFOLÓGICO

Solo dos especies registradas en este trabajo cuentan con descripción morfológica (*Pyropia orbicularis* y *Pyropia suborbiculata*). A los especímenes que se asociaron a estas especies se les evaluó la forma, el tamaño, el color y la textura del talo.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En base al marcador mitocondrial COI y al marcador cloroplastidial *rbcL*, se obtuvieron 85 secuencias de ADN de 46 individuos de *Porphyra* y *Pyropia* que fueron analizadas en este trabajo. Como resultado, 19 individuos fueron asignados al género *Porphyra* y 26 al género *Pyropia* (Figura 2). Adicionalmente, un solo espécimen fue asignado al género *Miuraea*. Dentro de los géneros *Porphyra* y *Pyropia*, los especímenes se asociaron a diferentes grupos genéticos estrechamente relacionados que fueron evaluados mediante ABGD y GMYC para verificar la monofilia de cada grupo y determinar el número de especies de la data.

4.1. FILOGENIA Y DELIMITACIÓN DE ESPECIES DE *PORPHYRA* Y *PYROPIA*

En este trabajo se generaron 46 secuencias *rbcL*, entre las cuales 19 se asociaron al género *Porphyra* y 26 al género *Pyropia*. Dentro del género *Porphyra* (Figura 3), 18 de las 19 secuencias formaron 2 clados de 9 secuencias, cada uno con un solo haplotipo. Estos clados entre sí presentan un soporte bajo en la bifurcación. Sin embargo, ninguna de estas secuencias se asoció a las secuencias de las especies de *Porphyra* extraídas del GenBank (Anexo 3), por lo cual a estos clados se les denominó como *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB.

La secuencia restante se asoció con *Porphyra* sp. CHF. Dentro del género *Pyropia* (Figura 4), 21 de las 26 secuencias *rbcL* se asociaron con *Pyropia* sp. CHI presentando 2 haplotipos para la costa peruana, 3 secuencias se asociaron al clado de *Pyropia orbicularis* presentando un solo haplotipo, una secuencia se asoció al clado de *Pyropia suborbiculata* y una secuencia se asoció al clado de *Pyropia* sp. 6POR.

Para el marcador COI se generaron 39 secuencias, de las cuales 17 se asociaron a *Porphyra* y 22 a *Pyropia*. Dentro del género *Porphyra* (Figura 5), las 17 secuencias se dividieron en 2 clados con 8 y 9 secuencias (cada clado presentó 2 haplotipos). Ninguna de las secuencias evaluadas se asoció a las secuencias de especies *Porphyra* extraídas del Genbank (Anexo 2), por lo cual (al igual que *rbcL*) también se les denominó *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB respectivamente. Dentro de *Pyropia*, 20 de las 22 secuencias se asociaron con *Pyropia* sp. CHI (con 4 haplotipos diferentes). De las 2 secuencias restantes, una se asoció con *Pyropia orbicularis* y la otra con *Pyropia* sp. 6POR.

Los resultados obtenidos de los análisis ABGD y GMYC se pueden visualizar en la Tabla 2 para los marcadores COI y *rbcL*. En COI, la verosimilitud del modelo GMYC de umbral simple fue significativa con respecto a la del modelo nulo para las secuencias de *Porphyra* (valor de $P = 0.0048$), sin embargo, para *Pyropia* el modelo GMYC no fue significativo (valor de $P = 0.0642$). En *rbcL*, la prueba de razón de verosimilitud para ambos géneros no fue significativa (valor de $P_{Porphyra} = 0.3031$ y valor de $P_{Pyropia} = 0.7660$). Con estos resultados se indica que para el caso de *Pyropia*, aplicando ambos marcadores, no se tiene la suficiente evidencia para predecir la transición entre la coalescencia y la especiación, por lo que puede generar una sobrestimación (en COI) o una infravaloración de entidades separadas (*rbcL*). Para ambos géneros, los resultados arrojados por COI son más confiables con respecto a los de *rbcL*, debido a que COI presente un valor de P menor. Además, *rbcL* presenta un intervalo de confianza con elevada amplitud dando a entender la dificultad que tuvo el método en estimar el número de entidades, por ello en este trabajo solo se está considerando los resultados GMYC de COI.

Para GMYC se recomienda trabajar con un mínimo de 5 especies debido a que ayuda a reducir el error estadístico y así a evitar el error en la estimación de entidades (Talavera et al., 2013), por ello en todos los análisis GMYC se incluyeron las secuencias de Guillemín et al. (2016). En base a esto, el modelo GMYC asignó al género *Porphyra* 9 entidades (taxones) con un intervalo de confianza de 8-12 (entidades) y a *Pyropia* 8 entidades con un intervalo de confianza de 7-16. Sin embargo, la estimación real de entidades para la costa peruana fueron 2 para *Porphyra* (*Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB) y 3 para *Pyropia* (*Pyropia orbicularis*, *Pyropia* sp. CHI y *Pyropia* sp. 6POR).

En base a las particiones iniciales de ABGD (Tabla 2), las secuencias COI en *Porphyra* se separaron en 2 grupos denominados *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB (distancia

máxima = 0,00463) y para *Pyropia* en 3, denominados *Pyropia orbicularis*, *Pyropia* sp. 6POR y *Pyropia* sp. CHI (distancia prior máxima = 0.00774). Con el marcador *rbcL*, para *Porphyra* las secuencias se separaron en 3 grupos (distancia prior máxima = 0.00167) y *Pyropia* en 4 (distancia prior máxima = 0.00464). Cabe mencionar que las diferencias en los números de grupos establecidos para un solo género (aplicando ambos marcadores) son debido a que no todos los especímenes evaluados presentan secuencias COI (Tabla 1). En el caso de *Porphyra* sp. CHF (LL-167) y *Pyropia suborbiculata* (BSN-247), ambos colectados en Marcona (15°55.333'S / 75°19.521'W), solo presentan secuencias con el marcador *rbcL*.

La delimitación de especies mediante GMYC es consistente en el marcador COI debido a que presenta menor valor de P. Estos análisis coinciden con los resultados arrojados por los árboles filogenéticos y por ABGD aplicando ambos marcadores. En base a estos resultados se reconocen para *Porphyra* 3 entidades (*Porphyra* sp. CHF, *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB) y para *Pyropia* 4 entidades (*Pyropia orbicularis*, *Pyropia* sp. CHI, *Pyropia* sp. 6POR y *Pyropia suborbiculata*). Cabe mencionar que el análisis GMYC usando *rbcL* ha generado confusión debido a que establece menos grupos que otros análisis (Tabla 2). En el caso de *Porphyra*, delimitó las especies *Porphyra munfordii*, *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB como una sola entidad (Figura 6). Aunque esto fue descartado (ver discusión), este resultado fue generado debido a que *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB son de evolución reciente y están relacionadas a *Porphyra munfordii*.

4.2. VARIACIÓN INTRAESPECÍFICA E INTERESPECÍFICA

Basado en los análisis ya mencionados, de la data se establecieron 8 especies: una especie perteneciente a *Miuraea* (*Miuraea* sp. PEC), 3 especies a *Porphyra* (*Porphyra* sp. CHF, *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB) y 4 especies a *Pyropia* (*Pyropia orbicularis*, *Pyropia* sp. 6POR, *Pyropia* sp. CHI y *Pyropia suborbiculata*).

Los resultados de la distancia genética son presentados en las Tablas 3 y 4, para *rbcL* y COI respectivamente. Estas distancias mediante Kimura-2-parámetros y p-distancia presentaron valores similares, por la cual los resultados se discutieron en base a Kimura-2-parametros. Para el marcador *rbcL*, la distancia genética intraespecífica mayor fue de 0.004 correspondiente a *Pyropia* sp. CHI y la distancia interespecífica menor es de 0.009

pertenciente a las especies *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB. En el género *Pyropia* se puede denotar que la variación interespecífica es más profunda, debido a que la variación

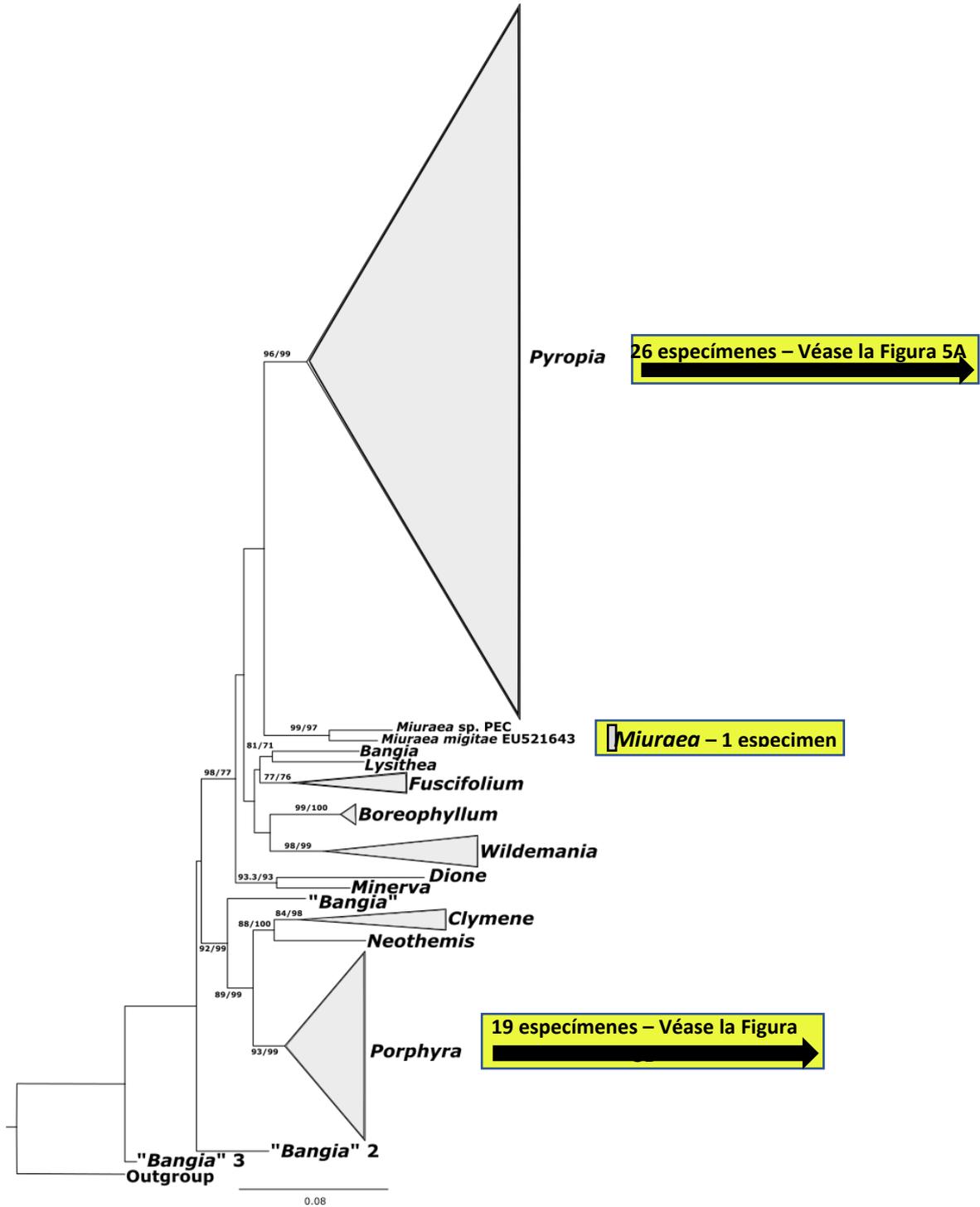


Figura 2: Árbol de Máxima Verosimilitud (ML) del orden Bangiales para las secuencias *rbcL* (875 pb) donde se colocaron los géneros propuestos por Sutherland et al. (2011). Los géneros que presentaron especímenes peruanos se resaltaron con amarillo. Cada nodo presenta el soporte otorgado por ML e por la Inferencia Bayesiana (ML/IB). Solo se mostraron los soportes mayores a 75. El *outgroup* *Smithora naiadum* se usó para enraizar el árbol.

mínima entre especies es 0.059 a diferencia de *Porphyra* que es de 0.009. En el caso del marcador COI, la distancia intra- e interespecífica es mayor que la de *rbcL*. La distancia intraespecífica mayor es de 0.173, perteneciente a *Pyropia* sp. CHI, y la distancia interespecífica menor es de 0.025, perteneciente a la distancia entre las especies *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB.

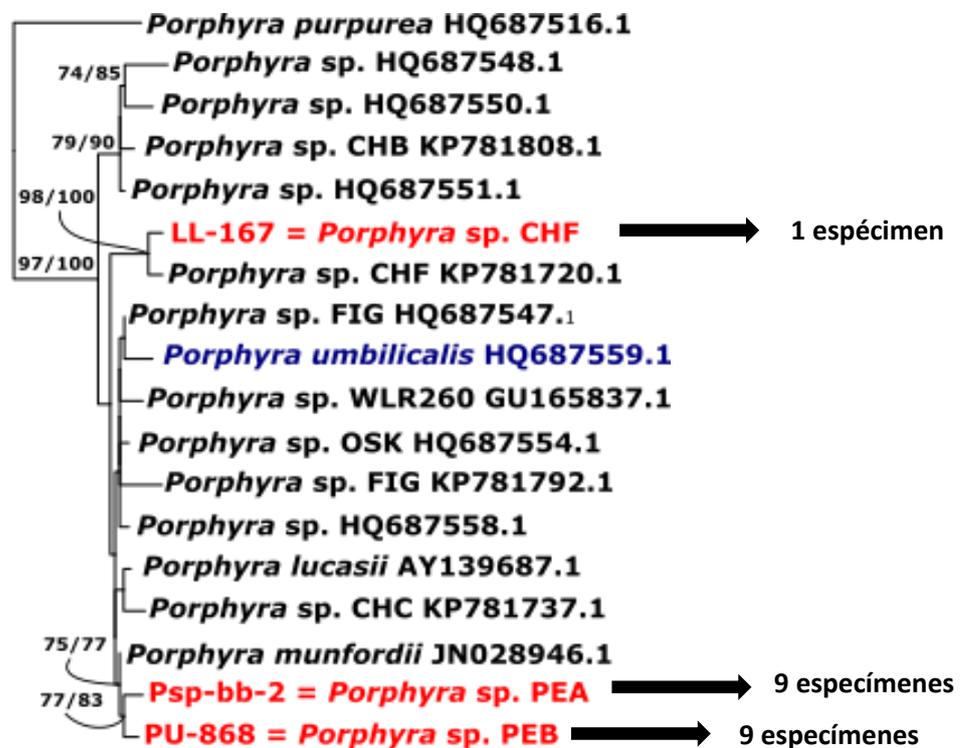


Figura 3: Ampliación del clado de *Porphyra* en base al marcador *rbcL*. El árbol está construido en base al método ML incluyendo los soportes ML e IB (ML/IB). Solo se mostraron los soportes mayores a 75. Los nombres con rojo son las especies peruanas determinadas en este trabajo y los nombres con azul son los registros de Bangiales foliosas para Perú.

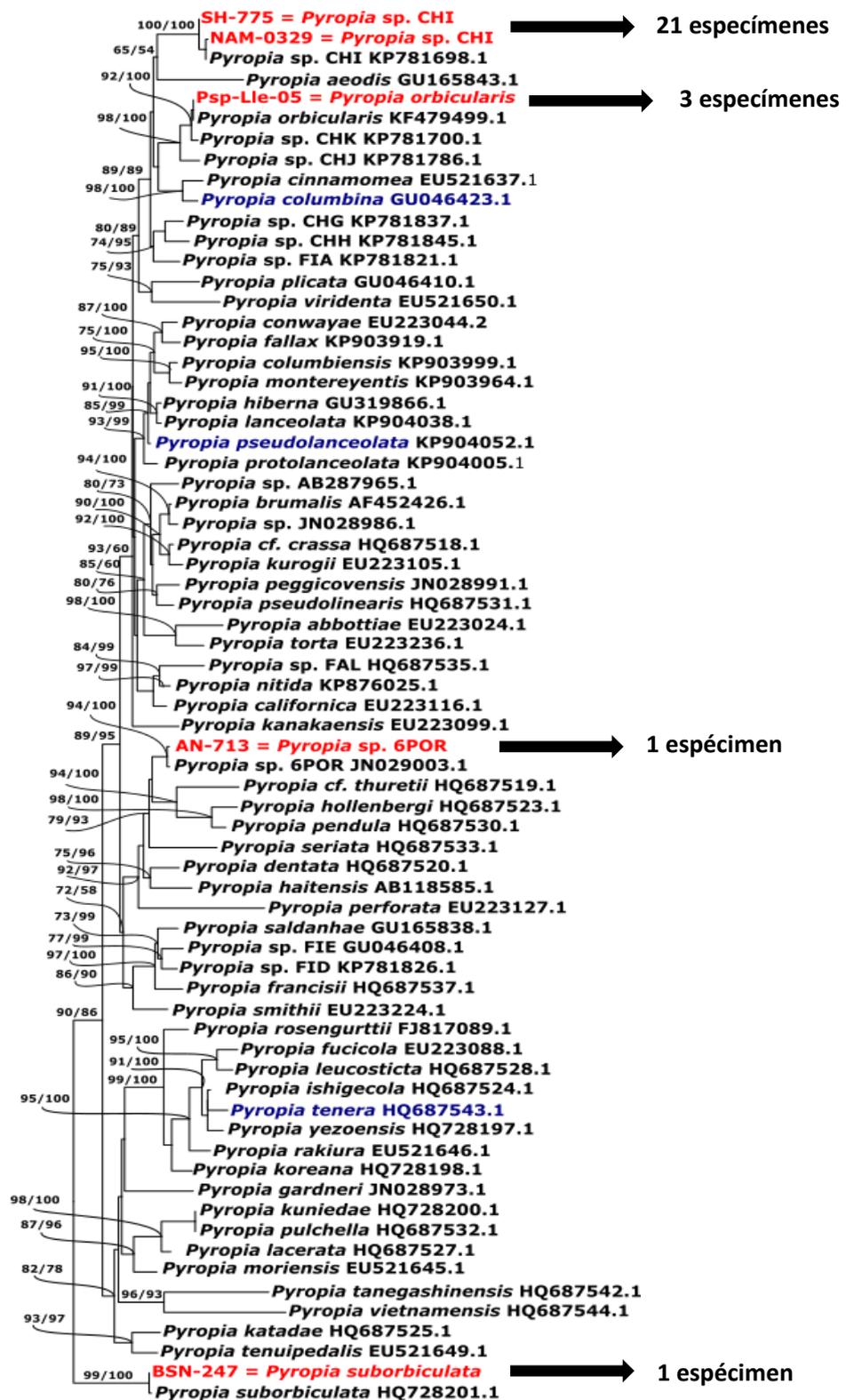


Figura 4: Ampliación del clado de *Pyropia* en base al marcador *rbcL*. El árbol está construido en base al método ML incluyendo los soportes ML e IB (ML/IB). Solo se mostraron los soportes mayores a 75. Los nombres con rojo son las especies peruanas determinadas en este trabajo y los nombres con azul son los registros de Bangiales foliosas para Perú.

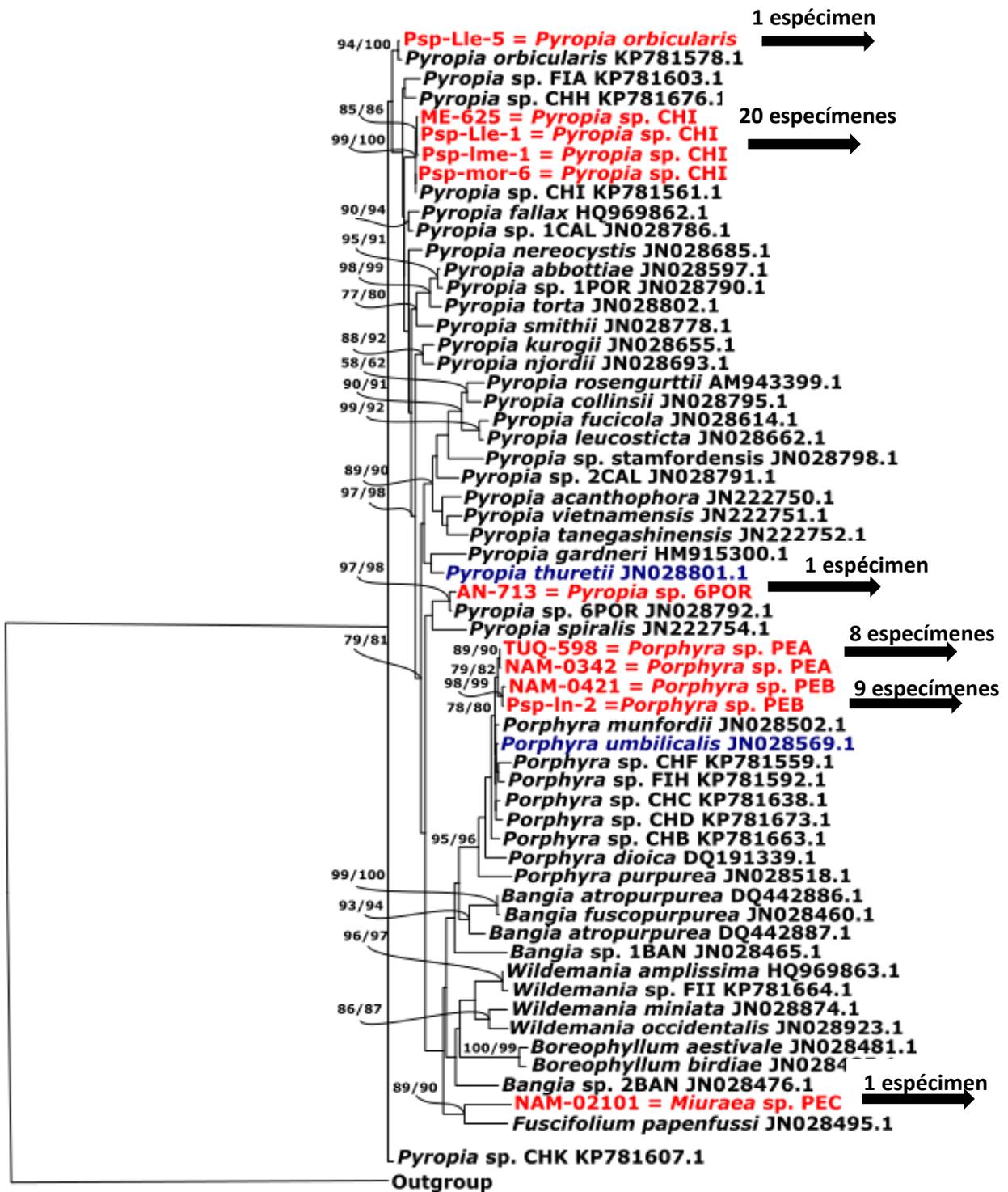


Figura 5: Árbol de Máxima Verosimilitud (ML) del orden Bangiales para las secuencias COI (508 pb). Cada nodo presenta el soporte otorgado por ML y las probabilidades de la Inferencia Bayesiana (ML/IB). Solo se mostraron los soportes mayores a 75. Los nombres con rojo son las especies determinadas en este trabajo y los nombres con azul son los registros de Bangiales foliosas para Perú. El outgroup *Smithora naiadum* se usó para enraizar el árbol

4.3. ANÁLISIS FILOGEOGRÁFICOS

De las especies reconocidas mediante el análisis molecular, *Pyropia* sp. CHI, con 21 especímenes (20 secuencias COI y 21 secuencias *rbcL*), es la especie que presenta mayor rango de distribución en la costa peruana, abarca desde Casma ($9^{\circ}46.565'S / 78^{\circ}14.676'W$) hasta Morro Sama ($17^{\circ}59.944'S / 70^{\circ}53.157'W$), y se extiende hasta la región de Coquimbo, Chile ($30^{\circ}01'51''S / 71^{\circ}23'26''W$). Además, es la especie con el mayor número de haplotipos en la costa peruana, por ello se procedió a realizar estudios filogeográficos mediante la construcción de redes de haplotipos usando los marcadores COI (gen de evolución más rápida) y *rbcL* (gen de evolución más conservada). En COI (Figura 8), *Pyropia* sp. CHI presenta 8 haplotipos, habiendo una diferencia de 8 pb dentro de la especie. Varios de estos haplotipos solo están presentes en una sola localidad. Otros haplotipos están distribuidos en 2 localidades, como el caso de las regiones de Tacna y Arica y de Marcona y Atico. El haplotipo presente en Casma, Marcona y Atico presenta mayor rango de distribución, sin embargo, este haplotipo hasta ahora no se ha encontrado en las localidades intermedias, habiendo una distancia de 930 km aproximadamente de ausencia. En el caso de *rbcL* (Figura 9), la red haplotípica es menos compleja que la de COI, presentando solo 4 haplotipos con un haplotipo que abarca desde Casma hasta Arica. En ambos marcadores se denota que el haplotipo presente en Coquimbo es el que más se aparta de la red, aunque cabe resaltar que desde Arica hasta Coquimbo hay ausencia de colecta.

En el caso de *Pyropia orbicularis* (Figura 9), los 3 especímenes (con 1 secuencia COI y 3 secuencias *rbcL*) fueron colectados en San Juan de Marcona ($15^{\circ}23.118'S / 75^{\circ}09.545'W$). El haplotipo del marcador COI presenta una diferencia de al menos 3 pb con los haplotipos de Chile. En el marcador *rbcL*, los 3 especímenes presentan un solo haplotipo que es similar a al haplotipo presente en la costa central de Chile.

4.4. ANÁLISIS MORFOLÓGICO DE 2 ESPECIES DE *PYROPIA*

De todas las especies determinadas en este trabajo, solo *Pyropia orbicularis* y *Pyropia suborbiculata* cuentan con descripción morfológica. Por ello se procedió a realizar el análisis morfológico de los especímenes asociados a estas especies (Anexo 4).

En *Pyropia orbicularis*, el talo de los 3 especímenes asociados a esta especie presenta un color verde gris y una superficie lisa; tienen tamaños que varían entre 6 y 10.5 cm de altura y entre 4.5 y 8.2 cm de anchura; presentan márgenes ondulados irregulares y en el punto de fijación se superponen pequeños lóbulos. El espécimen Psp-Lle-02 es el único que presenta la forma orbicular, los restantes (Psp-Lle-04 y Psp-Lle-05) presentan formas más irregulares.

El espécimen BSN-247, asociado a *Pyropia suborbiculata*, presenta el talo de color rosado con una textura fina, forma de una corneta con una altura de 6.2 cm y márgenes ligeramente ondulados hacia adentro. El punto de fijación se encuentra en la base del talo.

4.5. DISCUSIÓN

De los 9 géneros reportados a nivel global para las Bangiales foliosas (Sánchez et al., 2014; Sutherland et al., 2011), el Perú presenta 3 de ellos (*Miuraea*, *Porphyra* y *Pyropia*). Mediante el análisis molecular, este estudio ha revelado una diversidad de especies de Bangiales foliosas en la costa del Perú mayor a la estimada históricamente en base a los caracteres morfológicos.

Aunque este trabajo tiene como objetivo estudiar la diversidad de *Porphyra* y *Pyropia* en el Perú, es importante discutir sobre *Miuraea*, debido a que es la primera vez que se reporta este género en la costa sudamericana. *Miuraea* es un género representado por una sola especie (*Miuraea migatae*, Sutherland et al., 2011), que inicialmente había sido reportada en las costas de Japón como *Porphyra migatae* (Kikuchi et al., 2010) y posteriormente en Corea ya como *M. migatae* (Koh et al., 2016). En el Perú; el espécimen NAM-201, secuenciado con los marcadores COI y *rbcL*, fue el único asignado a este género. Esta designación a *Miuraea* está basada exclusivamente en el marcador *rbcL* puesto que en GenBank las secuencias de este género solo están disponibles en este marcador. NAM-201 y *M. migatae* presentan bajo soporte en la bifurcación, pero una divergencia genética de 5.9 por ciento. Considerando que las divergencias entre géneros estimadas por Sutherland et al. (2011) variaron entre 6.9 por ciento y 12.0 por ciento, esta divergencia de 5.9 por ciento hace

suponer que el espécimen NAM-201 pertenece a una especie dentro de este género, pero diferente a *M. migitae*. Por lo tanto, para este trabajo a la especie del espécimen NAM-201 se le denominó como *Miuraea* sp. PEC y con este resultado el género *Miuraea* pasa a tener por lo menos 2 especies, extendiéndose su distribución hasta la costa sudamericana.

Los resultados obtenidos a través de la delimitación de especie, en base GMYC y ABGD, y la reconstrucción filogenética usando diferentes marcadores (COI y *rbcL*) fueron congruentes. Si bien la delimitación de las especies *Porphyra* sp. CHF y *Pyropia suborbiculata* fue basada únicamente en las secuencias del marcador *rbcL* (en ausencia de datos para COI), y por lo tanto no se puede concluir en una congruencia entre marcadores para la asignación de los especímenes peruanos a estas especies, cabe destacar que en la actualidad muchas de las nuevas especies de Bangiales foliosas se están delimitando en base a *rbcL* (Mateo-Cid et al., 2012; Mols-Mortensen et al., 2012). Debido a su evolución más conservada con respecto a otros marcadores (Saunders y Kucera, 2010), el marcador *rbcL* es ampliamente recomendado para algas rojas (Hommersand et al., 1999; Saunders, 2005), por ello en el GenBank hay mayor cantidad de secuencias *rbcL* para estas algas.

Para GMYC solo se aplicó el método del umbral simple, puesto que el umbral múltiple sobrestima la diversidad de especies (Monaghan et al., 2009; Fujisawa y Barraclough, 2013; Talavera et al., 2013), y siguiendo la sugerencia de otros trabajos (Payo et al., 2012; Michonneau, 2015) en el análisis se eliminó los haplotipos repetidos para que las secuencias similares no generen demasiadas particiones en los datos analizados (Reid y Carstens, 2012). ABGD presenta una delimitación más conservada, tiende a fusionar especies putativas (Puillandre et al., 2012) y tiende a generar menos particiones que GMYC. Al aplicar estos métodos en un mismo paquete de datos por lo general suelen haber incongruencias en la estimación de entidades (Carstens et al., 2013). Esto se observa en particular en los trabajos de Guillemain et al. (2016) y Kekkonen y Hebert (2014), en los cuales los niveles de incongruencias entre GMYC y ABGD fueron de 29 por ciento y 20 por ciento respectivamente. Sin embargo, en este trabajo, la mayoría de los resultados de cada método fueron congruentes entre sí, como se observa en la figura 6. Esta congruencia entre ABGD y GMYC está posiblemente explicada por la cantidad de especímenes evaluados, ya que el número de muestras afecta el ajuste de los datos para estimar el número de entidades (Talavera et al., 2013). En particular,

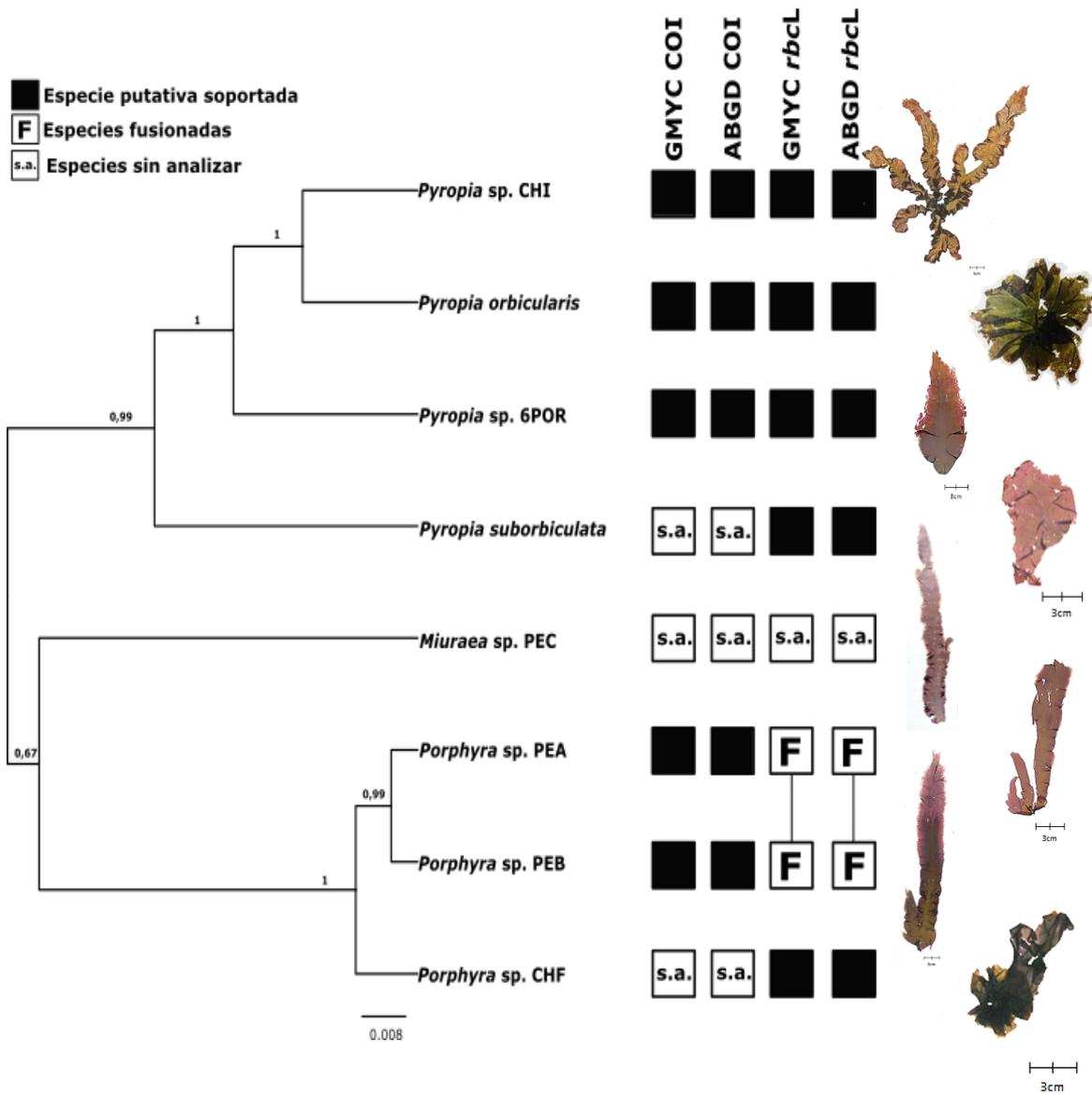


Figura 6: Árbol de especies en base al método IB usando BEAST para la obtención del árbol ultramétrico. Las especies putativas fueron definidas en base a 4 análisis de delimitación de especies: GMYCsingle para COI, ABGD para COI, GMYCsingle para *rbcL* y ABGD para *rbcL*; cada una de ellas con su imagen representativa.

Tabla 2: Resumen de los resultados arrojados por los métodos GMYC y ABGD.

GEN	COI		<i>rbcL</i>	
Descripción	Gen parcial mitocondrial del Citocromo Oxidasa I		Gen parcial plastidial de la subunidad larga de RUBISCO	
Longitud de alineamiento	508 pb		875 pb	
Número de especímenes peruanos usados en este estudio	39		46	
	<i>Porphyra</i>	<i>Pyropia</i>	<i>Porphyra</i>	<i>Pyropia</i>
Números de especímenes usados para los análisis ABGD y GMYC	39	49	45	47
Análisis GMYC				
In LO ^(a)	141.21	199.07	202.63	154.63
Verosimilitud del análisis GMYC de un solo umbral ^(b)	141.20	201.81	203.82	155.92
Resultado de la prueba de razón de verosimilitudes para un solo umbral	0.0048**	0.0642 ns	0.3031 ns	0.7660 ns
Números de linajes GMYC con intervalo de confianza para la prueba de un solo umbral	9 (3-10)	8 (4-13)	9 (1-28)	4 (1-27)
Verosimilitud del modelo GMYC para umbral múltiple	146.82	202.71	204.56	155.53
Resultado de la prueba de razón de verosimilitudes para umbral múltiple	0.0036**	0.0259*	0.1452 ns	0.4088 ns
Número de linajes GMYC con intervalo de confianza para prueba de umbral múltiple ^(c)	10 (3-14)	11 (8-20)	7 (1-17)	5 (1-16)
Tiempos del umbral ^(d)	1.52	2.17	2.57	1.53
Análisis ABGD				
Distancia prior máxima para la partición inicial	4.63E-03	7.74E-03	1.67E-03	4.64E-03
Número de grupos ABGD	2	3	3	4

(a) Probabilidad de registro del modelo nulo suponiendo que toda la muestra proviene de una sola población siguiendo una coalescencia neutral.

(b) Probabilidad de registro del modelo GMYC, un modelo combinado que describe por separado los procesos de población (un modelo coalescente neutro) y especiación (modelo Yule), suponiendo que los datos incluyen un número de linajes (especies) que evolucionan por separado mediante ramificación que representa el clado monofilético.

(c) Número estimado de linajes GMYC (solución de máxima verosimilitud) e intervalo de confianza (soluciones dentro de dos unidades de verosimilitud logarítmica de máxima verosimilitud).

(d) Profundidad estimada (sustituciones por sitio) de las puntas de las ramas en las que se producen patrones de ramificación de nivel población – especies

** = Muy significativo * = Significativo ns = No significativo

Tabla 3: Distancia genética promedio de las entidades delimitadas por ABGD y GMYC en base al marcador *rbcL*.

	1	2	3	4	5	6	7
1 <i>Porphyra</i> sp. CHF	0.002	0.017	0.018	-	-	-	-
2 <i>Porphyra</i> sp. PEA	0.017	0.000	0.009	-	-	-	-
3 <i>Porphyra</i> sp. PEB	0.018	0.009	0.000	-	-	-	-
4 <i>Pyropia orbicularis</i>	-	-	-	0.003	0.061	0.048	0.042
5 <i>Pyropia suborbiculata</i>	-	-	-	0.064	0.002	0.057	0.057
6 <i>Pyropia</i> sp. 6POR	-	-	-	0.050	0.060	0.002	0.063
7 <i>Pyropia</i> sp. CHI	-	-	-	0.043	0.066	0.059	0.004

En la diagonal están las distancias intraespecíficas en base a Kimura 2-parámetros. En la parte superior están las distancias interespecíficas en base a p-distancia y en la parte inferior las distancias interespecíficas en base a Kimura 2-parámetros. Las distancias genéticas entre las especies de diferentes géneros no se consideraron.

Tabla 4: Distancia genética promedio de las entidades delimitadas por ABGD y GMYC en base al marcador COI.

	1	2	3	4	5
1 <i>Porphyra</i> sp. PEA	0.001	0.033	-	-	-
2 <i>Porphyra</i> sp. PEB	0.034	0.008	-	-	-
3 <i>Pyropia</i> sp. CHI	-	-	0.008	0.095	0.075
4 <i>Pyropia</i> sp. 6POR	-	-	0.102	0.025	0.112
5 <i>Pyropia orbicularis</i>	-	-	0.074	0.118	0.019

Véase la leyenda de la tabla 3

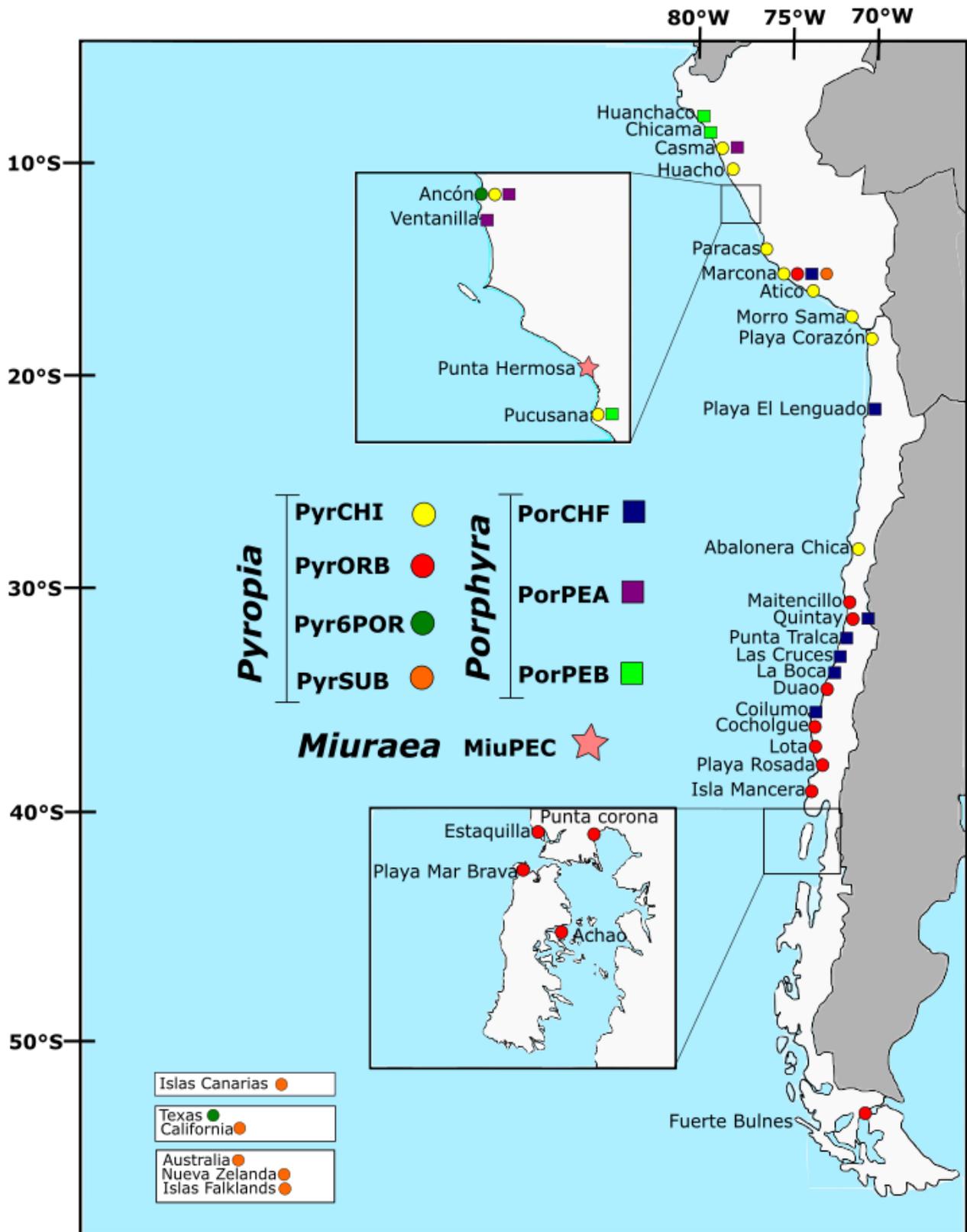


Figura 7: Mapa de distribución de especies de *Porphyra* y *Pyropia* registradas en la costa peruana, incluyendo el género *Miuraea*.

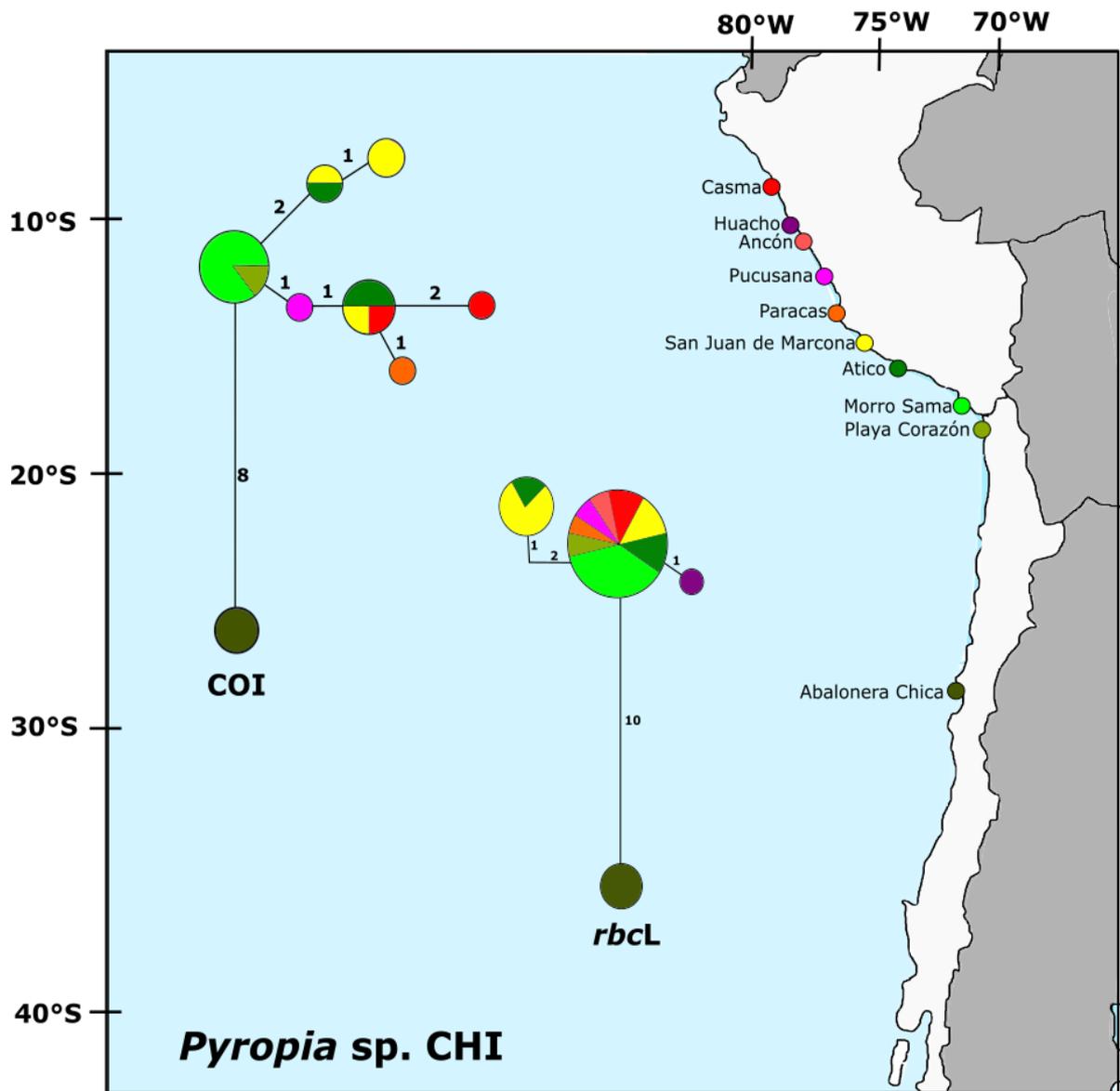


Figura 8: Redes de haplotipos de *Pyropia sp. CHI* para los marcadores COI y *rbcL*. En las redes de haplotipos, cada círculo representa un haplotipo y su tamaño es proporcional a la cantidad de haplotipos encontrados. Los colores corresponden a las localidades situadas en el mapa. Los números indican la diferencia de pares de bases entre los haplotipos.

en los trabajos mencionados se analizaron una mayor cantidad de datos (>150 especímenes) en comparación con los datos de esta investigación (<50). Además, en GMYC se ha detectado la presencia de secuencias solitarias (especies representadas por un solo espécimen, Lim et al., 2012) y, aunque estas secuencias por lo general no afectan en la delimitación correcta de las especies, un alto porcentaje de ellas puede reducir considerablemente la relevancia de aplicar GMYC (Talavera et al., 2013).

En el presente trabajo, si bien las especies *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB están representadas por más de un espécimen, estas solo presentan un haplotipo, por la cual al depurar las secuencias repetidas GMYC ha considerado estas especies como secuencias solitarias. Por tener una baja tasa de evolución, el marcador *rbcL* ha generado que en el análisis GMYC en ambos géneros se hayan fusionado especies putativas. Esto es explicado por la nula significancia de la transición entre la coalescencia y la especiación generada por un proceso de coalescencia lento que no permite generar un linaje ancestro – descendiente (clado monofilético) establecido, lo que genera que el método no reconozca las especies de evolución reciente (Knowles y Carstens, 2007). Además, por lo general un linaje incompleto provoca que la distancia entre la variación intraespecífica y la variación interespecífica (brecha del código de barras) no esté determinada, dando lugar a posibles especies polifiléticas o parafileticas (Meyer y Paulay, 2005). En este tipo de casos cuando la brecha del código de barras no esté definida entre las especies, la delimitación mediante ABGD es recomendada debido a que determina el prior máximo de divergencia (brecha del código de barras) independientemente si las variaciones intraespecífica e interespecífica se superpongan (Puillandre et al., 2012a; Puillandre et al., 2012b). En este trabajo, a pesar de que en *rbcL* el proceso de coalescencia sea lento, no hay superposición entre la variación intraespecífica e interespecífica, dado que la distancia intraespecífica mayor con la distancia interespecífica menor en el género *Porphyra* es de 0.7 por ciento y en *Pyropia* de 3.9 por ciento teniendo con distancia prior máximo de 0.16 por ciento.

El COI presenta una mayor tasa de evolución y eso es reflejado usando GMYC, donde en *Porphyra* el proceso de coalescencia es más rápido y, a pesar de que en *Pyropia* el mismo proceso sea algo más lento, su significancia es mayor que la de *rbcL* generando un clado monofilético establecido. Además, presenta mayor variación genética, denotado en el prior máximo que va entre 0.46 por ciento y 0.77 por ciento. Aunque el COI es un marcador recomendado y ampliamente usado para código de barras y delimitación de especies en algas rojas (Saunders, 2005; Payo et al., 2012; Kucera y Saunders, 2012), su uso en la construcción

filogenética es más limitado debido a la poca cantidad de secuencias disponibles en este marcador en el GenBank en comparación con *rbcL*, como se observa en la Figura 4. *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB son especies putativas de reciente divergencia debido a la poca distancia genética (0.9 por ciento) que existe entre ellas. Los métodos de delimitación en base a *rbcL* agrupaban a estas especies como una sola especie junto con *Porphyra munfordii*. Sin embargo, los métodos de delimitación en base a COI, ayudado por el soporte molecular, determinaron que son especies diferentes.

Tomando todos nuestros resultados se determinó la presencia de 8 especies de Bangiales foliosas en la costa peruana. *Porphyra* y *Pyropia* son los géneros con mayor diversidad con 3 y 4 especies respectivamente y *Miuraea* es representado por un solo espécimen. Algunas de estas especies determinadas son compartidas con Chile expandiendo sus rangos de distribución, como *Porphyra* sp. CHF, *Pyropia orbicularis* y *Pyropia* sp. CHI. Otras especies que originalmente fueron registradas en regiones diferentes de la costa del Pacífico Sudamericano están representadas por un solo espécimen en la costa peruana como el caso de *Pyropia suborbiculata* y *Pyropia* sp. 6POR. Por último, se identificaron especies que son exclusivas para Perú como *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB, aunque estas especies podrían estar en otras costas, pero todavía no reportadas.

En Perú en base a morfología se habían registrado las siguientes 5 especies de *Porphyra sensu lato*: *Porphyra columbina*, *Porphyra pseudolanceolata*, *Porphyra tenera*, *Porphyra thurettii* y *Porphyra umbilicalis* (Acleto y Endo, 1977;ACLEto, 1986; Ramírez y Santelices, 1991). También se había registrado la especie *Porphyra crispata* (Acleto, 1984;ACLEto, 1986), sin embargo, posteriormente esta especie se había pasado a ser *Monostroma nitidum* (Yoshida, 1997). Con ello se habían ratificado para nuestras costas 5 especies de *Porphyra sensu lato* aceptadas taxonómicamente. Con la revisión de las especies de Bangiales foliosas realizada por Sutherland et al. (2011) se desprendieron nuevos géneros y por ello muchas especies registradas anteriormente como *Porphyra* pasaron a ser sinonimia de otras especies, como en los casos de *Porphyra columbina*, *Porphyra pseudolanceolata* y *Porphyra tenera* que pasaron a ser *Pyropia columbina*, *Pyropia pseudolanceolata* y *Pyropia tenera*, respectivamente (Sutherland et al., 2011; Guiry y Guiry, 2018). Sin embargo, ninguna de las especies delimitadas aquí usando herramientas moleculares coincidió con los registros de *Porphyra sensu lato* (Ramírez y Santelices, 1991), a pesar de haber incluido secuencias de estas especies en la construcción filogenética de ambos marcadores (Figura 4 y 5) y que en base a morfología muchos de estos individuos podrían haber sido descritos como *P.*

columbina o *P. pseudolanceolata*. Esto denota la problemática de identificar las especies de Bangiales foliosas en base a la morfología.

A nivel global, un gran porcentaje de especies han sido mal identificadas (Brodie et al., 2008, Yang et al., 2017) y con la inclusión de herramientas moleculares se ha estimado una mayor diversidad de especies de Bangiales foliosas, revelando la alta diversidad críptica de este grupo (Stiller y Waaland, 1993; Kucera y Saunders, 2012). Por ello en la actualidad muchos trabajos relacionados a Bangiales foliosas están enfocados en revelar su verdadera diversidad local usando ampliamente los métodos moleculares (Nelson y Broom, 2010). La incongruencia entre los resultados moleculares y los registros de especies taxonómicamente aceptadas se ha manifestado en muchos trabajos (Dumilag et al., 2017, Dumilag y Monotilla, 2018). Por ejemplo, en Chile (Guillemin et al., 2016), de las 18 especies estimadas mediante delimitación de especies, solo 2 estaban registradas anteriormente (*Porphyra munfordii* y *Pyropia orbicularis*; Ramírez y Santelices, 1991; Ramírez 2014) y el resto son nuevas especies que están todavía sin describir. Sin embargo, en este trabajo a pesar que no hubo coincidencia entre los resultados moleculares y los registros de *Porphyra sensu lato*, no se puede descartar la presencia de algunas especies registradas previamente. En particular, algunas localidades mencionadas en los registros históricos no pudieron ser muestreadas y en otras simplemente se fue al sitio y no se encontró especímenes de las especies registradas. Así es el caso de Sechura (5°34'S/ 80°49'W) donde existen registros de *Porphyra sensu lato*, pero no se encontró pradera de estas algas. No se puede excluir la presencia de *Porphyra sensu lato* en Perú también por el número limitado de muestras colectadas en cada localidad, en general a lo más 5 individuos, excepto en San Juan de Marcona (15°55.333'S /75°19.521'W), única localidad con más de 10 individuos. Por estas limitaciones de muestreo, el registro de 8 especies de Bangiales foliosas en la costa peruana probablemente no representa la verdadera diversidad local, y si se sigue colectando en los mismos sitios y en otras localidades, esta cantidad aumentará muy probablemente. Sin embargo, con estos primeros resultados se ha estimado una mayor diversidad de Bangiales foliosas de lo que se conocía y este trabajo indudablemente complementa los resultados presentados por Guillemin et al. (2016) para develar la verdadera diversidad de estas algas en la costa temperada del Pacífico Sur Este.

Algunas morfoespecies de *Porphyra sensu lato* registradas en la costa peruana son discutidas en estos párrafos. Diversos estudios basados en caracteres morfológicos registraron la presencia de la especie *Porphyra columbina* (ahora *Pyropia columbina*, Guiry y Guiry,

2018) en las costas de Chile y Perú (Taylor, 1947; Acleto y Endo, 1977; Ramírez y Santelices, 1991). Sin embargo, a partir del trabajo de Nelson y Broom (2010) se cuestionó la presencia de "*Porphyra columbina*" en la costa chilena, dado que el hábitat típico de esta especie se caracteriza por tener aguas frías y en Chile muchos de los lugares donde se reportó esta especie poseen aguas templadas (Ramírez et al., 2014). Esta situación fue abordada por Ramírez et al. (2014) quienes realizaron un estudio genético y morfológico de los especímenes identificados como "*Porphyra columbina*" en Maitencillo, Valparaíso, Chile identificando la nueva especie *Pyropia orbicularis*. Esta especie se distribuye desde la región de Atacama hasta Magallanes (28°S – 55°S, Guillemín et al., 2016). De los especímenes colectados en Perú para el presente estudio, 24 especímenes son identificados morfológicamente como "*P. columbina*", pero ninguna de las secuencias obtenidas con los marcadores mitocondrial y cloroplastidial se agruparon con las secuencias de *Pyropia columbina*. De estos 24 especímenes, 21 de los especímenes se asociaron al clado de *Pyropia* sp. CHI, especie registrada en la costa norte de Chile (Guillemín et al., 2016) presentando amplia distribución en la costa peruana, aunque todavía no se ha realizado descripción morfológica. Los tres especímenes restantes (Psp-Lle-2, Psp-Lle-4 y Psp-Lle-5) se registraron como *Pyropia orbicularis* en base al análisis morfológico y molecular, siendo la primera vez que esta especie se reporta en el Perú, ampliando su rango de distribución en la costa sudamericana (a partir de ahora desde los 15°S hasta los 55°S). Sin embargo, la distribución actualmente conocida de *Pyropia orbicularis* no es continua debido a que en Perú solo se ha reportado en una sola localidad y en Chile se reporta a partir de la Región de Atacama (Figura 7). En las regiones de Arequipa y Tacna (Perú); y en las regiones de Arica, Tarapacá y Antofagasta (Chile) todavía no se han encontrado, lo que puede deberse a limitaciones de muestreo. En particular en el caso de Perú, en lugares como Atico o Morro Sama solo se ha colectado una vez y probablemente en una época del año que no corresponde al estadio gametofítico del alga; en Chile esos lugares son de difícil acceso y por lo tanto las colectas en esas zonas no son frecuentes.

En base a Acleto y Endo (1997), *Porphyra pseudolanceolata* (ahora *Pyropia pseudolanceolata*, Sutherland et al., 2011; Guiry y Guiry, 2018) sería la segunda especie con mayor distribución en el Perú. Sin embargo, ninguno de los 18 especímenes que son identificados como "*P. pseudolanceolata*" se asociaron a esta especie ni a otras especies de Bangiales foliosas registradas en el GenBank, por lo que se propusieron las especies *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB, por ahora consideradas como exclusivas para el Perú

y caracterizadas por distribuciones más restringidas (Figura 7). En la actualidad, junto con el estudio de Guillemín et al. (2016) para Chile, el presente estudio para Perú sugiere entonces la ausencia de *Porphyra pseudolanceolata* en la costa pacífica de Sudamérica.

Usando marcadores moleculares, se identificó la presencia de especies de Bangiales foliosas no nativas en las costas chilenas (e.g., *Porphyra* sp. FIH, *Pyropia* sp. FIA y *Pyropia* sp. FID, Guillemín et al., 2016). El presente estudio por su parte evidencia la presencia de *Pyropia suborbiculata* en Perú. *Pyropia suborbiculata* es la única especie de Bangiales foliosas reportada tanto en el hemisferio norte como en el sur (Nelson et al., 2005): inicialmente registrada en las costas asiáticas (Japón, Corea, China y Vietnam, Aguilar-Rosas y Aguilar-Rosas, 2003), se encontró posteriormente en Nueva Zelanda, Australia, Brasil y el Pacífico Mexicano (Milstein et al., 2012), en el Atlántico Norteamericano (Broom et al., 2002, Aguilar-Rosas y Aguilar-Rosas, 2003), y por último en la Península Ibérica (Vergés et al., 2013). Entre los 47 especímenes peruanos estudiados en el presente trabajo, solo un espécimen (BSN-247 colectado en San Juan de Marcona) es asignado a *Pyropia suborbiculata* en base a las secuencias obtenidas; adicionalmente su morfología coincide con lo descrito por Broom et al. (2002). En base a los conceptos definidos por Richardson et al. (2000), en la costa peruana *Pyropia suborbiculata* podría ser catalogada como especie introducida, debido a que ha pasado la barrera geográfica del mar, pero que todavía no está establecida: no se han encontrado grandes extensiones de esta especie. Esto contrasta con la Península Ibérica (Vergés et al., 2013) y Baja California en México (Aguilar-Rosas y Aguilar-Rosas, 2003), donde esta especie fue catalogada como introducida y en donde ya se encuentran extensas praderas naturales de esta especie. Sánchez et al. (2014) sugieren que esta alga sí es nativa de la costa del Pacífico Norte Oeste y que ha sido introducida en el Atlántico occidental y otros océanos del mundo.

En la costa peruana se encontró la especie *Pyropia* sp. 6POR representada por AN-713 (colectado en Ancón). A nivel global solo había un individuo *Pyropia* sp. 6POR registrado en Puerto Arkansas, Texas, Estados Unidos por Saunders y Kucera (2010). Sin embargo, estos autores no han presentado alguna información más que el sitio de colecta, tampoco han provisto de alguna foto de herbario disponible para una revisión. No se descarta que en el Perú se puedan encontrar más individuos de esta especie.

Aunque no es objetivo de este trabajo establecer patrones filogeográficos, se decidió construir redes de haplotipos de algunas de las especies evaluadas para evaluar sus

congruencias topológicas (relación especie - espacio geográfico; Arbeláez-Cortés, 2012) que en ambientes marinos suelen ser afectadas por las barreras geográficas que restringen la dispersión (incluido flujo génico) de los organismos. Las zonas de transición biogeográfica que son generadas en los puntos de divergencias entre sistemas marinos y corrientes marinas son un ejemplo de ello. En Chile se reconocen dos zonas de transición, la primera entre los 30°S y 32°S y la segunda alrededor de los 42°S; en Perú solo se reconoce una zona de transición entre los 4°S y 6°S (Camus, 2001). Estas transiciones dividen el litoral en provincias, por ello a lo largo de la costa sudamericana se reconocen 4 áreas biogeográficas: Provincia Panameña (30°N a 4°S – 6°S), Provincia Peruana (4°S – 6°S a 30°S – 32°S), Área Intermedia (30°S – 32°S a 42°S) y Provincia Magallánica (42°S – 56°S). Diferentes trabajos han reportado la presencia de quiebres filogeográficos asociados a las zonas de transición biogeográfica de Chile, como en el caso de *Lessonia nigrescens* (Tellier et al., 2011) y *Mazzaella laminarioides* (Montecinos et al., 2012). De las especies de Bangiales foliosas incluidas en el presente estudio, *Pyropia* sp. CHI tiene diversas características que la hacen un buen modelo para una caracterización filogeográfica: su rango de distribución es amplio en Perú (de Casma a Tacna; presente estudio) y en el norte de Chile (de Arica a Coquimbo; Guillemín et al., 2016); es la especie de mayor abundancia en la costa peruana y se encontró en casi todas las localidades colectadas. Las redes de haplotipos evidencian una separación entre el haplotipo de Coquimbo (30°S) y los demás haplotipos, lo que sugiere una concordancia entre quiebre genético en ambos marcadores y la zona de transición biogeográfica reportada a 30-32°S. Los haplotipos encontrados en la Provincia Peruana (desde Casma hasta Arica) no presentan diferencias muy marcadas entre ellos, aunque en el caso del marcador COI se puede visualizar que las diferencias entre los haplotipos están relacionadas con la latitud.

En cuanto a *Pyropia orbicularis* es el primer reporte para la Provincia Peruana. El haplotipo encontrado en Perú en base a COI presenta una diferencia de tres pares de base a los haplotipos encontrados a partir del área intermedia en Chile (Guillemín et al., 2016). En *rbcL*, el haplotipo de Perú no presenta diferencia con el haplotipo de la localidad tipo de *Pyropia orbicularis*.

Desde la revisión hecha por Sutherland et al. (2011), todo estudio relacionado a la diversidad de especies del orden Bangiales se realiza desde el enfoque molecular. En base a esto, se realiza la caracterización morfológica de las especies determinadas (Ramírez et al., 2014, Koh y Kim, 2018). En este trabajo, solo 2 de las 8 especies determinadas por el soporte

molecular cuentan con una descripción morfológica (*Pyropia orbicularis* y *Pyropia suborbiculata*). La caracterización morfológica de las 6 especies faltantes se ve complejizada por el pequeño número de especímenes colectados por especie.

V. CONCLUSIONES

- 1- En base a la delimitación de especie y reconstrucción filogenética se ha determinado 3 especies de *Porphyra* (*Porphyra* sp. CHF, *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB) y 4 especies de *Pyropia* (*Py. orbicularis*, *Pyropia* sp. CHI, *Pyropia* sp. 6POR y *Py. suborbiculata*) en la costa peruana.
- 2- No existe concordancia entre los resultados obtenidos por el análisis molecular y los registros de Bangiales foliosas en la costa peruana.
- 3- Todavía no se ha determinado la presencia de las especies catalogadas para la costa peruana: *Pyropia columbina*, *Py. pseudolanceolata*, *Py. tenera*, *P. thuretii* y *P. umbilicalis*.
- 4- Se determina que *Pyropia* sp. CHI es una especie de amplia distribución en la Provincia Peruana, existiendo concordancia entre los patrones filogeográficos y biogeográficos, especialmente en la zona de transición de los 30 °S a los 32 °S.
- 5- En base a los métodos de delimitación de especie y distancia genética, se determina que *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB son especies putativas de reciente divergencia.
- 6- En base al análisis molecular y morfológico, se identifican las especies *Pyropia orbicularis* y *Pyropia suborbiculata*.
- 7- Para *Porphyra* sp. CHF, *Porphyra* sp. PEA, *Porphyra* sp. PEB, *Pyropia* sp. 6POR y *Pyropia* sp. CHI, se requiere un mayor número de especímenes para realizar una caracterización morfológica.
- 8- Se reporta por primera vez el género *Miuraea* en la costa peruana representado por *Miuraea* sp. PEC.

VI. RECOMENDACIONES

1. Se debe realizar colectas exhaustivas en los sitios mencionados en este trabajo para determinar las especies de *Porphyra* y *Pyropia* que crecen estacionalmente. Además de incluir una mayor cantidad de áreas de la costa peruana.
2. A pesar de que los marcadores COI y *rbcL* son marcadores confiables para los estudios moleculares, se recomienda emplear por lo menos un marcador más (marcador nuclear) para obtener mayor confiabilidad al momento de delimitar especies en base a ADN.
3. Incluir métodos de delimitación de especie en base a varios locus.

VII. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. Acleto, C; Endo, J. 1977. Las especies peruanas de *Porphyra* (Rhodophyta, Bangiales), I. Taxonomía y distribución geográfica. Lima, Perú, Museo de Historia Natural "Javier Prado" UNMSM. 8 p (Serie B Botánica N° 29).
2. Acleto, C. 1984. Las especies peruanas de *Porphyra* (Rhodophyta, Bangiales), II. *Porphyra crispata* Kjellman, un nuevo registro para nuestra flora. Lima, Perú, Museo de Historia Natural "Javier Prado" UNMSM. 8 p (Serie B Botánica N° 31).
3. Acleto, C. 1986. Algas marinas del Perú de importancia económica. Museo de Historia Natural "Javier Prado" UNMSM. 107 p (Serie de divulgación N° 5).
4. Agardh, CA. 1824. Synopsis Algarum. Scandinavie. Suecia, Acta Universidad de Lunds. 137 p.
5. Agardh, JG. 1899. Analecta Algologica. s.l., Acta Universidad de Lunds. 168 p.
6. Aguilar, BY. 2015. Elucidación estructural del polisacarido del alga roja *Porphyra columbina* y determinación in vivo de la capacidad antioxidante e hipolipemiente. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 152p.
7. Aguilar-Rosas, R; Aguilar-Rosas, LE. 2003. El género *Porphyra* (Bangiaceae, Rhodophyta) en la costa Pacífico de México. I. *Porphyra suborbiculata* Kjellman. Hidrobiológica 13(1):51-56.
8. Arbeláez-Cortés, E. 2012. Comparative Phylogeography: Concepts, methods and general patterns in Neotropical birds. Acta Biológica Colombiana 17(1):19-38.
9. Bandelt, H-J; Forster, P; Röhl, A. 1999. Median-Joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Molecular Biology 16(1):37-48.
10. Blouin, NA; Brodie, JA; Grossman, AC; Xu, P; Brawley, SH. 2011. *Porphyra*: A marine crop shaped by stress. Trends in Plant Science 16(1):29-37.
11. Brodie, J; Mols Mortensen, A; Ramirez, ME; Russell, S; Rinkel, B. 2008. Making the links: Towards a global taxonomy for the red algal genus *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta). Journal of Applied Phycology 20(5):939-949.
12. Brodie, JA; Lewis, J. 2007. Unravelling the algae: The past, present, and future of algal systematics. s.l., s.e. 375 p

13. Broom, JE; Nelson, WA; Yarish, C; Jones, W. A; Aguilar-Rosas, R; Aguilar-Rosas, LE. 2002. A reassessment of the taxonomic status of *Porphyra suborbiculata*, *Porphyra carolinensis* and *Porphyra lilliputiana* (Bangiales, Rhodophyta) based on molecular and morphological data. *European Journal of Phycology* 37:227-235.
14. Broom, JES; Nelson, WA; Farr, TJ; Phillips, LE; Clayton, M. 2010. Relationships of the *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) flora of the Falkland Islands: A molecular survey using *rbcL* and SSU sequence data. *Australian Systematic Botany* 23(1):27-37.
15. Calderon, M. 2017. Filogenia molecular de algunas algas marinas rojas del Perú basada en análisis de ADN plastidial. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 275p.
16. Čandek, K; Kuntner, M. 2015. DNA Barcoding gap: Reliable species identification over morphological and geographical scales. *Molecular Ecology Resources* 15(2):268-277.
17. Carstens, BC; Pelletier, TA; Reid, NM; Satler, JD. 2013. How to fail at species delimitation. *Molecular Ecology* 22(17):4369-4383.
18. Collins, RA; Boykin, LM; Cruickshank, RH; Armstrong, KF. 2012. Barcoding's next top model: An evaluation of nucleotide substitution models for specimen identification. *Methods in Ecology and Evolution* 3(3):457-465.
19. Darriba, D; Taboada, GL; Doallo, R; Posada, D. 2015. jModelTest 2 : more models , new heuristics and high- performance computing. *Nature Methods* 9(8):6-9.
20. Dawson, EY; Acleto, C; Foldvik, N. 1964. *The Seaweeds of Peru*. Weinheim Verlag Von J. Cramer. 80 p.
21. Drummond, AJ; Suchard, MA; Xie, D; Rambaut, A. 2012. Bayesian Phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution* 29(8):1969-1973.
22. Dumilag, R V.; Aguinaldo, ZZA; Mintu, CB; Quinto, MP; Ame, EC; Andres, RC; Monotilla, WD; Yap, SL; Cao, EP; Vital, PG; Fontanilla, IKC. 2017. A review of the current taxonomic status of foliose Bangiales (Rhodophyta) in the Philippines. *Phytotaxa* 312(1):47-59.
23. Dumilag, R V.; Monotilla, WD. 2018. Molecular diversity and biogeography of Philippine foliose Bangiales (Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* 30(1):173-186.
24. Ence, DD, Carstens, BC. 2011. SpedeSTEM: A rapid and accurate method for

- species delimitation. *Molecular Ecology Resources* 11: 473-480.
25. Fujisawa, T; Barraclough, TG. 2013. Delimiting species using single-locus data and the generalized mixed yule coalescent approach: A revised method and evaluation on simulated data sets. *Systematic Biology* 62(5):707-724.
 26. Gabrielson, PW; Garbary, DJ. 1987. A cladistic analysis of Rhodophyta: Florideophycidean orders. *British Phycological Journal* 22(2):125-138.
 27. Gabrielson, PW; Garbary, DJ; Scagel, RF. 1985. The nature of the ancestral red alga: Inferences from a cladistic analysis. *BioSystems* 18(3-4):335-346.
 28. Guevara, JM. 2015. Contenidos de minerales y ácidos grasos omega-3 en huevos de gallinas ponedoras, alimentadas con harina de algas (*Ulva* spp.) Facultad de Zootecnia. Universidad Nacional Agraria La Molina. 209p.
 29. Guillemin, ML; Contreras-Porcía, L; Ramírez, ME; Macaya, EC; Contador, CB; Woods, H; Wyatt, C; Brodie, J. 2016. The bladed Bangiales (Rhodophyta) of the South Eastern Pacific: Molecular species delimitation reveals extensive diversity. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 94:814-826.
 30. Guiry, MD; Guiry, GM. 2018. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 10 August 2018.
 31. Harden, LK; Morales, KM; Hughey, JR. 2015. Identification of a new marine algal species *Pyropia nitida* sp. nov. (Bangiales: Rhodophyta) from Monterey, California (en línea). *Mitochondrial DNA* 00(00):1-5.
 32. Hommersand, MH; Fredericq, S; Freshwater, DW. 1994. Phylogenetic systematics and biogeography of the Gigartinaceae (Gigartiales, Rhodophyta) based on sequence analysis of *rbcL*. s.l., s.e., vol.37. p. 193-203.
 33. Hommersand, MH; Fredericq, S; Freshwater, DW; Hughey, J. 1999. Recent developments in the systematics of the Gigartinaceae (Gigartinales, Rhodophyta) based on *rbcL* sequence analysis and morphological evidence. *Phycological Research* 47(3):139-151.
 34. Howe, MA. 1914. *The Marine Algae of Perú*. XV. New York, The New Printing Company. 184 p.
 35. Huelsenbeck, JP; Ronquist, F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17(8):754-755.
 36. Kekkonen, M; Hebert, PDN. 2014. DNA barcode-based delineation of putative species: Efficient start for taxonomic workflows. *Molecular Ecology Resources*

- 14(4):706-715.
37. Kikuchi, N; Arai, S; Yoshida, G; Shin, J-A; Broom, JE; Nelson, WA; Miyata, M. 2010. *Porphyra migitae* sp. nov. (Bangiales, Rhodophyta) from Japan (en línea). *Phycologia* 49(4):345-354.
 38. Knowles, LL; Carstens, BC. 2007. Delimiting species without monophyletic sene trees. *Systematic Biology* 56(6):887-895.
 39. Koh, YH; Kim, MS. 2018. DNA Barcoding reveals cryptic diversity of economic red algae, *Pyropia* (Bangiales, Rhodophyta): description of novel species from Korea (en línea). *Journal of Applied Phycology* :1-10. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1529-8>.
 40. Koh, YH; Lee, HW; Kim, MS. 2016. *Miuraea migitae*, a new record of the order Bangiales (Bangiophyceae, Rhodophyta) from Korea. *Fisheries and Aquatic Sciences* 19(1):38. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41240-016-0037-5>.
 41. Kucera, H; Saunders, GW. 2012. A survey of bangiales (Rhodophyta) based on multiple molecular markers reveals cryptic diversity. *Journal of Phycology* 48(4):869-882.
 42. Kumar, S; Stecher, G; Tamura, K. 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33(7):1870-1874.
 43. Leliaert, F; Verbruggen, H; Vanormelingen, P; Steen, F; López-Bautista, JM; Zuccarello, GC; De Clerck, O. 2014. DNA-based species delimitation in algae. *European Journal of Phycology* 49(2):179-196.
 44. Levine, IA; Sahoo, D. 2010. *Porphyra*: Harvesting gold from the sea. New Delhi, India, International Publishing House Pvt. Ltd. 12 p.
 45. Lim, GS; Balke, M; Meier, R. 2012. Determining species boundaries in a world full of rarity: Singletons, species delimitation methods. *Systematic Biology* 61(1):165-169.
 46. Lindstrom, SC. 2008. Cryptic diversity, biogeography and genetic variation in Northeast Pacific species of *Porphyra sensu lato* (Bangiales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* 20(5):951-962.
 47. Lindstrom, SC; Fredericq, S. 2003. *rbcL* gene sequences reveal relationships among north-east Pacific species of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) and a new species, *P. aestivalis*. *Phycological Research* 5:211-224.
 48. Lindstrom, SC; Hughey, JR; Aguilar Rosas, LE. 2015. Four new species of *Pyropia*

- (Bangiales, Rhodophyta) from the west coast of North America: the *Pyropia lanceolata* species complex updated. *PhytoKeys* 52:1-22.
49. Lindstrom, SC; Lindeberg, MR; Guthrie, DA. 2015. Marine macroalgae of the Aleutian Islands: I. Bangiales. *Algae* 30(4):247-263.
 50. Maddison, WP. 1997. Gene trees in species trees. *Systematic Biology* 46(3):523-536.
 51. Mateo-Cid, LE; Mendoza-González, AC; Díaz, J; Senties, A; Pedroche, FF; Diego, J; Heredia, S. 2012. A new species of *Pyropia* (Rhodophyta, Bangiaceae), from the Pacific coast of Mexico, based on morphological and molecular evidence. *Phytotaxa* 12:1-12.
 52. Mayden, RL. 1997. A hierarchy of species concepts: the denouement in the saga of the species problem. In *Claridge, MF; Dawah, HA; Wilson, MR (eds.)*. s.l., s.e. p. 381-423.
 53. Meyer, CP; Paulay, G. 2005. DNA Barcoding: Error rates based on comprehensive sampling. *PLoS Biology* 3(12):1-10.
 54. Michonneau, F. 2015. Cryptic and not so cryptic species in the complex (Chinodermata / Holothuroidea / Holothuriidae). bioRxiv.
 55. Milstein, D; Medeiros, AS; Oliveira, EC; Oliveira, MC. 2012. Will a DNA barcoding approach be useful to identify *Porphyra* species (Bangiales, Rhodophyta)? A case study with Brazilian taxa. *Journal of Applied Phycology* 24(4):837-845.
 56. Mishler, B; Luna, E. 1997. Sistemática filogenética y el concepto de especie. s.l., s.e., vol.60. p. 45-57.
 57. Mols-Mortensen, A; Neefus, CD; Nielsen, R; Gunnarsson, K; Egilsdóttir, S; Pedersen, PM; Brodie, J. 2012. New insights into the biodiversity and generic relationships of foliose Bangiales (Rhodophyta) in Iceland and the faroe Islands. *European Journal of Phycology* 47(2):146-159.
 58. Mols-Mortensen, A; Neefus, CD; Pedersen, PM; Brodie, J. 2014. Diversity and distribution of foliose Bangiales (Rhodophyta) in West Greenland: A link between the North Atlantic and North Pacific (en línea). *European Journal of Phycology* 49(1):1-10.
 59. Monaghan, MT; Wild, R; Elliot, M; Fujisawa, T; Balke, M; Inward, DJG; Lees, DC; Ranaivosolo, R; Eggleton, P; Barraclough, TG; Vogler, AP. 2009. Accelerated Species Inventory on Madagascar Using Coalescent-Based Models of Species Delineation. *Systematic Biology* 58(3):298-311.
 60. Montecinos, A; Broitman, BR; Faugeron, S; Haye, PA; Tellier, F; Guillemin, ML.

2012. Species replacement along a linear coastal habitat: Phylogeography and speciation in the red alga *Mazzaella laminarioides* along the south east pacific. *BMC Evolutionary Biology* 12(1):97-114.
61. Mortazavi, A; Williams, B a; McCue, K; Schaeffer, L; Wold, B. 2008. Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. *Nature methods* 5(7):621-628.
62. Müller, KM; Cannone, JJ; Sheath, RG. 2005. A molecular phylogenetic analysis of the Bangiales (Rhodophyta) and description of a new genus and species, *Pseudobangia kaycoleia*. *Phycologia* 44(6):651-657.
63. Neefus, CD; Mathieson, AC; Klein, AS; Teasdale, B; Bray, T; Yarish, C. 2002. *Porphyra birdiae* sp. nov. (Bangiales, Rhodophyta): A new species from the northwest Atlantic. *Algae* 17(4):203-216.
64. Nelson, WA; Brodie, JA; Guiry, MD. 1999. Terminology used to describe reproduction and life history stages in the genus *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* 11:36-43.
65. Nelson, WA; Broom, JE. 2010. The identity of *Porphyra columbina* (Bangiales, Rhodophyta) originally described from the New Zealand subantarctic islands. *Australian Systematic Botany* 23(1):16-26.
66. Nelson, WA; Farr, TJ; Broom, JES. 2005. *Dione* and *Minerva* , two new genera from New Zealand circumscribed for basal taxa in the Bangiales. *Phycologia* 44(April):139-145.
67. Noriega, C. 2016. Algas marinas para la alimentación de los peruanos. *Turismo y Patrimonio* 10: 55-68.
68. Oliveira, MC; Bhattacharya, D. 2000. Phylogeny of the Bangiophycidae (Rhodophyta) and the secondary endosymbiotic origin of algal plastids. *American Journal of Botany* 87(4):482-492.
69. Payo, DA; Leliaert, F; Verbruggen, H; D'hondt, S; Calumpong, HP; De Clerck, O. 2012. Extensive cryptic species diversity and fine-scale endemism in the marine red alga *Portieria* in the Philippines. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280(1753).
70. Peña, C. 2011. Métodos de inferencia filogenética. *Revista Peruana de Biología* 18(182):265-267.
71. Piccone, A. 1886. *Alghe del viaggio di circumnavigazione della Vettor Pisani* (en línea). Genova, Italia, s.e. 108 p.
72. Pons, J; Barraclough, TG; Gomez-Zurita, J; Cardoso, A; Duran, DP; Hazell, S;

- Kamoun, S; Sumlin, WD; Vogler, AP. 2006. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology* 55(4):595-609.
73. Puillandre, N; Lambert, A; Brouillet, S; Achaz, G. 2012. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology* 21(8):1864-1877.
74. Puillandre, N; MacPherson, E; Lambourdière, J; Cruaud, C; Boisselier-Dubayle, MC; Samadi, S. 2011. Barcoding type specimens helps to identify synonyms and an unnamed new species in Eumunida Smith, 1883. *Invertebrate Systematics* 25(4):322-333.
75. Puillandre, N; Modica, M V.; Zhang, Y; Sirovich, L; Boisselier, MC; Cruaud, C; Holford, M; Samadi, S. 2012. Large-scale species delimitation method for hyperdiverse groups. *Molecular Ecology* 21(11):2671-2691.
76. Dawson, EY; Acleto, C; Foldvik, N. 1964. *The Seaweeds of Peru*. Weinheim Verlag Von J. Cramer. 80 p.
77. De Queiroz, K. 2005. A unified concept of species and its consequences for the future of taxonomy. *Proceedings of the California Academy of Sciences* 56(1):196–215.
78. De Queiroz, K. 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematic Biology* 56(6):879-886.
79. Rambaut, A; Drummond, AJ; Xie, D; Baele, G; Suchard, MA. 2018. Posterior summarization in Bayesian Phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology* :syy032-syy032.
80. Ramírez, ME; Contreras-Porcia, L; Guillemín, ML; Brodie, J; Valdivia, C; Flores-Molina, MR; Núñez, A; Contador, CB; Lovazzano, C. 2014. *Pyropia orbicularis* sp. nov. (Rhodophyta, Bangiaceae) based on a population previously known as *Porphyra columbina* from the central coast of Chile. *Phytotaxa* 158(2):133-153. DOI:
81. Ramírez, ME; Santelices, B. 1991. Catálogo de las algas marinas bentónicas de la costa temperada del Pacífico de Sudamérica. *Monografías Biológicas* 5:1-437.
82. Reid, NM; Carstens, BC. 2012. Phylogenetic estimation error can decrease the accuracy of species delimitation: A Bayesian implementation of the General Mixed Yule-Coalescent model. *BMC Evolutionary Biology* 12(1):1-11.
83. Richardson, DM; Pysek, P; Rejmanek, M; Barbour, MG; Panetta, FD; West, J; Mar, N. 2000. Naturalization and Invasion of Alien Plants : Concepts and definitions. *Diversity and Distributions* 6(2):93-107.

84. Robba, L; Russell, SJ; Barker, GL; Brodie, J. 2006. Assessing the use of the mitochondrial *cox1* marker for use in DNA Barcoding of red algae (Rhodophyta). *American Journal of Botany* 93(8):1101-1108.
85. Rosas, A; Ávalos, E. 1998. Uso de las algas marinas en México. *Ciencia y desarrollo* XXIV(143):1998.
86. Rosenberg, NA; Nordborg, M. 2002. Genealogical trees, coalescent theory and the analysis of genetic polymorphisms. *Nature Reviews Genetics* 3(5):380-390. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg795>.
87. Saitou, N; Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4(4):406-425.
88. Sánchez, N; Vergés, A; Peteiro, C; Sutherland, JE; Brodie, J. 2014. Diversity of bladed Bangiales (Rhodophyta) in Western Mediterranean: Recognition of the genus *Themis* and descriptions of *T. ballesterosii* sp. nov., *T. iberica* sp. nov., and *Pyropia parva* sp. nov. *Journal of Phycology* 50(5):908-929.
89. Saunders, GW. 2005. Applying DNA barcoding to red macroalgae: A preliminary appraisal holds promise for future applications. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 360(1462):1879-1888.
90. Saunders, GW; Hommersand, MH. 2004. Assessing red algal supraordinal diversity and taxonomy in the context of contemporary systematic data. *American Journal of Botany* 91(10):1494-1507.
91. Saunders, GW; Kucera, H. 2010. An evaluation of *rbcL*, *tufA*, UPA, LSU and ITS as DNA barcode markers for the marine green macroalgae. *Cryptogamie Algologie* 31(4):487-528.
92. Shen, Y; Kang, J; Chen, W; He, S. 2016. DNA barcoding for the identification of common economic aquatic products in Central China and its application for the supervision of the market trade (en línea). *Food Control* 61:79-91.
93. Stamatakis, A. 2014. The RAxML v8 Manual. s.l., s.e. 1-54. p.
94. Stiller, JW; Waaland, JR. 1993. Molecular Analysis reveals cryptic diversity in *Porphyra* (Rhodophyta). *Journal of Phycology* 17(1 993):506-517.
95. Sutherland, JE; Lindstrom, SC; Nelson, WA; Brodie, J; Lynch, MDJ; Hwang, MS; Choi, HG; Miyata, M; Kikuchi, N; Oliveira, MC; Farr, T; Neefus, C; Mols-Mortensen, A; Milstein, D; Müller, KM. 2011. A new look at an ancient order: Generic revision of the Bangiales (Rhodophyta). *Journal of Phycology* 47(5):1131-1151.

96. Talavera, G; Dincă, V; Vila, R. 2013. Factors affecting species delimitations with the GMYC model: Insights from a butterfly survey. *Methods in Ecology and Evolution* 4(12):1101-1110.
97. Távora, CH. 1992. Morfología y reproducción de *Porphyra pseudolanceolata* Krishnamurthy (Bangiales, Rhodophyta) en la costa Peruana. *Revista Peruana de Biología* 4(1-2):5-15.
98. Tellier, F; Tapia, J; Faugeron, S; Destombe, C; Valero, M. 2011. The *lessonia nigrescens* species complex (laminariales, phaeophyceae) shows strict parapatry and complete reproductive isolation in a secondary contact zone. *Journal of Phycology* 47(4):894-903.
99. Torretti, R. 2010. La proliferación de los conceptos de especie en la biología evolucionista. *Revista de Teoría Historia y Fundamentos de la Ciencia* 25(3):325-377.
100. Vergés, A; Comalada, N; Sánchez, N; Brodie, J. 2013. A reassessment of the foliose Bangiales (Rhodophyta) in the Balearic Islands including the proposed synonymy of *Pyropia olivii* with *Pyropia koreana*. *Botanica Marina* 56(3):229-240. DOI:
101. _____. 2013. *Pyropia suborbiculata* (Bangiales, Rhodophyta): First records from the northeastern Atlantic and Mediterranean of this North Pacific species. *Phycologia* 52(2):9.
102. White, BP; Pilgrim, EM; Boykin, LM; Stein, ED; Mazor, RD. 2014. Comparison of four species-delimitation methods applied to a DNA barcode data set of insect larvae for use in. *Freshwater Science* 33(1):338-348.
103. Yang, Z; Rannala, B. 2010. Bayesian species delimitation using multilocus sequence data. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 107: 9264-9269.
104. Yang, LE; Lu, QQ; Brodie, J. 2017. A review of the bladed Bangiales (Rhodophyta) in China: history, culture and taxonomy. *European Journal of Phycology* 52(3):251-263.
105. Yoon, HS; Müller, KM; Sheath, RG; Ott, FD; Bhattacharya, D. 2006. Defining the major lineages of red algae (Rhodophyta). *Journal of Phycology* 42(2):482-492.
106. Yoon, HS; Nelson, W; Lindstrom, SC; Boo, SM; Pueschel, C; Qiu, H; Bhattacharya, D; Nelson, W. 2017. Handbook of the Protists. *In Archibald, JM (ed.)*. s.l., s.e. p. 1-47.

107. Yoon, HS; Zuccarello, GC; Bhattacharya, D. 2010. Evolutionary history and taxonomic of red algae. s.l., s.e., vol.13. p. 25-42
108. Yoshida, T. 1997. Japanese marine algae: New combinations, new names and new species. *Phycological Research* 45:163-167.
109. Zhao, X; Pang, S; Shan, T; Liu, F. 2013. Applications of three DNA barcodes in assorting intertidal red macroalgal flora in Qingdao, China. *Journal of Ocean University of China* 12(1):139-145.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Especímenes de *Porphyra* reportados en la costa peruana

ESPECIE	REGISTRO INICIAL	DESCRIPCIÓN	DISTRIBUCIÓN	
<i>Porphyra columbina</i> Montagne	<i>Porphyra columbina</i> forma Kunthiana	Epilítica (crece sobre roca) en litoral; Carposporas y espermacios forman bandas marginales irregulares y dispersas, de color intenso o amarillento claro respectivamente. Lámina moderadamente consistente, lanceolada u oblondo lanceoladas, agrupadas en rosetas, marrón violáceo, marrón amarillento a marrón verdoso iridiscente, alcanza hasta 35 cm de longitud por 9 cm de ancho	Arequipa	Mollendo y Atico
			Ica	Isla Santa Rosa, Lagunilla e Islas Chinchas
			Lima	Mala, Asia, Pucusana, La Herradura, Islas
			La Libertad	Pescadores y Chancay
<i>Porphyra pseudolanceolata</i> Krishnamurthy	<i>Porphyra kunthiana</i> Kützing	Plantas dioicas, excepcionalmente monoicas. Epilíticas, litorales. Lámina moderadamente consistente, lineal o lanceolado, marrón verdoso, con margen rosado, alcanza hasta 45 cm de longitud por 10 cm de ancho	La Libertad	Punta Negra y Cerro Prieto
			Piura	Paita y Punta Talara
<i>Porphyra tenera</i>		Epilítica (crece sobre roca) en litoral; Carposporas y espermacios forman bandas marginales longitudinales definidas, rosado violáceo intenso y blanca cremosa respectivamente. Lámina delicada, oblonga u oblongo lineal, dividida en dos o más lóbulos, marrón violáceo irisdecente, alcanza hasta 27 cm de longitud por 7 cm de ancho	Lima	Pucusana, La Chira, Barranco y Ancón
			La Libertad	Puerto Chicama
<i>Porphyra thuretii</i>	<i>Porphyra leucosticta</i> Thuret.	Epifíticas sobre <i>Gracilariopsis lemanaeformis</i> , sublitoral; lámina delicada, ampliamente lanceolada u oblongo lanceolada; rosado intenso a pálido; alcanza hasta 45 cm de largo por 20 cm de ancho.	Piura	Lamas y Sechura
			Lima	Pucusana y Ancón

<i>Porphyra umbilicalis</i>	<i>Porphyra laciniata</i> auct. <i>Porphyra leucosticta</i>	Talo gametofítico marrón rojizo, pardusco, marrón grisáceo o verde oliva en campo, secando a pardusco violenta. Estipe indistinto, hoja orbiculada a alargada, auriculada y/o cuculada. Base ligeramente cordada superpuestas para aparecer umbilicado, márgenes a veces plisado. Talo monoestromático.	Lima	Isla San Lorenzo
------------------------------------	--	---	------	------------------

ANEXO 2: Secuencias COI extraídas del GenBank

ESPECIE	LOCALIDAD DE COLECTA	PAIS	VOUCHER	CITA
<i>Bangia atropurpurea</i>	Sidmouth, Devon	Inglaterra	DQ442886	Robba et al., 2006
<i>Bangia atropurpurea</i>	Kimmeridge, Dorset	Inglaterra	DQ442887	Robba et al., 2006
<i>Bangia fuscopurpurea</i>	Brenton Pt., Newport, Rhode Island	EEUU	JN028460	Kucera y Saunders, 2012
<i>Bangia</i> sp. <i>1BAN</i>	Whiffen Spit, Sooke Harbour, Vancouver Island, British Columbia	Canadá	JN028465	Kucera y Saunders, 2012
<i>Bangia</i> sp. <i>2BAN</i>	Escoumins (Rue des Pilotes), Quebec	Canadá	JN028476	Kucera y Saunders, 2012
<i>Boreophyllum aestivale</i>	Ramsey Island (beach on NW coast), Gwaii Haanas, British Columbia	Canadá	JN028481	Kucera y Saunders, 2012
<i>Boreophyllum birdiae</i>	rock across inlet from Bonne Bay Station, Newfoundland and Labrador	Canadá	JN028485	Kucera y Saunders, 2012
<i>Fuscifolium papenfussii</i>	Ridley Island (north of grain terminal), Prince Rupert, British Columbia	Canadá	JN028495	Kucera y Saunders, 2012
<i>Fuscifolium</i> sp. <i>CHA</i>	Puerto Oscuro, Choapa, Región de Coquimbo	Chile	KP781730	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra corallicola</i>	Lepreau, Bay of Fundy, Maces Bay, New Brunswick	Canadá	JN028496	Kucera y Saunders, 2012
<i>Porphyra dioica</i>	Talmine, Sutherland, Scotland	Reino Unido	DQ191339	Robba et al., 2006
<i>Porphyra rosenfurtii</i>		Isla Faroe	AM943399	Brodie et al., 2008
<i>Porphyra</i> sp. <i>CHB</i>	Cucao, Chiloé, Región de Los Lagos	Chile	KP781663	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. <i>CHC</i>	Salinas de Pullay, Petorca, Región de Valparaíso	Chile	KP781638	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. <i>CHC</i>	Pichicuyin, Valdivia, Región de Los Ríos	Chile	KP781645	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. <i>CHC</i>	Playa Rosada, Valdivia, Región de Los Ríos	Chile	KP781684	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. <i>CHD</i>	Buque Quemado, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781673	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. <i>CHF</i>	Guaquerillos, Elqui, Región de Coquimbo	Chile	KP781559	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. <i>CHF</i>	Caleta las Conchas, Choapa, Región de Coquimbo	Chile	KP781560	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. <i>CHF</i>	Las Cruces, San Antonio, Región de Valparaíso	Chile	KP781573	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. <i>CHF</i>	Las Cruces, San Antonio, Región de Valparaíso	Chile	KP781574	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. <i>CHF</i>	Curauquilla, Valparaíso, Región de Valparaíso	Chile	KP781674	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. <i>CHF</i>	Curauquilla, Valparaíso, Región de Valparaíso	Chile	KP781691	Guillemin et al., 2016

Continuación...

ESPECIE	LOCALIDAD DE COLECTA	PAIS	VOUCHER	CITA
<i>Porphyra</i> sp. CHF	Playa El Encanto, Valparaíso, Región de Valparaíso	Chile	KP781692	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. FIH	Metri, Llanquihue, Región de Los Lagos	Chile	KP781592	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. FIH	Cheuque, Cautin, Región de la Araucanía	Chile	KP781641	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. FIH	Punta Corona, Pargua, Puerto Montt, Región de Los Lagos	Chile	KP781650	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. FIH	Puñihuil, Chiloé, Región de Los Lagos	Chile	KP781656	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. FIH	Seno Otway-Punta Canelo, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781671	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. FIH	Rio Verde, Seno Skyring, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781672	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. JB286	Bracklesham Bay, Sussex	Inglaterra	DQ191335	Robba et al., 2006
<i>Porphyra mumfordii</i>	Bradys Beach, Bamfield, British Columbia	Canadá	JN028502	Kucera y Saunders, 2012
<i>Porphyra purpurea</i>	New Brunswick, Richebucto Cape Breakwater	Canadá	JN028518	Kucera y Saunders, 2012
<i>Porphyra umbilicalis</i>	Newfoundland and Labrador, St. Brides	Canadá	JN028569	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia abbottiae</i>	British Columbia, Ridley Island	Canadá	JN028597	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia acanthophora</i>	Praia da Lagoinha, Ubatuba, Sao Paulo	Brasil	JN222750	Milstein et al., 2012
<i>Pyropia fallax</i>	British Columbia, Murchison Island Lagoon, Gwaii Haanas	Canadá	HQ969862	iBOL
<i>Pyropia fucicola</i>	Island #40 on Esperenza Inlet Chart, Tahsis, British Columbia	Canadá	JN028614	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia gardneri</i>	Chaatl Island across from Newton Point, Haida Gwaii, British Columbia	Canadá	HM915300	iBOL
<i>Pyropia kurogii</i>	Prince Rupert, Ridley Island, British Columbia	Canadá	JN028655	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia leucosticta</i>	New Brunswick, Lepreau exposed biodiversity site, Bay of Fundy	Canadá	JN028662	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia nereocystis</i>	Cape Beale, Bamfield, British Columbia	Canadá	JN028685	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia njordii</i>	Lighthouse at Peggys Cove, Nova Scotia	Canadá	JN028693	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia orbicularis</i>	Duao, Curico, Región del Maule	Chile	KP781578	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia orbicularis</i>	Constitución, Talca, Región del Maule	Chile	KP781580	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia orbicularis</i>	Lota, Concepción, Región del Biobío	Chile	KP781587	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia orbicularis</i>	Calfuco, Valdivia, Región de Los Ríos	Chile	KP781589	Guillemin et al., 2016

Continuación...

ESPECIE	LOCALIDAD DE COLECTA	PAIS	VOUCHER	CITA
<i>Pyropia orbicularis</i>	Chonchi, Chiloé, Región de Los Lagos	Chile	KP781602	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia orbicularis</i>	Salinas de Pullay, Petorca, Región de Valparaíso	Chile	KP781637	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia orbicularis</i>	Fuerte Bulnes, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781665	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia smithii</i>	Gwaii Haanas, Ramsey Island, British Columbia	Canadá	JN028778	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia</i> sp. <i>1Cal</i>	Jade Cove, California	EEUU	JN028786	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia</i> sp. <i>collinsii</i>	Fort Wetherill, Rhode Island	EEUU	JN028795	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia</i> sp. CHH	Niebla (Playa Grande), Valdivia, Región de Los Ríos	Chile	KP781676	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHI	Playa Corazón, Arica, Región de Arica y Parinacota	Chile	KP781561	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHI	Abalonera chica, Elqui, Región de Coquimbo	Chile	KP781621	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHJ	Coliumo, Concepción, Región del Biobío	Chile	KP781586	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHJ	Niebla (Playa Grande), Valdivia, Región de Los Ríos	Chile	KP781687	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHJ	Lebu, Concepción	Chile	KP781588	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHJ	Caremapu, Llanquihue, Región de Los Lagos	Chile	KP781598	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHJ	Región de Los Lagos, Chiloé, Playa Mar Brava	Chile	KP781599	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHK	Maitencillo, Valparaíso, Región de Valparaíso	Chile	KP781607	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHK	Los Burros, Huasco, Región de Atacama	Chile	KP781612	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHK	Puerto Aldea, Elqui, Región de Coquimbo	Chile	KP781625	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHK	Mina Talca, Limarí, Región de Coquimbo	Chile	KP781626	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHK	Puerto Oscuro, Choapa, Región de Coquimbo	Chile	KP781632	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. FIA	Punta Arenas, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781603	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. FIA	Fuerte Bulnes, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781668	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. FIA	Agua Fresca, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781669	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. <i>1POR</i>	Whiffen Spit, Sooke Harbour, Vancouver Island, British Columbia	Canadá	JN028790	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia</i> sp. <i>2Cal</i>	McAbee Beach, Monterey, California,	EEUU	JN028791	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia</i> sp. <i>6POR</i>	South Jetty, Port Arkansas, Texas	EEUU	JN028792	Kucera y Saunders, 2012

Continuación...

ESPECIE	LOCALIDAD DE COLECTA	PAIS	VOUCHER	CITA
<i>Pyropia</i> sp. <i>stamfordensis</i>	Governor Sprague Bridge 17, Narragansett, Rhode Island	EEUU	JN028798	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia</i> <i>spiralis</i>	Vila Velha, Espírito Santo	Brasil	JN222754	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia</i> <i>tanegashimensis</i>	Praia Dura, Ubatuba, Sao Paulo	Brasil	JN222752	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia</i> <i>thuretii</i>	British Columbia, Tahsis, Island south of Clotchman I., Spanish Pilot Group, Tahsis	Canadá	JN028801	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia torta</i>	Gwaii Haanas, Alder Island, British Columbia	Canadá	JN028802	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia</i> <i>vietnamensis</i>	Pedra do Sal, Parnaíba, Piauí	Brasil	JN222751	Kucera y Saunders, 2012
<i>Wildemia</i> <i>amplissima</i>	Gwaii Haanas, Murchison Island Lagoon, British Columbia	Canadá	HQ969863	iBOL
<i>Wildemia</i> <i>miniata</i>	Escoumins, Quebec	Canadá	JN028874	Kucera y Saunders, 2012
<i>Wildemia</i> <i>occidentalis</i>	Tahsis Nuchatliz Island, British Columbia	Canadá	JN028923	Kucera y Saunders, 2012
<i>Wildemia</i> sp. FII	Buque Quemado, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781664	Guillemin et al., 2016

ANEXO 3: Tabla de secuencias *rbcL* extraídas del GenBank

ESPECIE	LOCALIDAD	PAÍS	VOUCHER	REFERENCIA
<i>Bangia atropurpurea</i>	Wuquanshan, Lanzhou	China	KM363768	Xu et al., 2016
<i>Bangia fuscopurpurea</i>	Jiaozhouwan, Quingdao	China	KJ023702	Deng et al., 2014
<i>Bangia gloiopeltidicola</i>	Shinon, Hokkaido	Japón	HQ687503	Sutherland et al., 2011
<i>Bangia</i> sp.	Bahía Woodpecker, Isla del Sur	Nueva Zelanda	EU570051	Kikuchi et al., 2010
<i>Bangia</i> sp.	Arrecife milla 14, Isla del Sur	Nueva Zelanda	GU046404	Broom et al., 2010
<i>Bangia</i> sp.	Gentle Annie, Isla del Sur	Nueva Zelanda	HQ687506	Sutherland et al., 2011
<i>Bangia</i> sp.	Punta Bawley, Nueva Gales del Sur	Australia	HQ687509	Sutherland et al., 2011
<i>Bangia</i> sp.	Bahía Maketu, Isla del Norte	Nueva Zelanda	HQ687510	Sutherland et al., 2011
<i>Bangia</i> sp.	Supseom, Isla Jeju	Corea del Sur	HQ728203	Sutherland et al., 2011
<i>Boreophyllum aestivale</i>	Bahía Captains, Isla Amaknak, Alaska	EEUU	EU223033	Lindstrom, 2009
<i>Boreophyllum birdiae</i>	Cueva Herring, Nueva Escocia	Canadá	AY180909	Neefus et al., 2002
<i>Boreophyllum pseudocrassum</i>	Erimo, Hokkaido	Japón	HQ697512	Sutherland et al., 2011
<i>Chlidophyllum kaspar</i>	Bahía Osaka, Honshu	Japón	HQ687513	Kikuchi et al., 2010
<i>Clymene coleana</i>	Leigh, Isla del Norte	Nueva Zelanda	FJ263672	Sutherland et al., 2011
<i>Clymene</i> sp.	Puerto trial, Tasmania	Australia	HQ687514	Kikuchi et al., 2010
<i>Dione arcuata</i>	Río Ohau, Isla del Sur	Nueva Zelanda	EU570052	Lindstrom, 2009
<i>Fuscifolium papenfussi</i>	Punta Seldovia, Alaska	EEUU	EU223120	Lindstrom, 2009
<i>Fuscifolium</i> sp. CHA	Puerto Oscuro, Choapa, Región de Coquimbo	Chile	KP781730	Guillemin et al., 2016
<i>Fuscifolium tasa</i>	Cabo Spray, Alaska	EEUU	EU223226	Sutherland et al., 2011
<i>Lysithea adamsiae</i>	Isla Orde Lees, Isla Antípodas	Nueva Zelanda	HQ687515	Kikuchi et al., 2010
<i>Minerva aenigmata</i>	Puheke, Isla del Norte	Nueva Zelanda	EU570053	Kikuchi et al., 2010
<i>Miuraea migitae</i>	Bahía Osaka, Honshu	Japón	EU521643	Kikuchi et al., 2010
<i>Porphyra aeodis</i>	Patemoster	Sudáfrica	GU165843	Sutherland et al., 2011
<i>Porphyra cinnamomea</i>	Otago, Isla del Sur	Nueva Zelanda	EU521637	Sutherland et al., 2011
<i>Porphyra conwayae</i>	Estrecho Juan de Fuca, Columbia Británica	Canadá	EU223044	Kikuchi et al., 2010
<i>Porphyra linearis</i>	Aberystwyth	Reino Unido	HQ687547	Lindstrom, 2009
<i>Porphyra lucassi</i>		Australia	AY139687	Sutherland et al., 2011
<i>Porphyra mumfordii</i>	Playa Bradys, Bamfield, Columbia Británica	Canadá	JN028946	Broom et al., 2010

Continuación...

ESPECIE	LOCALIDAD	PAÍS	VOUCHER	REFERENCIA
<i>Porphyra purpurea</i>	Listock, Somerset	Reino Unido	HQ687516	Kucera y Saunders, 2012
<i>Porphyra</i> sp.	Yamaguchi, Nagata-Hommachi	Japón	AB287965	Sutherland et al., 2011
<i>Porphyra</i> sp.	Puerto Trial, Tasmania	Australia	GU046407	No publicado
<i>Porphyra</i> sp.	Isla Auckland	Nueva Zelanda	GU046414	Broom et al., 2010
<i>Porphyra</i> sp.	Punta Taroona, Tasmania	Australia	GU046427	Broom et al., 2010
<i>Porphyra</i> sp.	Brighton, Otago	Nueva Zelanda	GU165837	Broom et al., 2010
<i>Porphyra</i> sp.	Islas Malvinas	Reino Unido	GU165840	Broom et al., 2010
<i>Porphyra</i> sp.	Islas Malvinas	Reino Unido	GU165885	Broom et al., 2010
<i>Porphyra</i> sp.	Cabo Sur, Otago	Nueva Zelanda	GU214021	Broom et al., 2010
<i>Porphyra</i> sp.	Brighton, Otago	Nueva Zelanda	GU214023	Broom et al., 2010
<i>Porphyra</i> sp.	Cabo Este, Isla del Norte	Nueva Zelanda	HQ687548	Broom et al., 2010
<i>Porphyra</i> sp.	Paparoa, Isla del sur	Nueva Zelanda	HQ687550	Sutherland et al., 2011
<i>Porphyra</i> sp.	Punta Kaka, isla del Sur	Nueva Zelanda	HQ687551	Sutherland et al., 2011
<i>Porphyra</i> sp.	Río Ohau, Isla del Sur	Nueva Zelanda	HQ687554	Sutherland et al., 2011
<i>Porphyra</i> sp.	Tietiesbaai	Sudáfrica	HQ687558	Sutherland et al., 2011
<i>Porphyra</i> sp. CHB	Cucao, Chiloé, Región de Los Lagos	Chile	KP781808	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. CHC	Salinas de Pullay, Petorca, Región de Valparaíso	Chile	KP781737	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. CHC	Salinas de Pullay, Petorca, Región de Valparaíso	Chile	KP781738	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. CHC	Pichicuyin, Valdivia, Región de Los Ríos	Chile	KP781770	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. CHC	Los Burros, Huasco, Región de Atacama	Chile	KP781705	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. CHF	Guaquerillos, Elqui, Región de Coquimbo	Chile	KP781720	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. CHF	Puerto Aldea, Elqui, Región de Coquimbo	Chile	KP781723	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. CHF	Puerto Aldea, Elqui, Región de Coquimbo	Chile	KP781724	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. CHF	Caleta las Conchas, Choapa, Región de Coquimbo	Chile	KP781731	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. CHF	Playa El Encanto, Valparaíso, Región de Valparaíso	Chile	KP781839	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. CHF	Curaumilla, Valparaíso, Región de Valparaíso	Chile	KP781843	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. CHF	Punta de Tralca, San Antonio, Región de Valparaíso	Chile	KP781749	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. FIH	Punta Arenas, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781792	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. FIH	Punta Corona, Pargua, Puerto Montt, Región de los Ríos	Chile	KP781794	Guillemin et al., 2016

Continuación...

ESPECIE	LOCALIDAD	PAÍS	VOUCHER	REFERENCIA
<i>Porphyra</i> sp. FIH	Quemchi, Chiloé, Región de Los Lagos	Chile	KP781805	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. FIH	Rio Verde, Seno Skyring, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781836	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. FIH	Isla Mancera, Valdivia, Región de Los Ríos	Chile	KP781852	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. FIH	Metri, Llanquihue, Región de Los Lagos	Chile	KP781781	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra umbilicalis</i>	Sidmouth	Reino Unido	HQ687559	Sutherland et al., 2011
<i>Pyrophyllon subtumens</i>	Punta Fairchilds Garden, Isla Adams	Nueva Zelanda	HQ687517	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia abbottiae</i>	Punta Harling, Columbia Británica	Canadá	EU223024	Lindstrom, 2008
<i>Pyropia bajacaliforniensis</i>	Saldamando, Baja California	México	HQ687535	Broom et al., 2010
<i>Pyropia brumalis</i>	Isla Vancouver, Columbia Británica	Canadá	AF452426	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia cf. crassa</i>	Nosappu, Hokkaido	Japón	HQ687518	Lindstrom y Fredericq, 2003
<i>Pyropia cf. thuretii</i>	Olas Atlas, Mazatlan	México	HQ687519	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia columbiensis</i>	Isla Calvert, Columbia Británica	Canadá	KP903999	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia columbina</i>	Islas Malvinas	Reino Unido	GU046423	Lindstrom et al., 2011
<i>Pyropia dentata</i>	Shirahama, Chiba	Japón	HQ687520	Broom et al., 2010
<i>Pyropia dioica</i>	Sidmouth	Reino Unido	HQ687546	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia elongata</i>	Isla Pivers, Carolina del Norte	EEUU	FJ817089	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia fallax</i>	Bahía Surveyor, Alaska	EEUU	KP903919	Neefus et al., 2002
<i>Pyropia fucicola</i>	Isla Japonski, Alaska	EEUU	EU223088	Lindstrom et al., 2011
<i>Pyropia gardneri</i>	Isla Chaati, Columbia Británica	Canadá	JN028973	Lindstrom, 2008
<i>Pyropia haitanensis</i>	Yuge Ehime	Japón	AB118585	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia hiberna</i>	Pacific grove, California	EEUU	GU319866	No publicado
<i>Pyropia hollenbergii</i>	Agua verde, Baja California Sur	México	HQ687523	Lindstrom, 2008
<i>Pyropia ishigecola</i>	Yoshio, Chiba	Japón	HQ687524	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia kanakaensis</i>	Península Olímpica, Washington	EEUU	EU223099	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia katadae</i>	Ise, Mie	Japón	HQ687525	Lindstrom, 2008
<i>Pyropia kinositae</i>	Arito, Hokkaido	Japón	EU521641	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia koreana</i>	Ohori, Gang	Corea del Sur	HQ728198	Kikuchi et al., 2010
<i>Pyropia kuniedae</i>	Sachon, Namhae	Corea del Sur	HQ728200	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia kurogii</i>	Playa Sandy, Alaska	EEUU	EU223105	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia lacerata</i>	Playa Sandy, Alaska	EEUU	HQ687527	Lindstrom, 2008
<i>Pyropia lanceolata</i>	Pescadero State Park, California	EEUU	KP904038	Lindstrom, 2008

Continuación...

ESPECIE	LOCALIDAD	PAÍS	VOUCHER	REFERENCIA
<i>Pyropia leucosticta</i>	Sidmouth	Reino Unido	HQ687528	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia montereyensis</i>	Puerto Bragg, California	EEUU	KP903964	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia moriensis</i>	Otaru, Hokkaido	Japón	EU521645	Lindstrom, 2008
<i>Pyropia nereocystis</i>	Isla Passage Island, Alaska	EEUU	EU223116	Kikuchi et al., 2010
<i>Pyropia nitida</i>	San Carlos State Beach Park, California	EEUU	KP876025	Lindstrom, 2008
<i>Pyropia njordii</i>	Peggys Cove, Nueva Escocia	Canadá	JN028986	Harden et al., 2015
<i>Pyropia orbicularis</i>	Maitencillo	Chile	KF479499	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia orbicularis</i>	Salinas de Pullay, Petorca, Región de Valparaíso	Chile	KP781736	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia orbicularis</i>	Salinas de Pullay, Petorca, Región de Valparaíso	Chile	KP781739	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia orbicularis</i>	Lota, Concepción, Región del Biobío	Chile	KP781766	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia orbicularis</i>	Playa Rosada, Valdivia, Región de Los Ríos	Chile	KP781813	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia orbicularis</i>	Fuerte Bulnes, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781827	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia peggicovensis</i>	Peggys Cove, Nueva Escocia	Canadá	JN028991	Ramírez et al., 2014
<i>Pyropia pendula</i>	Calerita, Baja California Sur	México	HQ687530	Kucera y Saunders, 2012
<i>Pyropia perforata</i>	Crescent City Light, California	EEUU	EU223127	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia plicata</i>	Ocean View, Kaikoura	Nueva Zelanda	GU046410	Lindstrom et al., 2011
<i>Pyropia protolanceolata</i>	Bahía Española, California	EEUU	KP904005	Broom et al., 2010
<i>Pyropia pseudolanceolata</i>	Playa Sunset, Oregon	EEUU	KP904052	Lindstrom et al., 2015
<i>Pyropia pseudolinearis</i>	Playa Sunset, Oregon	EEUU	HQ687531	Lindstrom et al., 2015
<i>Pyropia pulchella</i>	Bahía Waihou, Isla del Norte	Nueva Zelanda	HQ687532	Lindstrom et al., 2015
<i>Pyropia rakiura</i>	Ocean View, Isla del Sur	Nueva Zelanda	EU521646	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia saldanhae</i>	Kommetjie	Sudáfrica	GU165838	Kikuchi et al., 2010
<i>Pyropia seriata</i>	Hondo, Kumamoto	Japón	HQ687533	Broom et al., 2010
<i>Pyropia smithii</i>	Punta Nudibranch, Columbia Británica	Canadá	EU223224	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia</i> sp.	Islas Malvinas	Reino Unido	GU046408	Lindstrom, 2008
<i>Pyropia</i> sp.	Bahía Northwest, Islas Tres Reyes	Nueva Zelanda	HQ687537	Broom et al., 2010
<i>Pyropia</i> sp. CHG	Punta Carrera, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781837	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHH	Niebla (Playa Grande), Valdivia, Región de Los Ríos	Chile	KP781845	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHI	Región de Arica y Parinacota, Arica, Playa Corazón	Chile	KP781698	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHI	Región de Coquimbo, Elqui, Abalonera chica	Chile	KP781715	Guillemin et al., 2016

Continuación...

ESPECIE	LOCALIDAD	PAÍS	VOUCHER	REFERENCIA
<i>Pyropia</i> sp. CHJ	Playa Mar Brava, Chiloé, Región de Los Lagos	Chile	KP781786	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHJ	Cucao, Chiloé, Región de Los Lagos	Chile	KP781789	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHJ	Cucao, Chiloé, Región de Los Lagos	Chile	KP781807	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHJ	Los Molinos, Valdivia, Región de Los Ríos	Chile	KP781810	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHJ	Niebla (Playa Grande), Valdivia, Región de Los Ríos	Chile	KP781815	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHK	Pan de Azúcar, Chañaral, Región de Atacama	Chile	KP781700	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHK	Los Burros, Huasco, Región de Atacama	Chile	KP781701	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHK	Puerto Aldea, Elqui, Región de Coquimbo	Chile	KP781722	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHK	Mina Talca, Limarí, Región de Coquimbo	Chile	KP781725	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. CHK	Playa Caucao, Valparaíso, Región de Valparaíso	Chile	KP781748	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia</i> sp. FIA	Gregorio, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781821	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. FIA	Agua Fresca, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781833	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia</i> sp. FID	Fuerte Bulnes, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781826	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. FIG	Fuerte Bulnes, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781832	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. FIG	Fuerte Bulnes, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781828	Guillemin et al., 2016
<i>Porphyra</i> sp. FIG	Buque Quemado, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781819	Guillemin et al., 2016
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Wonsando, Chungchubnamdo	Corea del Sur	HQ728201	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia tanegashimensis</i>	Iseki, Tanegashima, Kagoshima	Japón	HQ687542	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia tenera</i>	Kawaura, Kumamoto	Japón	HQ687543	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia tenuipedalis</i>	Urayasu, Chiba	Japón	EU521649	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia Torta</i>	Vista al mar, Isla San Juan, Washington	EEUU	EU223236	Kikuchi et al., 2010
<i>Pyropia vietnamensis</i>	Thangeseri	India	HQ687544	Lindstrom, 2008
<i>Pyropia virididentata</i>	Bahía Lyall, Isla del Norte	Nueva Zelanda	EU521650	Sutherland et al., 2011
<i>Pyropia yezoensis</i>	Galmok, Tongyoung	Corea del Sur	HQ728197	Kikuchi et al., 2010
<i>Smithora naiadum</i>	Pesquera Zapata, Baja California	México	HQ687545	Sutherland et al., 2011
<i>Wildemanía amplissima</i>	Nosappu, Hokkaido	Japón	HQ687545	Sutherland et al., 2011
<i>Wildemanía norrisii</i>	Punta Harling, Columbia Británica	Canadá	EU223212	Lindstrom, 2008
<i>Wildemanía schizophylla</i>	Van Damme State Park, California	Canadá	GU319871	Lindstrom, 2008
<i>Wildemanía</i> sp. FII	Buque Quemado, Magallanes, Región de Magallanes	Chile	KP781820	Guillemin et al., 2016

ANEXO 4: Especímenes de Bangiales foliosas colectados en este trabajo

Pyropia orbicularis



Psp-lle-2



Psp-lle-04



Psp-lle-05

Pyropia sp. CHI



Psp-mor-6



Psp-mor-5



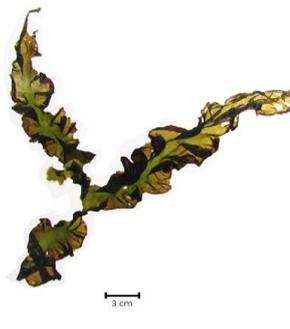
Psp-mor-4



Psp-mor-2



Psp-gmd-1



Psp-pb-1



Psp-ph-4



Psp-ph-3



Psp-ph-1



ME-625



NAM-0212



NAM-0329



Psp-lle-1



Psp-lm-1



Psp1-lm-2



Psp-lle-3

Pyropia suborbiculata



BSN-247

***Pyropia* sp. 6POR**



AN-713

***Porphyra* sp. CHF**



LL-167

***Porphyra* sp. PEA**



Psp-bb-4



Psp-bb-3



Psp-bb-2



Psp-bb-1



NAM-0342



Psp2-lm-3



LM-523



Psp-lm-2

***Porphyra* sp. PEB**



Psp-ln-4



Psp-ln-3



Psp-ln-2



Psp-ln-1



Psp-lba-3



Psp-lba-2



Psp-lba-1



PU-869



JAM-0421

Miuraea sp. PEC



NAM-0201