



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA  
(BIOLOGÍA MARINA)

**“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE LAS ALGAS  
COSTROSAS PARDAS GELATINOSAS DEL PACÍFICO TROPICAL  
MEXICANO”**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRA EN CIENCIAS

**PRESENTA:**  
**VIVIANA PATRICIA REYES GÓMEZ**

**TUTOR:**  
Dr. DANIEL LEÓN ÁLVAREZ  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

**COMITÉ TUTOR:**  
Dra. DENI CLAUDIA RODRÍGUEZ VARGAS  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

Dra. JHOANA DÍAZ LARREA  
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

Dr. FRANCISCO FLORES PEDROCHE  
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

Dr. JORGE EDUARDO CAMPOS CONTRERAS  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM

MÉXICO, D. F., ABRIL 2015.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



*Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología*  
Universidad Nacional Autónoma de México



# CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE LAS ALGAS COSTROSAS PARDAS GELATINOSAS DEL PACÍFICO TROPICAL MEXICANO

## T E S I S

que para obtener el grado académico de  
**Maestra en Ciencias**  
(Biología Marina)

p r e s e n t a

### VIVIANA PATRICIA REYES GÓMEZ

Director de Tesis: DR. DANIEL LEÓN ÁLVAREZ  
Comité Tutorial: DRA. DENI CLAUDIA RODRÍGUEZ VARGAS  
DRA. JHOANA DÍAZ LARREA  
DR. JOSÉ FRANCISCO FLORES PEDROCHE  
DR. JORGE EDUARDO CAMPOS CONTRERAS

**México, D.F., 2015.**

## AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

La realización de éste estudio fue posible gracias al apoyo económico como becaria, brindado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT No. de becario 564732), y el financiamiento a través del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) “Taxonomía de *Stragularia* (Phaeophyceae) y *Ahnfeltiopsis* (Rhodophyceae) de México” (No. de proyecto IN229711) y el proyecto “Variación genética de *Neoralfsia expansa* y *N. hancockii* (Ralfsiales, Phaeophyceae) de México” (No. de proyecto IN214115).

Así mismo agradezco a mi comité tutor integrado por:

Dr. Daniel León Álvarez (Tutor principal)

Dra. Dení Claudia Rodríguez Vargas (Miembro del Comité tutor)

Dr. Francisco Flores Pedroche (Miembro del Comité tutor)

Dra. María Edith Ponce Márquez (Asesora externa)

Dra. Jhoana Díaz Larrea (Miembro del Jurado)

Dr. Jorge Eduardo Campos Contreras (Miembro del Jurado)

Gracias a su apoyo invaluable, comentarios y críticas, éste trabajo cumplió con los objetivos en el tiempo requerido.

Agradezco de manera especial a la Dr. María Edith Ponce por su dedicación en la enseñanza de las técnicas moleculares, lo cual se llevó a cabo con la infraestructura del Taller de Biología de Procariontes de la Facultad de Ciencias, UNAM. Gracias también a la M. en. C. Fabiola Ramírez Corona por sus consejos y apoyo en las técnicas de biología molecular y a la M. en C. Laura Márquez Valdelamar del Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Biología, por su colaboración en la secuenciación de las muestras.

Quiero agradecer al Dr. Alfredo Maciel Cerda, del Instituto de Investigaciones en Materiales, por su apoyo en el procesamiento molecular de las muestras colectadas.

Agradezco a la Dra. Gloria Vilaclara Fatjó, Coordinadora del Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología por su apoyo y guía durante este tiempo. De igual forma agradezco a Diana Juárez, Lupita Godoy, Chantal Ruiz y Gabriela Almaraz por el apoyo y la colaboración brindada en los trámites escolares.

## **AGRADECIMIENTOS PERSONALES**

Agradezco de manera especial a la M. en C. María Luisa Núñez por sus consejos, enseñanzas y apoyo moral durante todo el proceso de investigación. De igual forma agradezco a Alejandra Cruz, Rubén Farfán, Josué Lazcano, Lucero León, Nataly Quiroz, Karina Osorio y demás compañeros del Herbario Sección Algas de la Facultad de Ciencias de la UNAM, por su compañía durante la elaboración de éste trabajo.

Doy las gracias a mis amigos mexicanos por adoptarme y acompañarme durante estos dos años. Gracias a Isa, Oscar, Ilse, Mariela, Luisa, Abel y Kurt del grupo de macroalgas de la UAM-I por abrirme las puertas de su laboratorio y de su corazón. A la Dra. Mónica Ramírez por su compañía en las largas horas de laboratorio y a la banda peluda Raúl, Betza, Moi, Clarita y Don Pablo por las horas compartidas entre lengüetazos y ladridos.

Agradezco a con todo cariño a Mariano Sánchez, a su familia que ahora es mi familia por el amor incondicional que siempre me han brindado. A Eder y Axel por su amistad y las tardes de café y cine.

Quiero dar las gracias a mis padres, quienes desde la distancia siempre me dieron su apoyo incondicional. Agradezco a mi hermana Sonia, porque gracias a ella todo esto fue posible. También agradezco a Alida por su amistad y apoyo. A Liniux, Angie, Caro, a mis tíos, primos y demás amigos colombianos quienes siempre estuvieron pendientes de mis pasos durante este proceso.

Agradezco a la Dra. Brigitte Gavio, por darme las bases teóricas y científicas para estudiar las algas y formarme como ficóloga.

A México lindo y querido por ser mi segundo hogar...!

A los seres de luz y a Dios, ¡Gracias!

*Dedicada a Grizzly, a las algas y al mar...*

*Una triada de amor, pasión e inmensidad.*

## TABLA DE CONTENIDO

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES .....</b>	<b>4</b>
2.2. Recuento histórico del género <i>Mesospora</i> .....	5
2.3. Recuento histórico del género <i>Basispora</i> .....	6
2.4. Sinominia <i>Hapalospongidion-Mesospora-Basispora</i> .....	6
2.5. Estudios moleculares .....	8
<b>3. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>11</b>
<b>4. HIPÓTESIS .....</b>	<b>12</b>
<b>5. OBJETIVOS.....</b>	<b>13</b>
5.1 Objetivo general.....	13
5.2 Objetivos particulares .....	13
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
6.1 Área de estudio .....	14
6.2 Recolecta de muestras.....	17
6.3 Notas de campo.....	17
6.4 Trabajo de gabinete .....	17
6.5 Estudio morfológico.....	17
6.6 Estudio molecular .....	20
6.6.1 Extracción de ADN .....	20
6.6.2 Amplificación de ADN (PCR).....	20
6.6.3 Secuenciación.....	21
6.7 Divergencia nucleotídica.....	22
6.8 Análisis filogenético molecular.....	22

<b>7. RESULTADOS .....</b>	<b>26</b>
7.1 Datos de campo.....	26
7.2 Análisis morfológico.....	26
7.2.1 Análisis morfológico UPGMA.....	32
7.3 Análisis molecular.....	39
7.3.1 Divergencia nucleotídica del gen <i>rbcL</i> .....	39
7.3.1.1. Matriz <i>rbcL_1</i> .....	39
7.3.1.2. Matriz <i>rbcL_2</i> .....	40
7.3.2. Divergencia nucleotídica del gen <i>Cox1</i> .....	41
7.4 Análisis filogenéticos .....	41
7.4.1 Matriz <i>rbcL_1</i> .....	42
7.4.2. Matriz <i>rbcL_2</i> .....	44
7.4.3. Gen <i>Cox1</i> .....	46
7.4.4. Genes concatenados .....	49
<b>8. DISCUSIÓN.....</b>	<b>53</b>
8.1. Caracterización morfológica.....	53
8.2 Divergencia nucleotídica.....	61
8.3. Análisis filogenéticos.....	62
<b>9. CONCLUSIONES.....</b>	<b>65</b>
<b>10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>66</b>
<b>11. APÉNDICES.....</b>	<b>74</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de las localidades de recolecta .....	14
Figura 2. Localidades de recolecta. ....	15
Figura 3. Esquema general de una costra parda gelatinosa y los criterios para la toma de las medidas morfológicas.....	19
Figura 4. Dendrograma del análisis morfológico UPGMA.....	33
Figura 5. Morfo 1.....	35
Figura 6. Morfo 2.....	37
Figura 7. Árbol consenso de MP, MV e IB de rbcL_1. ....	43
Figura 8. Árbol consenso de MP, MV e IB de rbcL_2. ....	45
Figura 9. Árbol consenso de MP, MV e IB para el gen Cox1 . ....	48
Figura 10. Árbol consenso de MP, MV e IB para los genes concatenaos rbcL_1 y Cox1... ..	50
Figura 11. Árbol consenso de MP, MV e IB para los genes concatenaos rbcL_2 y Cox1. ...	52

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Datos de las localidades.....	16
Tabla 2. Cebadores utilizados.....	21
Tabla 3. Datos de las secuencias moleculares obtenidas de GenBank .....	23
Tabla 4. Características de los ambientes particulares y de los especímenes.....	27
Tabla 5. Caracteres morfométricos utilizados para la caracterización morfológica de las algas costrosas pardas gelatinosas. ....	28
Tabla 6. Comparación morfológica entre el Morfo 1 y Morfo 2 .....	38
Tabla 7. Comparación morfológica de los Morfo 1 y 2 con especies gelatinosas descritas.	49

## RESUMEN

En este estudio se caracterizaron morfológica y molecularmente las algas costrosas pardas gelatinosas del Pacífico Tropical Mexicano, con base en caracteres morfométricos y secuencias de ADN de los genes *rbcL* y *Cox1*. El análisis morfológico de UPGMA permitió la identificación de 2 morfologías (Morfo 1 y Morfo 2), diferenciadas principalmente por tres caracteres: ángulo de surgimiento de los filamentos postígenos a partir de los filamentos primigenios, longitud y diámetro de las células a lo largo del filamento postígeno, y grosor del talo. Los análisis moleculares de Máxima Parsimonia, Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana reunieron las dos morfologías en un clado dividido en dos subclados, (Morfo 1 y Morfo 2), con valores de bootstrap y probabilidad posterior altos, apoyando así los resultados morfológicos. Los valores de divergencia inter e intraespecífica para ambos genes se compararon con estudios previos, determinando el grado de similitud molecular de ambos morfos, con las especies ya descritas. Con éstos resultados se pudo establecer que las algas costrosas pardas gelatinosas del Pacífico Tropical Mexicano se encuentran reunidas en una nueva familia, que a su vez está conformada por dos géneros monoespecíficos aún no descritos, los cuales son morfológicamente distinguibles.

**Palabras claves:** algas costrosas pardas gelatinosas, morfología, *rbcL*, *Cox1*.

## ABSTRACT

We characterized morphological and molecularly the crustose brown gelatinous algae of the Mexican Tropical Pacific, based on morphometric and DNA sequences of *rbcL* and *Cox1* genes. The UPGMA morphological analysis allowed the identification of two morphologies (Morpho 1 and Morpho 2) differentiated primarily by three characters: the angle of arise of erect filaments from basal disc, length and diameter of the cells through the erect filament and complete erect filament thickness. The molecular analysis of Maximum Parsimony, Maximum Likelihood and Bayesian Inference met the two morphologies in a clade split into two subclades (Morpho 1 and Morpho 2) with bootstrap values and high posterior probability, supporting the morphological results. The values of inter- and intraspecific divergence for both genes were compared with previous studies, determining the degree of molecular similarity between Morpho 1 and 2 with species already described. We can determine that the crustose brown gelatinous algae of the Tropical Mexican Pacific are gathered in a new family, which in turn consists of two monospecific genera not yet described, but morphologically distinguishable.

**Keywords:** crustose brown gelatinous algae, morphology, *rbcL*, *Cox1*.

## 1. INTRODUCCIÓN

Dentro de las algas pardas (Pheophyceae), las algas “costrosas” son llamadas así por la forma en la que crecen sobre el sustrato: se extienden sobre él y adquieren su relieve. Estos discos, cojines o cortezas se caracterizan por tener un crecimiento marginal mayor que en altura y por estar diferenciadas en una porción dorsal y una basal que queda adherida al sustrato. La basal está formada por filamentos que por su origen se llaman primigenios, de los cuales derivan filamentos erectos que forman el grosor y capa dorsal de las costras denominados postígenos, de acuerdo con la nomenclatura sugerida por Woelkerling (1988), tal como sucede de manera análoga en las algas costrosas rojas. Su adherencia al sustrato es variable, pueden quedar unidas en toda su superficie ventral o dejar libre sus márgenes y quedar unidas sólo por el centro; su fijación puede ser mediante rizoides o sin ellos (León-Álvarez, 1996).

Las especies de algas costrosas pardas, en general son muy parecidas entre sí y tienen niveles de organización similares. Información molecular ha evidenciado que el grupo de las costras pardas no es monofilético (Lim *et al.*, 2007; Poong *et al.*, 2014), pero comparten formas de vida, por lo que su presencia en macrocondiciones similares sugiere una convergencia evolutiva (León-Álvarez, 1996).

Las algas costrosas pardas se encuentran distribuidas desde el trópico hasta la zona subpolar, siendo parte de la flora dominante de la zona intermareal rocosa de los ambientes marinos costeros (Dethier, 1994). A pesar de su importancia ecológica (capacidad para resistir disturbios bióticos y abióticos, colonizar ambientes ecológicos con diferentes niveles de estrés, y tener alta resistencia a la herbívora), el conocimiento de la biodiversidad, taxonomía y filogenia dentro de éste grupo no ha sido ampliamente estudiado (Dethier & Steneck 2001; Poong *et al.*, 2014).

Dentro de las algas costrosas pardas existe un grupo fácilmente reconocible por la presencia de una evidente capa mucilaginosa que se torna resbalosa al tacto. A éste grupo le

hemos denominado costras gelatinosas. En las algas pardas (Phaeophyceae) el mucílago está compuesto principalmente de ácido algínico y fucoídina. Las cantidades relativas de éstos dos componentes varían entre las diferentes partes del talo, la especie y el ambiente (Lee, 2008). No se conoce la relación directa de esta condición gelatinosa con el proceso evolutivo de las algas pardas.

Las costras pardas gelatinosas se caracterizan morfológicamente por presentar filamentos libres (sólo unidos en la parte basal y raramente ramificados), estructuras reproductivas pluriloculares intercalares (plurangios) y uniloculares terminales/laterales (unangios), sin paráfisis. Estas características morfológicas están presentes en todas las especies de los géneros *Hapalospongidion* Saunders, *Mesospora* Weber-Van Bosse y *Basispora* John & Lawson, los cuales fueron descritos en estudios florísticos desde finales del siglo XIX en Norteamérica, Indonesia y África, respectivamente (Saunders, 1899; Weber-Van Bosse, 1911; John & Lawson, 1974). En algunas especies la terminología usada para describir la posición de estas estructuras reproductivas ha sido mal aplicada o interpretada de manera diferente por algunos investigadores (León-Álvarez & Norris, 2005), lo cual ha conllevado a una identificación taxonómica confusa.

En México a pesar de los numerosos estudios ficológicos realizados a lo largo de las costas del Pacífico, sólo a partir del proyecto “Algas costrosas del Pacífico Tropical Mexicano (ACPTM)” realizado por León-Álvarez y González-González (1993) se pudo reunir información dispersa y se logró hacer un inventario de algas costrosas (pardas, rojas, verdes y cianofitas), logrando así conocer el número de especies presentes, su localidad y condiciones ambientales. Este trabajo marcó la pauta para el subsecuente estudio de León-Álvarez (1996), que documentó la biodiversidad de feofitas costrosas, planteó problemas taxonómicos en el grupo y propuso solución a algunos de ellos, en particular al interior del género *Ralfsia* (León-Álvarez & González-González, 1995; León-Álvarez & González-González, 2003). En éste mismo trabajo se planteó la problemática de las costras gelatinosas, evidenciando su variabilidad morfológica y la dificultad para delimitar especies con base en caracteres morfológicos. Así mismo reafirmó la similitud entre los géneros *Hapalospongidion*-*Mesospora*-*Basispora* llegando a la misma conclusión que Womersley

(1987), en el sentido de que los dos últimos géneros deberían ser considerados como sinónimos del primero.

Teniendo en cuenta estos dos únicos trabajos, se hace evidente la poca atención que han recibido las costras pardas y en particular las gelatinosas en México. Por lo tanto es necesario ahondar en éste grupo desde la perspectiva molecular, utilizando secuencias de ADN que proporcionen información acerca de la variación molecular y su correlación con la morfología (McDevit & Saunders, 2009). Este análisis comparativo permitiría describir y documentar las costras pardas gelatinosas que están presentes en el Pacífico Tropical Mexicano, contribuyendo así a un mejor entendimiento de su diversidad, taxonomía y distribución.

## 2. ANTECEDENTES

Debido a la similitud morfológica entre los géneros gelatinosos, la taxonomía del grupo ha sido confusa, lo que ha dado origen a problemas nomenclaturales. A continuación se muestra un recuento histórico de los tres géneros gelatinosos: *Hapalospongidion*, *Mesospora*, *Basispora*, con la finalidad de dar a conocer las especies descritas dentro de estos tres géneros y la razón por la cual han sido considerados sinónimos por algunos autores. De igual forma se presentan los estudios moleculares realizados dentro del grupo de las costras pardas hasta la fecha.

### 2.1 Recuento histórico del género *Hapalospongidion*

Como parte de la expedición Alaska Harriman en 1899 De Alton Saunders describió el género *Hapalospongidion* con *Hapalospongidion gelatinosum* Saunders como la especie tipo, colectado en Pacific Grove, California. Inicialmente fue considerado como género independiente y posteriormente reducido a sinónimo de *Microspongium saundersii*<sup>1</sup> Setchell & N.L.Gardner (Setchell & N.L.Gardner, 1924). Sin embargo Hollenberg (1942) siguió considerando a *Hapalospongidion* como un género independiente, teniendo en cuenta sus estructuras reproductivas (plurangios intercalares a subterminales y unangios terminales), que contrastan con las de *Microspongium* (plurangios y unangios laterales). Desde entonces, se considera a *Hapalospongidion* un género independiente (Hollenberg, 1942; John & Lawson, 1974; Tanaka & Chihara, 1982; Womersley, 1987).

Hollenberg (1942) además propuso la nueva combinación *Hapalospongidion pangoense* (“*pangoensis*”) (Setchell) Hollenberg, a partir de *Ralfsia pangoensis* de Samoa (Setchell 1924), y la diferenció de *H. gelatinosum* por tener células más cortas y cilíndricas. En 1949, Lindauer describió dos nuevas especies *H. saxigenum* y *H. durvilleae*, pero John

---

<sup>1</sup> *Microspongium saundersii* Setchell & N.L.Gardner (Setchell & N.L.Gardner, 1924), es un alga costrosa parda gelatinosa, pero presenta filamentos ramificados. Actualmente se sabe que es parte del ciclo de vida de *Scytosiphon lomentaria* (Lyngbye) Link (Lund, 1966; McLachlan *et al.*, 1971; Kogame *et al.*, 1999), razón por la cual no se tuvo en cuenta dentro del grupo de estudio.

& Lawson (1974) transfirieron ambas al género *Basispora*. Womersley en 1987 describió *H. capitatum*, recolectada en la costa oeste de Australia, con plurangios más grandes y capitados que *H. gelatinosum*, siendo esta la única estructura reproductiva observada. Recientemente, en las costas de la India se describió *H. thirumullavaramense* P. Sophiammal Nettar & M.V.N.Panikkar (2009), con mayor número de estratos celulares en el disco basal (9-12) y con presencia de extensiones laterales en forma de collar. En esta especie tampoco fueron observados unangios.

## 2.2. Recuento histórico del género *Mesospora*

En 1911 Weber-Van Bosse durante la Expedición Siboga, describió el género *Mesospora* Weber-Van Bosse con *Mesospora schmidtii* Weber-Van Bosse como especie tipo, colectada en Indonesia. Subsecuentemente Børgesen (1924) describió *M. van-bosseae* Børgesen de las Islas de Pascua y Feldmann (1937) describió *M. mediterranea* Feldmann de Banyuls-sur-mer, Francia. En ese mismo trabajo Feldmann recaló que los especímenes de *Ralfsia macrocarpa* Feldman, previamente descritos de Argelia, pertenecían a especímenes de *Mesospora*, epífitos sobre *R. verrucosa* (Areschoug) Areschoug pero no especificó si correspondían o no a *M. mediterranea*. En 1982, Tanaka & Chihara, de acuerdo con Hartog (1968), consideraron a *M. mediterranea* como sinónimo de *M. macrocarpa* (Feldman) den Hartog. Posteriormente *M. van-bosseae* Børgesen y *M. macrocarpa* fueron enviadas al género *Hapalospongidion* por León-Álvarez y González-González en 1993 (*Hapalospongidion vanbosseae* (Børgesen) León-Álvarez & González-González, *Hapalospongidion macrocarpum* (Feldmann) León-Álvarez & González-González) siguiendo la sinonimia propuesta por Womersley (1987). Del mismo modo Tanaka & Chihara (1982) transfirieron las especies *R. pangoensis* y *R. pangoensis* var. *galapaguensis* Setchell & N.L. Gardner al género *Mesospora*, señalando estructuras reproductivas y vegetativas muy similares a las de la especie tipo del género (*M. schmidtii*), proponiendo las correspondientes combinaciones *Mesospora pangoensis* (Setchell) Chihara & Tanaka y *Mesospora pangoensis* var. *galapagensis* (Setchell & Gardner) Chihara & J.Tanaka. En 1996 West y Calumpong describieron la especie *M. negrosensis* West & Calumpong, la cual se caracterizó por tener filamentos postígenos cortos (200 µm) no ramificados, pelos feofíceos, plurangios intercalares uniseriados con 2-4 células estériles terminales y un

cloroplasto parietal multilobulado por célula, lo cual la diferencia de la especie tipo *M. schmidtii* que tiene un cloroplasto discoidal. La especie más recientemente descrita para éste género es *M. elongata* S.W. Poong, P.E. Lim & S.M. Phang (2013) con base en caracteres morfológicos y análisis molecular de los genes *rbcL* y *Cox1*. *Mesospora elongata* y *M. schmidtii* se diferencian por tener secuencias distintas en sus genes *rbcL* y *Cox1*. Morfológicamente *M. elongata* presenta mayor número de células en el filamento postígneo (hasta 30 células) con respecto a de *M. schmidtii* que tiene filamentos postígenos más cortos (11-29 células) (Poong *et al.*, 2013).

### **2.3. Recuento histórico del género *Basispora***

El género *Basispora* D. M. John & Lawson fue establecido en 1974 a partir de material recolectado en las costas de Ghana, África. La especie tipo, *Basispora africana* D. M. John & Lawson se caracterizó por tener unangios surgiendo sobre pedicelos largos cerca de la base. Las especies *Basispora durvillaeae* (Lindauer) D. M. John & G. W. Lawson y *Basispora saxigena* (Lindauer) D. M. John & G. W. Lawson fueron originalmente descritas como *Hapalospongidion saxigenus* y *Hapalospongidion durvilleae* por Lindauer (1949). Cuando se describió el género *Basispora* (John & Lawson, 1974), estas especies fueron transferidas a este género. Ese mismo año South (1974) describió el género *Herpodiscus gen.nov* y a su vez propuso la combinación *Herpodiscus durvilleae* (Lindauer) South, con base en *Hapalospongidion durvilleae*, teniendo en cuenta su condición parásita y su sistema de penetración de filamentos basales. Actualmente *Herpodiscus durvilleae* es aceptada taxonómicamente y *Basispora durvillaeae* es considera sinónimo homotípico de ésta.

### **2.4. Sinominia *Hapalospongidion-Mesospora-Basispora***

La familia Mesosporaceae fue establecida por Tanaka & Chihara (1982) para reunir a las algas costrosas pardas gelatinosas pertenecientes a los géneros *Hapalospongidion*, *Mesospora* y *Basispora*, caracterizados por poseer filamentos erectos libres, plurangios intercalares y unangios terminales sin paráfisis. De esta forma ellos incluyeron la Familia Mesosporaceae dentro del Orden Ralfsiales junto con las Familias Lithodermataceae, Nemodermataceae y Ralfsiaceae (Nakamura, 1972).

Posteriormente Wosmersley (1987) determinó que el género *Mesospora* estaba cercanamente relacionado con *Hapalospongidion*, considerando que la cantidad de cloroplastos no es un carácter diagnóstico para diferenciar estos dos géneros, dado que el número de cloroplastos descritos en *Mesospora schmidtii*, por Tanaka y Chihara (1982), probablemente dependía del tamaño y edad de la célula y no de la posición apical (1 cloroplasto por célula) o basal (2 o 3 cloroplastos por célula) en el talo. Además, señaló que la diferencia en la posición de los unangios, no es un carácter exclusivo, puesto que puede deberse al hecho de haberse ramificado o no cerca de la base. Del mismo modo, para Wosmersley los unangios basales y la presencia de varios cloroplastos por célula en *Basipora*, no representaban caracteres diagnósticos del género, siendo iguales a los descritos en *Hapalospongidion* por Hollenberg (1942). De esta forma Wosmersley (1987) consideró que *Mesospora* Weber-van Bosse y *Basipora* John & Lawson estaban cercanamente relacionados a *Hapalospongidion* y debían ser relegados a sinonimia de este último.

A partir de la propuesta de sinonimia de Wosmersley (1987), León-Álvarez & González-González (1993) plantearon nuevas combinaciones para *Mesospora van-bosseae* Børgesen (*Hapalospongidion vanbosseae* (Børgesen) León-Alvarez & J.González-González) y *Mesospora macrocarpa* (Feldman) den Hartog (*Hapalospongidion macrocarpum* (Feldmann) León-Álvarez & González-González). Por otro lado Tanaka & Chihara (1982) propusieron la transferencia de *Hapalospongidion pangoense* (Setchell) Hollenberg a *Mesospora pangoensis* (Setchell) Chihara & Tanaka, incluyendo *M. pangoensis* var *galapagensis* (Setchell & Gardner) Chihara & Tanaka.

En el Pacífico Tropical Mexicano (PTM), sólo se encuentran registradas dos especies del género *Hapalospongidion*: *H. gelatinosum* y *H. pangoense*. Sin embargo en el catálogo de Algas Marina Bentónicas de México, Phaeophycota II (Pedroche *et al.*, 2008) se menciona, con base en los comentarios de los propios León Álvarez y González-González (1993, pp. 473-474) que las especies de *Hapalospongidion gelatinosum* provenientes de Puerto Escondido, Guerrero, coinciden también con la descripción de *H. macrocarpum* (Feldmann) León Álvarez y González González, y con *H. pangoense*, y del mismo modo

sucede con los ejemplares citados de *H. pangoense* que coinciden también con *H. vanbosseae* (Børgesen) León-Álvarez y González-González. Esto evidencia el limitado alcance de la herramienta morfológica para diferenciar especies gelatinosas.

## 2.5. Estudios moleculares

La plasticidad morfológica y la convergencia evolutiva que presentan las macroalgas marinas, combinado con una relativa escasez de caracteres morfológicos, pueden dificultar la asignación de categorías como la de familia e incluso imposibilitar identificaciones a nivel de especie (Saunders, 2005). Por esta razón, la implementación de técnicas moleculares se hace necesaria para complementar la información específica que la morfología tradicional no puede proporcionar (McDevit & Saunders, 2009).

Dentro de la clase Phaeophyceae existe un número considerable de estudios basados en marcadores moleculares dentro de los cuales inicialmente se utilizaron genes de ADN ribosomal 18S y 26S (Tan & Druehl, 1993; Tan & Druehl, 1994; Draisma *et al.*, 2001; Phillips *et al.*, 2008). Recientemente se ha implementado el uso de genes cloroplásticos como *rbcL*, que codifica para la subunidad larga de la enzima ribulosa 1,5-bifosfato carboxylasa-oxigenasa (RuBisco), *rbcS* (subunidad corta de la RuBisCo), *psaA*, *psbA* e intergen de la RuBisCo (Siemer *et al.*, 1998; Kogame *et al.*, 1999; Cho *et al.*, 2004; Kawai & Sasaki, 2004; Silberfeld *et al.*, 2010).

Así mismo, se ha llevado a cabo la amplificación del gen mitocondrial *Cox1* (citocromo *c* oxidasa 1), para diferenciar especies estrechamente relacionadas o que forman un complejo de especies, siendo este gen parte de la iniciativa del Código de Barras de ADN (Lane *et al.* 2007; Kucera & Saunders 2008). No obstante, la implementación del código de barras de ADN, aún no se ha usado ampliamente en todos los taxa de Phaeophyceae, siendo el grupo de las algas costrosas uno de los menos explorados.

El primer estudio filogenético molecular dentro de lo grupo de las algas costrosas se basó en secuencias de ADN ribosomal 18S de *Analipus japonicus* (Harvey) Wynne y *Ralfsia fungiformis* (Gunnerus) Setchell & N.L.Gardner, donde se compararon las

secuencias de 6 órdenes de feofíceas y se determinó que el orden Ectocarpales (*sensu* Garielson *et al.*, 1989) era polifilético, teniendo en cuenta que *Analipus japonicus* (Heterochordariaceae, Ectocarpales) y *Ralfsia fungiformis* (Ralfsiaceae, Ectocarpales) se encontraron filogenéticamente cercanas entre ellas, pero en un clado distante de las demás especies ectorcarpoides consideradas en ese estudio (Tan & Druehl, 1994). Así quedó demostrado que las costras pardas no pertenecían al Orden Ectocarpales como lo había planteado Nelson (1982).

En 2007 Lim *et al.*, con base en secuencias nucleotídicas del gen *rbcL* ratificaron la existencia del Orden Ralfsiales (Nakamura, 1972), y propusieron la familia Neoralfsiaceae. En este trabajo se corroboraron los resultados obtenidos por Tan & Druehl (1994), demostrando que el Orden Ralfsiales es un grupo monofilético, separado del Orden Ectocarpales. Lim *et al.*, (2007) además evidenciaron que las especies del género *Diplura* Hollenberg se encontraban distantes del Orden Ralfsiales y cercanas al Orden Ishigeales, afirmando así el origen polifilético de las algas costrosas pardas (Poong *et al.*, 2014).

Recientemente, *Mesospora elongata* fue descrita a partir de análisis morfológico y molecular de los genes *rbcL* y *Cox1* (Poong *et al.*, 2013). En este estudio se analizaron secuencias de *M. schmidtii*, *M. negrosensis* y *Mesospora sp*, las cuales se reunieron dentro de un clado monofilético correspondiente a la familia Mesosporaceae. En el mismo año, Poong *et al.*, publicaron un estudio florístico molecular, utilizando los mismos marcadores moleculares (*rbcL* y *Cox1*), con el objetivo de conocer y entender la diversidad de algas costrosas en la región Indo-Malaya, resaltando la carencia de estudios dentro de éste grupo y la necesidad de desarrollarlos en las regiones tropicales. En este mismo estudio, Poong *et al.* 2014, ratificaron la divergencia existente entre el género *Diplura* y los demás miembros del Orden Ralfsiales, tal como lo expresaron Lim *et. al* en 2007. Así mismo promueven la utilización de herramientas moleculares para esclarecer la posición taxonómica ambigua de especies de algas costrosas pardas donde los caracteres morfo-anatómicos están sobrelapados (Poong *et al.*, 2014).

Estudios moleculares con los géneros *Hapalospongidion* y *Basispora* no han sido realizados hasta la fecha.

En México se han realizado estudios basados en caracteres morfológicos y moleculares que han tenido por objetivo esclarecer la situación taxonómica de *Ralfsia expansa* (J.Agardh) J.Agardh y *Ralfsia hancockii* E.Y.Dawson (Núñez-Reséndiz, 2012). León-Álvarez *et al.*, 2014a, propusieron la combinación *Neoralfsia hancockii* (E.Y.Dawson) Leon-Alvarez & M.L.Núñez-Reséndiz, al considerar que la secuencia nucleotídica de ésta especie se encuentra distante de la familia Ralfsiaceae, pero está compartida con especies de la familia Neoralfsiaceae, aunque los caracteres morfológicos la diferencian de las especies de *Neoralfsia expansa* (J.Agardh) P.-E.Lim & H.Kawai ex Cormaci & G.Furnari. Así mismo, otro estudio morfológico y molecular reveló que las especies de *Neoralfsia expansa* descritas en el trabajo de Lim *et al.*, 2007, recolectadas en Japón y Malasia e identificadas como *Ralfsia expansa*, son genéticamente distintas a las poblaciones de la localidad tipo (Veracruz, México) de *Ralfsia expansa* (León-Álvarez *et al.*, 2014b).

Hasta la fecha no se tienen antecedentes de estudios moleculares realizados dentro del grupo de las costras pardas gelatinosas en el Pacífico Tropical Mexicano.

### 3. JUSTIFICACIÓN

En la diversidad ficológica de algas pardas del Pacífico Tropical Mexicano no se ha podido establecer si las costras gelatinosas pertenecen a una sola especie o a varias especies de un género o incluso si son representantes de géneros diferentes. Hasta la fecha se tiene conocimiento de la variación morfológica que presentan las costras gelatinosas, pero no se tiene conocimiento de su secuencia molecular y su correlación directa con la morfología. El presente estudio pretende conocer la biodiversidad de las costras gelatinosas, conjuntando la información molecular (genes *rbcL* y *Cox1*) con los datos morfométricos, y así determinar cuántas y cuales especies están presentes en esta región. Esta caracterización morfológica y molecular es un aporte significativo para el entendimiento de la diversidad ficológica y las relaciones taxonómicas y filogenéticas de las algas costrosas pardas.

#### **4. HIPÓTESIS**

La caracterización molecular, basada en las secuencias de 2 genes (*rbcL* y *Cox1*), permitirá determinar el número de especies (del mismo o distinto género), las cuales tendrán una correlación directa con las morfologías encontradas en el Pacífico Tropical Mexicano.

## **5. OBJETIVOS**

El presente trabajo tiene por objetivo conocer la biodiversidad de algas costrosas pardas gelatinosas del Pacífico Tropical Mexicano.

### **5.1 Objetivo general**

Caracterizar morfológica y molecularmente las algas pardas gelatinosas del Pacífico Tropical Mexicano.

### **5.2 Objetivos particulares**

- \* Describir las características morfológicas y anatómicas de las algas costrosas pardas gelatinosas.
- \* Obtener las secuencias de ADN del gen cloroplástico *rbcL* y el gen mitocondrial *Cox1*, para cada uno de los especímenes recolectados.
- \* Determinar el número de especies de algas costrosas pardas gelatinosas presentes en el Pacífico Tropical Mexicano.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Área de estudio

Los ejemplares empleados para el presente estudio provienen de 8 localidades del Pacífico Tropical Mexicano (PTM) (Figura 1 y 2). Las localidades fueron elegidas con el conocimiento previo de la presencia de esta forma de crecimiento gelatinosa (León-Álvarez y González-González, 1993; León-Álvarez, 1996) (Tabla 1).

Figura 1. Mapa de las localidades de recolecta

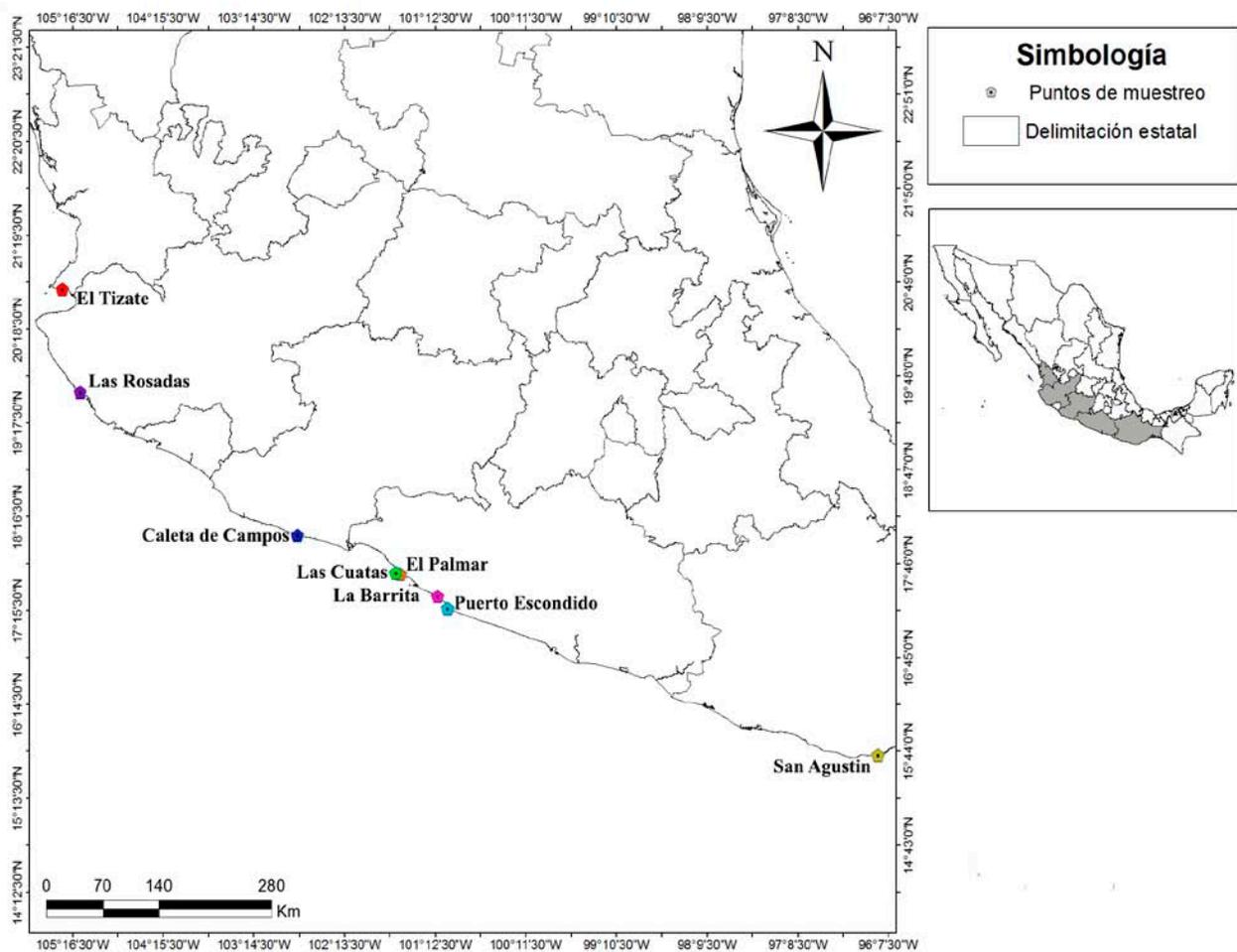


Figura 2. Fotografía de algunas de las localidades de recolecta.



A. La Barrita, Gro. B. Puerto Escondido, Gro. C. San Agustín, Oax. D. El Palmar, Gro. E. Las Cuatas, Gro. F. Las Rosadas, Jal.

Tabla 1. Datos de las localidades

<b>Localidad</b>	<b>Geoposición</b>	<b>Acceso</b>	<b>Fisiografía</b>
El Palmar, Ixtapa-Zihuatanejo, Gro	17° 39' 09.107" N -101° 36' 0.08" W	Playa contigua al Hotel Barceló, Ixtapa	Punta rocosa expuesta a manera de risco con varios bloques de roca sueltos, e incidencia directa del oleaje.
Las Cuatas, Ixtapa-Zihuatanejo, Gro	17° 39' 58.660" N -101° 38' 35.0" W	Zona norte de Ixtapa. Acceso por condominio privado.	Bloques rocosos expuestos al oleaje, formando un canal, sumergidos en marea alta.
La Barrita, Petatlán, Gro	17° 24' 31.25" N -101° 10' 46.3" W	Carretera federal # 200 Zihuatanejo-Acapulco	Rocas expuestas directamente a la luz solar y al oleaje, siempre sumergidos o salpicadas por las olas.
Puerto Escondido, Gro.	17° 16' 36.22" N -101° 10' 52.5" W	Carretera federal # 200 Zihuatanejo-Acapulco	Punta rocosa irregular. Riscos pequeños sometidos directamente al oleaje.
Las Rosadas, Jal	19° 37' 16.6" N -105° 11' 9.1" W	Carretera federal #200 Puerto Vallarta - Manzanillo	Punta rocosa con pequeños riscos sumergidos y sometidos directamente al oleaje
Caleta de Campos, Mich.	18° 4' 35.91" N -102° 45' 21.5" W	Carretera federal #200 Zihuatanejo-Manzanillo	Saliente rocosa (roca volcánica) erosionada y sometida al oleaje directo.
El Tizate, Nay.	20° 24' 38.92" N -105° 40' 20.3" W	Carretera federal #200 Tepic-Bucerías	Plataforma rocosa con pequeños riscos, cantos y guijarros.
San Agustín, Oax.	15° 41' 26.79" N -96° 14' 15.72" W	Carretera federal #200 Acapulco-Salina Cruz	Playa arenosa con grandes bloque de roca de granito, expuestas al oleaje intenso de rompiente.

## **6.2 Recolecta de muestras**

Con ayuda de un cincel y un mazo, se desprendieron fragmentos de rocas que presentaron una costra con morfología de cojín que al desprenderse y mojarse tenían textura lubricosa y consistencia gelatinosa. Cada roca fue guardada en una bolsa plástica con cierre hermético. A cada muestra se le asignó un código de campo con los respectivos datos ambientales y características de la localidad. Posteriormente todas las rocas fueron secadas con servilleta de papel y de cada una se desprendió un fragmento del alga para el análisis molecular. Este fragmento fue puesto en una bolsa hermética de menor tamaño, envuelto en servilleta de papel junto con sílica gel

## **6.3 Notas de campo**

En la libreta de campo se tomaron los datos ambientales y fisiográficos de las localidades de recolecta, de los ambientes generales y de los ambientes particulares en los que fueron recolectados los especímenes. Se tomaron fotografías de cada ambiente y de los especímenes previo a su recolecta. Con ayuda de un GPS y Google Maps se tomaron las coordenadas geográficas en cada localidad.

## **6.4 Trabajo de gabinete**

A cada muestra se le asignó un código de catálogo para incorporarla a la Colección de Algas del Pacífico Tropical Mexicano (PTM) de la Sección de Algas del Herbario de la Facultad de Ciencias, UNAM (FCME).

## **6.5 Estudio morfológico**

Las muestras recolectadas fueron observadas bajo el estereoscópico OLYMPUS SZ 51, con el propósito de percibir la existencia de una o varias morfologías en la misma roca. Esta diferenciación se basó en el color, relieve, forma y textura, características tenidas en cuenta de forma conjunta. Posteriormente, se realizaron cortes a mano con cada uno de los

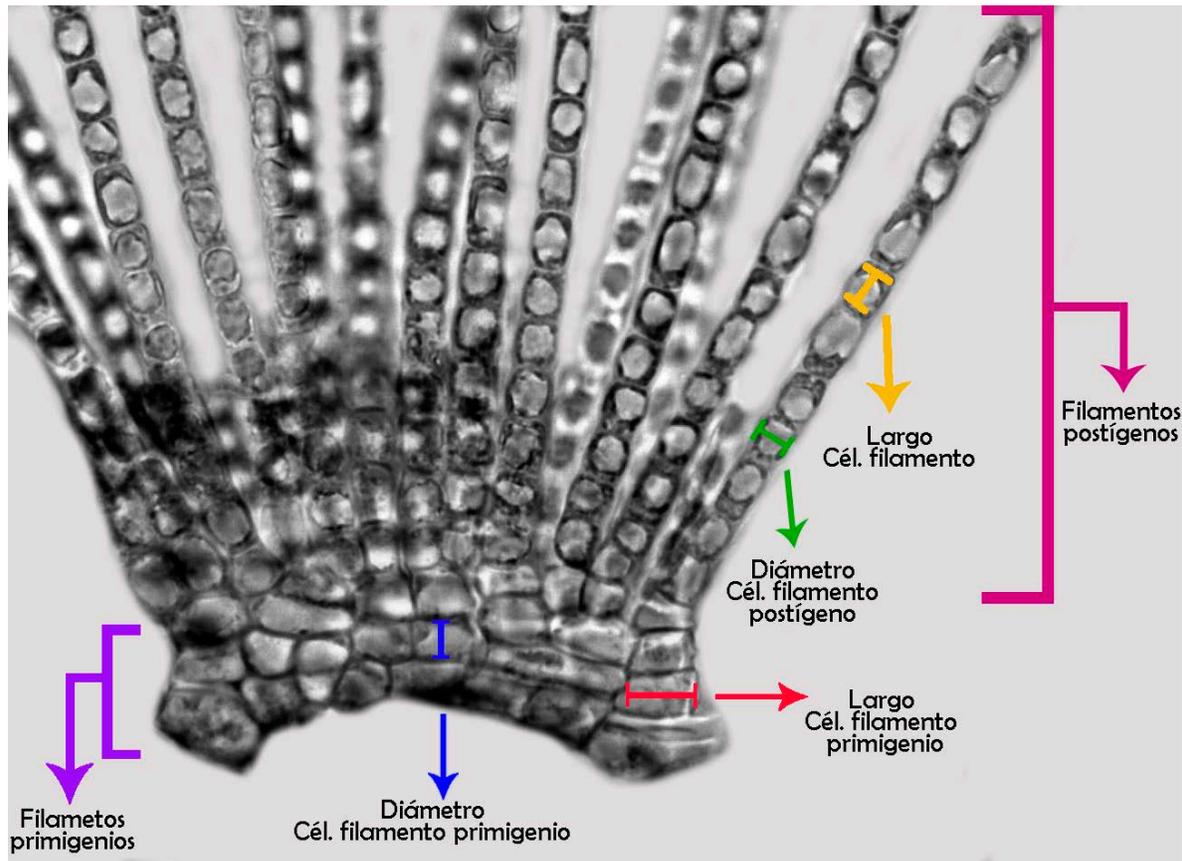
especímenes para realizar la tinción y montaje semipermanente con gelatina-glicerina-fenol. Las muestras fueron teñidas con 4 colorantes diferentes: fucsina básica, acetorceína, verde de malaquita y permanganato de potasio, para evidenciar la presencia de estructuras reproductoras y contenido celular de interés (p.e. cloroplastos y fisodes). Todos los especímenes fueron observados con un microscopio OLYMPUS CX31 y fotografiados con una cámara Nikon D7000. Las fotografías fueron editadas con el programa Adobe Photoshop CS6.

Cada muestra recolectada fue caracterizada morfológicamente de acuerdo al formato establecido para la descripción morfológica de algas costrosas pardas gelatinosas (Apéndice 1), con base en los caracteres empleados en las descripciones originales y en el estudio previo de León-Álvarez, (1996). En la figura 3 se muestra la morfología general de una costra gelatinosa y los criterios cuantitativos con los que fueron tomadas las medidas morfológicas.

Teniendo la información morfológica se creó una matriz compuesta por 16 especímenes y 30 caracteres (Apéndice 2), con la cual se llevó a cabo el análisis de UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean). Este análisis se realizó con la finalidad de agrupar los especímenes de acuerdo a la similitud de sus caracteres morfológicos. En este análisis se utilizó como grupo externo la muestra UM10 descrita como *Ralfsia hancockii* (León-Álvarez, 1996).

El análisis de UPGMA se llevó a cabo con el programa PAUP versión 4.0b10 para Microsoft Windows (Swofford, 2003), y consistió en la transformación de la matriz morfológica en una matriz de distancia y a partir de esta se generó un dendrograma. En cada paso se unieron los grupos más cercanos y se recalcularon las distancias. El apoyo interno de las ramas se evaluó mediante un análisis de bootstrap (Felsenstein, 1985) con 1000 réplicas.

Figura 3. Esquema general de una costra parda gelatinosa y los criterios para la toma de las medidas morfológicas



Como herramienta complementaria para la caracterización morfológica, se realizó un análisis de Máxima Parsimonia (MP), con la finalidad de conocer los caracteres y el estado del carácter que reunió a cada uno de los grupos conformados (Apéndice 3). La matriz utilizada fue la misma que se usó para el análisis de UPGMA. El análisis de Máxima Parsimonia se llevó a cabo utilizando el programa Winclada (Nixon K. C, 2002), y consistió en una búsqueda exacta con intercambio de ramas por medio de la opción bisección de árboles y reconexión (Tree Bisection and Reconnection) (TBR). Todos los caracteres fueron considerados como no ordenados y de igual peso. El apoyo interno de los clados se evaluó mediante un análisis de bootstrap (Felsenstein, 1985) con 1000 réplicas.

## **6.6 Estudio molecular**

### **6.6.1 Extracción de ADN**

Una porción de 5-10 mg de cada muestra fue triturada en un mortero con nitrógeno líquido y colocada en un tubo Eppendorf de 1.5 ml, correctamente rotulado.

La extracción de ADN se realizó con el kit DNeasy Plant Mini Kit de Qiagen, siguiendo la técnica del fabricante, aumentando el tiempo de incubación de baño maría a 60 min. Para comprobar que el proceso de extracción fue satisfactorio, un volumen del ADN obtenido (5 µl de ADN + 1 µl de buffer de carga) fue puesto en un gel de agarosa (0.5 gr de agarosa + 50 ml de TBE al 5%) en una cámara de electroforesis con TBE durante 30 minutos a 100 volts.

### **6.6.2 Amplificación de ADN (PCR)**

El gen *rbcL* se amplificó en dos partes con la combinación de 2 pares de cebadores (forward y reverse). El gen *Cox 1* se amplificó en un sólo fragmento utilizando 2 cebadores forward y reverse (Tabla 2).

La mezcla de reacción para el gen *rbcL* fue preparada en un tubo de 0.2 ml utilizando el Kit PCR Core Kit de Qiagen, añadiendo las siguientes proporciones de los reactivos: 2.5 µl de buffer 10X, 1.0 µl de MgCl<sub>2</sub>, 0.5µl de dNTPs, 1.0 µl de BSA, 1.0 µl de cada cebador forward y reverse a 10pmol, 0.125 µl de Taq Polimerasa, 1.0 µl de ADN y 16.875 µl de agua inyectable, para un volumen final de 25µl. La mezcla se corrió en el termociclador Techne Flexi-gene, U.K., siguiendo el protocolo descrito por Lim *et al.*, (2007).

Para amplificar el gen *Cox1* las proporciones de los reactivos utilizados se redujeron a un volumen total de 15 µl utilizando 1.5 µl de buffer, 1.0 µl de MgCl<sub>2</sub>, 0.5µl de dNTPs, 1.0 µl de BSA, 0.5 µl de cada cebador forward y reverse a 10pmol, 0.125 µl de Taq Polimerasa, 1.0 µl de ADN y 8.875 µl de agua inyectable. Esta mezcla se corrió en el termociclador Techne Flexi-gene, U.K., siguiendo el protocolo descrito por Saunders (sin publicar), iniciando a 94°C por 2 minutos, seguido de 5 ciclos de desnaturalización a 94°C

durante 0:30 min, alineamiento a 45°C durante 30 min y extensión a 72°C durante 1 min; seguido por otros 35 ciclos de desnaturalización a 94°C durante 30 min, alineamiento a 46.5°C durante 30 min y extensión a 72°C por 1 min; finalmente temperatura de extensión a 72°C por 7 min.

Para comprobar que los productos PCR correspondieran a la longitud de los genes amplificados, las muestras se cargaron en un gel de agarosa (0.5 gr de agarosa en 50 ml de TAE 5X) con un volumen de 3.0 µl de la muestra y 1.0 µl de buffer de carga, y se corrieron en una cámara de electroforesis con TAE 5X durante 30 minutos a 100 volts.

Tabla 2. Cebadores utilizados

Gen	Cebador	Secuencia del cebador (5'- 3')	Fragmentos de la secuencia	Referencia
<i>rbcL</i>	rbc-F0	ATCGAACTCGAATAAAAAGTGA	20-41	Kawai & Sasaki, 2004
	Ral-952	CATACGCATCCATTTACA	952-934	Lim <i>et al.</i> , 2007
	rbc-F3	CACAACCATTCATGCG	635-650	Kawai & Sasaki, 2004
	PRB-R3	GTAATATCTTTCCATAAATCTAA	(1406–1384)	Kogame <i>et al.</i> 1999 (citado en Kawai & Sasaki 2004)
<i>Cox1</i>	GWSLF2	CAAATCATAAAGATATCGGCAC	10-700	Gary W. Saunders, sin publicar
	GWSRx	ACTTCTGGATGTCCCGAGAATCA	680-20	Gary W. Saunders, sin publicar

### 6.6.3 Secuenciación

Los productos de PCR fueron enviados para su purificación y secuenciación al laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Biología de la UNAM.

## 6.7 Divergencia nucleotídica

Se calcularon los intervalos de valores de divergencia nucleotídica en los niveles interespecíficos e intergenéricos para las regiones del gen *rbcL* y *Cox1*, utilizando distancia “p” no corregida con el programa PAUP 4.0b10 (Swofford, 2003).

## 6.8 Análisis filogenético molecular

Las secuencias obtenidas fueron editadas y alineadas en los programas Bioedit (Hall, 1999) y Mafft versión v7.158b (Kazutaka & Daron, 2013), junto con 35 secuencias de *rbcL* y 11 secuencias de *Cox1*, tomadas de la base de datos GenBank (NCBI), pertenecientes a las especies del orden Ralfsiales. Se incluyó a *Tilopteris mertensii* (Thuner in Smith) Kützing como grupo externo, teniendo en cuenta que ésta especie pertenece a la familia Tilopteridaceae (Tilopteridales), y de acuerdo a la clasificación actualizada de las algas pardas (Silberfeld *et al.*, 2014) ésta es la familia filogenéticamente más cercana del Orden Ralfsiales, que corresponde al grupo interno (Tabla 3).

Se realizaron dos matrices para el gen *rbcL*: una conformada por las secuencias de 1270 pares de bases y otra por secuencias con 710 pares de bases. Esto se debió a que el gen *rbcL* fue secuenciado en dos fragmentos y en las muestras VR33, VR35, VR39 y Hpn, sólo se logró amplificar el último fragmento. La matriz para *Cox1* estuvo conformada por 22 secuencias de 604 nucleótidos. Con cada una de las matrices para el gen *rbcL* y *Cox1* se llevaron a cabo los análisis de Máxima Parsimonia (MP), Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB).

El análisis de MP se corrió en el programa PAUP\* 4.0b10 (Swofford, 2003), haciendo una búsqueda heurística con 1,000 réplicas. El intercambio de ramas se realizó por medio algoritmo heurístico TBR. Todos los caracteres fueron considerados como no ordenados y de igual peso. El apoyo interno de los clados se evaluó mediante un análisis de bootstrap

(Felsenstein, 1985) con 1,000 réplicas. Se calculó el Índice de Consistencia (IC) e Índice de Retención (IR) de la matriz de datos para evaluar el nivel de homoplasia.

Previo al análisis de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana, se buscó el modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajustara a la matriz de datos para *rbcL* y *Cox1*. Para esto se utilizó el programa ModelTest v.3.7 (Posada & Crandall, 1998) con el criterio de información Akaike (AIC). El modelo seleccionado para *rbcL* y *Cox1* fue GTR (general-time-reversible) + I (proportion of invariable sites) + G (gamma).

El análisis de Máxima Verosimilitud se llevó a cabo con el programa RaxML (Randomized Axelerated Maximum Likelihood) (Stamatakis, 2012), bajo el algoritmo de búsqueda heurística, utilizando el modelo de sustitución GTR (general-time-reversible) Gamma+I con 1,000 réplicas de secuencias aleatorias y posteriormente 1,000 réplicas de bootstrap.

El análisis de Inferencia Bayesiana (IB) se realizó con el programa MrBayes 3.2.2 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001). El modelo seleccionado para *rbcL* y *Cox1* fue GTR (general-time-reversible) + I (proportion of invariable sites) + G (gamma). Se corrieron 4 cadenas de Markov Monte Carlo, muestreando 1 árbol cada 1,000 generaciones para un total de 10'000.000 (diez millones) de generaciones, para cada una de las matrices. En cada análisis las primeras 2'500.000 (dos millones quinientas) generaciones fueron descartadas como el "burn in". Las inferencias filogenéticas se basaron en los árboles muestreados después de 2'500.000 de generaciones.

Tabla 3. Datos de las secuencias moleculares obtenidas de GenBank

Taxa	Sitio de colecta		Número de acceso en Genbank		Autor
	<i>rbcL</i>	<i>Cox</i>	<i>rbcL</i>	<i>Cox1</i>	
<i>Analipus japonicus</i> (Harvey) Wynne	Oshoro, Hokkaido Pref., Japón	Bodega Bay, California USA	AB264042	EU681389	Lim <i>et al.</i> (2007)
<i>Endoplura aurea</i> Hollenberg	Inubouzaki, Chiba Pref., Japón		AB264039	-	Lim <i>et al.</i> (2007)
<i>Heteroralfsia saxicola</i> A (Okamura et Yamada) Kawai	Ohma, Aomori Pref., Japón		AB250070	-	Lim <i>et al.</i> (2007)
<i>Heteroralfsia saxicola</i> B (Okamura et Yamada) Kawai	Ohma, Aomori Pref., Japón		AB2504040	-	Lim <i>et al.</i> (Sin publicar)
<i>Mesospora elongata</i> A S.W.Poong, P.E.Lim & S.M.Phang	Lombok Island, Nipah, Indonesia	<i>Idem</i>	JQ620004	JQ620012	Poong <i>et al.</i> (2013)
<i>Mesospora elongata</i> B S.W.Poong, P.E.Lim & S.M.Phang	Lombok Island, Nipah, Indonesia	<i>Idem</i>	JQ620005	JQ620013	Poong <i>et al.</i> (2013)
<i>Mesospora elongata</i> C S.W.Poong, P.E.Lim & S.M.Phang	Okinawa, Isla Ishigaki, Japón	<i>Idem</i>	JQ620002	JQ620010	Poong <i>et al.</i> (2013)
<i>Mesospora elongata</i> D S.W.Poong, P.E.Lim & S.M.Phang	Okinawa, Isla Ishigaki, Japón	<i>Idem</i>	JQ620003	JQ620011	Poong <i>et al.</i> (2013)
<i>Mesospora schmidtii</i> A Weber-van Bosse	Port Dickson, Malasia	<i>Idem</i>	JQ620000	JQ620008	Poong <i>et al.</i> (2013)
<i>Mesospora schmidtii</i> B Weber-van Bosse	Johor,Pulau Che Kamat, Malasia	<i>Idem</i>	JQ619998	JQ620006	Poong <i>et al.</i> (2013)
<i>Mesospora schmidtii</i> C Weber-van Bosse	Isla Lombok, Batukijok, Indonesia	<i>Idem</i>	JQ619999	JQ620007	Poong <i>et al.</i> (2013)
<i>Mesospora schmidtii</i> D Weber-van Bosse	Isla Lombok, Batukijok, Indonesia	<i>Idem</i>	JQ620001	JQ620009	Poong <i>et al.</i> (2013)
<i>Mesospora</i> sp. A	Okinawa, Isla Ishigaki, Fusaki, Japón		AB250063	-	Lim <i>et al.</i> (Sin publicar)
<i>Mesospora</i> sp. C	Johor, Tg Gemoh, Malasia		AB250065	-	Lim <i>et al.</i> (2007)
<i>Mesospora</i> sp. D	Nakura, Ishigaki Island, Okinawa Pref., Japón		AB250066	-	Lim <i>et al.</i> (2007)
<i>Mesospora</i> sp. E	Johor, Tg Lompat, Malasia		AB250067	-	Lim <i>et al.</i> (Sin publicar)

Tabla 3. Datos de las secuencias moleculares obtenidas de GenBank (continuación)

Taxa	Sitio de colecta	Número de acceso en Genbank		Autor
		<i>rbcL</i>	<i>Cox1</i>	
<i>Mesospora</i> sp. F	Johor, Tg. Balau, Malasia	AB250068	-	Lim <i>et al.</i> (Sin publicar)
<i>Mesospora</i> sp. G	Shizuoka, Shimoda, Japón	AB250069	-	Lim <i>et al.</i> (2007)
<i>Neoralfsia expansa</i> E (J.Agardh) P.-E.Lim & H.Kawai ex Cormaci & G.Furnari	Okinawa, Ishigaki Island, Hamasaki, Japón	AB250077	-	Lim <i>et al.</i> (2007)
<i>Neoralfsia expansa</i> F (J.Agardh) P.-E.Lim & H.Kawai ex Cormaci & G.Furnari	Johor, Desaru, Malasia	AB250078	-	Lim <i>et al.</i> (2007)
<i>Neoralfsia expansa</i> G (J.Agardh) P.-E.Lim & H.Kawai ex Cormaci & G.Furnari	Hyogo, Igumi, Japón	AB250079	-	Lim <i>et al.</i> (2007)
<i>Neoralfsia expansa</i> A sensu Børgesen	Morro de la Macha, Veracruz, México	KM032758	-	León-Álvarez <i>et al.</i> , (2014b)
<i>Neoralfsia expansa</i> B sensu Børgesen	Morro de la Macha, Veracruz, México	KM032759	-	León-Álvarez <i>et al.</i> , (2014b)
<i>Neoralfsia expansa</i> C sensu Børgesen	Morro de la Macha, Veracruz, México	KM032760	-	León-Álvarez <i>et al.</i> , (2014b)
<i>Neoralfsia hancockii</i> A (E.Y.Dawson) D.Leon-Alvarez & M.L.Nunez-Reséndi	San José del Cabo, La Palmilla, BCS, México	KF977828	-	León-Álvarez <i>et al.</i> , (2014a)
<i>Neoralfsia hancockii</i> B (E.Y.Dawson) D.Leon-Alvarez & M.L.Nunez-Reséndi	San José del Cabo, Country Club, BCS, México	KF977827	-	León-Álvarez <i>et al.</i> , (2014a)
<i>Ralfsia fungiformis</i> A (Gunnerus) Setchell et Gardner	Akkeshi, Hokkaido Pref., Japón	AB250071	-	Lim <i>et al.</i> (2007)
<i>Ralfsia fungiformis</i> B (Gunnerus) Setchell et Gardner	Cap du Bon Désir, Quebec, Canadá	<i>Idem</i> EU579936	EU579873	Bittner <i>et al.</i> (2008)
<i>Ralfsia</i> sp. A	Akou, Hyogo Pref., Japón	AB250073	-	Lim <i>et al.</i> (2007)
<i>Ralfsia</i> sp. H	Shimoda, Nabeta, Japón	AB250080	-	Lim <i>et al.</i> (Sin publicar)

Tabla 3. Datos de las secuencias moleculares obtenidas de GenBank (continuación)

Taxa	Sitio de colecta		Número de acceso en Genbank		Autor
	<i>rbcL</i>	<i>Cox1</i>	<i>rbcL</i>	<i>Cox1</i>	
<i>Ralfsia</i> sp. I	Shimoda, Nabeta, Japón		AB250081	-	Lim <i>et al.</i> (Sin publicar)
<i>Ralfsia</i> sp. J	Hyogo, Isla Awaji, Maruyama, Japón		AB250082	-	Lim <i>et al.</i> (Sin publicar)
<i>Ralfsia</i> sp. K	Hyogo, Takeno, Oura, Japón		AB250083		Lim <i>et al.</i> (Sin publicar)
<i>Ralfsia verrucosa</i> (Areschoug) J. Agardh	Roscoff, Brittany, France		AB250072	-	Lim <i>et al.</i> (2007)
<i>Tilopteris mertensii</i> (Thurner in Smith) Kiitzing	Kobe, Hyogo, Japón	Cultivo	AB045260	EU681430	Sasaki <i>et al.</i> (2001)

## **7. RESULTADOS**

Un total de 30 especímenes fueron revisados, caracterizados y analizados morfológicamente, sin embargo sólo se obtuvieron secuencias moleculares de 15 de ellos. El análisis morfológico-molecular del presente trabajo se restringió a los especímenes que se lograron secuenciar. En la discusión y en el apéndice 16 se hace referencia al análisis morfológico conjunto de los 30 especímenes caracterizados.

### **7.1 Datos de campo**

La asociación entre los especímenes y las características del ambiente general en que fueron recolectados se muestran en la tabla 4.

Todos los especímenes analizados se caracterizaron por ser costras gelatinosas, con una superficie suave, en alto relieve, totalmente adheridas al sustrato, sin líneas de crecimiento evidentes, formadas por filamentos postígenos libres (unidos sólo en la parte basal), surgiendo a partir de filamentos primigenios formando un disco basal. La pared celular a lo largo de todo el filamento postígeno fue homogénea en todas las muestras (1-2  $\mu\text{m}$ ) y no se observaron rizoides. El número de cloroplastos presentes, al igual que su forma y posición dentro de la célula y la presencia/ausencia de pirenoides, fueron caracteres diagnósticos tomados en cuenta, pero su determinación en muestras procesadas fue dudosa (ver discusión).

### **7.2 Análisis morfológico**

Los especímenes analizados y los caracteres morfométricos utilizados para su caracterización se describen en la tabla 5.

Tabla 4. Características de los ambientes particulares y de los especímenes.

Muestra	PTM	Número de preparación (lámina)	Localidad	Ambiente general	Color del crecimiento	Forma de la asociación	Algas asociadas a la costra gelatinosa
VR 5	9622	1315-1317	El Palmar	PRE	Café olivo con bordes café amarillo	Manchas aisladas con margen nítido	Ninguna
VR 6H	9657	1371-1372	El Palmar, Gro	PRE	Café con bordes amarillo	Manchas continuas, sin traslape	<i>Pseudolithoderma sp.</i>
VR 20H	9627	1351-1354	El Palmar, Gro	PRE	Café con bordes amarillo	Manchas continuas, sin traslape	<i>Pseudolithoderma sp.</i>
VR 30H	9576	1301	Las Cuatas, Gro	PRE	Café oliva oscuro	Manchas continuas, sin traslape	<i>Pseudolithoderma sp.</i>
VR 33	9658	1374-1379	La Barrita, Gro	PCR	Café negruzco brillante	Manchas continuas sin margen nítido	Ninguna
VR 35	9659	1388-1391	La Barrita, Gro	PLR	Café oliva oscuro	Manchas continuas sin margen nítido	<i>Chaetomorpha</i>
VR 38	9663	1400-1403	Puerto Escondido, Gro	PCR	Café con bordes café olivo	Manchas aisladas con margen nítido	Alga costrosa roja
VR 39	9664	1730-1733	Puerto Escondido, Gro	PCR	Café oliva oscuro	Manchas continuas sin margen nítido	Ninguna
VR 40	9665	1408-1411	Puerto Escondido, Gro	PCR	Café con bordes café olivo	Manchas continuas con margen nítido	Alga costrosa roja y <i>Chaetomorpha</i>
VR 41	9666	1412-1414	Puerto Escondido, Gro	PCR	Café con bordes café amarillos	Manchas continuas con margen nítido	Ninguna
VR 42	9667	1415-1448	Puerto Escondido, Gro	PCR	Café con bordes café amarillos	Manchas continuas con margen nítido	Ninguna
VR 43	9668	1734-1741	El Palmar, Gro	PRE	Café con bordes café olivo	Manchas continuas sin margen nítido	Alga costrosa roja
VR 44	9669	1742-1744	El Palmar, Gro	PRE	Café con bordes café olivo	Manchas continuas sin margen nítido	Alga costrosa roja
VR 85	9672	1747-1752	El Palmar, Gro	PRE	Café con bordes café olivo	Manchas aisladas sin margen nítido	Ninguna
Hpn	9185	1764- 1768	San Agustín, Oax	PRI	Café rojizo	Manchas continuas sin margen nítido	Ninguna

PRE: punta rocosa expuesta. PCR: playa de cantos rodados. PLR: Plataforma rocosa. PRI: playa rocosa irregular

Tabla 5. Caracteres morfométricos utilizados para la caracterización morfológica de las algas costrosas pardas gelatinosas.

PTM	CLAVE	Grosor del talo	Número de capas de filamentos primigenios	Conformación de las capas de los filamentos primigenios	Forma de las células del filamento primigenio	Diámetro de las células del filamento primigenio	Largo de las células del filamento primigenio	Relación D/L de las células del filamento primigenio	Número de células del filamento postígeno
9185	Hpn	200-270 (350) $\mu\text{m}$	2-3	Capas nítidas	Irregulares	4-9 $\mu\text{m}$	8-15 $\mu\text{m}$	0,622	21-40
9658	VR 33	310-380 (-180) $\mu\text{m}$	2-3	Capas nítidas	Irregulares	5-7 $\mu\text{m}$	11-15 (-20) $\mu\text{m}$	0,37	29-39
9660	VR 35	200-300 (-170) $\mu\text{m}$ .	2-3	Capas nítidas	Irregulares	3-6 $\mu\text{m}$	9-17 $\mu\text{m}$	0,38	20-30
9664	VR 39	300-380 $\mu\text{m}$ .	2-3	Capas no evidentes	Irregulares	3-5 $\mu\text{m}$	6-8 (-11) $\mu\text{m}$	0,5	40-51
9622	VR 5	550-750 $\mu\text{m}$ .	3-5	Capas no evidentes	Irregulares	5-11 $\mu\text{m}$	10-15 (-21) $\mu\text{m}$	0,55	27-36
9657	VR 6H	300-450 $\mu\text{m}$	2-4	Capas nítidas	Irregulares	5-8 $\mu\text{m}$	12-20 (-28) $\mu\text{m}$	0,34	21-33
9627	VR 20H	760- 910 (1100) $\mu\text{m}$	2	Capas nítidas	Irregulares	4-5 $\mu\text{m}$	12-15 (-10) $\mu\text{m}$	2,97	49-56 (-72)
9576	VR 30H	850-920 (1050) $\mu\text{m}$ .	2	Capas nítidas	Irregulares	5-10 $\mu\text{m}$	5-15 (-20) $\mu\text{m}$	0,6	50-61
9663	VR 38	500-720 $\mu\text{m}$ .	2-3	Capas no evidentes	Irregulares	6-10 (-3) $\mu\text{m}$	12-22 (-30) $\mu\text{m}$	0,38	30-37 (46)
9665	VR 40	300-370 $\mu\text{m}$ .	2-3	Capas nítidas	Irregulares	6-8 (-4) $\mu\text{m}$	14-26 $\mu\text{m}$	0,34	18-33
9666	VR 41	500-580 $\mu\text{m}$	2-3	Capas nítidas	Irregulares	4-7 $\mu\text{m}$	20-30 (-15) $\mu\text{m}$	0,25	35-46
9667	VR 42	540-570 (-440) $\mu\text{m}$ .	2-3 (-4)	Capas nítidas	Irregulares	4-10 (-13) $\mu\text{m}$	12-20 (-23) $\mu\text{m}$	0,5	17-36
9668	VR 43	550-700 $\mu\text{m}$ .	2-3	Capas nítidas	Irregulares	4-7 $\mu\text{m}$	15-25 (-9) $\mu\text{m}$	0,32	38-53 (-28)
9669	VR 44	390-550 (-320) $\mu\text{m}$ .	2-4	Capas no evidentes	Irregulares	4-10 $\mu\text{m}$	10-15 (-22)	0,45	43-53 (-27)
9671	VR 85	550-750 $\mu\text{m}$ .	2-4	Capas no evidentes	Irregulares	4-8 $\mu\text{m}$	13-25 $\mu\text{m}$	0,29	28-50 (-23)

Color rosa: morfo 1; Color celeste: morfo 2.

<b>PTM</b>	<b>CLAVE</b>	<b>Largo de los filamentos postígenos</b>	<b>Diámetro del filamento postígeno</b>	<b>Largo células Filamento postígeno</b>	<b>Forma de los filamentos postígeno</b>	<b>Disposición de los filamentos postígenos</b>	<b>Unión de los filamentos postígenos</b>	<b>N° de células que se unen entre los fil. Postígenos</b>
9185	Hpn	190-258 (393) $\mu\text{m}$	Constante	Aumenta o se mantiene constante de la base al ápice	Rectos	Ángulo transversal	Sí	0-3
9658	VR 33	250-330 (200) $\mu\text{m}$ .	Constante	Aumenta de la base al ápice	Rectos	Ángulo transversal	Sí	4-6 (-10)
9660	VR 35	175-280 (150) $\mu\text{m}$	Constante	Aumenta de la base al ápice	Rectos	Ángulo transversal	Sí	4-6
9664	VR 39	280-320 $\mu\text{m}$ .	Constante (disminuye en algunos casos)	Constante	Rectos	Ángulo transversal	Sí	0-3
9622	VR 5	500-710 $\mu\text{m}$	Aumenta hacia el ápice	Disminuye	Curvos	Ángulo agudo	No	0
9657	VR 6H	275-430 $\mu\text{m}$	Aumenta hacia el ápice	Disminuye (excepto cel. Apical)	Curvos	Ángulo agudo	No	0
9627	VR 20H	750-1050 $\mu\text{m}$	Aumenta hacia el ápice	Disminuye (excepto cel. Apical)	Curvos	Ángulo agudo	No	0
9576	VR 30H	820-1000 $\mu\text{m}$ .	Aumenta hacia el ápice	Disminuye (excepto cel. Apical)	Curvos	Ángulo agudo	No	0
9663	VR 38	480-690 $\mu\text{m}$ .	Aumenta hacia el ápice	Disminuye (excepto cel. Apical)	Curvos	Ángulo agudo	No	0
9665	VR 40	280-350 $\mu\text{m}$	Aumenta hacia el ápice	Disminuye (excepto cel. Apical)	Curvos	Ángulo agudo	No	0
9666	VR 41	430-550 $\mu\text{m}$	Aumenta hacia el ápice	Disminuye (excepto cel. Apical)	Curvos	Ángulo agudo	No	0
9667	VR 42	515-550 (-420) $\mu\text{m}$	Aumenta hacia el ápice	Disminuye (excepto cel. Apical)	Curvos	Ángulo agudo	No	0
9668	VR 43	540-680 $\mu\text{m}$	Aumenta hacia el ápice	Constante	Curvos	Ángulo agudo	No	0
9669	VR 44	360-520 (-300) $\mu\text{m}$ .	Aumenta hacia el ápice	Disminuye (excepto cel. Apical)	Curvos	Ángulo agudo	No	0
9671	VR 85	500-700 $\mu\text{m}$	Aumenta hacia el ápice	Disminuye	Curvos	Ángulo agudo	No	0

PTM	CLAVE	Orden de ramificación	Forma de las células basales del fil. postígeno	Largo de las células basales del fil. postígeno	Diámetro de las células basales del fil. postígeno	Relación L/D de las cél. basales	Forma de las células cercanas al ápice	Largo de las células cercanas al ápice	Diámetro de las células cercanas al ápice	Relación L/D de las cél. cercanas al ápice
9185	Hpn	Ramificación basal	Doliformes	7-10 (-5) $\mu\text{m}$	5-7 (9) $\mu\text{m}$	1,24	Doliforme	5-10 $\mu\text{m}$	5-6 $\mu\text{m}$	1,33
9658	VR 33	Ramificación basal	Doliformes	6-8 $\mu\text{m}$	5-7 $\mu\text{m}$	1,11	Doliformes	6-8 $\mu\text{m}$	5-6 $\mu\text{m}$	1,34
9660	VR 35	Ramificación basal	Doliformes	6-8 (-10) $\mu\text{m}$	5-6 (8) $\mu\text{m}$	1,22	Doliformes	5-8 $\mu\text{m}$	5-7 $\mu\text{m}$	1,1
9664	VR 39	No ramifica (ramificaciones escasas)	Irregulares	6-8 (-10) $\mu\text{m}$	6-8 $\mu\text{m}$	1,12	Doliformes	5-9 $\mu\text{m}$	4-5 $\mu\text{m}$	1,34
9622	VR 5	No ramifica	Cilíndricas	17-25 $\mu\text{m}$	6-7 $\mu\text{m}$	3,15	Cilíndricas	6-8 (-15) $\mu\text{m}$	6-9 (-5) $\mu\text{m}$	1,3
9657	VR 6H	No ramifica	Cilíndricas	18-20 (25) $\mu\text{m}$	5-6 (-8) $\mu\text{m}$	3,66	Cilíndricas	10-12 (-8) $\mu\text{m}$	8-10 $\mu\text{m}$	1,1
9627	VR 20H	No ramifica (ramificaciones escasas parte media)	Cilíndricas	12-20 (-10)	6-8 $\mu\text{m}$	2,1	Cilíndricas	8-10 (-15) $\mu\text{m}$	8-11 $\mu\text{m}$	1,06
9576	VR 30H	No ramifica (ramificaciones escasas parte media)	Cilíndricas	18-20 (-15) $\mu\text{m}$	6-7 $\mu\text{m}$	2,6	Irregulares	8-10 (-6) $\mu\text{m}$	8-10 $\mu\text{m}$	0,86
9663	VR 38	No ramifica (ramificaciones escasas)	Cilíndricas	15-21 (-12) $\mu\text{m}$	7-8 $\mu\text{m}$	2,26	Irregulares	8-12 (-15) $\mu\text{m}$	8-10 $\mu\text{m}$	1,2
9665	VR 40	No ramifica (ramificaciones escasas)	Cilíndricas	14-22 (-29) $\mu\text{m}$	6-8 (-10) $\mu\text{m}$	2,73	Cilíndricas	8-12 (-17) $\mu\text{m}$	8-10 $\mu\text{m}$	1,3
9666	VR 41	No ramifica	Cilíndricas	19-30 $\mu\text{m}$	7-9 $\mu\text{m}$	3,26	Cilíndricas	7-10 (-12) $\mu\text{m}$	8-10 (-12) $\mu\text{m}$	0,95
9667	VR 42	No ramifica (ramificaciones escasas)	Cilíndricas	25-33 (-18) $\mu\text{m}$	7-10 $\mu\text{m}$	3,34	Cilíndricas	9-12 $\mu\text{m}$	8-11 $\mu\text{m}$	1,08
9668	VR 43	No ramifica	Cilíndricas	9-12 $\mu\text{m}$	6-8 $\mu\text{m}$	2,97	Cilíndricas	9-12 $\mu\text{m}$	8-11 $\mu\text{m}$	1,35
9669	VR 44	No ramifica (ramificaciones escasas parte basal)	Cilíndricas	16-23 (-13)	6-8 $\mu\text{m}$	2,88	Cilíndricas	6-11 $\mu\text{m}$	7-10 $\mu\text{m}$	1,01
9671	VR 85	No ramifica (ramificaciones escasas parte media)	Cilíndricas	18-30 (-35) $\mu\text{m}$	7-10 $\mu\text{m}$	3,11	Cilíndricas	3-6 $\mu\text{m}$	10-11 $\mu\text{m}$	0,47

PTM	CLAVE	Largo de las células apicales	Diámetro de las células apicales	Relación L/D de las cél. apicales	Presencia de pelos hialinos	Presencia de Plurangios	Crecimiento
9185	Hpn	6-10 µm	5-8 µm	1,39	No	No	Mancha continua sin margen nítido
9658	VR 33	10-14 (-7) µm	5-8 µm	1,63	Sí	No	Mancha continua sin margen nítido
9660	VR 35	6-10 (-13) µm	6-9 µm	1,34	Sí	No	Mancha continua sin margen nítido
9664	VR 39	6-10 (-13) µm	4-5 µm	1,86	Sí	No	Mancha continua sin margen nítido
9622	VR 5	8-13 µm	10-12 µm	0,92	No	Sí	Mancha aislada con margen nítido
9657	VR 6H	12-15 (-10) µm	10-12 µm	1,19	No	No	Mancha continua sin traslape
9627	VR 20H	10-12 (-7) µm	10-12 µm	0,92	No	Sí	Mancha continua sin traslape
9576	VR 30H	9-14 µm	10-12 µm	1,05	Sí	No	Mancha continua sin traslape
9663	VR 38	10-15 (-20) µm	10-12 (-14) µm	1,25	Sí	Sí	Mancha aislada con margen nítido
9665	VR 40	10-16 µm	8-12 (-14) µm	1,28	Sí	Sí	Mancha continua con margen nítido
9666	VR 41	10-15 (-7) µm	9-12	1,09	No	No	Mancha continua con margen nítido
9667	VR 42	7-14 (-18) µm	10-12 µm	1,13	Sí	No	Mancha continua con margen nítido
9668	VR 43	9-15 µm	7-10 µm	1,31	No	No	Mancha continua sin margen nítido
9669	VR 44	7-14 µm	7-11 µm	1,18	Sí	No	Mancha continua sin margen nítido
9671	VR 85	8-14 µm	10-13 µm	0,97	Sí	No	Mancha aisladas sin margen nítido

Color rosa: morfo 1; Color celeste: morfo 2.

### **7.2.1 Análisis morfológico UPGMA**

Con base en la descripción morfológica, se construyó una matriz de 16 especímenes y 30 caracteres diagnósticos informativos para ser analizada bajo el método de agrupamiento UPGMA (Apéndice 2). En la Figura 4 se muestra el dendrograma resultante de este análisis.

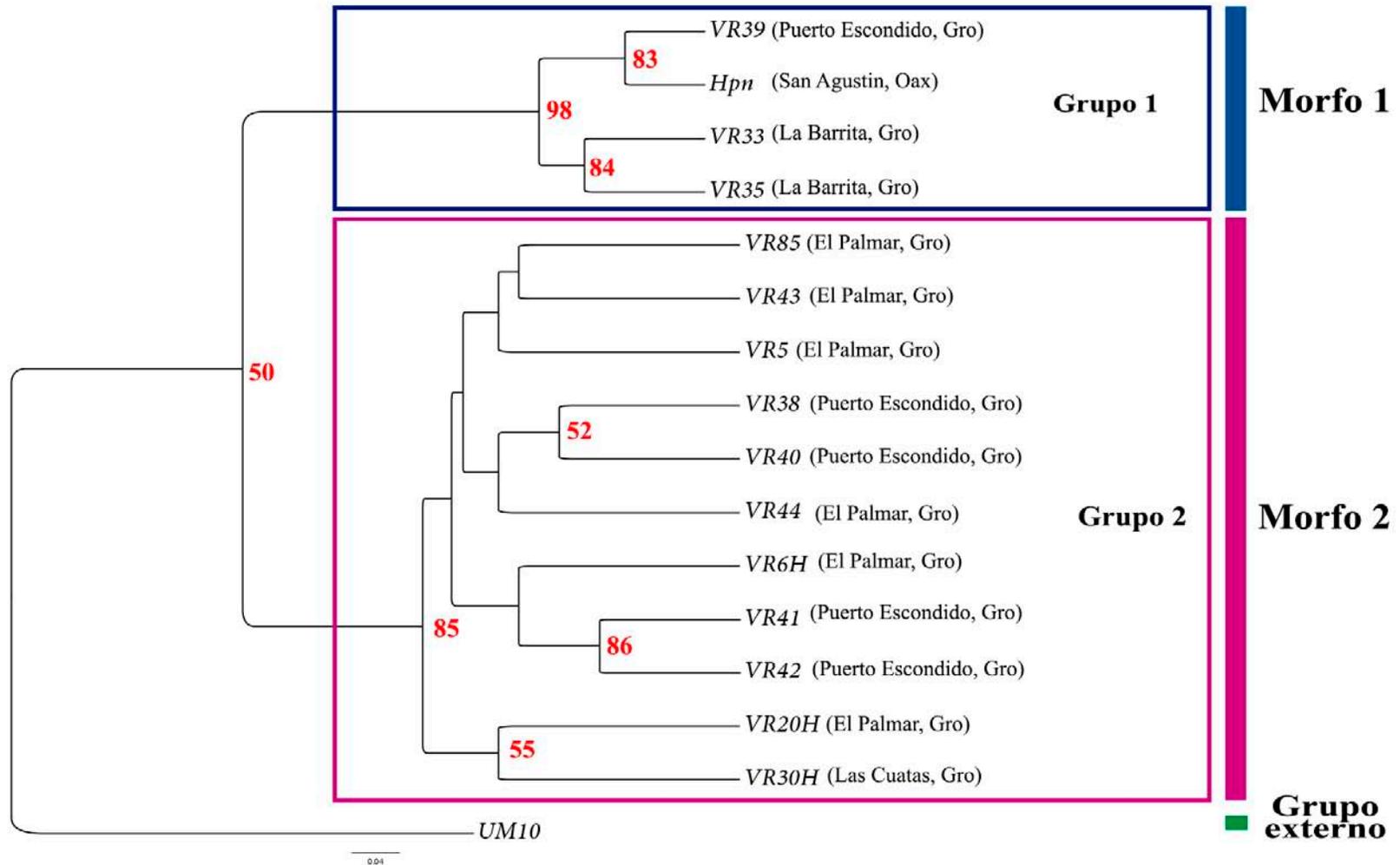
Los especímenes estudiados se encontraron reunidos en dos grupos:

Grupo I: Soportado por un valor de bootstrap de 98. Incluyó 4 especímenes (VR39, Hpn, VR33, VR35) recolectados en 3 localidades: Puerto Escondido, La Barrita y San Agustín.

Grupo II: Soportado por un valor de bootstrap de 85. Incluyó 11 especímenes (VR5, VR6H, VR20H, VR30H, VR38, VR40, VR41, VR42, VR43, VR44, VR85) recolectados en las localidades de El Palmar, Las Cuatas y Puerto Escondido.

De acuerdo con lo anterior, las costras gelatinosas de este estudio presentan dos morfologías diferentes correspondientes al Grupo I y al Grupo II, los cuales fueron denominadas como Morfo 1 y Morfo 2, respectivamente. A continuación se describen los dos morfos y en la tabla 6 se muestra la comparación entre ellos.

Figura 4. Dendrograma del análisis morfológico UPGMA. En rojo se muestran los valores de bootstrap (1,000 réplicas). Los nodos que no presentan valores indican resultados de bootstrap inferiores a 50.



**Morfo 1** (VR33, VR 35, VR 39, Hpn) (Figura 5)

Costra gelatinosa color verde oliva en húmedo y café oscuro en seco, con superficie suave y en alto relieve que se expande cubriendo la totalidad de la roca, totalmente adheridas al sustrato, sin líneas de crecimiento evidentes ni lobulaciones (Figura 5. A-C). Filamentos postígenos libres con células (0-6) unidas hacia la base. **Grosor del talo completo de 200-380 (-160)  $\mu\text{m}$**  (Figura 5. D-F). Filamentos primigenios formados por 2-3 capas de células. Largo de las células de 6-17 (20)  $\mu\text{m}$  y 3-7 (9)  $\mu\text{m}$  de diámetro, irregulares en forma (Figura 5. G-I). Filamentos postígenos con 20-51 células de largo, **surgiendo intercaladamente en ángulo transversal con respecto a los filamentos primigenios**. Largo del filamento de 190-340 (-150)  $\mu\text{m}$ . Células basales doliformes o irregulares, de 6-10  $\mu\text{m}$  de largo y 5-10  $\mu\text{m}$  de diámetro. Células cercanas al ápice doliiformes, de 5-10  $\mu\text{m}$  de largo y 4-6  $\mu\text{m}$  de diámetro. Células apicales irregulares en forma, de 8-14 (-6)  $\mu\text{m}$  de largo y 5-9  $\mu\text{m}$  de diámetro (Figura 5. J-L). **El diámetro del filamento se mantiene constante o disminuye levemente a lo largo del filamento, mientras el largo de las células se mantiene constante o aumenta hacia el ápice**. Pelos hialinos pueden estar presentes o ausentes, distribuidos irregularmente en el talo, originándose en la parte media de los filamentos postígenos. Plurangios y unangios ausentes.

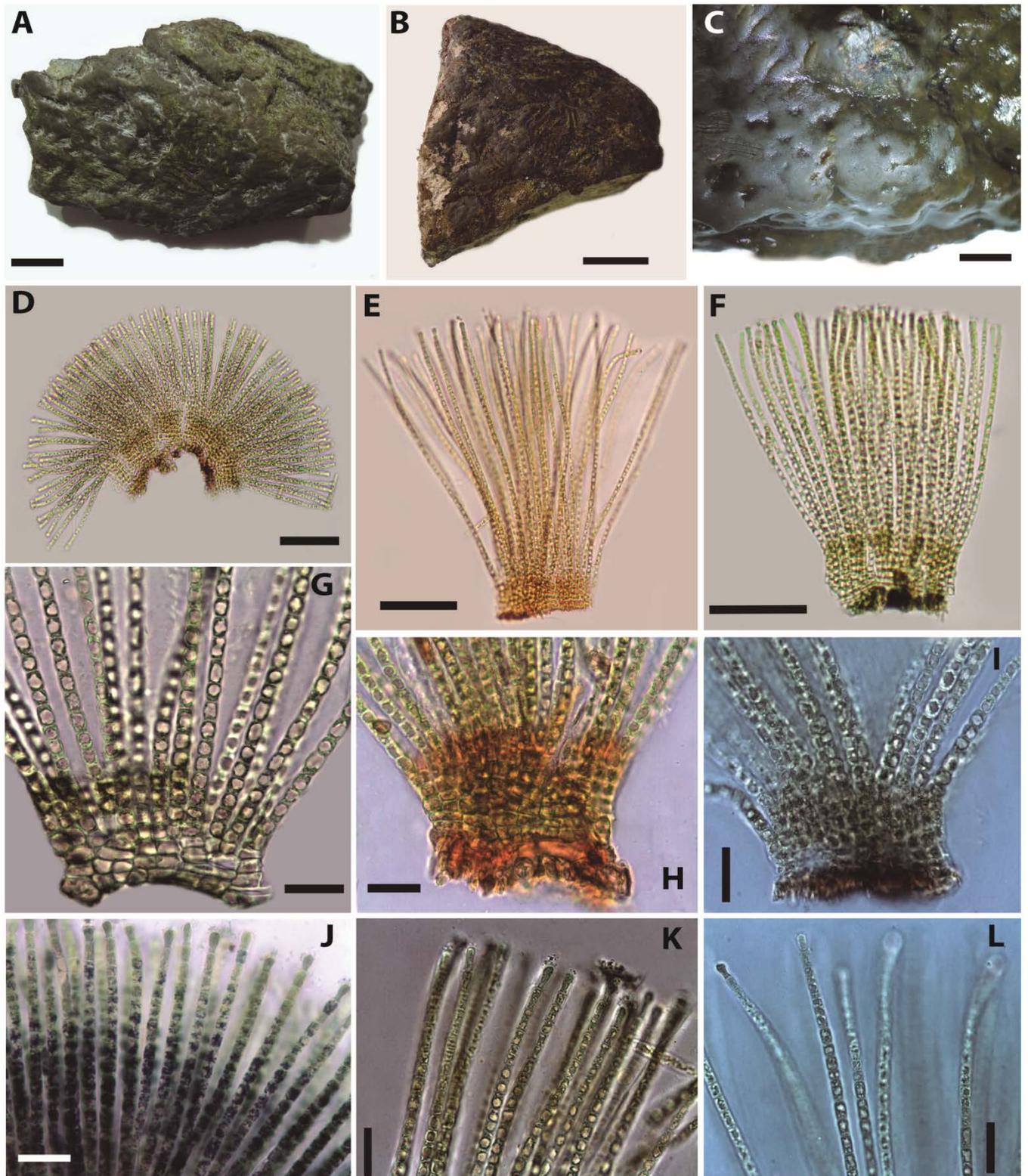


Figura 5. Morfo 1. A-B. Hábito costroso gelatinoso seco, escala = 10 cm, 2 cm. C. Hábito costroso gelatinoso húmedo, escala = 5 cm. D-F. Talo completo con filamentos libres, diámetro constante, escala = 100  $\mu$ m. G-I. Filamentos primigenios y unión basal entre los filamentos postígenos, escala= 50  $\mu$ m. J-L. Ápices, escala = 50  $\mu$ m.

## Morfo 2

(VR 5, VR 6H, VR20H, VR30H, VR 38, VR40, VR41, VR42, VR43, VR44, VR85)

(Figura 6)

Costra gelatinosas color café claro ó café verdoso en húmedo y café cobrizo en seco, con una superficie resbalosa y en alto relieve, totalmente adheridas al sustrato, sin líneas de crecimiento evidentes, con márgenes conspicuos y lobulaciones (Figura 6. A-B). Filamentos postígenos libres no unidos entre sí. **Grosor del talo completo 300-920 (1100)  $\mu\text{m}$**  (Figura 6. C-D). Filamentos primigenios formados por 2-5 capas de células. Largo de las células de 10-20 (30)  $\mu\text{m}$  y 4-10 (13)  $\mu\text{m}$  de diámetro, irregulares en forma (Figura 6. E-G). Filamentos postígenos con 17-61 (72) células de largo, **surgiendo subterminalmente en ángulo agudo a partir de las células de los filamentos primigenios**. Largo del filamento de 275-900 (1050)  $\mu\text{m}$ . Células basales cilíndricas, de 15-35 (-10)  $\mu\text{m}$  de largo y 5-10  $\mu\text{m}$  de diámetro. Células cercanas al ápice doliformes, de (-3) 6-12 (17)  $\mu\text{m}$  de largo y 6-10 (12)  $\mu\text{m}$  de diámetro. Células apicales irregulares en forma, de 7-15 (20)  $\mu\text{m}$  de largo y 7-12 (14)  $\mu\text{m}$  de diámetro (Figura 6. H-J). **El diámetro del filamento aumenta hacia el ápice, mientras el largo de las células disminuye, aunque en algunos casos la célula apical es más larga**. Pelos hialinos presentes o ausentes, distribuidos irregularmente en el talo, originándose en la parte media de los filamentos postígenos. Filamentos flameados (o con collar) intercalares presentes, largo del collar de 30-75 (90)  $\mu\text{m}$  y diámetro de 8-15  $\mu\text{m}$ , número de células dentro de collar de 2-10 (18), irregulares en forma. Células estériles apicales presentes de 0-9. Plurangios intercalares dispuestos en secuencias continuas de 1 a 4 por filamento, interrumpidas por células vegetativas. Forma irregular del plurangio (-10) 22-48  $\mu\text{m}$  de largo y 10-15  $\mu\text{m}$  de diámetro, con 3-8 células al interior del plurangio, dispuestas 1 o 2 hileras de loci por plurangio, irregulares en forma (Figura 6. K-N). Células estériles terminales 1-7, redondeadas y cubiertas por una matriz mucilaginosa. Unangios ausentes.

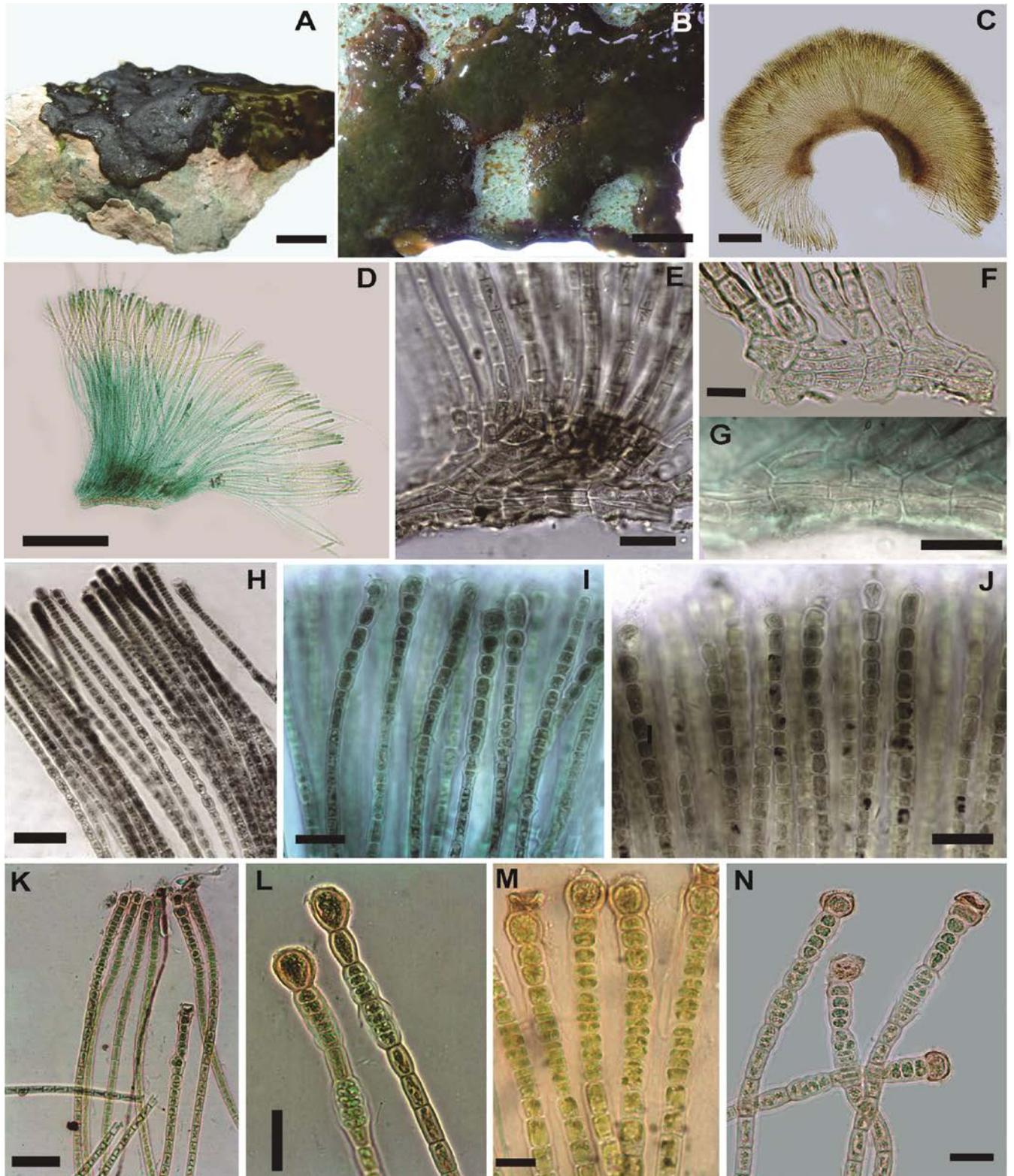


Figura 6. Morfo 2. A-B. Hábito costroso gelatinoso, escala = 10 cm, 5 mm. C-D. Talo completo con filamentos libres, diámetro constante, escala = 200  $\mu$ m. E-G. Filamentos postgénicos surgiendo en ángulo agudo con respecto los filamentos primigenios, escala = 50  $\mu$ m, 25  $\mu$ m, 25  $\mu$ m. H-J. Ápices, escala = 50  $\mu$ m. K-N. Plurangios intercalares, escala = 50 $\mu$ m, 50 $\mu$ m, 20 $\mu$ m, 20  $\mu$ m.

Tabla 6. Comparación morfológica entre el Morfo 1 y Morfo 2

	<b>Morfo 1</b>	<b>Morfo 2</b>
1. GROSOR	200-380 (-160) $\mu\text{m}$	300.920 (1100) $\mu\text{m}$
2. NUMCAPFILPRI	2-3	2-4
3. FORMCELFILPRI	Irregulares	Irregulares
4. LARCELFILPRI	6-17 (20) $\mu\text{m}$	10-30 (-5) $\mu\text{m}$
5. DIACELFILPRI	3-7 $\mu\text{m}$	4-10 $\mu\text{m}$
6. NUMCELFILPOS	20-51	17-53 (72)
7. LARFILPOST	175-330 $\mu\text{m}$	275-910 (1050) $\mu\text{m}$
8. FORFILPOST	Rectos	Curvos
9. DISPOFILPOS	Ángulo transversal	Ángulo agudo
10. UNIONFILAM	Sí	No
11. NUMCELUNID	0-6 (-10)	0
12. ORDENRAMIF	Ramificación basal del filamento postígeno	No ramifica
13. FORCELBAS	Doliformes	Cilíndricas
14. LARCELBAS	6-8 (10) $\mu\text{m}$	15-35 (-10) $\mu\text{m}$
15. DIACELBAS	5-8 $\mu\text{m}$	5-10 $\mu\text{m}$
16. FORCELCERAPI	Doliformes	Cilíndricas
17. LARCELCERAPI	5-9 $\mu\text{m}$	(-3) 6-10 (17) $\mu\text{m}$
18. DIACELCERAPI	4-7 $\mu\text{m}$	6-10 (12) $\mu\text{m}$
19. FORCELAPI	Irregulares	Irregulares
20. LARCELAPI	6-14 $\mu\text{m}$	7-15 (20) $\mu\text{m}$
21. DIACELAPI	4-8 $\mu\text{m}$	7-12 (14) $\mu\text{m}$
22. DIAMFILPOS	Constante	Aumenta hacia el ápice
23. LARCELFILPOST	Aumenta de la base al ápice	Disminuye de la base al ápice, en algunos casos la célula apical es más larga

1. GROSOR: Grosor del talo. 2. NUMCAPFILPRI: Número de capas del filamento primigenio. 3. FORMCELFILPRI: Forma de las células de los filamentos primigenios. 4. LARCELFILPRI: Largo de las células del filamento primigenio. 5. DIACELFILPRI: Diámetro de las células del filamento primigenio. 6. NUMCELFILPOS: Número de células del filamento postígeno. 7. LARFILPOST: Largo del filamento postígeno. 8. FORFILPOST: Forma de los filamentos postígenos. 9. DISPOFILPOS: Disposición de los filamentos postígenos. 10. UNIONFILAM: Unión de los filamentos postígenos. 11. NUMCELUNID: Número de células unidas entre sí. 12. ORDENRAMIF: Orden de ramificación. 13. FORCELBAS: Forma de las células basales. 14. LARCELBAS: Largo de las células basales. 15. DIACELBAS: Diámetro de las células basales. 16. FORCELCERAPI: Forma de las células cercanas al ápice. 17. LARCELCERAPI: Largo de las células cercanas al ápice. 18. DIACELCERAPI: Diámetro de las células cercanas al ápice. 19. FORCELAPI: Forma de las células apicales. 20. LARCELAPI: Largo de las células apicales. 21. DIACELAPI: Diámetro de las células apicales. 22. DIAMFILPOS: Diámetro de los filamentos postígenos. 23. LARCELFILPOST: Largo de las células del filamento postígeno.

## 7.3 Análisis molecular

### 7.3.1 Divergencia nucleotídica del gen *rbcL*

Se analizaron dos matrices para el gen *rbcL*. La matriz *rbcL\_1* correspondió al gen completo y estuvo conformada por 45 secuencias de 1270 pb, de las cuales 10 secuencias fueron generadas en éste estudio (Apéndice 4).

La matriz *rbcL\_2* estuvo conformada por 52 secuencias, con una longitud de 710 pb, de las cuales 17 fueron generadas en éste estudio. Esta segunda matriz se creó para poder incluir los representantes del Morfo 1 (VR33, VR35, VR39 y Hpn.), en los cuales no se logró amplificar el primer fragmento del gen *rbcL* (Apéndice 5).

#### 7.3.1.1. Matriz *rbcL\_1*

Un total de 45 secuencias fueron analizadas incluyendo a *Tilopteris mertensii* (J.E. Smith) Kützing como grupo externo.

Los valores de divergencia al interior de la Familia Ralfsiaceae (*Ralfsia fungiformis*, *R. verrucosa*, *Heteroralfsia saxicola* y *Endoplura aurea*), oscilaron entre 4.8 y 11.0%. Al interior de la Familia Mesosporaceae (*Mesopora schmidtii* y *M. elongata*) oscilaron entre 8 y 10%, y entre la familia Neoralfsiaceae (*Neoralfsia expansa* y *N. hancockii*), oscilaron entre 3.7 y 9.7%.

Los valores de divergencia intergenérica entre las secuencias de *Mesopora* (Mesosporaceae), *Neoralfsia* (Neoralfsiaceae), *Ralfsia* (Ralfsiaceae) y el Morfo 2, oscilaron entre 10.2 y 14.5%. Entre *Mesopora* y *Ralfsia* oscilaron entre 10.4 y 12.1%, entre *Mesopora* y *Neoralfsia* entre 11 y 14.0% y entre *Mesopora* y el Morfo 2 entre 11.4 y 12.8%. Entre *Ralfsia* y *Neoralfsia* oscilaron entre 11.4 y 12.9%, entre *Ralfsia* y el Morfo 2 oscilaron entre 11.5 y 12.7%, y entre *Neoralfsia* y el Morfo 2 osciló en 12.2 y 14.5%.

A nivel intraespecífico, los valores de divergencia entre las secuencias de *Mesospora schmidtii* oscilaron entre 0.7 y 2.0%, y entre *Mesospora elongata* no hubo divergencia (0%) al igual que entre *Neoralfsia hancockii*. En *Neoralfsia expansa* A, B y C oscilaron entre 1 y 3%. En *Neoralfsia expansa* E y F entre 2 y 4%. En los especímenes del Morfo 2 la divergencia intraespecífica osciló entre 0.07 y 2.3%.

### 7.3.1.2. Matriz *rbcL\_2*

Un total de 52 secuencias fueron analizadas incluyendo como grupo externo a *Tilopteris mertensii*.

Los valores de divergencia al interior de la Familia Ralfsiaceae (*Ralfsia fungiformis*, *Ralfsia verrucosa*, *Heteroralfsia saxicola* y *Endoplura aurea*), oscilaron entre 4.7 y 11.7 %. Los valores de divergencia al interior de la Familia Mesosporaceae (*Mesospora schmidtii* y *M. elongata*) oscilaron entre 9.7 y 11.2 %, y entre la familia Neoralfsiaceae (*Neoralfsia expansa* y *N. hancockii*), oscilaron entre 0.8 y 6.4 %.

Los valores de divergencia intergenérica entre las secuencias de *Mesospora* (Mesosporaceae), *Neoralfsia* (Neoralfsiaceae), *Ralfsia* (Ralfsiaceae) y el Morfo 1 y 2, oscilaron entre 11 y 15%. Entre *Mesospora* y *Ralfsia* osciló entre 11 y 14%, entre *Mesospora* y *Neoralfsia* entre 12 y 14% y entre *Mesospora* y el Morfo 1 oscilaron entre 14 y 16% y entre *Mesospora* y el Morfo 2 oscilaron entre 12 y 15%. Entre *Ralfsia* y *Neoralfsia* y *Ralfsia* y el Morfo 2 oscilaron entre 11 y 13%, y entre *Ralfsia* y el Morfo 1 osciló entre 12 y 14%. Entre *Neoralfsia* y el Morfo 1 osciló en 13 y 15%, y entre *Neoralfsia* y el Morfo 2 osciló entre 13 y 14%. La divergencia entre el Morfo 1 y el Morfo 2 osciló entre 12 y 13%.

A nivel intraespecífico, los valores de divergencia entre las muestras de *Mesospora schmidtii* oscilaron entre 0.5 y 2%, y entre *M. elongata* no hubo divergencia (0%) al igual que entre *Neoralfsia hancockii* A y B. Entre *N. expansa* A, B y C oscilaron entre 0.5 y 1%. Entre *N. expansa* G, E y F oscilaron entre 2 y 6%. Entre los especímenes del Morfo 1 oscilaron entre 0.1 y 2%, y entre los especímenes del Morfo 2 oscilaron entre 0.1 y 0.8%.

### 7.3.2. Divergencia nucleotídica del gen *Cox1*

Un total de 22 secuencias fueron analizadas incluyendo como grupo externo a *Tilopteris mertensii* (Apéndice 6).

Los valores de divergencia al interior de la familia Ralpsiaceae (*Ralfsia fungiformis* y *Analipus japonicus*) fue del 20.3% y entre la familia Mesosporaceae (*Mesospora schmidtii* y *M. elongata*) oscilaron entre 19.7 y 21.5%. La divergencia entre el Morfo 1 y el Morfo 2 osciló entre 22.1 y 22.3 %.

Los valores de divergencia intergenérica entre las secuencias de *Mesospora*, *Ralfsia*, *Analipus* y el Morfo 1 y Morfo 2, oscilaron entre 22 y 27%. Entre *Mesospora* y *Ralfsia* oscilaron entre 23 y 25%, entre *Mesospora* y *Analipus* oscilaron entre 24 y 27%, entre *Mesospora* y el Morfo 1 oscilaron entre 22 y 25% y entre *Mesospora* y el Morfo 2 oscilaron entre 23 y 25%. Entre *Ralfsia* y *Analipus* fue del 20%. Entre *Ralfsia* y el Morfo 1 fue de 23% y entre *Ralfsia* y el Morfo 2 oscilaron entre 20 y 21%. Entre *Analipus* y el Morfo 1 osciló entre 23 y 24% y entre *Analipus* y el Morfo 2 fue del 21%.

A nivel intraespecífico, los valores de divergencia entre las muestras de *Mesospora schmidtii* oscilaron entre 7 y 12%, y entre *M. elongata* oscilaron entre 0.1 y 0.3 % Entre los especímenes del Morfo 1 oscilaron entre 0 y 0.1%, y entre los especímenes del Morfo 2 oscilaron entre 0 y 3%.

### 7.4 Análisis filogenéticos

Los tres métodos de inferencia filogenética (MP, MV, IB) mostraron árboles con topologías idénticas para los genes *rbcL* y *Cox1*.

## **7.4.1 Matriz *rbcL\_1***

### **7.4.1.1. Máxima Parsimonia (MP)**

La matriz de *rbcL\_1* consistió en 45 secuencias de 1270 pares de bases (86,6% del total del tamaño del gen), 10 de las cuales fueron generadas en este trabajo. El 63.5%, correspondiente a 806 caracteres fueron constantes, el 6.77% correspondiente a 86 caracteres fueron no informativos y el 29.8% correspondiente a 378 caracteres fueron informativos para parsimonia. El análisis de Máxima Parsimonia recuperó 1389 árboles más parsimoniosos, con una longitud de 282164 pasos, índice de consistencia (IC) de 0.4528 e índice de retención (IR) de 0.7991. El consenso estricto de los árboles más parsimoniosos se muestra en la apéndice 7.

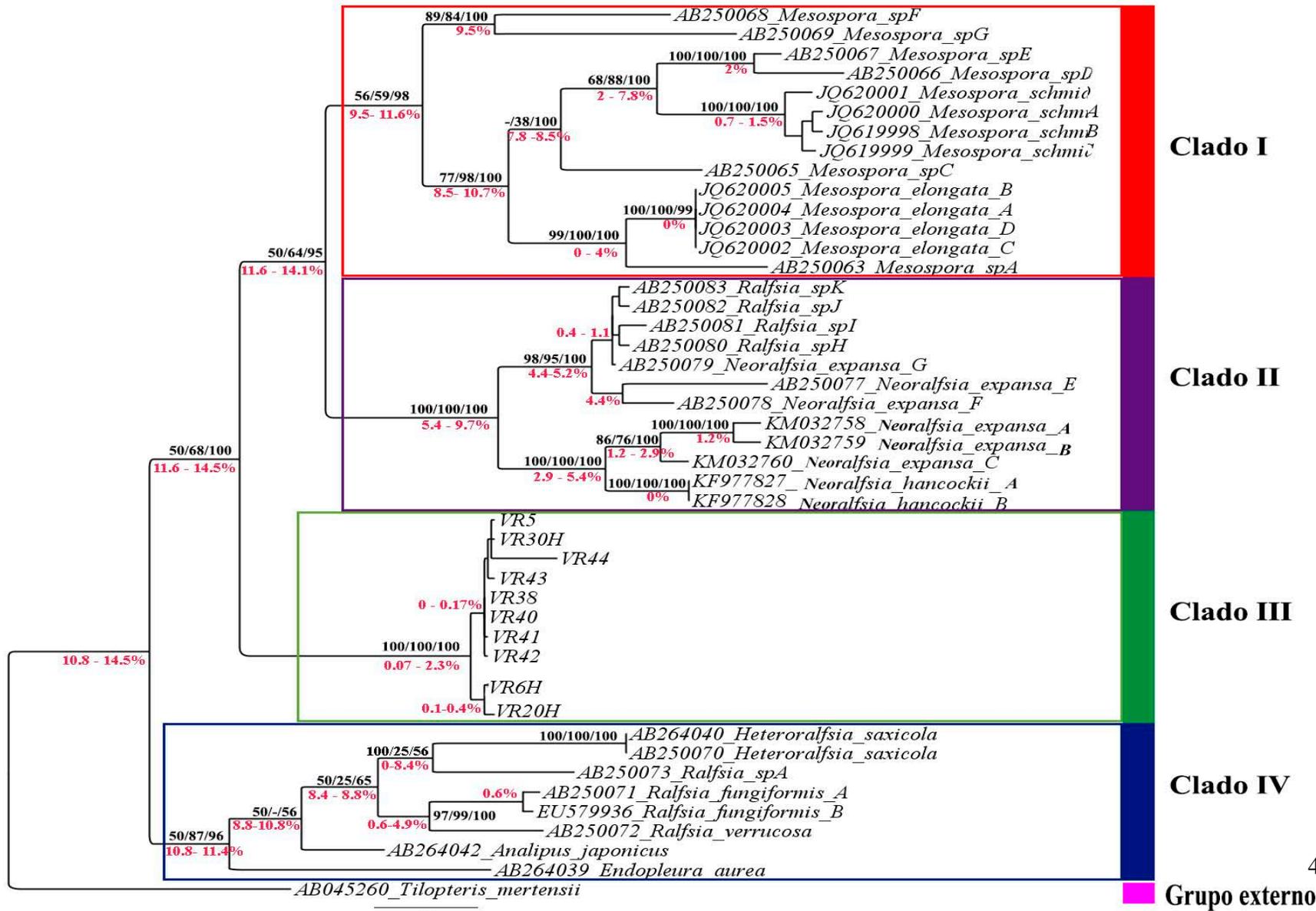
Los especímenes del Morfo 2 se organizaron en el Clado III soportado por un valor de bootstrap de 100. En el árbol se pueden diferenciar los Clados I, II, y IV que corresponde a las Familias Mesosporaceae, Neoralfsiaceae y Ralfsiaceae, respectivamente (Figura 7).

### **7.4.1.2. Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB)**

En el análisis de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana para la matriz *rbcL\_1* se generó un árbol con la misma topología que recuperó los especímenes del Morfo 2 dentro del Clado III con valores de bootstrap y probabilidad posterior de 100 (Apéndice 9 y 11).

Al igual que en el árbol de MP para *rbcL\_1*, en este árbol también se pueden diferenciar los Clados I, II y IV que corresponde a las Familias Mesosporaceae, Neoralfsiaceae y Ralfsiaceae, respectivamente (Figura 7).

Figura 7. Árbol consenso de MP, MV e IB de *rbcL\_1*. Los números color negro asociados a cada rama indican los valores de bootstrap para MP (izquierda), MV (medio) y probabilidad posterior IB (derecha). Los números color rojo corresponden al porcentaje de divergencia nucleotídica para cada rama.



## **7.4.2. Matriz *rbcL\_2***

### **7.4.2.1. Máxima Parsimonia (MP)**

La matriz de *rbcL\_2* consistió en 52 secuencias de 710 pares de bases, 17 de las cuales fueron generadas en este trabajo. El 62.8%, correspondiente a 446 caracteres fueron constantes, el 6.20%, correspondiente a 44 caracteres fueron no informativos y el 31.0%, correspondiente a 220 caracteres fueron informativos para parsimonia. El análisis de Máxima Parsimonia recuperó 864 árboles más parsimoniosos, con una longitud de 4597825 pasos, índice de consistencia (IC) de 0.4329 e índice de retención (IR) de 0.8191. El consenso estricto de los árboles se muestra en el apéndice 8.

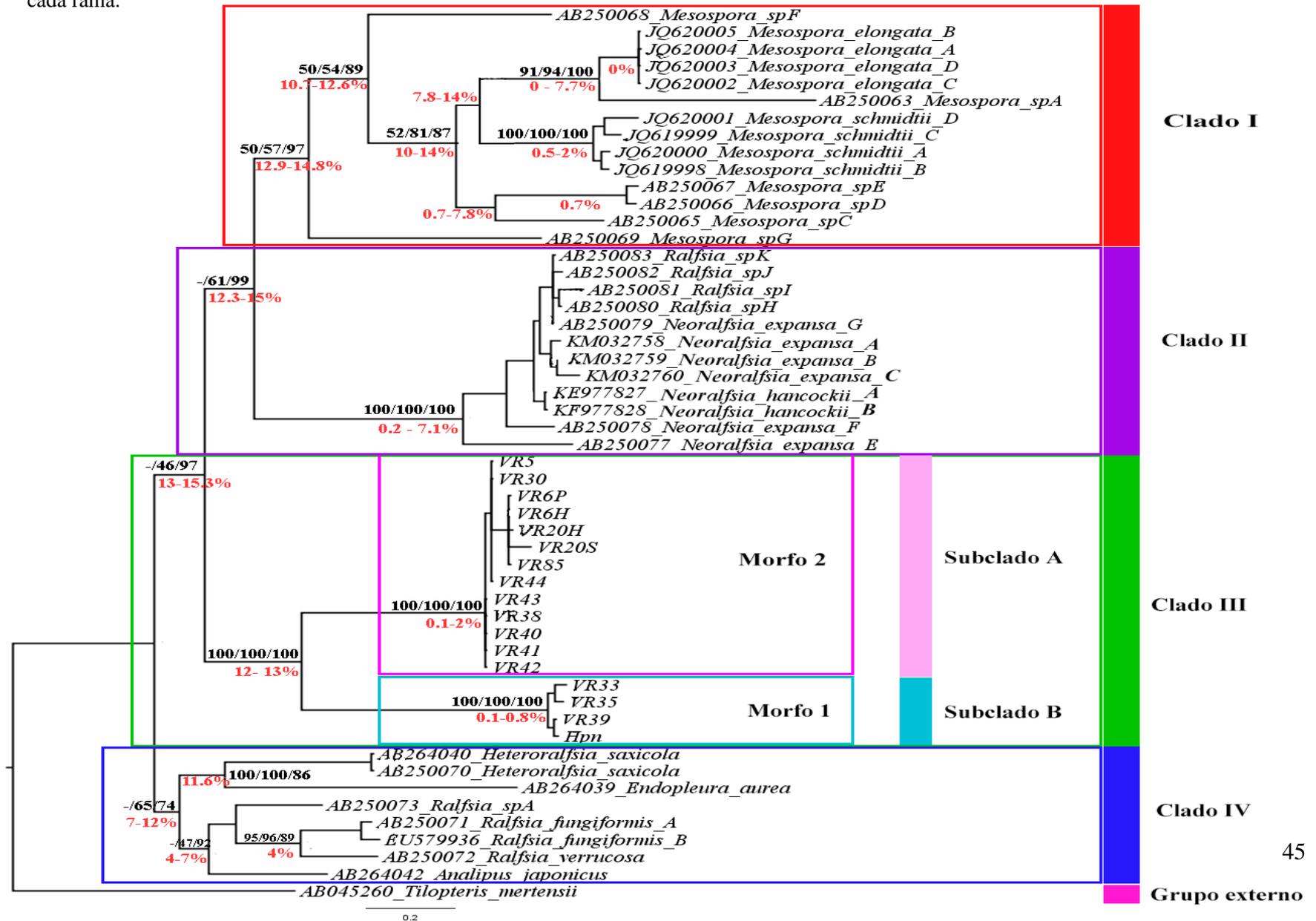
Los especímenes estudiados se organizaron en el Clado III soportado por un valor de bootstrap de 73.3. Este clado estuvo conformado por dos subclado A y B, soportados por un valor de bootstrap de 100 cada uno. Los especímenes del subclado A corresponden a al Morfo 1 y el subclado B reúne a los especímenes del Morfo 2. En este árbol también se diferenciaron los Clados I, II IV que corresponden a las Familias Mesosporaceae, Neoralfsiaceae y Ralfsiaceae, respectivamente (Figura 8).

### **7.4.2.2. Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB)**

Para la matriz *rbcL\_2* se generó un filograma con la misma topología para el análisis de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana, que reunió los especímenes dentro del Clado III, soportado por valores de bootstrap y probabilidad posterior de 100 (Apéndice 10 y 12).

Al igual que en el análisis de Máxima Parsimonia, este clado está conformado por dos subclados A y B. Los especímenes del subclado A corresponden al Morfo 1 y el subclado B reúne a los especímenes del Morfo 2. En este árbol también se diferenciaron los Clados I, II y IV que corresponden a las Familias Mesosporaceae, Neoralfsiaceae y Ralfsiaceae, respectivamente (Figura 8).

Figura 8. Árbol consenso de MP, MV e IB de *rbcL\_2*. Los números color negro asociados a cada rama indican los valores de bootstrap para MP (izquierda), MV (medio) y probabilidad posterior IB (derecha). Los números color rojo corresponden al porcentaje de divergencia nucleotídica para cada rama.



### **7.4.3. Gen *Cox1***

Para el gen *Cox1* se analizaron 22 secuencias de 675 pb, 11 de las cuales fueron generadas en este trabajo. En las tres matrices se incluyó a *Tilopteris mertensii* como grupo externo, teniendo en cuenta que esta especie pertenece a la familia Tilopteridaceae (Tilopteridales), y de acuerdo a la clasificación actualizada de las algas pardas (Silberfeld *et al.*, 2014) ésta es la familia más cercanamente relacionada al Orden Ralfsiales.

#### **7.4.3.1. Análisis de Máxima Parsimonia**

La matriz del gen *Cox1* consistió en 604 pares de bases y 22 secuencias, 10 de las cuales fueron generadas en este trabajo. El 59.3%, correspondiente a 358 caracteres fueron constantes, el 2.6%, correspondiente a 16 caracteres fueron no informativos y el 38.1%, correspondiente a 230 caracteres fueron informativos para parsimonia. El análisis de Máxima Parsimonia recuperó 688 árboles más parsimoniosos con una longitud de 13028 pasos, índice de consistencia (IC) de 0.5959 e índice de retención (IR) de 0.8085. El consenso estricto de los árboles se muestra en la apéndice 13.

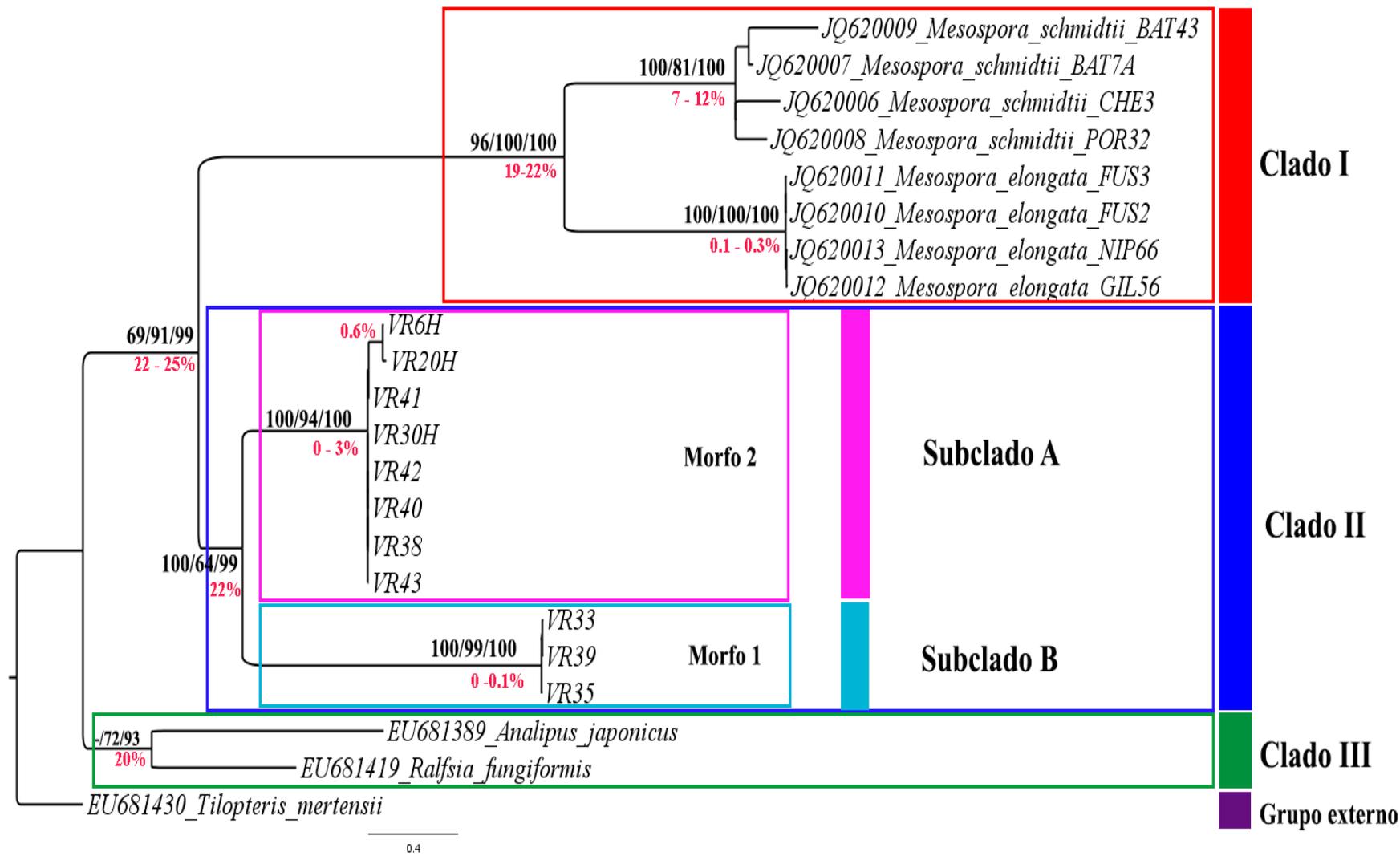
Los especímenes estudiados se organizaron en el Clado II soportado por un valor de bootstrap de 100. Este clado a su vez se dividió en dos subclados A y B con valores de bootstrap de 100 cada uno. El subclado A correspondiente a los especímenes del Morfo 2 presentó dos ramificaciones, la primera conformada por los especímenes VR6H, VR20H, y la segunda por los especímenes VR38, VR40, VR41, VR42, VR43. El subclado B reunió los especímenes VR33, VR35 y VR39, los cuales son miembros del Morfo 1. En el árbol se pueden diferenciar el Clado I correspondiente a la familia Mesosporaceae y el Clado III con especies de la familia Ralfsiaceae.

#### **7.4.3.2. Análisis de Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB)**

En el análisis de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana para el gen *Cox1* se generó un árbol con idéntica topología, que reunió a los especímenes estudiados en el Clado II. Este a su vez se dividió en los subclados A y B, correspondientes al Morfo 2 y 1, respectivamente. Al igual que en el análisis de MP, el subclado A presentó dos ramas, la primera conformada por los especímenes VR6H, VR20H, y la segunda por los especímenes VR38, VR40, VR41, VR42, VR43) (Apéndice 14 y 15). En el árbol se pueden diferenciar el Clado I correspondiente a la familia Mesosporacie y el Clado III con especies de la familia Ralfsiaceae.

El árbol consenso del análisis de Máxima Parsimonia, Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana se muestra en la Figura 9.

Figura 9. Árbol consenso de MP, MV e IB para el gen *Cox1*. Los números color negro asociados a cada rama indican los valores de bootstrap para MP (izquierda), MV (medio) y probabilidad posterior IB (derecha). Los números color rojo corresponden al porcentaje de divergencia nucleotídica para cada rama.



#### **7.4.4. Genes concatenados**

##### **7.4.3.1 *rbcL\_1* y *Cox1***

Se analizaron 19 secuencias de 1874 pb, 8 de las cuales fueron generadas en éste trabajo. Se incluyó a *Tilopteris mertensii* como grupo externo.

##### **7.4.3.1.1. Análisis de Máxima Parsimonia**

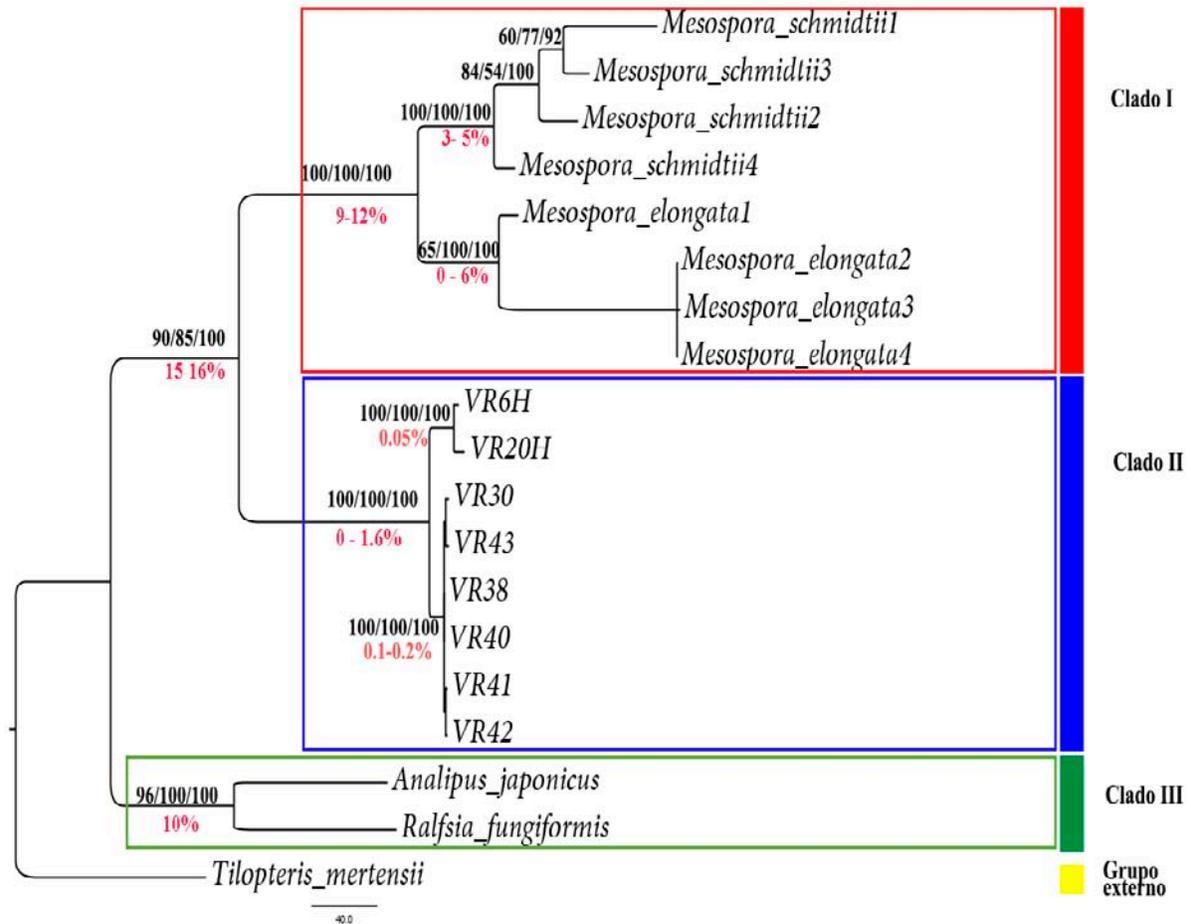
La matriz de los genes concatenados *rbcL\_1* y *Cox1* consistió en 1874 pares de bases y 19 secuencias, 8 de las cuales fueron generadas en éste trabajo. El 70.6%, correspondiente a 1323 caracteres fueron constantes, el 5.4%, correspondiente a 102 caracteres fueron no informativos y el 24%, correspondiente a 449 caracteres fueron informativos para parsimonia. El análisis de Máxima Parsimonia recuperó 1115 árboles más parsimoniosos con una longitud de 2750 pasos, índice de consistencia (IC) de 0.6789 e índice de retención (IR) de 0.8440.

Los especímenes estudiados se organizaron en el Clado II, soportado por un valor de bootstrap de 100. Éste clado presentó dos ramificaciones, la primera conformada por los especímenes VR6H, VR20H, y la segunda por los especímenes VR38, VR40, VR41, VR42, VR43. El Clado II corresponde a los especímenes del Morfo 2. En el árbol se pueden diferenciar el Clado I correspondiente a la familia Mesosporaceae y el Clado III con especies de la familia Ralfsiaceae (Figura 10).

##### **7.4.3.1.2. Análisis de Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB)**

En el análisis de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana se generó un árbol con la misma topología que reunió a los especímenes estudiados (Morfo 2) en el Clado II, con valores de bootstrap y probabilidad posterior de 100. En los Clados I y III se encuentran reunidos miembros de la familia Mesosporaceae y Ralfsiaceae, respectivamente (Figura 10).

Figura 10. Árbol consenso de MP, MV e IB para los genes concatenados *rbcL\_1* y *Cox1*. Los números color negro asociados a cada rama indican los valores de bootstrap para MP (izquierda), MV (medio) y probabilidad posterior IB (derecha). Los números color rojo corresponden al porcentaje de divergencia nucleotídica para cada rama.



#### 7.4.3.2. *rbcL\_2* y *Cox1*

Se analizaron 22 secuencias de 1314 pb, 11 de las cuales fueron generadas en éste trabajo. Se incluyó a *Tilopteris mertensii* como grupo externo.

##### 7.4.3.2.1. Análisis de Máxima Parsimonia

La matriz de los genes concatenados *rbcL\_2* y *Cox1* consistió en 1314 pares de bases y 22 secuencias, 11 de las cuales fueron generadas en éste trabajo. El 65.8%, correspondiente a

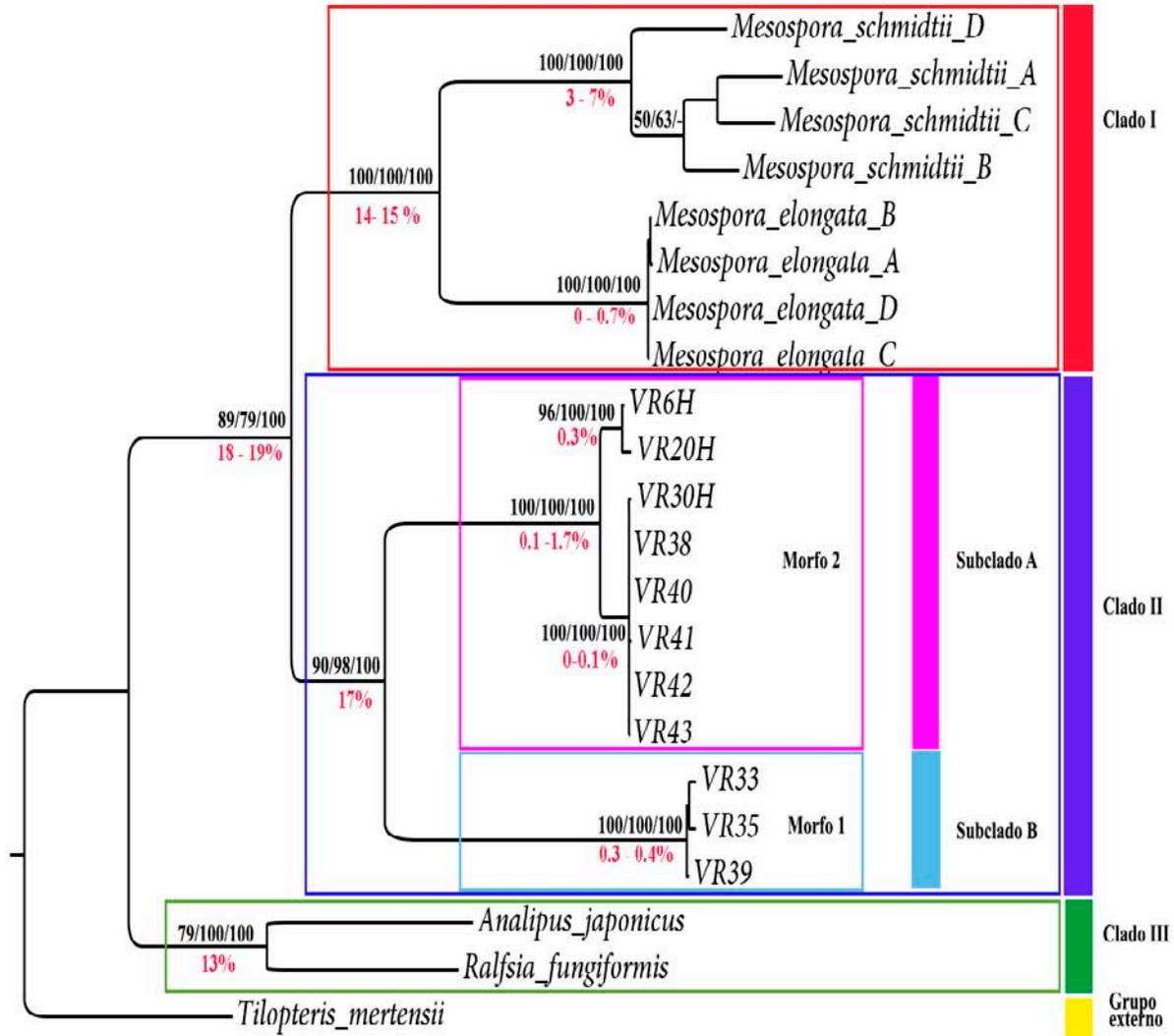
864 caracteres fueron constantes, el 3.3%, correspondiente a 43 caracteres fueron no informativos y el 30.9%, correspondiente a 407 caracteres fueron informativos para parsimonia. El análisis de Máxima Parsimonia recuperó 1051 árboles más parsimoniosos con una longitud de 19784 pasos, índice de consistencia (IC) de 0.6346 e índice de retención (IR) de 0.8396.

Los especímenes estudiados se organizaron en el Clado II soportado por un valor de bootstrap de 100. Éste clado a su vez se divide en dos subclados A y B con valores de bootstrap de 100 cada uno. El subclado A presenta dos ramificaciones, la primera conformada por los especímenes VR6H, VR20H, y la segunda por los especímenes VR38, VR40, VR41, VR42, VR43. Este subclado corresponde a los especímenes reunidos en el Morfo 2. El subclado B reúne los especímenes VR37, VR35 y VR39, los cuales son miembros del Morfo 1. En el árbol se pueden diferenciar el Clado I correspondiente a la familia Mesosporaceae y el Clado III con especies de la familia Ralfsiaceae, que en éste árbol se observan como especies parafiléticas (Figura 11).

#### **7.4.3.2.2. Análisis de Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB)**

En el análisis de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana se generó un árbol con la misma topología que reunió a los especímenes estudiados en el Clado II. Este a su vez se dividió en los subclados A y B, correspondientes al Morfo 2 y 1, respectivamente. Los valores de bootstrap y probabilidad posterior que soportan a cada uno de los subclados A y B fueron de 100. En los Clados I y III se encuentran reunidos miembros de la familia Mesosporaceae y Ralfsiaceae, respectivamente (Figura 11).

Figura 11. Árbol consenso de MP, MV e IB para los genes concatenados *rbcL\_2* y *Cox1*. Los números color negro asociados a cada rama indican los valores de bootstrap para MP (izquierda), MV (medio) y probabilidad posterior IB (derecha). Los números color rojo corresponden al porcentaje de divergencia nucleotídica para cada rama.



## 8. DISCUSIÓN

### 8.1. Caracterización morfológica

El análisis morfológico de UPGMA permitió diferenciar dos grupos de algas costrosas gelatinosas en el Pacífico Tropical Mexicano. Las diferencias morfológicas de estos dos grupos están basadas principalmente en tres caracteres: grosor del talo, ángulo de surgimiento de los filamentos postígenos a partir de los filamentos primigenios, y largo/diámetro de las células a lo largo del filamento postígeno. Con base en esto se puede considerar que el ángulo de surgimiento (agudo o transversal) de los filamentos postígenos a partir de los primigenios tiene implicaciones citogenéticas significativas en la delimitación de especies de las costras pardas gelatinosas y debe ser tenido en cuenta como carácter diagnóstico. Con base en éstos caracteres morfológicos los dos grupos fueron denominados Morfo 1 y Morfo 2. En la tabla 7 se comparan las descripciones originales de las especies gelatinosas con los Morfos 1 y 2.

El morfo 1 presenta un grosor del talo de 200-380  $\mu\text{m}$ , evidentemente más corto que el morfo 2 (300-920 (1100)  $\mu\text{m}$ ), sin embargo la diferencia en el número de células entre ellos no es significativa (20-51 células en el Morfo 1 y 17-61 células en el Morfo 2). Teniendo en cuenta el grosor del talo, el surgimiento en ángulo transversal de los filamentos postígenos, y el largo/diámetro de sus células, el morfo 1 se asemeja a las especies *Mesospora elongata*, *M. schimidtii* y *Hapalospongidion gelatinosum*. Sin embargo, las células del filamento postígeno en el Morfo 1 se hacen más largas o se mantienen constantes de la base al ápice, mientras en las especies mencionadas, las células son más largas en la base y se hacen más cortas hacia el ápice. La especie *H. pangoensis* también podría considerarse dentro de éste grupo, ya que el grosor de su talo es corto (180-225  $\mu\text{m}$ ), pero las células de *H. pangoensis* son más largas (largo célula basal 9-18  $\mu\text{m}$ , largo célula cercana al ápice 10-15  $\mu\text{m}$ ) que las del Morfo 1 (largo célula basal 6-8 (-10)  $\mu\text{m}$ , largo célula cercana al ápice 5-9  $\mu\text{m}$ ), y además el diámetro del filamento aumenta hacia el ápice, mientras en el Morfo 1, el diámetro permanece constante e incluso disminuye ligeramente. La relación entre el largo (aumentando hacia el ápice) y el diámetro (constante) de las células a través del

filamento, hacen del Morfo 1 un grupo particularmente diferente de las especies ya descritas.

El morfo 2 presenta un talo más grueso (300-920 (1100)  $\mu\text{m}$ ), y un número de células en el filamento postígeno (17-53 células) similar al morfo 1 (20-51 células) (Figura 6). Esto evidencia que sus células son más largas, aunque su longitud disminuye de la base al ápice, a excepción de la célula apical, que en la mayoría de los casos es alargada. Así mismo el diámetro de los filamentos en el Morfo 2 aumenta hacia el ápice. Teniendo en cuenta esta combinación de caracteres (largo y diámetro de las células a lo largo del filamento postígeno), el morfo 2 se asemeja a *H. gelatinosum*, porque sus células son largas hacia la base y se van acortado hacia el ápice (se conserva la proporcionalidad largo-diámetro) y su diámetro aumenta de la base al ápice. Sin embargo, se observa una clara diferencia en el tamaño de las células del morfo 2 (largo cel. basal 15-35  $\mu\text{m}$ , largo cel. cerca al ápice 6-12 (17)  $\mu\text{m}$ ) siendo más largas que en *H. gelatinosum* (largo basal 8-10  $\mu\text{m}$ , largo cerca al ápice 3.5-5  $\mu\text{m}$ ). El Morfo 2 también podría asemejarse a *H. macrocarpum*, que presenta células más largas (12-15  $\mu\text{m}$ ) y de mayor diámetro hacia el ápice que las de *H. gelatinosum*, sin embargo las células basales de *H. macrocarpum* son ligeramente más anchas (10-12  $\mu\text{m}$ ) que las del Morfo 2 (5-10  $\mu\text{m}$ ). El aumento en el diámetro de las células a través del filamento y el grosor del talo también se presenta en *Hapalospongidion capitatum* (diámetro basal 4-6  $\mu\text{m}$ , diámetro cerca al ápice 10-12  $\mu\text{m}$ ), sin embargo las células de *H. capitatum* mantienen su longitud o son ligeramente más largas en el ápice que en la base del filamento (largo basal 10-18  $\mu\text{m}$ , largo cerca al ápice 10-24  $\mu\text{m}$ ). Los plurangios en *H. capitatum* son considerablemente distintos por ser capitados y terminales o subterminales, lo cual no se observó en ninguno de los especímenes estudiados del Morfo 2. Por otro lado, la especie *Hapalospongidion pangoensis* presenta filamentos que aumenta su diámetro hacia el ápice (diámetro basal 6-8.7  $\mu\text{m}$ , diámetro cerca al ápice 7-11 $\mu\text{m}$ ) y células que se mantienen igual o disminuyen ligeramente el largo de la base al ápice del filamento (largo basal 9-18  $\mu\text{m}$ , largo cerca al ápice 10-15  $\mu\text{m}$ ), lo cual se asemeja al Morfo 2, pero se diferencian en el grosor de su talo, el cual es mucho menor (180-225  $\mu\text{m}$ ) al igual que el número de células que conforman sus filamentos postígenos (15-20). Aunque la relación en el largo/diámetro de las células a través de los filamentos postígenos es similar

entre el Morfo 2 y las especies *H. gelatinosum*, *H. capitatum* y *H. pangoensis*, el surgimiento en ángulo agudo de los filamentos postígenos a partir de los filamentos primigenios es una característica particular del Morfo 2, que no se observa en las especies anteriormente mencionadas (aunque es característico de otras especies costrosas como *Ralfsia* spp y *Stragularia* spp), donde los filamentos postígenos surgen en ángulo transversal a partir de los filamentos primigenios.

La especie *Basispora africana* también presenta un número de células del filamento postígeno (hasta 40 células), y diámetro cerca al ápice (8-11  $\mu\text{m}$ ) similar al Morfo 2 (17-53 (72) células y diámetro cerca al ápice de 8-12 $\mu\text{m}$ ). No obstante, el diámetro de las células basales es menor (2.5-5 $\mu\text{m}$ ) a las células del Morfo 2 (5-10  $\mu\text{m}$ ). El surgimiento en ángulo agudo de los filamentos postígenos es una característica del Morfo 2 que se muestra en el esquema de la descripción original de *B. africana*, siendo éste el único género gelatinoso que exhibe este carácter, a diferencia de las descripciones originales de los géneros *Mesospora* y *Hapalospongidion*, donde los filamentos postígenos siempre fueron descritos surgiendo en ángulo transversal a partir de los filamentos primigenios. Aunque no se observaron uniloculares en los especímenes de los Morfos 2, se revisaron todas las costras gelatinosas pardas registradas en la Sección de Algas del Herbario de la Facultad de Ciencias, UNAM (FCME), con la finalidad de encontrar estructuras reproductivas uniloculares y así determinar su posición y forma de surgimiento en el filamento. Así se determinó que el espécimen con número de PTM 3303 presentó uniloculares terminales o laterales hacia la parte media o apical de los filamentos postígenos, por lo cual se diferencia de *Basispora africana* que presenta uniloculares surgiendo cerca a la base de los filamentos postígenos.

Hollenberg en 1942 registró como *Hapalospongidion gelatinosum* las costras gelatinosas provenientes del Sur de California (Carmel, Corona del Mar), Baja California (Punta Banda) y Pacífico Tropical Mexicano (Bahía de Petatlán), considerando que su morfología coincidía con la especie *H. gelatinosum* descrita por Saunders (1899). Sin embargo en los esquemas de su publicación, los filamentos postígenos se observan surgiendo en ángulo agudo, lo cual difiere con los esquemas realizados por Saunders en

1899, donde los filamentos postígenos están completamente transversales a los filamentos primigenios. Esto nos hace pensar que el morfo 2 se asemeja más al *H. gelatinosum* registrado por Hollenberg (1942), el cual podría tratarse de otra especie diferente de *H. gelatinosum* descrito por Saunders. Las localidades de las especies que Hollenberg examinó se encuentran cerca de las localidades donde se colectaron los especímenes de este estudio, por lo cual podrían tratarse de la misma especie

Al igual que Hollenberg varios autores han registrado morfologías similares al Morfo 2 como *Hapalospongidion gelatinosum* (León-Álvarez, 1996; Buchanan, 2005). Sin embargo aunque ellos muestran ilustraciones o imágenes de los filamentos postígenos surgiendo en ángulo agudo con respecto a los primigenios, no consideraron importante esta característica, discutiendo que las diferencias morfológicas observadas hacen parte de la alta plasticidad fenotípica de ésta especie.

La especie *Hapalospongidion durvilleae* no se tuvo en cuenta para el análisis morfológico comparativo porque fue descrita como especie parásita de una especie de *Durvillea* Bory de Saint-Vincent, con rizoides como sistema de penetración en su hospedero, lo cual no fue observado en ninguno de los morfos descritos. Las especies *H. thirumullavaramenses* y *H. van-bosseae* se diferencian de los especímenes estudiados, porque presentan muchas capas de filamentos primigenios (9-12 y 9 células, respectivamente), lo cual no se observó en ninguna de las muestras caracterizadas. Así mismo, en la descripción original de las especies *Mesospora negrosensis* y *H. saxigenum* no se hace referencia a la variación en el largo y diámetro de las células a lo largo del filamento postígeno, y por tal razón no se pudieron comparar con los Morfos 1 y 2.

Con la finalidad de caracterizar, comparar y relacionar la morfología de las costras pardas gelatinosas depositadas en el Herbario Sección de Algas de la Facultad de Ciencias, UNAM (FCME), se realizó el análisis morfológico de UPGMA con los todos los especímenes distribuidos a través del PTM (Apéndice 16). A partir de éste análisis se determinó que los ejemplares registrados con número de PTM 3562, 2849, 2850, 3253, 3256, 3233, 3271, 2818, 3240, 3303, 3272, 3293, 8983, 3989 y 4046 colectados en las

localidades de El Tizate (Nayarit), Las Rosadas (Jalisco), Caletas de Campos (Michoacán) y Puerto Escondido (Guerrero), presentan una morfología similar al Morfo 2. Ninguno de los especímenes de herbario presentó características del Morfo 1, a pesar que se tuvieron en cuenta más ejemplares provenientes de Puerto Escondido (Guerrero), siendo esta una de las localidades donde se encontró el Morfo 1.

El número y la forma del cloroplasto junto con la presencia/ausencia de pirenoides, han sido considerados como caracteres diagnósticos para inferir relaciones filogenéticas en las algas pardas (Kawai, 1991; Silberfeld *et al.*, 2011). De acuerdo con Nakamura (1972), el Orden Ralfsiales se caracteriza por la presencia de un solo cloroplasto parietal y la ausencia de pirenoide. Tanaka & Chihara (1982) aceptaron el Orden Ralfsiales, pero no consideraron éstos caracteres como criterio para relacionar las familias de este orden. En este trabajo el número y la forma del cloroplasto así como la presencia/ausencia de pirenoides fueron caracteres que se intentaron determinar sin éxito, pese a que se implementaron técnicas de tinción y diferentes tipos de iluminación, estos caracteres no se lograron observar con certeza. La observación con microscopio de luz no tiene el suficiente poder de resolución en muestras fijadas y por lo tanto podría conllevar a errores de interpretación, como la confusión entre fisodes y plastidios (León-Álvarez, 1996; Rull Lluç, 2002). Para poder determinar el número de cloroplastos y la presencia/ausencia de pirenoides, y su relación filogenética, se debe utilizar la microscopía electrónica de transmisión que permita identificar certeramente la composición ultraestructural de los organelos celulares. Aún así, los resultados obtenidos no serían comparables, dado que ninguno de los autores mencionados anteriormente ha utilizado éstas técnicas de microscopía.

Tabla 7. Comparación morfológica de los Morfo 1 y 2 con especies gelatinosas ya descritas

	Morfo 1	Morfo 2	<i>Hapalospongidion gelatinosum</i> (Saunders, 1899)	<i>Mesopora schmidtii</i> (Weber-van Bosse, 1911)	<i>Basispora africana</i> (John & Lawson, 1974)	<i>Hapalospongidion gelatinosum</i> (Holleberg, 1942)	<i>Hapalospongidion pangoensis</i> (Setchell) Hollenberg, 1942)	<i>Hapalospongidion capitatum</i> (Womersley, 1987)	<i>Mesopora elongata</i> (Poong et al., 2013)
<b>1.GROSOR*</b>	200-380 (-160) µm	300-920 (1100) µm	250-750 µm	-	-	Hasta 750µm	18-225 µm	500 - 700 µm	-
<b>2.NUMCAPFILPRI</b>	2-3	2-4	2	1-4	3 o más	2	2-3	2-3	-
<b>3.FORMCELFILPRI</b>	Irregulares	Irregulares	-	-	-	-	-	-	-
<b>4.LARCELFILPRI</b>	6-17 (-20) µm	10-30 (-5) µm	-	-	-	-	7.2-22 µm	-	-
<b>5.DIACELFILPRI</b>	3-7 µm	4-10 µm	-	-	-	-	5-10 µm	-	-
<b>6.NUMCELFILPOS*</b>	20-51	17-53 (72)	-	10-19	Hasta 40	-	15-20	40-60	11-29
<b>7.LARFILPOST</b>	175-330 µm	275-910 (1050) µm	-	-	-	-	-	-	-
<b>8.FORFILPOST</b>	Rectos	Curvos	-	-	-	-	-	-	-
<b>9.DISPOFILPOS*</b>	Ángulo transversal	Ángulo agudo	Ángulo transversal	Ángulo transversal	Ángulo agudo	Ángulo agudo	-	Ángulo transversal	Ángulo transversal
<b>10.UNIONFILAM</b>	Sí	No	-	-	-	-	-	-	-
<b>11.NUMCELUNID</b>	0-6 (-10)	0	-	-	-	-	-	-	-
<b>12.ORDENRAMIF</b>	Ramificación basal	No ramifica	No ramifica	No ramifica	-	-	-	No ramifica	No ramifica
<b>13.FORCELBAS</b>	Doliformes	Cilíndricas	-	-	-	-	-	-	-
<b>14.LARCELBAS*</b>	6-8 (-10) µm	15-35 (-10) µm	8-10 µm	7.2-14.8 (-17.7) µm	-	-	9-18 µm	10-18 µm	6.3-15.9 (-23.7) µm
<b>15.DIACELBAS*</b>	5-8 µm	5-10 µm	4-5 µm	2.8-6.8 (-10) µm	2.5-5 µm	4-5 µm	6-8.7 µm	4-6 µm	2.5-6.0 (-9.2) µm
<b>16.FORCEL CERAPI</b>	Doliformes	Cilíndricas	-	-	-	-	-	-	-
<b>17.LARCEL CERAP*</b>	5-9 µm	(-3) 6-10 (17) µm	3.5-5 µm	-	-	-	10-15 µm	10-24 µm	-
<b>18.DIACEL CERAPI*</b>	4-7 µm	6-10 (12) µm	7-10 µm	-	8-11 µm	7-10 µm	7-11 µm	3-4 µm	-
<b>19.FORCELAPI</b>	Irregulares	Irregulares	-	-	-	-	-	-	-
<b>20.LARCELAPI*</b>	6-14 µm	7-15 (-20) µm	-	5.7 - 10.7 (13.2) µm	-	-	-	-	5.8-10.7 (17.1) µm
<b>21.DIACELAPI*</b>	4-8 µm	7-12 (-14) µm	-	4.3-8.8 (11.2) µm	-	-	-	10-12 µm	3.4 -7.9 (13.2) µm
<b>22.DIAMFILPOS*</b>	Constante	Aumenta hacia el ápice	Aumenta hacia el ápice	Aumenta hacia el ápice	-	Aumenta hacia el ápice	Aumenta hacia el ápice	Aumenta hacia el ápice	Aumenta hacia el ápice
<b>23.LARCELFILPOS*</b>	Aumenta de la base al ápice	Disminuye, en algunos casos la célula apical es más larga	Disminuye	Disminuye	-	-	Disminuye	Disminuye	Disminuye

1. GROSOR: Grosor del talo. 2. NUMCAPFILPRI: Número de capas del filamento primigenio. 3. FORMCELFILPRI: Forma de las células de los filamentos primigenios. 4. LARCELFILPRI: Largo de las células del filamento primigenio. 5. DIACELFILPRI: Diámetro de las células del filamento primigenio. 6. NUMCELFILPOS: Número de células del filamento postígeno. 7. LARFILPOST: Largo del filamento postígeno. 8. FORFILPOST: Forma de los filamentos postígenos. 9. DISPOFILPOS: Disposición de los filamentos postígenos. 10. UNIONFILAM: Unión de los filamentos postígenos. 11. NUMCELUNID: Número de células unidas entre sí. 12. ORDENRAMIF: Orden de ramificación. 13. FORCELBAS: Forma de las células basales. 14. LARCELBAS: Largo de las células basales. 15. DIACELBAS: Diámetro de las células basales. 16. FORCEL CERAPI: Forma de las células cercanas al ápice. 17. LARCEL CERAPI: Largo de las células cercanas al ápice. 18. DIACEL CERAPI: Diámetro de las células cercanas al ápice. 19. FORCELAPI: Forma de las células apicales. 20. LARCELAPI: Largo de las células apicales. 21. DIACELAPI: Diámetro de las células apicales. 22. DIAMFILPOS: Diámetro de los filamentos postígenos. 23. LARCELFILPOST: Largo de las células del filamento postígeno.

\*Los colores representan los caracteres de importancia taxonómica para distinguir entre especies.

## 8.2 Divergencia nucleotídica

Los valores de divergencia intergenéricos e intragenéricos obtenidos con matriz *rbcL\_1* y *Cox1* fueron comparables con los valores registrados por otros autores en estudios realizados dentro del Orden Ralfsiales (León-Álvarez *et al*, 2014a; León-Álvarez *et al*, 2014b; Poong *et al*, 2013; Poong *et al*, 2014). Sin embargo los valores de divergencia intergenéricos e intragenéricos obtenidos con matriz *rbcL\_2* variaron considerablemente con respecto a los estudios previos.

Poong *et al.*, (2013) registraron valores de divergencia interespecífica del gen *rbcL* de 7.74% y 8.66% para *Mesospora schmidtii* y *M. elongata*. Estos valores de divergencia son altos comparado con los valores de divergencia interespecífica entre *N. expansa* y *N. hancockii* que oscilaron entre 3.7 y 5.4% y el valor de divergencia interespecífica de *Ralfsia fungiformis* y *R. verrucosa* que fue de 4.9%. Del mismo modo la divergencia intergenérica entre *R. fungiformis* y *Analipus japonicus* es menor (5.8 y 6.1%) a la divergencia interespecífica registrada para las especies del género *Mesospora*. Los valores de divergencia interespecífica del Morfo 1 y Morfo 2 oscilaron entre 12.6 y 13.3%, lo cual es un porcentaje alto comparado con la divergencia interespecífica de *Mesospora* registrada por Poong *et al* (2013) y los valores de divergencia de la matriz *rbcL\_2* (9.7 y 11.1%) para este mismo género.

De acuerdo con Poong *et al.*, (2013) la divergencia intraespecífica en *Mesospora schmidtii* osciló entre 0.45 y 1.42% y en *M. elongata* no hubo divergencia (0%). Las especie *N. hancockii* al igual que la especie *M. elongata* no presentó divergencia intraespecífica y la especie *N. expansa* (México) divergió intraespecíficamente entre 1.2 y 2.9%. La divergencia de *R. fungiformis* fue de 0.6%. Los valores de divergencia intraespecífica del Morfo 1 oscilaron entre 0.1 y 0.8% y en el Morfo 2 entre 0 y 1.7 %, lo cual evidencia mayor divergencia en el Morfo 2, siendo comparable con la registrada para la especie *M. schmidtii* (0.45 y 1.42%).

Al comparar la divergencia nucleotídica interespecífica de los Morfos 1 y 2 con especies representantes del Orden Ishigeales<sup>2</sup> G. Y. Cho & Boo (2004), se observa que la divergencia entre *Ishige okamurae* Yendo y *I. sinicola* (Setchell & N.L.Gardner) Chihara, osciló entre 6.77 y 7.10%, siendo éste valor menor al observado entre el Morfo 1 y el Morfo 2 (12.6 y 13.3%).

---

<sup>2</sup> Orden establecido bajo parámetros moleculares, separado del Orden Ectocarpales.

Respecto a la divergencia nucleotídica intraespecífica en *I. okamurae* (0.51%) e *I. sinicola* (0.15%), son menores a las observadas en los Morfo 1 y 2 (0.8 y 1.7%, respectivamente).

El análisis de divergencia para el gen *Cox1* se vio limitado por el escaso número de secuencias disponibles en el GenBank para este gen. Respecto a la divergencia interespecífica observada entre *Mesospora schmidtii* y *M. elongata* los valores oscilaron entre 19.5 y 21.6%. Entre el Morfo 1 y el Morfo 2 estos valores oscilaron entre 22.1 y 22.3%. Sin embargo la divergencia intergenérica entre *Ralfsia fungiformis* y *Analipus japonicus* (20%) es menor a la divergencia interespecífica de las especies de *Mesospora* y los Morfos 1 y 2. La divergencia intraespecífica observada en *M. elongata* (0 y 0.3%) fue comparable a la divergencia intraespecífica del Morfo 1 (0 y 0.16%), pero la divergencia observada en *M. schmidtii* (7.1 y 12.9%) fue más alta que la observada en el Morfo 2 (0.6 y 2.9%).

### 8.3. Análisis filogenéticos

Las matrices del gen *rbcL* y *Cox1* fueron analizadas por tres métodos (MP, MV, IB) con fundamentos distintos (Holder & Lewis, 2003), con el fin de comparar las hipótesis filogenéticas moleculares de cada uno de ellos y relacionar los tres resultados obtenidos. Las topologías obtenidas en cada uno de los tres análisis fueron idénticas, lo cual dio robustez a los resultados.

Aunque la matriz *rbcL\_2* estuvo conformada por secuencias más cortas que representaba sólo el 50% del gen, el número de árboles más parsimoniosos (864 árboles), el porcentaje de caracteres informativos para parsimonia (31.0%) y el Índice de Consistencia (0.433), fueron similares a los datos obtenidos en la matriz completa de *rbcL\_1* (1389 árboles, 29.8% de caracteres informativos para parsimonia y IC=0.452). Por lo tanto, se puede considerar que la información que brindó la topología obtenida con esta matriz, a pesar de su tamaño, es válida y robusta (Figura 8).

Diferentes autores han señalado que las hipótesis filogenéticas generadas a partir de secuencias de *rbcL* brindan suficiente información a nivel supragenérico y específico, por lo cual este gen ha sido utilizado con éxito para inferir relaciones filogenéticas en las algas pardas a diferentes niveles taxonómicos (Draisma *et al.*, 2001; Lim *et al.*, 2007; Poong *et al.*, 2013 y 2014). En el presente trabajo, las ramas internas que sostienen los principales clados

monofiléticos en el cladograma obtenido a partir del gen *rbcL* (Figura 7 y 8), presentaron valores de bootstrap bajos para los análisis de Máxima Parsimonia y Máxima Verosimilitud (entre 50 y 89). Se puede inferir que esto se debe al escaso muestreo y/o alto grado de homoplasia entre las especies del Orden Ralfsiales. Lo primero hace referencia al limitado conocimiento que se tiene de este grupo y lo segundo se infiere de los resultados obtenidos a partir del Índice de Correlación (IC) e Índice de Retención (IR) en el análisis de parsimonia. El Índice de Consistencia permite estimar la cantidad de sinapomorfía y el grado de homoplasia en el cladograma. Los valores de IC para la matriz *rbcL\_1* y *rbcL\_2* fueron 0.4528 y 0.4329, respectivamente. Valores iguales a 1 indican ausencia de homoplasia (Morrone J., 2014), pero como se observa en los resultados obtenidos éstos valores estuvieron alrededor de 0.5, evidenciando un grado medio de homoplasia. El Índice de Retención cuantifica la homoplasia observada en un carácter en función de la homoplasia posible. Los valores obtenidos en las matrices *rbcL\_1* y *rbcL\_2* fueron de 0.7991 y 0.8191, respectivamente. Se considera que los valores altos (1) en el IR indican que los cambios ocurren predominantemente en los nodos internos y los valores bajos (0) se dan cuando los cambios están concentrados en ramas pertenecientes a taxa terminales (Agudelo Molina *et al.*, 2011). Teniendo en cuenta lo anterior, se puede decir que las especies del Orden Ralfsiales presentan una cantidad significativa de homoplasias y esto puede verse reflejado en la convergencia adaptativa a ambientes similares de las especies costrosas (León-Álvarez, 1996). La dificultad para establecer una hipótesis filogenética robusta es un problema que ha sido evidenciado al interior de las feofitas y que se conoce con el nombre de “Brown algal crown radiation”, donde las relaciones filogenéticas de varias ramas internas aún no ha sido resuelta del todo, debido a su acelerada cladogénesis (Silberfeld *et al.*, 2010) y/o ausencia de información.

A pesar de lo anteriormente mencionado la hipótesis filogenética que proporcionó el gen *rbcL* al interior del Orden Ralfsiales, mostró una clara resolución para los especímenes de este estudio, los cuales se reunieron en un clado independiente bien soportado (Clado III) (Figura 7 y 8). Este análisis permitió además reconocer tres grandes grupos monofiléticos correspondientes a las familias Mesosporaceae (Clado I), Neoralfsiaceae (Clado II) y Ralfsiaceae (Clado IV), en clados separados y soportados por valores de bootstrap y probabilidad posterior altos. El nivel de divergencia entre el Clado III (que reunió a las costras gelatinosas) y los clados de las familias ya descritas fue equivalente, por lo cual se puede considerar como un taxón independiente a nivel de familia, en cuyo caso correspondería a una nueva familia aún no descrita.

El análisis molecular para el gen *Cox1* estuvo restringido por la carencia de secuencias disponibles en la base de datos de GenBank. Debido a esto sólo se tuvieron representantes de las familias Mesosporaceae y Ralfsiaceae, pero al igual que en el análisis del gen *rbcL*, en las topologías resultantes con los tres análisis (MP, MV, IB) se pudo observar la agrupación de los especímenes estudiados en un clado bien soportado (Figura 9). La variabilidad genética de este gen ha permitido su utilización como marcador molecular para el código de barras, lo cual permite la identificación a nivel de especie (Hebert *et al.*, 2003; Poong *et. al.*, 2014). La alta divergencia nucleotídica interespecífica del gen *Cox1* (22%) presente entre el Morfo 1 y Morfo 2, permite establecer que son géneros monoespecíficos diferentes dentro de una nueva familia. La información brindada en los análisis de genes concatenados (*rbcL-Cox1*), proporcionó mejores resultados en cuanto a los valores de bootstrap y probabilidad posterior para las demás familias (Figura 10 y 11), lo cual robustece los resultados obtenidos con los genes por separado.

La caracterización morfológica también respaldó la hipótesis filogenética molecular y permitió diferenciar y separar las especies de este grupo de las demás especies gelatinosas (Tabla 7). La presencia de filamentos postígenos libres surgiendo en ángulo agudo o transversal a partir de los filamentos primigenios, es una característica que diferencia a la nueva familia propuesta de la familia Mesosporaceae, la cual presentan filamentos postígenos libres surgiendo en ángulo trasversal. Por otro lado los filamentos postígenos de las familias Ralfsiaceae y Neoralfsiaceae surgen en ángulo agudo a partir de los primigenios y se encuentran unidos formando un pseudoparénquima (no libres). Información sobre la historia de vida y el contenido ultraestructural de la célula, podría brindar información valiosa para conocer mejor y diferenciar con más caracteres la nueva familia propuesta de las demás familias del Orden.

A partir de lo anteriormente discutido se puede afirmar que las costras pardas gelatinosas del Pacífico Tropical Mexicano comparten caracteres morfológicos con las familias del Orden Ralfsiales, pero molecularmente se encuentran en un taxón independiente. Este grupo a su vez está conformado por dos géneros monoespecíficos diferenciados morfológicamente.

## 9. CONCLUSIONES

- ✓ De acuerdo a la evidencia morfológica y molecular obtenida en el presente trabajo, las algas costrosas pardas gelatinosas distribuidas en el Pacífico tropical mexicano son monofiléticas. Los valores de divergencia nucleotídica, bootstrap y probabilidad posterior, obtenidos en los análisis de Máxima Parsimonia, Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana, son robustos, lo que permite inferir que este clado corresponde a un taxón independiente a nivel de familia.
- ✓ El grupo monofilético de las costras pardas presenta dos morfologías distinguibles (Morfo 1 y Morfo2), que corresponden a dos géneros monoespecíficos dentro de la nueva familia.
- ✓ Las diferencias morfológicas entre el Morfo 1 y el Morfo 2 están basadas principalmente en tres caracteres morfológicos: grosor del talo, ángulo de surgimiento de los filamentos postígenos a partir de los filamentos primigenios (agudo o recto), y longitud/diámetro de las células a lo largo del filamento postígeno (constante, aumenta o disminuye).

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agudelo Molina, M. T., Valcárcer Nuñez, V., Draper, I. (2011). Métodos y técnicas para el estudio de la filogenia. Curso. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. 113 pp.
- Børghesen, F. (1924). Marine algae from Easter Island. In: The natural history of Juan Fernandez and Easter Island (Ed. by C. Skottsberg). Almqvist & Wiksells, Uppsala vol. 2, pp. 247–309.
- Buchanan, J. (2005). The Crustose Brown Algae of New Zealand: a taxonomic study. Master thesis, Victoria University of Wellington. New Zealand.
- Chihara, M. (1969). *Pseudogloiophloea okamurai* (Setchell) comb. nov. and *Ishige sinicola* (Setchell et Gardner) comb. nov. Bulletin of the Japanese Society for Phycology 17: 1-4.
- Cho, G. Y., Lee, S. H. & Boo, S. M. (2004). A new brown algal order, Ishigeales (Phaeophyceae), established on the basis of plastid protein-coding *rbcL*, *psaA*, and *psbA* region comparisons. Journal of Phycology 40: 921–36.
- Dethier, M. N. (1994). The ecology of intertidal algal crusts: variation within a functional group. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 177: 37–71.
- Dethier, M. N. & Steneck, R. S. (2001). Growth and persistence of diverse intertidal crusts: survival of the slow in a fast paced world. Marine Ecology Progress Series 223: 89–100.
- Draisma, S.G.A., Prud'homme, van Reine W.F., Stam, W.T., & Olsen, J.L. (2001). A reassessment of phylogenetic relationships within the Phaeophyceae based on Rubisco large subunit and ribosomal DNA sequences. Journal of Phycology 37: 586–603.
- Feldmann, J. (1937). Les algues marines de la côte des Albères. I–III Cyanophycées, Chlorophycées, Phéophycées. Revue Algologique 9: 141–335.
- Felsenstein, J. (1985). Phylogenies and the comparative method. American Naturalist 125:1-15.

Gabrielson P. W., Scagel R. F. & Widdowson T. B. (1989). Keys to the benthic marine algae and seagrasses of British Columbia, Southeast Alaska, Washington and Oregon. *Phycological Contribution* 4:45-57

Hall, T.A. (1999). BioEdit a user\_friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41:95-98.

Hartog, C. D. (1968). The littoral environment of rocky shores as a border between the sea and the land and between the seas and the fresh water. *Blumea* 16: 375-393.

Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. & Dewaard, J.R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B—Biological Sciences*, 270: 313–321.

Holder, M., & Lewis P. O. (2003). Phylogeny estimation: Traditional and Bayesian approaches. *Nature Reviews Genetics* 4:275–284.

Hollenberg, G. J. (1942). Phycological notes. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 69 (7): 528–538.

Huelsenbeck, J.P. & Ronquist, F. (2001). Mr. Bayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. Department of Biology, University of Rochester, Rochester, NY.

John, D.M. & Lawson, G.W. (1974). *Basispora*, a new genus of the Ralfsiaceae. *British Phycological Journal* 9: 285–290.

Kazutaka, K. & Daron, M. S. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30: 772-780.

Kawai, H. (1991). A perspective on the phylogeny of the Phaeophyceae. *Japanese Journal of Phycology* 39:401.

Kawai, H. & Sasaki, H. (2004). Morphology, life history, and molecular phylogeny of *Stschapovia flagellaris* (Tilopteridales, Phaeophyceae) and the erection of the family Stschapoviaceae fam. nov. *Journal of Phycology* 40: 1156–69.

Kogame, K., T. Horiguchi, T. & M. Masuda. (1999). Phylogeny of the order Scytosiphonales (Phaeophyceae) based on DNA sequences of *rbcL*, partial *rbcS*, and partial LSU nrDNA. *Phycologia* 38: 496–502.

Kucera, H. K. & Saunders, G. W. (2008). Assigning morphological variants of *Fucus* (Fucales, Phaeophyceae) in Canadian waters to recognized species using DNA barcoding. *Botany* 86: 1065–79.

Lane, C. E., Lindstrom, S. C. & Saunders, G. W. (2007). A molecular assessment of northeast Pacific *Alaria* species (Laminariales, Paeophyceae) with reference to the utility of DNA barcoding. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 634–648.

Lee, Robert Edward. (2008). *Phycology*. Cambridge University Press Cambridge, New York. 427 pp.

León-Álvarez, D. (1996). Feofitas costrosas del Pacífico tropical mexicano: contribución a la flora tónica de macroalgas de la región. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 87-103 pp.

León-Álvarez, D. & González-González, J. (1993). Algas costrosas del Pacifico Tropical. En: Salazar-Vallejo, S. I. y González, N. E. (eds.) *Biodiversidad Marina y Costera de México*. Com. Nal. Biodiversidad y CIQRO, México. 456–474 pp.

León-Álvarez, D. & González-González J. (1995). Characterization on the enviromental distribution and morphs of *Ralfsia hancockii* Dawson (Phaeophyta) in the Mexican Tropical Pacific. *Botánica Marina*, vol. 38: 359-367.

León-Álvarez, D. & González-González, J. (2003). The morphological distinction of *Ralfsia expansa* and *R. hancockii* (Ralfsiaceae, Phaeophyta) from Mexico. *Phycologia*, 42(6): 613-621.

León-Álvarez, D. & Norris, J. N. (2005). Terminology and position of reproductive structures in crustose brown algae: Misapplication, confusion and clarification. *Cryptogamie, Algologie* 26 (1): 91-102.

León-Alvarez, D., Nunez-Resendiz, M.L., & Ponce-Márquez, M.E. (2014a). Morphological and molecular characterization of *Neoralfsia hancockii* comb. nov. (Ralfsiales, Phaeophyceae) from toptype of San José del Cabo, Baja California, Mexico. *Botanica Marina* 57(2): 139-146.

León-Alvarez, D., Nunez-Resendiz, M. L & Michael J. Wynne (2014b). Morphological and molecular studies on toptype material of *Neoralfsia expansa* (Phaeophyceae) reveal that Asian specimens assigned to this taxon are genetically distinct. *Botanica Marina* 57 (5): 1-8.

Lim P-E., Sakaguci, M., Hayunda T., Kogame, K., Phang S.M & Kawai, H. (2007). Molecular phylogeny of crustose brown seaweeds (Ralfsiales, Phaeophyceae) inferred from *rbcL* sequences resulting in proposal for Neoralfsiaceae fam.nov. *Phycologia* 46(4): 456-466.

Lindauer, V.W. (1949). Notes on the marine algae of New Zealand. *Pacific Science* 3: 246–248.

Lund, S. (1966) On a sporangia-bearing microthallus of *Scytosiphon lomentaria* from nature. *Phycologia* 6: 67-78.

McDevit, D. C. & Saunders, G. W. (2009). On the utility of DNA barcoding for species differentiation among brown macroalgae (Phaeophyceae) including a novel extraction protocol. *Phycological Research* 57: 131 - 141.

McLachlan, J., Chen, L. C. M. and Edelstein, T. (1971) The life history of *Microspongium* sp. *Phycologia* 10: 83-87.

Morrone J. J, Sistemática: fundamentos, métodos, aplicaciones. Facultad de Ciencias.

Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 505pp.

Nakamura, Y. (1972). A proposal on the classification of the Phaeophyta. In: Abbott, I. A. & Kurogi, M. Contributions to the systematics of benthic marine algae of the North Pacific. Japanese Society of Phycology, Kobe, Japan. Pp. 147–155.

Nelson, W.A. (1982). A critical review of the order Ralfsiales, Ralfsiaceae and the taxonomic position of *Analipus japonicas* (Harv.) Wynne (Phaeophyta). British Phycological Journal 17: 311-320.

Nixon, K. C. (2002). WinClada ver. 1.00.08 Published by the author, Ithaca, NY, USA.

Núñez-Reséndiz M.L. (2012). Caracterización taxonómica de *Ralfsia expansa* y *R. hancockii* (Ralfsiaceae, Phaeophyta) basada en evidencias morfológicas y moleculares. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM. México. 60 pp.

Pedroche, F.F., P.C. Silva, L. Aguilar-Rosas, K. Dreckmann & R. Aguilar-Rosas (2008). Catálogo de las algas marinas bentónicas del Pacífico de México. II. Phaeophycota. Universidad Metropolitana. Unidad Iztapalapa. Universidad Autónoma de Baja California. University of California, Berkeley. 146 pp.

Phillips, N.; R. Burrowes; F. Rousseau; B. de Reviere; & G. W. Saunders (2008). Resolving evolutionary relationships among the brown algae using chloroplast and nuclear genes. Journal of Phycology. 44(2): 394–405.

Poong, S.W., Lim, P.-E., Phang, S.-M., Gerung, G.S. & Kawai, H. (2013). *Mesospora elongata* sp. nov. (Ralfsiales, Phaeophyceae), a new crustose brown algal species from the Indo-Pacific Region. Phycologia 52(1): 74-81.

Poong, S.W, Lim, P.-E., Phang, S.-M., West, J. A. & Kawai, H (2014). A molecular-assisted floristic survey of crustose brown algae (Phaeophyceae) from Malaysia and Lombok Island,

Indonesia based on *rbcL* and partial *Cox1* genes. *Journal of Applied Phycology*. Vol. 26 Issue 2, 1231-1242.

Posada, D. & Crandall, K.A. (1998). Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*. 14: 817-818.

Rull Lluç, J. (2002). Marine benthic algae of Namibia. *Scientia Marina* 66:5–256.

Saunders, De A. (1899). New or little-known brown algae of the Pacific coast. *Erythea* 7: 37-40.

Saunders, G. W. (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.

Sasaki, H., Flores-Moya, A., Henry E.C., Müller, D.G., Kawai, H. (2001). Molecular phylogeny of Phyllariaceae, Halosiphonaceae and Tilopteridales (Phaeophyceae) *Phycologia* 40: 123-134.

Setchell, W.A. (1924). American Samoa: Part I. Vegetation of Tutuila Island. Part II. Ethnobotany of the Samoans. Part III. Vegetation of Rose Atoll. *Publications of the Carnegie Institution of Washington* 341: 275 pp.

Setchell, W. A. & Gardner, N. L. (1924). Expedition of the California Academy of Sciences to the Gulf of California in 1921. The marine algae. *Proceedings of the California Academy of Sciences Series 4* (12): 695–949.

Siemer, B. L., Stam, W. T., Olsen, J. L. & Pedersen, P. M. (1998). Phylogenetic relationships of the brown algal orders Ectocarpales, Chordariales, Dictyosiphonales, and Tilopteridales (Phaeophyceae) ased on rubisco large subunit and spacer sequences. *Journal of Phycology*. 34: 1038–48.

Silberfeld T., Leigh JW., Verbruggen H., Cruaud C., De Reviers B., Rousseau F. (2010). A multi-locus time-calibrated phylogeny of the brown algae (Heterokonta, Ochrophyta, Phaeophyceae):

Investigating the evolutionary nature of the “brown algal crown radiation”. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 56: 659–674.

Silberfeld T., Racault MFLP., Fletcher R.L, Couloux A., Rousseau F., De Reviers B. (2011). Systematics and evolutionary history of pyrenoid-bearing taxa in brown algae (Phaeophyceae). *European Journal of Phycology* 46: (4) 361-377.

Silberfeld, T., Rousseau, F. & Reviers, B. de (2014). An updated classification of brown algae (Ochrophyta, Phaeophyceae). *Cryptogamie Algologie* 35(2): 117-156.

Sophiammal Nettar, P. & Panikkar, M.V.N. (2009). Two new brown algal species from the family Ralfsiaceae (Ectocarpales, Phaeophyceae) from Kerala, India. *Seaweed Research and Utilization* 31(1 & 2): 7-10.

South, G.R. (1974). *Herpodiscus* gen. nov. and *Herpodiscus durvilleae* (Lindauer) comb. nov., a parasite of *Durvillea antarctica* (Chamisso) Hariot endemic to New Zealand. *Journal of the Royal Society of New Zealand* 4: 455-461.

Stamatakis A., Aberer A.J., Goll C., Smith S.A., Berger S.A. & Izquierdo-Carrasco, F. (2012). RAxML-Light: A Tool for computing TeraByte Phylogenies. *Bioinformatics*, 28(15):2064-2066.

Swofford, D .2003. PAUP\*. Phylogenetic analysis using parsimony (\*and other methods), version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Tan, I. & Druehl, L.D. (1993). Phylogeny of the north east Pacific brown algal (Phaeophyceae) orders as inferred from 18S rRNA gene sequences. *Hydrobiologia* 260-261: 699-704.

Tan, I. & Druehl, L.D. (1994) A molecular analysis of *Analipus* and *Ralfsia* (Phaeophyceae) suggest the Order Ectocarpales is polyphyletic. *Journal of Phycology* 30: 721-729.

Tanaka, J. & Chihara, M. (1982). Morphology and taxonomy of *Mesospora schmidtii* Weber van Bosse, Mesosporaceae fam. nov. (Ralfsiales, Phaeophyceae). *Phycologia* 21: 382-389.

Weber-Van Bosse, A. (1911). Notice sur quelques genres nouveaux d'algues de l'Archipel Malasien. *Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg* 24: 25–33.

West, J.A. & Calumpong, H.P. (1996). *Mesospora negrosensis* sp. nov. (Phaeophyta) from the Philippines. *The Philippine Scientist* 33: 5-15.

Woelkerling, W. J. (1988). The coralline red algae: an analysis of the genera and subfamilies of non-geniculate Corallinaceae. British Museum (Natural History) and Oxford University Press, London and Oxford. 157 pp.

Womersley, H. B. S. (1987). The Marine Benthic Flora of Southern Australia. Part II. Adelaide: South Australian Government Printing Division. 484 pp.

Yendo, K. (1907). The Fuaceae of Japan. *Journal of the College of Science, Tokyo Imperial University* 21(12): 1-174

## 11. APÉNDICES

### Apéndice 1. Formato para la caracterización morfológica de las algas cosas pardas gelatinosas.

Características empleadas en la descripción de unidades morfológicas de feofitas costrosas del Pacífico Tropical Mexicano.

#. NUMDESCRIP \_\_\_\_\_  
#. NUMUESTRA \_\_\_\_\_ #. NUMANTERIO \_\_\_\_\_  
Referencia \_\_\_\_\_  
Localidad \_\_\_\_\_  
#. FECHAMUEST \_\_\_\_\_ Preparación# \_\_\_\_\_ Foto \_\_\_\_\_  
Ambiente general \_\_\_\_\_  
Ambiente particular \_\_\_\_\_  
#. GENERO \_\_\_\_\_ #. ESPECIE \_\_\_\_\_  
#. AUTORIDAD \_\_\_\_\_ #. AUTORDESCR (de la descripción)/  
#. <COLORHUMED>/ en húmedo/ \_\_\_\_\_  
#. <COLORSECO>/ en seco/ \_\_\_\_\_

Los caracteres en color **rojo** fueron invariables en los especímenes estudiados y en **negrita** se resalta el estado de carácter presente.

Los caracteres en color **azul** fueron variables en los especímenes estudiado y la codificación de la matriz utilizada para el análisis morfológico corresponde con la numeración de los estados de carácter.

Los caracteres en color **negro** no fueron observados en los especímenes estudiados.

#### FORMA DE MANIFESTACIÓN

Superficie del talo <FORMSUPERF>/

- 0. RU rugosa
- 1. LI lisa**
- 2. AF afelpada
- 3. AP aplanad
- 4. CO coriácea en apariencia
- 5. IR irregular

Textura (al ser restregada entre los dedos) <TEXTURA>

- 0. SU suave
- 1. AS áspera
- 2. GE gelatinosa**
- 3. RE resbalosa al restregarse entre los dedos

Adherencia al sustrato <ADHERENCIA>/

- 0. **TO total incluido el margen**
- 1. SC parcial sólo en el centro
- 2. SM parcial sólo en el margen

Consistencia (integridad de la costra) <CONSISTENC>

- 0. (MI) Se mantiene íntegra al ser desprendida del sustrato y restregarse entre los dedos
- 1. (DE) Se desintegra al ser desprendida del sustrato
- 2. **(PE) Se separa en pedazos al ser desprendida del sustrato pero se desintegra al restregarse entre los dedos**

Forma de los lóbulos <LOBULOFORM>

- 0. PL sin lobulaciones <planas>
- 1. **LS lóbulos someros**
- 2. LM lóbulos muy marcados
- 3. LT lóbulos traslapados

Presencia de líneas de crecimiento (en vista superficial) <PRESLINCRE >

- 1. Sí líneas de crecimiento evidentes
- 2. **No presenta líneas de crecimiento evidente**

## **FORMA DE ORGANIZACION DEL TALLO**

### Caracteres vegetativos

- 1. Grosor de la parte vegetativa del tallo <GROSOR: rango>
  - 1. \_\_\_\_\_ um de grosor
  - 0 = 1-400 um
  - 1 = 401-550 um
  - 2 = 551-700 um
  - 3 = 701- < um
  
- 2. Pelos hialinos <presencia y agrupamiento: <PRESPELHIA>
  - 0. S presentes
  - 1. N ausentes

Agrupamiento de los pelos hialinos <AGRUPAMIEN>

- 0. SO solos
- 1. **GR en grupos**

Distribución de pelos hialinos <DISTRPELHI>

- 0. TT distribuidos por todo el tallo
- 1. PT restringidos a ciertas partes del tallo
- 2. HE en hendiduras <pozos>
- 3. NH no en hendiduras
- 4. **IR irregularmente distribuidos en el tallo**

Origen y posición de los pelos hialinos <POSPELHIAL>

0. PB surgiendo de los filamentos primigenios
- 1. PM originándose a medio grosor del talo <de los filamentos postígenos>**
2. PA originándose en la superficie del talo <del ápice de los filamentos postígenos>

Rizoides <presencia: PRESRIZOID>

0. S presentes
- 1. N ausentes**

En un corte longitudinal-radial los filamentos se disponen en simetría<SIMETRIA>

- 0. UN unilateral (filamentos primigenios en posición ventral y dispuestos paralelamente al sustrato, filamentos postígenos hacia la posición dorsal)**
1. BI bilateral (filamentos primigenios en el eje de simetría de los filamentos postígenos que están dispuestos dorsoventralmente)
2. BP bilateral con poco desarrollo ventral.

## **FILAMENTOS POSTÍGENOS**

Filamentos postígenos vegetativos <GELFILPOST>

- 0. EG envueltos en una matriz gelatinosa**
1. NG no envueltos en una matriz gelatinosa

3. Disposición de los filamentos postígenos <DISPOFILPOS>

0. AG surgiendo en ángulos agudos respecto a los primigenios
1. TR surgiendo transversalmente respecto a los primigenios

4. Forma <FORFILPOST>

0. RE rectos.
1. CU curvos.
2. TO tortuosos.
3. CR crespos.

5. Largo de los filamentos postígenos <LARFILPOST>

1. \_\_\_\_\_ um de largo
- 0 = 1-380 um
- 1 = 381-530 um
- 2 = 531-680 um
- 3 = 681-880 um

- 6.** Uniformidad en el diámetro de los filamentos postígenos  
<DIAMFILPOS>
0. DA disminuye hacia el ápice
  1. UT es uniforme en toda su longitud
  2. AA aumenta hacia el ápice
- 7.** Uniformidad en el largo de las células de los filamentos postígenos <LARCELFILPOST>
0. Disminuye de base al ápice
  1. Aumenta o se mantiene constante de la base al ápice
- 8.** Unión filamentos postígenos <UNIONFILAM>
0. SB unidos entre si sólo en la parte basal del talo
  1. SA unidos entre si sólo en la base y en los ápices
  2. LJ laxamente unidos entre si en toda su longitud
  3. EJ estrechamente unidos en toda su longitud
- 9.** Número de células que se adhieren entre los filamentos  
<NUMCELUNID>
1. \_\_\_\_\_ células
  - 0=0
  - 1=1
  - 2=2
  - 4=3
  - 5=4
- 10.** Número de las células <NUMCELFILPOS>
1. \_\_\_\_\_ células
  - 0= 1-10
  - 1= 11-20
  - 2= 21-30
  - 3=31-40
  - 4=41-50
  - 5=51-60
- 11.** Orden de ramificación <ORDENRAMIF>
0. No ramifica
  1. Uno
  2. Dos
  3. Tres o más
- 12.** Forma de las células en la parte basal de los filamentos postígenos  
<FORCELBAS>
0. BA doliformes <en forma de barril>/
  1. CI cilíndricas    2. IR irregulares en forma
  3. LA lanceoladas    1. CU cúbicas            4. EL elipsoidales
  5. FU fusiformes    6. SF subesféricas    7. MO moniliformes

Relación largo/diámetro de las células en la parte basal de los filamentos postígenos (dos-tres células por encima de los filamentos primigenios) <RELCELBAS>

Tamaño:

13. Largo (um)

14. Diámetro(um)

15. Largo/Diámetro


**Largo**

0= 1-10 um

1= 11-20 um

2= 21-30 um

3= 31- (...)

**Diámetro**

0= 5um

1= 6um

2= 7um

3= 8um

4= >8um

**R. L/D**

0= 1.0-2.0

1= 2.1-3.0

2= 3.1-4.0

16. Forma de las células cercanas al ápice de los filamentos postígenos <FORCELCERAPI>

0. BA doliiformes<en forma de barril>/

1. CI cilíndricas/ 2. IR irregulares en forma/

3. CU cúbicas/ 4. LA lanceoladas/

5. EL elipsoidales/ 6. FU fusiformes/

7. SF subsféricas/ 8. MO moniliformes/

Pared celular <GROSPARCEL>/

1. DE delgadas <menos de un tercio el diámetro de la célula>/

2. GR gruesas <igual o más de un tercio el diámetro de la célula>

Relación Largo/Diámetro células cercanas al ápice <RELCELCERAPI>

Tamaño:

17. Largo (um)

18. Diámetro (um)

19. Largo/Diámetro


**Largo**

0= 5-6 um

1= 7-8 um

2= 9-10 um

3= 11-12 um

4= >=13um

**Diámetro**

0= 6-7um

1= 8-9um

2= 10-11um

3= >=12um

**R. L/D**

0= 0.1-0.99

1= 1.0-1.29

2= 1.3-1.59

3= >=1.60

Forma de las células apicales <FORCELAPI>

1. BA doliformes <en forma de barril>

2. CU cúbicas

3. CI cilíndricas

4. LA lanceoladas

5. EL elipsoidales

6. FU fusiforme

7. SF subsféricas

8. GL Globosa

10. DO en forma de domo

11. IR irregulares en forma

Relación del largo/diámetro de las células apicales <RELCELAPI>

Tamaño:

20. Largo (um)

21. Diámetro (um)

22. Largo/Diámetro


**Largo**

0= <9um

1= 10-11um

2= 12-13um

3= >=14um

**Diámetro**

0= 5-6um

1= 9 um

2= 11um

**R. L/D**

0= 0.1-0.99

1= 1.0-1.29

2= 1.3-...

**FILAMENTOS PRIMIGENIOS**

23. Filamentos primigenios <CONSFILPRI>

0. CN en capas nítidas

1. NC no en capas evidentes

24. Número de capas de filamentos primigenios <NUMCAPFILPRI>

1. \_\_\_\_\_

0= 2

1=3

2=4

Forma de las células <FORMCELFILPRI>

0. CI cilíndricas

2. BA doliiformes

4. LA lanceoladas

1. IR irregulares en forma

3. CU cúbicas

5. EL elipsoidal

6. FU fusiforme

25. Relación largo/diámetro de las células <RELCELFILPRI>

Tamaño:

26. Largo (um)

27. Diámetro (um)

28. Largo/Diámetro


**Largo**

0= 4um

1= 5um

2= 6um

3= 7um

4= 8um

**Diámetro**

0= 8-11um

1= 12-14um

2= 15-17um

3= 18-20um

**R. L/D**

0= 0.2-0.4

1= 0.41-0.6

2= >0.61...

## Caracteres reproductivos

Uniloculares y pluriloculares presentes <UNANPLURJU>

- 0. S en el mismo talo
- 1. N en talos separados

## PLURILOCULARES Y ESTRUCTURAS ASOCIADAS.

### 29. Pluriloculares <PRESPLURAN>

- 0. S presentes
- 1. N ausentes

Presencia de capa mucilaginosa <GELATPLURA>

- 0. S cubiertos por una matriz gelatinosa
- 1. N no cubiertos por una matriz gelatinosa

Estado de madures de los plurangios <EDODESPLUR>

- 0. PR en estado de primordios
- 1. JU juveniles
- 2. MA maduros

Lugar de inserción <INSERPLURA>

- 0. **IN intercaladamente en los filamentos postígenos reproductivos, por debajo de células estériles terminales <no lateralmente**
- 1. IL lateralmente <intercalados> en los filamentos postígenos reproductivos
- 2. TE terminalmente en los filamentos postígenos reproductivos <no lateralmente a paráfisis
- 3. TL terminalmente en los filamentos postígenos reproductivos pero lateralmente a las paráfisis

Número de plurangios por filamento sustentante <NUMPLURFIL>

- 1. \_\_\_\_\_

Forma de los plurangios <FORMAPLURA>

- 0. ES esbeltos
- 1. MO moniliformes
- 2. CI cilíndricos
- 3. CL claviformes
- 4. IR irregulares en forma

Largo de los plurangios <LARGOPLURA>

- 1. \_\_\_\_\_ um

Diámetro de los plurangios <DIAMPLURAN>

- 1. \_\_\_\_\_ um

Número de series de células por plurangio <NUMSERIEPL>

- 1. \_\_\_\_\_

Forma de las células <FORMCELPLU>

- 0. BA de barril
- 1. CU cúbica
- 2. CI cilíndrica
- 3. LA lanceolada
- 4. EL elipsoidal
- 5. SF subesférica
- 6. OB obovoide
- 7. OV ovoide
- 8. FU fusiforme
- 9. IR irregular

Células estériles terminales <PRESCELEST>

- 1. S presentes
- 2. N ausentes

Número de células terminales <NUCELESTER>

- 1. \_\_\_\_\_

Forma de las células terminales <FORMCELEST>

- 0. BA de barril
- 1. CU cúbica
- 2. CI cilíndrica
- 3. LA lanceolada
- 4. EL elipsoidal
- 5. SF subesférica
- 6. OB obovoide
- 7. OV ovoide
- 8. FU fusiforme
- 9. DO de domo
- 10. IR irregular

Relación largo/diámetro de las células terminales <RELCELESTE>

Tamaño: rango

Largo (um)									
Diámetro (um)									
Largo/Diámetro									

o

**UNILOCULARES Y ESTRUCTURAS ASOCIADAS.**

Uniloculares <PRESUNANGI>

- 0. S presentes
- 1. N ausentes

Estado de madurez <EDODESUNAN>

- 0. PR en estado deprimordios
- 1. JU juveniles
- 2. MA maduros

Capa que los cubre <GELATUNANG>

- 0. S cubiertos por una capa gelatinosa
- 1. N no cubiertos por una capa gelatinosa

Surgiendo <POSUNANTAL>

- 0. BA cerca de los filamentos primigenios
- 1. ME a nivel de medio peritalo
- 2. SB subsuperficialmente
- 3. SS sobre la superficie del talo

Posición de los filamentos circundantes <POSFILCIRC>

- 0. LA lateralmente a filamentos circundantes
- 1. NL sin filamentos laterales o basales que los circunden

Diferenciación <DIFMORFCIR>

- 0. DM diferenciados morfológicamente de los filamentos reproductivos (paráfisis)
- 1. ND no diferenciados morfológicamente de los filamentos reproductivos

Filamentos reproductivos <PRESPEDIUN>

- 0. S diferenciados morfológicamente de los filamentos postígenos vegetativos
- 1. N no diferenciado morfológicamente de los filamentos postígenos vegetativos

Insertados <INSERUNILOC>

- 0.LA de forma lateral en los filamentos reproductivos <siempre sésil>
- 1.IN intercalar <no lateralmente> en los filamentos reproductivos
- 2.TE terminalmente en los filamentos reproductivos <o pedicelos>

Dispuestos <DISPOUNANG>

- 0. CA en cadena 1. NC no en cadena

Forma de los uniloculares <FORMUNANGI>

- 0. OB obovoides            1. OV ovoides            2. SF subesféricos
- 3. CL claviformes        4. EL elipsoidales      5. FU fusiformes
- 6. SV ubclaviformes

Relación largo/diámetro <LARGOUNILOC>

Tamaño:	rango									
Largo (um)										
Diámetro (um)										
Largo/Diámetro										

Proliferaciones laterales basales <PROLIFLAUN>

- 0. S presentes            1. N ausentes

Filamento unangial con pedicel <PEDICEL>

- 0. S presentes
- 1. N ausentes

Número de células del filamento unilocular (o pedicelo) <NUMCELPEDI>

- 1. \_\_\_\_\_ células



## FORMA DE CRECIMIENTO

### 30. Crecimiento sobre el sustrato <CRECIMIENT>

0. Formando manchas reticuladas.
1. Formando manchas aisladas con margen nítido.
2. Formando manchas continuas sin traslape.
3. Formando manchas continuas sin margen nítido.

## Apéndice 2. Matriz morfológica (16X30).

La codificación de la matriz está de acuerdo con el formato de caracterización morfológica (Apéndice 1).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	GROSOR	PRESPELHIA	DISPOFILPOS	FORFILPOST	LARFILPOST	DIAMFILPOS	LARCELFILPOS	UNIONFILAM	NUMCELUNID	NUMCELFILPOS
1 UM10	0	0	?	?	0	0	?	?	?	0
2 VR 5	2	0	0	0	2	2	0	0	0	2
3 VR 6H	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1
4 VR20H	3	0	0	0	3	2	0	1	0	4
5 VR 30H	3	1	0	0	3	2	0	1	0	4
6 VR 33	0	1	1	1	0	1	1	0	4	2
7 VR 35	0	1	1	1	0	1	1	0	3	1
8 VR 38	2	1	0	0	2	2	0	0	2	2
9 VR 39	0	1	1	1	0	1	1	0	0	3
10 VR 40	1	1	0	0	1	2	0	0	0	1
11 VR 41	1	0	0	0	1	2	0	0	1	3
12 VR 42	1	0	0	0	1	2	0	0	2	1
13 VR 43	2	1	0	0	2	2	0	0	0	3
14 VR 44	1	1	0	0	1	2	0	0	0	3
15 VR 85	2	1	0	0	2	2	0	0	0	2
16 Hpn	0	1	1	1	0	1	1	0	0	2

CONSFILPRI: Consistencia de los filamentos primigenios. CRECIMIENT: Forma de crecimiento. DIACELAPI: Diámetro de las células apicales. DIACELBAS: Diámetro de las células basales. DIACELCERAPI: Diámetro de las células cercanas al ápice. DIACELFILPRI: Diámetro de las células del filamento primigenio. DIAMFILPOS: Diámetro de los filamentos postígenos. DISPOFILPOS: Disposición de los filamentos postígenos. FORCELAPI: Forma de las células apicales. FORCELBAS: Forma de las células basales. FORCELKERAPI: Forma de las células cercanas al ápice. FORFILPOST: Forma de los filamentos postígenos. FORMCELFILPRI: Forma de las células de los filamentos primigenios. GROSOR: Grosor del talo. LARCELAPI: Largo de las células apicales. LARCELBAS: Largo de las células basales. LARCELKERAPI: Largo de las células cercanas al ápice. LARCELFILPRI: Largo de las células del filamento primigenio. LARCELFILPOST: Largo de las células del filamento postígeno. LARFILPOST: Largo del filamento postígeno. NUMCAPFILPRI: Número de capas del filamento primigenio. NUMCELFILPOS: Número de células del filamento postígeno. NUMCELUNID: Número de células unidas entre sí. ORDENRAMIF: Orden de ramificación. PRESPELHIA: Presencia de pelos hialinos. PRESPLURAN: Presencia de plurangios. RELCELAPI: Relación largo/diámetro de las células apicales. RELCELBAS: Relación largo/diámetro de las células basales. RELCELKERAPI: Relación largo/diámetro de las células cercanas al ápice. RELCELFILPRI: Relación largo/diámetro de las células de los filamentos primigenios. UNIONFILAM: Unión de los filamentos postígenos.

## Apéndice 2. Matriz morfológica (16X30) (Continuación)

	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	ORDENRAMIF	FORCELBAS	LARCELBAS	DIACELBAS	RELCELBAS	FORCELKERAPI	LARCELKERAPI	DIACELKERAPI	RELCELKERAPI	LARCELAPI
1 UM10	?	?	0	0	1	?	0	0	0	0
2 VR 5	0	1	1	2	2	0	1	2	1	1
3 VR 6H	0	1	2	4	2	0	1	2	2	2
4 VR20H	0	1	2	2	1	2	1	2	2	1
5 VR 30H	1	1	2	2	2	2	2	2	3	2
6 VR 33	1	0	3	3	0	1	2	3	1	1
7 VR 35	1	0	3	3	0	1	2	3	2	0
8 VR 38	1	1	2	1	1	0	1	2	2	3
9 VR 39	0	0	3	3	0	1	2	3	1	1
10 VR 40	1	1	2	2	1	0	1	2	1	3
11 VR 41	0	1	1	1	2	0	1	1	3	2
12 VR 42	1	1	1	1	2	0	1	1	2	2
13 VR 43	1	1	1	2	2	2	1	2	1	2
14 VR 44	1	1	2	2	1	2	2	2	2	1
15 VR 85	1	1	1	1	2	2	2	1	3	1
16 Hpn	1	0	3	3	0	1	2	3	1	0

CONSFILPRI: Consistencia de los filamentos primigenios. CRECIMIENT: Forma de crecimiento. DIACELAPI: Diámetro de las células apicales. DIACELBAS: Diámetro de las células basales. DIACELKERAPI: Diámetro de las células cercanas al ápice. DIACELFILPRI: Diámetro de las células del filamento primigenio. DIAMFILPOS: Diámetro de los filamentos postígenos. DISPOFILPOS: Disposición de los filamentos postígenos. FORCELAPI: Forma de las células apicales. FORCELBAS: Forma de las células basales. FORCELKERAPI: Forma de las células cercanas al ápice. FORFILPOST: Forma de los filamentos postígenos. FORMCELFILPRI: Forma de las células de los filamentos primigenios. GROSOR: Grosor del talo. LARCELAPI: Largo de las células apicales. LARCELBAS: Largo de las células basales. LARCELKERAPI: Largo de las células cercanas al ápice. LARCELFILPRI: Largo de las células del filamento primigenio. LARFILPOST: Largo del filamento postígeno. NUMCAPFILPRI: Número de capas del filamento primigenio. NUMCELFILPOS: Número de células del filamento postígeno. NUMCELUNID: Número de células unidas entre sí. ORDENRAMIF: Orden de ramificación. PRESPELHIA: Presencia de pelos hialinos. PRESPLURAN: Presencia de plurangios. RELCELAPI: Relación largo/diámetro de las células apicales. RELCELBAS: Relación largo/diámetro de las células basales. RELCELKERAPI: Relación largo/diámetro de las células cercanas al ápice. RELCELFILPRI: Relación largo/diámetro de las células de los filamentos primigenios. UNIONFILAM: Unión de los filamentos postígenos.

## Apéndice 2. Matriz morfológica (16X30) (Continuación)

		21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
		DIACELAPI	RELCELAPI	CONSFILPRI	NUMCAPFILPRI	FORMCELFILPRI	LARCELFILPRI	DIACELFILPRI	RELCELFILPRI	PRESPLURIOLOC	CRECIMIENT
1	UM10	0	1	?	?	?	?	?	?	?	0
2	VR 5	2	0	1	2	1	4	2	1	1	1
3	VR 6H	2	1	0	1	1	2	4	2	1	2
4	VR20H	2	0	1	0	1	0	1	2	0	2
5	VR 30H	2	1	0	0	1	3	0	1	1	2
6	VR 33	0	2	0	0	0	2	2	0	1	3
7	VR 35	0	2	0	0	0	1	1	0	1	3
8	VR 38	2	1	1	0	1	3	3	0	1	1
9	VR 39	0	2	1	0	1	0	0	1	1	3
10	VR 40	2	1	0	1	1	3	3	0	0	1
11	VR 41	2	1	0	1	1	2	3	0	1	1
12	VR 42	2	1	0	1	1	4	2	1	1	1
13	VR 43	1	2	0	0	1	1	2	0	1	3
14	VR 44	1	1	1	1	1	3	2	1	1	3
15	VR 85	2	0	1	1	1	1	3	0	1	3
16	Hpn	0	2	1	0	1	3	0	1	1	3

CONSFILPRI: Consistencia de los filamentos primigenios. CRECIMIENT: Forma de crecimiento. DIACELAPI: Diámetro de las células apicales. DIACELBAS: Diámetro de las células basales. DIACELCERAPI: Diámetro de las células cercanas al ápice. DIACELFILPRI: Diámetro de las células del filamento primigenio. DIAMFILPOS: Diámetro de los filamentos postígenos. DISPOFILPOS: Disposición de los filamentos postígenos. FORCELAPI: Forma de las células apicales. FORCELBAS: Forma de las células basales. FORCELCERAPI: Forma de las células cercanas al ápice. FORFILPOST: Forma de los filamentos postígenos. FORMCELFILPRI: Forma de las células de los filamentos primigenios. GROSOR: Grosor del talo. LARCELAPI: Largo de las células apicales. LARCELBAS: Largo de las células basales. LARCELCERAPI: Largo de las células cercanas al ápice. LARCELFILPRI: Largo de las células del filamento primigenio. LARFILPOST: Largo del filamento postígeno. NUMCAPFILPRI: Número de capas del filamento primigenio. NUMCELFILPOS: Número de células del filamento postígeno. NUMCELUNID: Número de células unidas entre sí. ORDENRAMIF: Orden de ramificación. PREPELHIA: Presencia de pelos hialinos. PRESPLURAN: Presencia de plurangios. RELCELAPI: Relación largo/diámetro de las células apicales. RELCELBAS: Relación largo/diámetro de las células basales. RELCELCERAPI: Relación largo/diámetro de las células cercanas al ápice. RELCELFILPRI: Relación largo/diámetro de las células de los filamentos primigenios. UNIONFILAM: Unión de los filamentos postígenos.

### **Apéndice 3. Análisis morfológico de Parsimonia.**

El análisis de parsimonia recuperó un árbol con longitud de 123 pasos, índice de consistencia (IC) de 0.5447 e índice de retención (IR) de 0,6190.

Los especímenes estudiados se encontraron reunidos en dos clados:

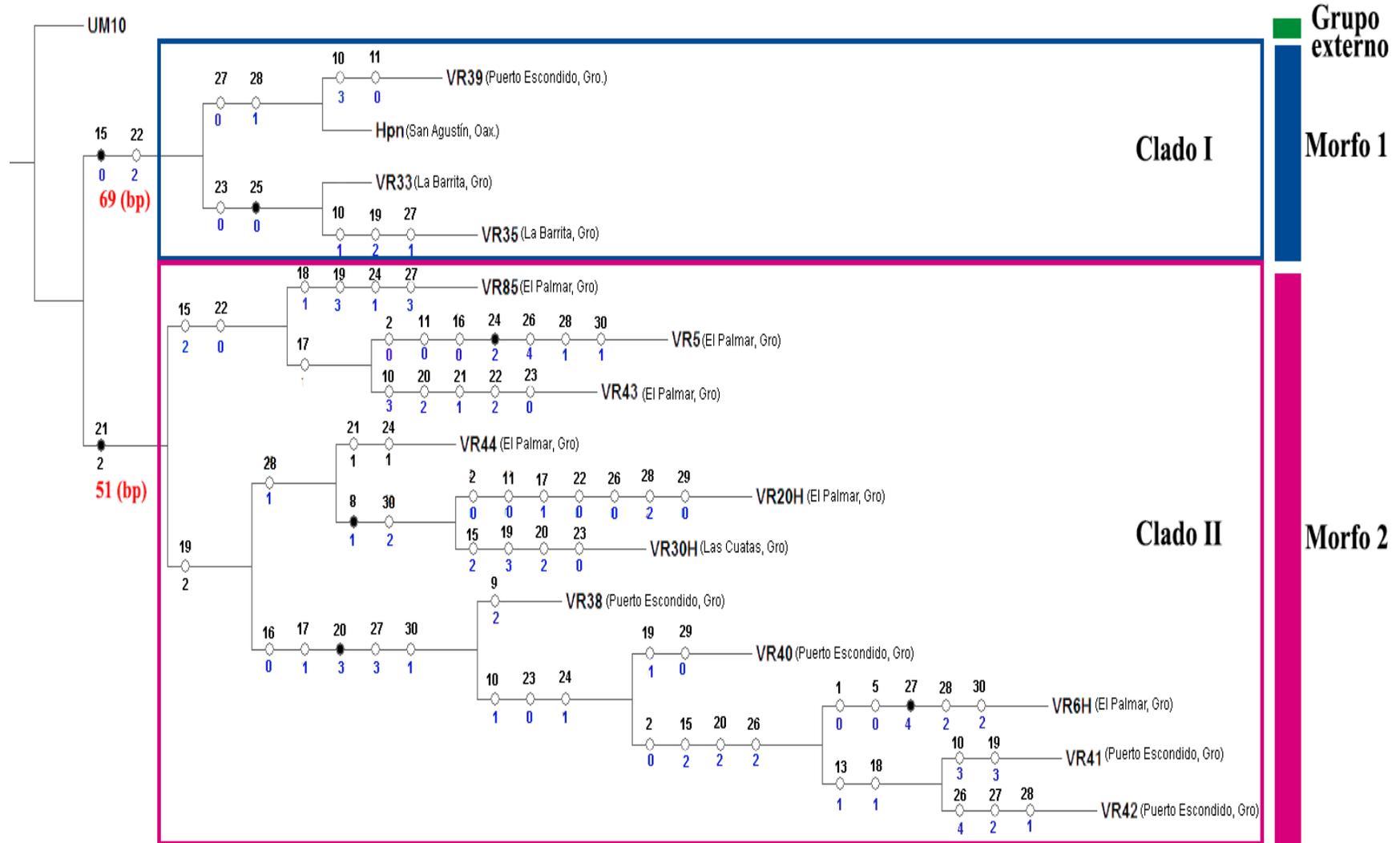
Clado I: Soportado por un valor de bootstrap de 69. Incluyó 4 especímenes (VR39, Hpn, VR33, VR35) recolectados en 3 localidades: Puerto Escondido, La Barrita y San Agustín.

Clado II: Soportado por un valor de bootstrap de 51. Incluyó 11 especímenes (VR5, VR6H, VR20H, VR30H, VR38, VR40, VR41, VR42, VR43, VR44, VR85) recolectados en las localidades de El Palmar, Las Cuatas y Puerto Escondido.

El análisis de caracteres permitió determinar cuáles caracteres sinapomórficos en los clados respectivos. La relación entre el largo/diámetro de las células en la parte basal del filamento postígneo (carácter número 15) y la relación largo/diámetro de las células apicales del filamento postígneo (carácter número 22), fueron las sinapomorfías del clado I. Por otra parte el diámetro de la célula apical del filamento postígneo (carácter número 21), fue la única sinapomorfía en el Clado II.

De acuerdo con lo anterior, las costras gelatinosas de este estudio presentan dos morfologías diferentes correspondientes al Clado I y Clado II, las cuales fueron denominadas como Morfo 1 y Morfo 2, respectivamente. A continuación se describen cada uno de los morfos y en la tabla 6 se muestra la descripción comparativa entre ellos.

Apéndice 3. Árbol de MP para la matriz morfológica. Longitud = 123, Índice de Consistencia = 0.5447. En rojo se muestran los valores de bootstrap (1,000 réplicas) para el Clado I y Clado II. En negro se muestran los caracteres y en azul los estados de cada carácter.



**Apéndice 4. Distancia p no corregida de *rbcL*\_1.**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 <i>AB045260_Tilopteris_mertensii</i>	-									
2 <i>AB264040_Heteroralfsia_saxico</i>	0.12598	-								
3 <i>AB250070_Heteroralfsia_saxico</i>	0.12598	0.00000	-							
4 <i>AB264039_Endopleura_aurea</i>	0.12936	0.11046	0.11046	-						
5 <i>AB250073_Ralfsia_spA</i>	0.11957	0.08403	0.08403	0.10881	-					
6 <i>AB264042_Analipus_japonicus</i>	0.10157	0.07717	0.07717	0.09388	0.07324	-				
7 <i>AB250071_Ralfsia_fungiformis_A</i>	0.10798	0.08510	0.08510	0.09294	0.07867	0.05879	-			
8 <i>EU579936_Ralfsia_fungiformis_B</i>	0.11669	0.08684	0.08684	0.09844	0.08147	0.06132	0.00681	-		
9 <i>AB250072_Ralfsia_verrucosa</i>	0.11102	0.08898	0.08898	0.10098	0.07603	0.06850	0.04924	0.04864	-	
10 <i>AB250068_Mesospora_spF</i>	0.13386	0.11024	0.11024	0.12781	0.12633	0.10236	0.10712	0.10938	0.10551	-
11 <i>AB250069_Mesospora_spG</i>	0.13320	0.10406	0.10406	0.13035	0.11932	0.10559	0.10568	0.11024	0.10401	0.09534
12 <i>AB250067_Mesospora_spE</i>	0.13071	0.12677	0.12677	0.12781	0.13230	0.11024	0.11063	0.11868	0.11811	0.09606
13 <i>AB250066_Mesospora_spD</i>	0.13386	0.12205	0.12205	0.13098	0.13396	0.10630	0.10668	0.11445	0.11339	0.09843
14 <i>JQ620001_Mesospora_schmidtii_D</i>	0.12677	0.12598	0.12598	0.12624	0.12722	0.10709	0.11209	0.11852	0.11811	0.09843
15 <i>JQ620000_Mesospora_schmidtii_A</i>	0.12598	0.12598	0.12598	0.12465	0.12794	0.11024	0.10731	0.11259	0.11890	0.09921
16 <i>JQ619999_Mesospora_schmidtii_C</i>	0.12677	0.12913	0.12913	0.12781	0.12971	0.11024	0.10890	0.11763	0.12126	0.10157
17 <i>JQ619998_Mesospora_schmidtii_B</i>	0.12205	0.12520	0.12520	0.12544	0.12535	0.10630	0.10491	0.11254	0.11654	0.09843
18 <i>AB250065_Mesospora_spC</i>	0.11181	0.11890	0.11890	0.12623	0.12426	0.09921	0.10731	0.11421	0.10709	0.10236
19 <i>JQ620005_Mesospora_elongata_B</i>	0.12047	0.10787	0.10787	0.11204	0.11923	0.10236	0.11220	0.11665	0.11260	0.10315
20 <i>JQ620004_Mesospora_elongata_A</i>	0.12047	0.10787	0.10787	0.11204	0.11923	0.10236	0.11220	0.11665	0.11260	0.10315
21 <i>JQ620003_Mesospora_elongata_D</i>	0.12047	0.10787	0.10787	0.11204	0.11923	0.10236	0.11220	0.11665	0.11260	0.10315
22 <i>JQ620002_Mesospora_elongata_C</i>	0.12047	0.10787	0.10787	0.11204	0.11923	0.10236	0.11220	0.11665	0.11260	0.10315
23 <i>AB250063_Mesospora_spA</i>	0.11339	0.11654	0.11654	0.12308	0.12689	0.10236	0.10498	0.11345	0.11181	0.10630
24 <i>VR5</i>	0.12913	0.12756	0.12756	0.12940	0.12374	0.11417	0.11771	0.12522	0.12362	0.11496
25 <i>VR43</i>	0.12913	0.12756	0.12756	0.12767	0.12281	0.11417	0.11771	0.12523	0.12362	0.11496
26 <i>VR30H</i>	0.12913	0.12756	0.12756	0.12940	0.12372	0.11417	0.11771	0.12522	0.12362	0.11496
27 <i>VR44</i>	0.13373	0.12891	0.12891	0.13167	0.12785	0.11551	0.11979	0.12701	0.12418	0.12179
28 <i>VR6H</i>	0.12677	0.12598	0.12598	0.13097	0.12213	0.11575	0.11611	0.12427	0.12441	0.11654
29 <i>VR20H</i>	0.12756	0.12598	0.12598	0.13098	0.12111	0.11575	0.11610	0.12428	0.12441	0.11575

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
30 VR38	0.12677	0.12520	0.12520	0.12703	0.12302	0.11181	0.11533	0.12269	0.12126	0.11260
31 VR40	0.12677	0.12520	0.12520	0.12703	0.12302	0.11181	0.11533	0.12269	0.12126	0.11260
32 VR41	0.12756	0.12598	0.12598	0.12703	0.12389	0.11260	0.11612	0.12353	0.12205	0.11181
33 VR42	0.12756	0.12598	0.12598	0.12782	0.12313	0.11260	0.11612	0.12352	0.12205	0.11260
34 AB250083_Ralfsia_spK	0.14016	0.12047	0.12047	0.13254	0.12558	0.11024	0.11917	0.12857	0.12756	0.12520
35 AB250082_Ralfsia_spJ	0.13858	0.11890	0.11890	0.13096	0.12474	0.10866	0.11755	0.12689	0.12598	0.12520
36 AB250081_Ralfsia_spI	0.13993	0.12102	0.12102	0.13225	0.12562	0.11070	0.11891	0.12916	0.12811	0.12656
37 AB250080_Ralfsia_spH	0.13858	0.11890	0.11890	0.13253	0.12399	0.11024	0.11916	0.12858	0.12756	0.12520
38 AB250079_Neoralfsia_expansa_G	0.13550	0.11579	0.11579	0.12785	0.12142	0.10555	0.11444	0.12357	0.12287	0.12051
39 AB250077_Neoralfsia_expansa_E	0.14173	0.12362	0.12362	0.13097	0.11623	0.11024	0.11846	0.12776	0.12520	0.12598
40 AB250078_Neoralfsia_expansa_F	0.14094	0.11969	0.11969	0.12623	0.12217	0.11181	0.12003	0.12776	0.12677	0.12283
41 KM032758_Ralfsia_expansa_A	0.13307	0.11732	0.11732	0.14201	0.13471	0.11811	0.11920	0.12856	0.12441	0.12992
42 KM032759_Ralfsia_expansa_B	0.13701	0.11811	0.11811	0.14280	0.13637	0.12126	0.12158	0.12952	0.12677	0.13465
43 KM032760_Ralfsia_expansa_C	0.12835	0.11969	0.11969	0.14281	0.13359	0.11654	0.12141	0.12866	0.12598	0.13071
44 KF977827_Ralfsia_hancockii_A	0.12598	0.12126	0.12126	0.13727	0.12917	0.11654	0.12064	0.12940	0.12835	0.13071
45 KF977828_Ralfsia_hancockii_B	0.12598	0.12126	0.12126	0.13727	0.12917	0.11654	0.12064	0.12940	0.12835	0.13071
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
11 AB250069_Mesospora_spG	-									
12 AB250067_Mesospora_spE	0.11503	-								
13 AB250066_Mesospora_spD	0.11661	0.02677	-							
14 JQ620001_Mesospora_schmidtii_D	0.11031	0.06378	0.07795	-						
15 JQ620000_Mesospora_schmidtii_A	0.11267	0.05984	0.07559	0.01496	-					
16 JQ619999_Mesospora_schmidtii_C	0.11503	0.06063	0.07638	0.01339	0.00709	-				
17 JQ619998_Mesospora_schmidtii_B	0.11188	0.06299	0.07874	0.01339	0.00472	0.00787	-			
18 AB250065_Mesospora_spC	0.11425	0.07638	0.07323	0.08504	0.08031	0.08346	0.07795	-		
19 JQ620005_Mesospora_elongata_B	0.11273	0.08504	0.09370	0.08583	0.07874	0.08189	0.07717	0.07717	-	
20 JQ620004_Mesospora_elongata_A	0.11273	0.08504	0.09370	0.08583	0.07874	0.08189	0.07717	0.07717	0.00000	-
21 JQ620003_Mesospora_elongata_D	0.11273	0.08504	0.09370	0.08583	0.07874	0.08189	0.07717	0.07717	0.00000	0.00000
22 JQ620002_Mesospora_elongata_C	0.11273	0.08504	0.09370	0.08583	0.07874	0.08189	0.07717	0.07717	0.00000	0.00000
23 AB250063_Mesospora_spA	0.11824	0.09764	0.10079	0.10709	0.10394	0.10472	0.10079	0.09606	0.04803	0.04803

	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
24 VR5	0.12844	0.13150	0.13150	0.12126	0.12126	0.11969	0.11732	0.11890	0.11969	0.11969
25 VR43	0.12844	0.13150	0.13150	0.12126	0.12126	0.11969	0.11732	0.11890	0.12126	0.12126
26 VR30H	0.12844	0.13150	0.13150	0.12126	0.12126	0.11969	0.11732	0.11890	0.11969	0.11969
27 VR44	0.13373	0.14074	0.13601	0.12810	0.12811	0.12652	0.12416	0.12496	0.12572	0.12572
28 VR6H	0.12766	0.13150	0.13307	0.12126	0.12126	0.11969	0.11732	0.12126	0.11969	0.11969
29 VR20H	0.12766	0.13150	0.13307	0.12126	0.12126	0.11969	0.11732	0.12126	0.12126	0.12126
30 VR38	0.12608	0.12913	0.12913	0.11890	0.11890	0.11732	0.11496	0.11654	0.11890	0.11890
31 VR40	0.12608	0.12913	0.12913	0.11890	0.11890	0.11732	0.11496	0.11654	0.11890	0.11890
32 VR41	0.12687	0.12992	0.12992	0.11969	0.11969	0.11811	0.11575	0.11732	0.11969	0.11969
33 VR42	0.12687	0.12992	0.12992	0.11969	0.11969	0.11811	0.11575	0.11732	0.11969	0.11969
34 AB250083_Ralfsia_spK	0.12214	0.11811	0.12205	0.12441	0.12362	0.12362	0.11969	0.11890	0.12362	0.12362
35 AB250082_Ralfsia_spJ	0.11899	0.11811	0.12283	0.12441	0.12362	0.12362	0.11969	0.11890	0.12362	0.12362
36 AB250081_Ralfsia_spI	0.12032	0.11786	0.12261	0.12420	0.12339	0.12339	0.11943	0.11706	0.12340	0.12340
37 AB250080_Ralfsia_spH	0.11898	0.11654	0.12047	0.12283	0.12205	0.12205	0.11811	0.11732	0.12205	0.12205
38 AB250079_Neoralfsia_expansa_G	0.11744	0.11341	0.11814	0.11971	0.11893	0.11893	0.11499	0.11421	0.11893	0.11893
39 AB250077_Neoralfsia_expansa_E	0.12292	0.12126	0.12677	0.12756	0.12756	0.12677	0.12362	0.11732	0.11969	0.11969
40 AB250078_Neoralfsia_expansa_F	0.12371	0.11575	0.12205	0.12362	0.12283	0.12283	0.11890	0.11732	0.11890	0.11890
41 KM032758_Ralfsia_expansa_A	0.14026	0.12992	0.13071	0.14016	0.13701	0.13701	0.13307	0.12992	0.13150	0.13150
42 KM032759_Ralfsia_expansa_B	0.14105	0.13386	0.13465	0.14094	0.13858	0.13858	0.13465	0.13386	0.13307	0.13307
43 KM032760_Ralfsia_expansa_C	0.13712	0.13228	0.13071	0.14094	0.13858	0.13858	0.13465	0.12992	0.13465	0.13465
44 KF977827_Ralfsia_hancockii_A	0.13712	0.13071	0.12913	0.13937	0.13465	0.13622	0.13228	0.12598	0.13150	0.13150
45 KF977828_Ralfsia_hancockii_B	0.13712	0.13071	0.12913	0.13937	0.13465	0.13622	0.13228	0.12598	0.13150	0.13150
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
21 JQ620003_Mesospora_elongata_D	-									
22 JQ620002_Mesospora_elongata_C	0.00000	-								
23 AB250063_Mesospora_spA	0.04803	0.04803	-							
24 VR5	0.11969	0.11969	0.12677	-						
25 VR43	0.12126	0.12126	0.12835	0.00315	-					
26 VR30H	0.11969	0.11969	0.12677	0.00157	0.00315	-				
27 VR44	0.12572	0.12572	0.13287	0.01581	0.01659	0.01581	-			

	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
28 VR6H	0.11969	0.11969	0.12598	0.00945	0.01102	0.00787	0.02371	-		
29 VR20H	0.12126	0.12126	0.12835	0.00945	0.00945	0.00945	0.02371	0.00472	-	
30 VR38	0.11890	0.11890	0.12598	0.00236	0.00236	0.00236	0.01659	0.00866	0.00866	-
31 VR40	0.11890	0.11890	0.12598	0.00236	0.00236	0.00236	0.01659	0.00866	0.00866	0.00000
32 VR41	0.11969	0.11969	0.12677	0.00315	0.00315	0.00315	0.01738	0.00945	0.00945	0.00079
33 VR42	0.11969	0.11969	0.12677	0.00315	0.00315	0.00315	0.01738	0.00945	0.00866	0.00079
34 AB250083_Ralfsia_spK	0.12362	0.12362	0.12992	0.12835	0.12835	0.12835	0.13289	0.12677	0.12677	0.12598
35 AB250082_Ralfsia_spJ	0.12362	0.12362	0.12992	0.12835	0.12835	0.12835	0.13289	0.12677	0.12677	0.12598
36 AB250081_Ralfsia_spI	0.12340	0.12340	0.12970	0.12648	0.12570	0.12648	0.13032	0.12577	0.12329	0.12499
37 AB250080_Ralfsia_spH	0.12205	0.12205	0.12835	0.12677	0.12677	0.12677	0.13131	0.12520	0.12520	0.12441
38 AB250079_Neoralfsia_expansa_G	0.11893	0.11893	0.12524	0.12445	0.12445	0.12445	0.12978	0.12287	0.12287	0.12208
39 AB250077_Neoralfsia_expansa_E	0.11969	0.11969	0.12677	0.12756	0.12756	0.12756	0.13524	0.12598	0.12598	0.12520
40 AB250078_Neoralfsia_expansa_F	0.11890	0.11890	0.13228	0.12677	0.12677	0.12677	0.13129	0.12520	0.12520	0.12441
41 KM032758_Ralfsia_expansa_A	0.13150	0.13150	0.13386	0.14094	0.14094	0.14094	0.14473	0.13858	0.13937	0.13858
42 KM032759_Ralfsia_expansa_B	0.13307	0.13307	0.13228	0.14488	0.14488	0.14488	0.14552	0.14252	0.14331	0.14252
43 KM032760_Ralfsia_expansa_C	0.13465	0.13465	0.13386	0.14173	0.14173	0.14173	0.14475	0.13937	0.14016	0.13937
44 KF977827_Ralfsia_hancockii_A	0.13150	0.13150	0.13228	0.13858	0.13858	0.13858	0.14080	0.13701	0.13780	0.13622
45 KF977828_Ralfsia_hancockii_B	0.13150	0.13150	0.13228	0.13858	0.13858	0.13858	0.14080	0.13701	0.13780	0.13622

	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
31VR40	-									
32VR41	0.00079	-								
33VR42	0.00079	0.00157	-							
34AB250083_Ralfsia_spK	0.12598	0.12677	0.12677	-						
35AB250082_Ralfsia_spJ	0.12598	0.12677	0.12677	0.00472	-					
36AB250081_Ralfsia_spI	0.12499	0.12578	0.12506	0.01028	0.01185	-				
37AB250080_Ralfsia_spH	0.12441	0.12520	0.12520	0.00787	0.00787	0.00869	-			
38AB250079_Neoralfsia_expansa_G	0.12208	0.12287	0.12287	0.00472	0.00472	0.00869	0.00473	-		
39AB250077_Neoralfsia_expansa_E	0.12520	0.12598	0.12598	0.04803	0.04803	0.05223	0.04803	0.04489	-	
40AB250078_Neoralfsia_expansa_F	0.12441	0.12520	0.12520	0.02362	0.02677	0.02928	0.02677	0.02362	0.04488	-

	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
41 <i>KM032758_Ralfsia_expansa_A</i>	0.13858	0.13780	0.13937	0.07244	0.07244	0.07671	0.07244	0.06775	0.09606	0.08189
42 <i>KM032759_Ralfsia_expansa_B</i>	0.14252	0.14173	0.14331	0.07402	0.07402	0.07829	0.07402	0.06932	0.09764	0.08346
43 <i>KM032760_Ralfsia_expansa_C</i>	0.13937	0.14016	0.14016	0.07087	0.07087	0.07513	0.07087	0.06618	0.09370	0.08031
44 <i>KF977827_Ralfsia_hancockii_A</i>	0.13622	0.13701	0.13701	0.06693	0.06850	0.07274	0.06850	0.06380	0.09606	0.08110
45 <i>KF977828_Ralfsia_hancockii_B</i>	0.13622	0.13701	0.13701	0.06693	0.06850	0.07274	0.06850	0.06380	0.09606	0.08110
	41	42	43	44	45					
41 <i>KM032758_Ralfsia_expansa_A</i>	-									
42 <i>KM032759_Ralfsia_expansa_B</i>	0.01260	-								
43 <i>KM032760_Ralfsia_expansa_C</i>	0.02913	0.02913	-							
44 <i>KF977827_Ralfsia_hancockii_A</i>	0.05118	0.05433	0.03780	-						
45 <i>KF977828_Ralfsia_hancockii_B</i>	0.05118	0.05433	0.03780	0.00000	-					

**Apéndice 5. Distancia p no corregida para *rbcL*\_2.**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 <i>AB045260_Tilopteris_mertensii</i>	-									
2 <i>AB264040_Heteroralfsia_saxicola</i>	0.12817	-								
3 <i>AB250070_Heteroralfsia_saxicola</i>	0.12817	0.00000	-							
4 <i>AB264039_Endopleura_aurea</i>	0.14085	0.11690	0.11690	-						
5 <i>AB250073_Ralfsia_spA</i>	0.11408	0.08028	0.08028	0.11690	-					
6 <i>AB264042_Analipus_japonicus</i>	0.10282	0.09155	0.09155	0.10986	0.07324	-				
7 <i>AB250071_Ralfsia_fungiformis_A</i>	0.10150	0.09037	0.09037	0.10682	0.06577	0.06008	-			
8 <i>EU579936_Ralfsia_fungiformis_B</i>	0.12065	0.09753	0.09753	0.11899	0.07260	0.06831	0.00981	-		
9 <i>AB250072_Ralfsia_verrucosa</i>	0.11127	0.09859	0.09859	0.11549	0.06901	0.07746	0.04570	0.04732	-	
10 <i>AB250068_Mesospora_spF</i>	0.13380	0.12817	0.12817	0.14930	0.12676	0.11831	0.11562	0.12107	0.11831	-
11 <i>AB250069_Mesospora_spG</i>	0.13970	0.11150	0.11150	0.14821	0.11985	0.12128	0.11155	0.12104	0.11423	0.11563
12 <i>AB250067_Mesospora_spE</i>	0.13803	0.14507	0.14507	0.15352	0.14085	0.13099	0.12203	0.13873	0.13239	0.10845
13 <i>AB250066_Mesospora_spD</i>	0.13803	0.14085	0.14085	0.15493	0.14225	0.12958	0.11779	0.13397	0.13099	0.10845
14 <i>JQ620001_Mesospora_schmidtii_D</i>	0.12958	0.14507	0.14507	0.15493	0.13803	0.12676	0.12040	0.13360	0.13380	0.10845
15 <i>JQ620000_Mesospora_schmidtii_A</i>	0.12817	0.14507	0.14507	0.15211	0.13803	0.13239	0.11746	0.12879	0.13239	0.10704
16 <i>JQ619999_Mesospora_schmidtii_C</i>	0.13099	0.15211	0.15211	0.15634	0.14225	0.13380	0.11886	0.13668	0.13803	0.11268
17 <i>JQ619998_Mesospora_schmidtii_B</i>	0.12254	0.14507	0.14507	0.15211	0.13521	0.12676	0.11167	0.12703	0.12958	0.10704
18 <i>AB250065_Mesospora_spC</i>	0.10986	0.13662	0.13662	0.14085	0.12958	0.11268	0.11458	0.12863	0.11972	0.11127
19 <i>JQ620005_Mesospora_elongata_B</i>	0.12958	0.12394	0.12394	0.13521	0.13099	0.12958	0.12630	0.13609	0.13380	0.11831
20 <i>JQ620004_Mesospora_elongata_A</i>	0.12958	0.12394	0.12394	0.13521	0.13099	0.12958	0.12630	0.13609	0.13380	0.11831
21 <i>JQ620003_Mesospora_elongata_D</i>	0.12958	0.12394	0.12394	0.13521	0.13099	0.12958	0.12630	0.13609	0.13380	0.11831
22 <i>JQ620002_Mesospora_elongata_C</i>	0.12958	0.12394	0.12394	0.13521	0.13099	0.12958	0.12630	0.13609	0.13380	0.11831
23 <i>AB250063_Mesospora_spA</i>	0.11972	0.14366	0.14366	0.15070	0.13944	0.12958	0.11316	0.13035	0.13239	0.12676
24 <i>VR5</i>	0.12535	0.13380	0.13380	0.14085	0.12254	0.11831	0.11618	0.13024	0.13099	0.12676
25 <i>VR43</i>	0.12394	0.13239	0.13239	0.13944	0.12113	0.11690	0.11477	0.12866	0.12958	0.12535
26 <i>VR30</i>	0.12535	0.13380	0.13380	0.14085	0.12254	0.11831	0.11618	0.13024	0.13099	0.12676
27 <i>VR6P</i>	0.12535	0.13239	0.13239	0.14225	0.12113	0.12254	0.11471	0.13000	0.13239	0.13099

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
29 VR6H	0.12535	0.13239	0.13239	0.14225	0.12113	0.12254	0.11471	0.13000	0.13239	0.13099
30 VR20H	0.12394	0.13099	0.13099	0.14085	0.11972	0.12113	0.11329	0.12843	0.13099	0.12958
31 VR20S	0.13380	0.14085	0.14085	0.15070	0.12958	0.13099	0.12321	0.13011	0.13803	0.13944
32 VR38	0.12394	0.13239	0.13239	0.13944	0.12113	0.11690	0.11477	0.12866	0.12958	0.12535
33 VR40	0.12394	0.13239	0.13239	0.13944	0.12113	0.11690	0.11477	0.12866	0.12958	0.12535
34 VR41	0.12394	0.13239	0.13239	0.13944	0.12113	0.11690	0.11477	0.12866	0.12958	0.12535
35 VR42	0.12394	0.13239	0.13239	0.13944	0.12113	0.11690	0.11477	0.12866	0.12958	0.12535
36 VR33	0.15634	0.13380	0.13380	0.16620	0.12676	0.13803	0.12415	0.14033	0.13521	0.16056
37 VR35	0.15672	0.13410	0.13410	0.16372	0.12705	0.13834	0.12445	0.13952	0.13553	0.16091
38 VR39	0.15211	0.13239	0.13239	0.16197	0.12535	0.13662	0.12275	0.14036	0.13662	0.15915
39 VR85	0.12535	0.13239	0.13239	0.14225	0.12113	0.12254	0.11471	0.13000	0.13239	0.13099
40 Hpn	0.15070	0.13380	0.13380	0.16056	0.12394	0.13521	0.12129	0.14003	0.13521	0.16056
41 AB250083_Ralfsia_spK	0.13380	0.10986	0.10986	0.14648	0.12535	0.11549	0.11173	0.12868	0.12676	0.13521
42 AB250082_Ralfsia_spJ	0.13380	0.10986	0.10986	0.14648	0.12535	0.11549	0.11164	0.12868	0.12676	0.13803
43 AB250081_Ralfsia_spl	0.13521	0.11549	0.11549	0.14789	0.12958	0.11831	0.11324	0.13185	0.12958	0.14085
44 AB250080_Ralfsia_spH	0.13239	0.11127	0.11127	0.14789	0.12676	0.11690	0.11322	0.13027	0.12817	0.13662
45 AB250079_Neoralfsia_expansa_G	0.13391	0.10992	0.10992	0.14660	0.12542	0.11556	0.11179	0.12878	0.12683	0.13528
46 AB250077_Neoralfsia_expansa_E	0.13944	0.12254	0.12254	0.14930	0.11972	0.12113	0.12639	0.14147	0.13521	0.13803
47 AB250078_Neoralfsia_expansa_F	0.13380	0.11549	0.11549	0.14507	0.11972	0.12254	0.12056	0.13350	0.12958	0.13099
48 KM032758_Ralfsia_expansa_A	0.13803	0.10845	0.10845	0.15211	0.12817	0.11831	0.11468	0.13183	0.12676	0.13239
49 KM032759_Ralfsia_expansa_B	0.14225	0.11127	0.11127	0.15493	0.13099	0.12113	0.11754	0.13206	0.12676	0.13803
50 KM032760_Ralfsia_expansa_C	0.14507	0.11549	0.11549	0.15775	0.13380	0.12394	0.12154	0.13533	0.13239	0.14085
51 KF977827_Ralfsia_hancockii	0.13803	0.10845	0.10845	0.15070	0.12676	0.11972	0.11738	0.13345	0.12817	0.13380
52 KF977828_Ralfsia_hancockii	0.13803	0.10845	0.10845	0.15070	0.12676	0.11972	0.11738	0.13345	0.12817	0.13380
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
11 AB250069_Mesospora_spG	-									
12 AB250067_Mesospora_spE	0.13676	-								
13 AB250066_Mesospora_spD	0.13253	0.00704	-							

	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
15 <i>JQ620000_Mesospora_schmidtii_A</i>	0.13395	0.08451	0.08028	0.01972	-					
16 <i>JQ619999_Mesospora_schmidtii_C</i>	0.13959	0.08732	0.08310	0.01831	0.01127	-				
17 <i>JQ619998_Mesospora_schmidtii_B</i>	0.13395	0.09014	0.08592	0.01972	0.00563	0.01268	-			
18 <i>AB250065_Mesospora_spC</i>	0.12972	0.07746	0.07887	0.09577	0.08732	0.09437	0.08451	-		
19 <i>JQ620005_Mesospora_elongata_B</i>	0.13833	0.10563	0.10704	0.11127	0.10000	0.10704	0.09718	0.08873	-	
20 <i>JQ620004_Mesospora_elongata_A</i>	0.13833	0.10563	0.10704	0.11127	0.10000	0.10704	0.09718	0.08873	0.00000	-
21 <i>JQ620003_Mesospora_elongata_D</i>	0.13833	0.10563	0.10704	0.11127	0.10000	0.10704	0.09718	0.08873	0.00000	0.00000
22 <i>JQ620002_Mesospora_elongata_C</i>	0.13833	0.10563	0.10704	0.11127	0.10000	0.10704	0.09718	0.08873	0.00000	0.00000
23 <i>AB250063_Mesospora_spA</i>	0.14817	0.11972	0.11972	0.14085	0.13662	0.13944	0.13099	0.12394	0.07746	0.07746
24 <i>VR5</i>	0.14529	0.15352	0.15070	0.13662	0.13662	0.13521	0.13099	0.14085	0.13944	0.13944
25 <i>VR43</i>	0.14388	0.15211	0.14930	0.13521	0.13521	0.13380	0.12958	0.13944	0.14085	0.14085
26 <i>VR30</i>	0.14529	0.15352	0.15070	0.13662	0.13662	0.13521	0.13099	0.14085	0.13944	0.13944
27 <i>VR6P</i>	0.14387	0.15493	0.15352	0.13803	0.13803	0.13662	0.13239	0.14507	0.14085	0.14085
28 <i>VR44</i>	0.14640	0.15469	0.15186	0.13770	0.13772	0.13628	0.13206	0.14201	0.14044	0.14044
29 <i>VR6H</i>	0.14387	0.15493	0.15352	0.13803	0.13803	0.13662	0.13239	0.14507	0.14085	0.14085
30 <i>VR20H</i>	0.14247	0.15352	0.15211	0.13662	0.13662	0.13521	0.13099	0.14366	0.14225	0.14225
31 <i>VR20S</i>	0.15233	0.16338	0.16197	0.14648	0.14648	0.14507	0.14085	0.15211	0.14930	0.14930
32 <i>VR38</i>	0.14388	0.15211	0.14930	0.13521	0.13521	0.13380	0.12958	0.13944	0.14085	0.14085
33 <i>VR40</i>	0.14388	0.15211	0.14930	0.13521	0.13521	0.13380	0.12958	0.13944	0.14085	0.14085
34 <i>VR41</i>	0.14388	0.15211	0.14930	0.13521	0.13521	0.13380	0.12958	0.13944	0.14085	0.14085
35 <i>VR42</i>	0.14388	0.15211	0.14930	0.13521	0.13521	0.13380	0.12958	0.13944	0.14085	0.14085
36 <i>VR33</i>	0.15088	0.15634	0.15493	0.14507	0.14789	0.14507	0.14507	0.15352	0.15775	0.15775
37 <i>VR35</i>	0.15119	0.15667	0.15527	0.14538	0.14821	0.14538	0.14539	0.15386	0.15666	0.15666
38 <i>VR39</i>	0.14664	0.15493	0.15352	0.14366	0.14648	0.14366	0.14366	0.15352	0.15634	0.15634
39 <i>VR85</i>	0.14387	0.15493	0.15352	0.13803	0.13803	0.13662	0.13239	0.14507	0.14085	0.14085
40 <i>Hpn</i>	0.14806	0.15634	0.15493	0.14507	0.14789	0.14507	0.14225	0.15211	0.15493	0.15493
41 <i>AB250083_Ralfsia_spK</i>	0.13396	0.12535	0.12394	0.13944	0.13662	0.13803	0.13099	0.12254	0.13662	0.13662
42 <i>AB250082_Ralfsia_spJ</i>	0.13114	0.12817	0.12676	0.14225	0.13944	0.14085	0.13380	0.12535	0.13944	0.13944
43 <i>AB250081_Ralfsia_spI</i>	0.13537	0.12676	0.12535	0.14085	0.13803	0.13944	0.13239	0.12113	0.13803	0.13803
44 <i>AB250080_Ralfsia_spH</i>	0.13255	0.12394	0.12254	0.13803	0.13521	0.13662	0.12958	0.12113	0.13521	0.0.13521

	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
45 <i>AB250079_Neoralfsia_expansa_G</i>	0.13402	0.12539	0.12399	0.13950	0.13669	0.13810	0.13105	0.12259	0.13665	0.13665
46 <i>AB250077_Neoralfsia_expansa_E</i>	0.14101	0.14225	0.14225	0.14789	0.14648	0.14648	0.14085	0.12535	0.12958	0.12958
47 <i>AB250078_Neoralfsia_expansa_F</i>	0.13678	0.12394	0.12535	0.13803	0.13521	0.13662	0.12958	0.12254	0.13239	0.13239
48 <i>KM032758_Ralfsia_expansa_A</i>	0.13678	0.12535	0.12394	0.13944	0.13380	0.13521	0.12817	0.12535	0.12958	0.12958
49 <i>KM032759_Ralfsia_expansa_B</i>	0.13678	0.12817	0.12676	0.14225	0.13662	0.13803	0.13099	0.12676	0.13239	0.13239
50 <i>KM032760_Ralfsia_expansa_C</i>	0.13960	0.13239	0.13099	0.14648	0.14085	0.14225	0.13521	0.13099	0.13662	0.13662
51 <i>KF977827_Ralfsia_hancockii</i>	0.13537	0.12535	0.12394	0.13944	0.13380	0.13521	0.12817	0.12394	0.13239	0.13239
52 <i>KF977828_Ralfsia_hancockii</i>	0.13537	0.12535	0.12394	0.13944	0.13380	0.13521	0.12817	0.12394	0.13239	0.13239
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
21 <i>JQ620003_Mesospora_elongata_D</i>	-									
22 <i>JQ620002_Mesospora_elongata_C</i>	0.00000	-								
23 <i>AB250063_Mesospora_spA</i>	0.07746	0.07746	-							
24 <i>VR5</i>	0.13944	0.13944	0.15211	-						
25 <i>VR43</i>	0.14085	0.14085	0.15352	0.00141	-					
26 <i>VR30</i>	0.13944	0.13944	0.15211	0.00000	0.00141	-				
27 <i>VR6P</i>	0.14085	0.14085	0.15352	0.00704	0.00845	0.00704	-			
28 <i>VR44</i>	0.14044	0.14044	0.15332	0.00000	0.00142	0.00000	0.00710	-		
29 <i>VR6H</i>	0.14085	0.14085	0.15352	0.00704	0.00845	0.00704	0.00000	0.00710	-	
30 <i>VR20H</i>	0.14225	0.14225	0.15493	0.00845	0.00704	0.00845	0.00141	0.00852	0.00141	-
31 <i>VR20S</i>	0.14930	0.14930	0.15634	0.01549	0.01690	0.01549	0.00845	0.01417	0.00845	0.00986
32 <i>VR38</i>	0.14085	0.14085	0.15352	0.00141	0.00000	0.00141	0.00845	0.00142	0.00845	0.00704
33 <i>VR40</i>	0.14085	0.14085	0.15352	0.00141	0.00000	0.00141	0.00845	0.00142	0.00845	0.00704
34 <i>VR41</i>	0.14085	0.14085	0.15352	0.00141	0.00000	0.00141	0.00845	0.00142	0.00845	0.00704
35 <i>VR42</i>	0.14085	0.14085	0.15352	0.00141	0.00000	0.00141	0.00845	0.00142	0.00845	0.00704
36 <i>VR33</i>	0.15775	0.15775	0.15352	0.13099	0.12958	0.13099	0.12958	0.13178	0.12958	0.12817
37 <i>VR35</i>	0.15666	0.15666	0.14963	0.13266	0.13125	0.13266	0.13125	0.13343	0.13125	0.12984
38 <i>VR39</i>	0.15634	0.15634	0.15493	0.12958	0.12817	0.12958	0.12817	0.13033	0.12817	0.12676
39 <i>VR85</i>	0.14085	0.14085	0.15352	0.00704	0.00845	0.00704	0.00000	0.00710	0.00000	0.00141
40 <i>Hpn</i>	0.15493	0.15493	0.15352	0.12817	0.12676	0.12817	0.12676	0.12891	0.12676	0.12535

	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
41 <i>AB250083_Ralfsia_spK</i>	0.13662	0.13662	0.14085	0.13380	0.13239	0.13380	0.13239	0.13496	0.13239	0.13099
42 <i>AB250082_Ralfsia_spJ</i>	0.13944	0.13944	0.14366	0.13662	0.13521	0.13662	0.13521	0.13779	0.13521	0.13380
43 <i>AB250081_Ralfsia_spl</i>	0.13803	0.13803	0.14225	0.13380	0.13239	0.13380	0.13239	0.13495	0.13239	0.13099
44 <i>AB250080_Ralfsia_spH</i>	0.13521	0.13521	0.13944	0.13239	0.13099	0.13239	0.13099	0.13353	0.13099	0.12958
45 <i>AB250079_Neoralfsia_expansa_G</i>	0.13665	0.13665	0.14091	0.13388	0.13248	0.13388	0.13248	0.13504	0.13248	0.13107
46 <i>AB250077_Neoralfsia_expansa_E</i>	0.12958	0.12958	0.13521	0.14648	0.14507	0.14648	0.14507	0.14765	0.14507	0.14366
47 <i>AB250078_Neoralfsia_expansa_F</i>	0.13239	0.13239	0.14930	0.13380	0.13239	0.13380	0.13239	0.13491	0.13239	0.13099
48 <i>KM032758_Ralfsia_expansa_A</i>	0.12958	0.12958	0.13944	0.13521	0.13380	0.13521	0.13380	0.13634	0.13380	0.13239
49 <i>KM032759_Ralfsia_expansa_B</i>	0.13239	0.13239	0.13662	0.13944	0.13803	0.13944	0.13803	0.14061	0.13803	0.13662
50 <i>KM032760_Ralfsia_expansa_C</i>	0.13662	0.13662	0.14366	0.14366	0.14225	0.14366	0.14225	0.14482	0.14225	0.14085
51 <i>KF977827_Ralfsia_hancockii</i>	0.13239	0.13239	0.14225	0.13521	0.13380	0.13521	0.13380	0.13634	0.13380	0.13239
52 <i>KF977828_Ralfsia_hancockii</i>	0.13239	0.13239	0.14225	0.13521	0.13380	0.13521	0.13380	0.13634	0.13380	0.13239
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
31 <i>VR20S</i>	-									
32 <i>VR38</i>	0.01690	-								
33 <i>VR40</i>	0.01690	0.00000	-							
34 <i>VR41</i>	0.01690	0.00000	0.00000	-						
35 <i>VR42</i>	0.01690	0.00000	0.00000	0.00000	-					
36 <i>VR33</i>	0.13380	0.12958	0.12958	0.12958	0.12958	-				
37 <i>VR35</i>	0.13266	0.13125	0.13125	0.13125	0.13125	0.00705	-			
38 <i>VR39</i>	0.13521	0.12817	0.12817	0.12817	0.12817	0.00704	0.00563	-		
39 <i>VR85</i>	0.00845	0.00845	0.00845	0.00845	0.00845	0.12958	0.13125	0.12817	-	
40 <i>Hpn</i>	0.13380	0.12676	0.12676	0.12676	0.12676	0.00845	0.00705	0.00141	0.12676	-
41 <i>AB250083_Ralfsia_spK</i>	0.14085	0.13239	0.13239	0.13239	0.13239	0.13803	0.13836	0.13380	0.13239	0.13239
42 <i>AB250082_Ralfsia_spJ</i>	0.14366	0.13521	0.13521	0.13521	0.13521	0.14085	0.14118	0.13662	0.13521	0.13521
43 <i>AB250081_Ralfsia_spl</i>	0.14085	0.13239	0.13239	0.13239	0.13239	0.13803	0.13835	0.13380	0.13239	0.13239
44 <i>AB250080_Ralfsia_spH</i>	0.13944	0.13099	0.13099	0.13099	0.13099	0.13662	0.13694	0.13239	0.13099	0.13099
45 <i>AB250079_Neoralfsia_expansa_G</i>	0.14093	0.13248	0.13248	0.13248	0.13248	0.13811	0.13842	0.13388	0.13248	0.13247
46 <i>AB250077_Neoralfsia_expansa_E</i>	0.15352	0.14507	0.14507	0.14507	0.14507	0.15211	0.15244	0.15070	0.14507	0.14930
47 <i>AB250078_Neoralfsia_expansa_F</i>	0.13944	0.13239	0.13239	0.13239	0.13239	0.14366	0.14399	0.14225	0.13239	0.14085

	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
48KM032758_Ralfsia_expansa_A	0.14225	0.13380	0.13380	0.13380	0.13380	0.13803	0.13835	0.13380	0.13380	0.13239
49KM032759_Ralfsia_expansa_B	0.14085	0.13803	0.13803	0.13803	0.13803	0.14085	0.13836	0.13944	0.13803	0.13803
50KM032760_Ralfsia_expansa_C	0.14789	0.14225	0.14225	0.14225	0.14225	0.14789	0.14540	0.14366	0.14225	0.14225
51KF977827_Ralfsia_hancockii	0.14225	0.13380	0.13380	0.13380	0.13380	0.14085	0.14116	0.13662	0.13380	0.13521
52KF977828_Ralfsia_hancockii	0.14225	0.13380	0.13380	0.13380	0.13380	0.14085	0.14116	0.13662	0.13380	0.13521

	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
41 AB250083_Ralfsia_spK	-									
42 AB250082_Ralfsia_spJ	0.00282	-								
43 AB250081_Ralfsia_spl	0.00986	0.01268	-							
44 AB250080_Ralfsia_spH	0.00141	0.00423	0.00845	-						
45 AB250079_Neoralfsia_expansa_G	0.00000	0.00282	0.00987	0.00141	-					
46 AB250077_Neoralfsia_expansa_E	0.06197	0.06479	0.07183	0.06338	0.06199	-				
47 AB250078_Neoralfsia_expansa_F	0.02958	0.03239	0.03944	0.03099	0.02958	0.06197	-			
48 KM032758_Ralfsia_expansa_A	0.01127	0.01408	0.02113	0.01268	0.01127	0.06197	0.03239	-		
49 KM032759_Ralfsia_expansa_B	0.01127	0.01408	0.02113	0.01268	0.01127	0.06197	0.03239	0.00563	-	
50 KM032760_Ralfsia_expansa_C	0.01549	0.01831	0.02535	0.01690	0.01549	0.06479	0.03662	0.01268	0.00986	-
51 KF977827_Ralfsia_hancockii	0.00845	0.01127	0.01831	0.00986	0.00845	0.05775	0.02958	0.01127	0.01127	0.01268
52 KF977828_Ralfsia_hancockii	0.00845	0.01127	0.01831	0.00986	0.00845	0.05775	0.02958	0.01127	0.01127	0.01268

	51	52
51 KF977827_Ralfsia_hancockii	-	
52 KF977828_Ralfsia_hancockii	0.00000	-

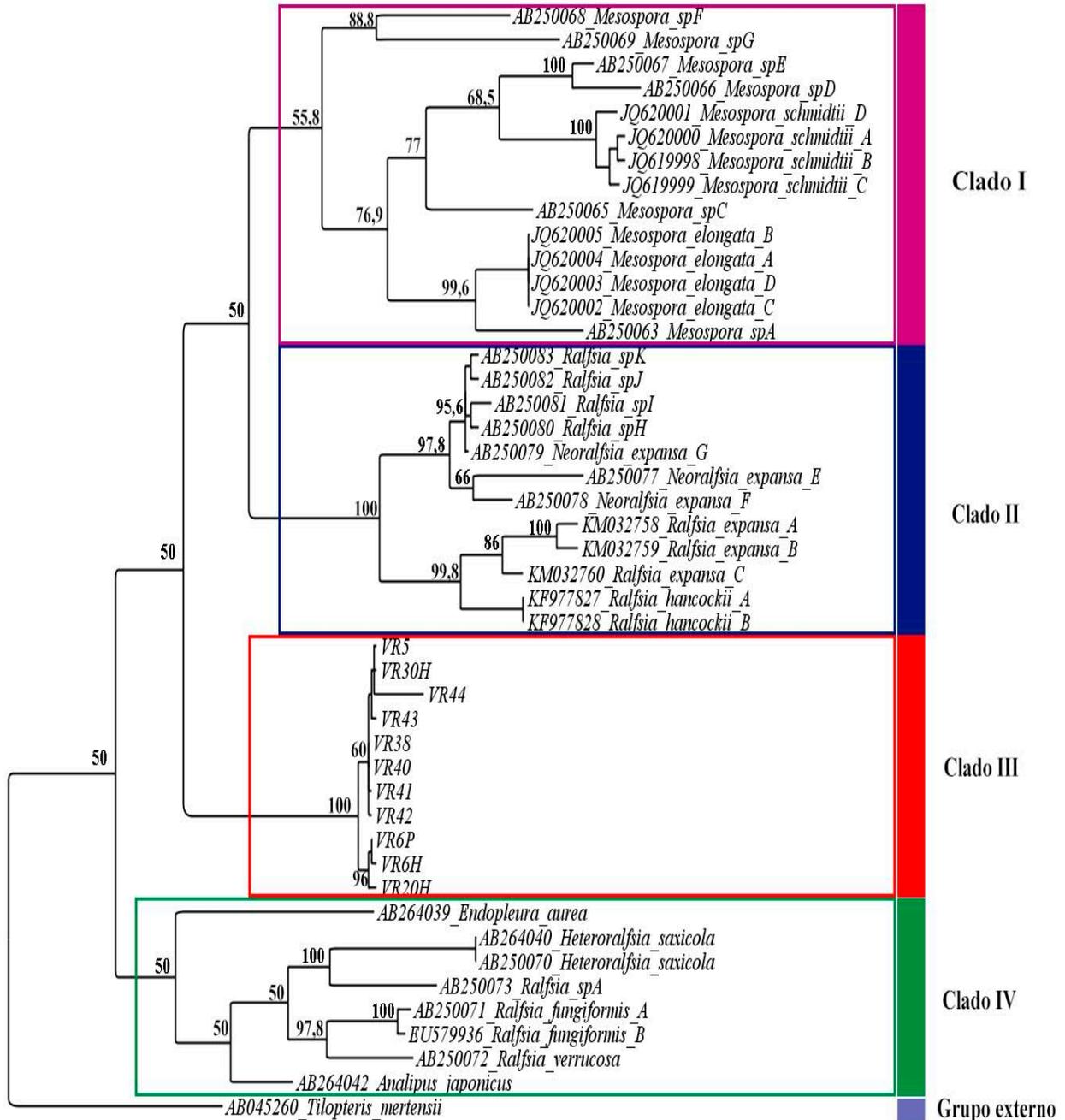
**Apéndice 6. Distancia p no corregida de Cox1.**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1 <i>EU681430_Tilopteris_mertensii</i>	-										
2 <i>JQ620013_Mesospora_elongata</i>	0.22351	-									
3 <i>JQ620012_Mesospora_elongata</i>	0.22517	0.00166	-								
4 <i>JQ620011_Mesospora_elongata</i>	0.22185	0.00166	0.00331	-							
5 <i>JQ620010_Mesospora_elongata</i>	0.22185	0.00166	0.00331	0.00000	-						
6 <i>JQ620009_Mesospora_schmidtii</i>	0.25000	0.19536	0.19371	0.19702	0.19702	-					
7 <i>JQ620008_Mesospora_schmidtii</i>	0.24669	0.21689	0.21523	0.21523	0.21523	0.12914	-				
8 <i>JQ620007_Mesospora_schmidtii</i>	0.24172	0.20364	0.20199	0.20199	0.20199	0.09437	0.07119	-			
9 <i>JQ620006_Mesospora_schmidtii</i>	0.24172	0.20364	0.20530	0.20199	0.20199	0.11755	0.09603	0.08113	-		
10 <i>EU681389_Analipus_japonicus</i>	0.20530	0.24669	0.24834	0.24503	0.24503	0.26325	0.26656	0.27649	0.25993	-	
11 <i>EU681419_Ralfsia_fungiformis</i>	0.18709	0.25828	0.25662	0.25828	0.25828	0.23179	0.24834	0.23179	0.23510	0.20364	-
12 <i>VR6H</i>	0.21854	0.23013	0.23179	0.23013	0.23013	0.25000	0.23841	0.24338	0.23344	0.21523	0.21026
13 <i>VR20H</i>	0.21963	0.23296	0.23463	0.23296	0.23296	0.24964	0.23802	0.24466	0.23299	0.21633	0.21298
14 <i>VR30H</i>	0.21192	0.23344	0.23510	0.23344	0.23344	0.24338	0.23344	0.23510	0.23179	0.21523	0.20695
15 <i>VR33</i>	0.23344	0.24503	0.24338	0.24338	0.24338	0.24834	0.22351	0.24338	0.25000	0.23841	0.23344
16 <i>VR35</i>	0.23179	0.24338	0.24172	0.24172	0.24172	0.24834	0.22351	0.24338	0.25000	0.24007	0.23510
17 <i>VR38</i>	0.21192	0.23344	0.23510	0.23344	0.23344	0.24338	0.23344	0.23510	0.23179	0.21523	0.20695
18 <i>VR39</i>	0.23344	0.24503	0.24338	0.24338	0.24338	0.24834	0.22351	0.24338	0.25000	0.23841	0.23344
19 <i>VR40</i>	0.21192	0.23344	0.23510	0.23344	0.23344	0.24338	0.23344	0.23510	0.23179	0.21523	0.20695
20 <i>VR41</i>	0.21192	0.23179	0.23344	0.23179	0.23179	0.24503	0.23510	0.23675	0.23344	0.21358	0.20695
21 <i>VR42</i>	0.21192	0.23344	0.23510	0.23344	0.23344	0.24338	0.23344	0.23510	0.23179	0.21523	0.20695
22 <i>VR43</i>	0.21192	0.23344	0.23510	0.23344	0.23344	0.24338	0.23344	0.23510	0.23179	0.21523	0.20695

	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
12 VR6H	-										
13 VR20H	0.00667	-									
14 VR30H	0.02649	0.02996	-								
15 VR33	0.22351	0.22303	0.22185	-							
16 VR35	0.22351	0.22303	0.22185	0.00166	-						
17 VR38	0.02649	0.02996	0.00000	0.22185	0.22185	-					
18 VR39	0.22351	0.22303	0.22185	0.00000	0.00166	0.22185	-				
19 VR40	0.02649	0.02996	0.00000	0.22185	0.22185	0.00000	0.22185	-			
20 VR41	0.02649	0.02997	0.00166	0.22185	0.22185	0.00166	0.22185	0.00166	-		
21 VR42	0.02649	0.02996	0.00000	0.22185	0.22185	0.00000	0.22185	0.00000	0.00166	-	
22 VR43	0.02649	0.02996	0.00000	0.22185	0.22185	0.00000	0.22185	0.00000	0.00166	0.00000	-

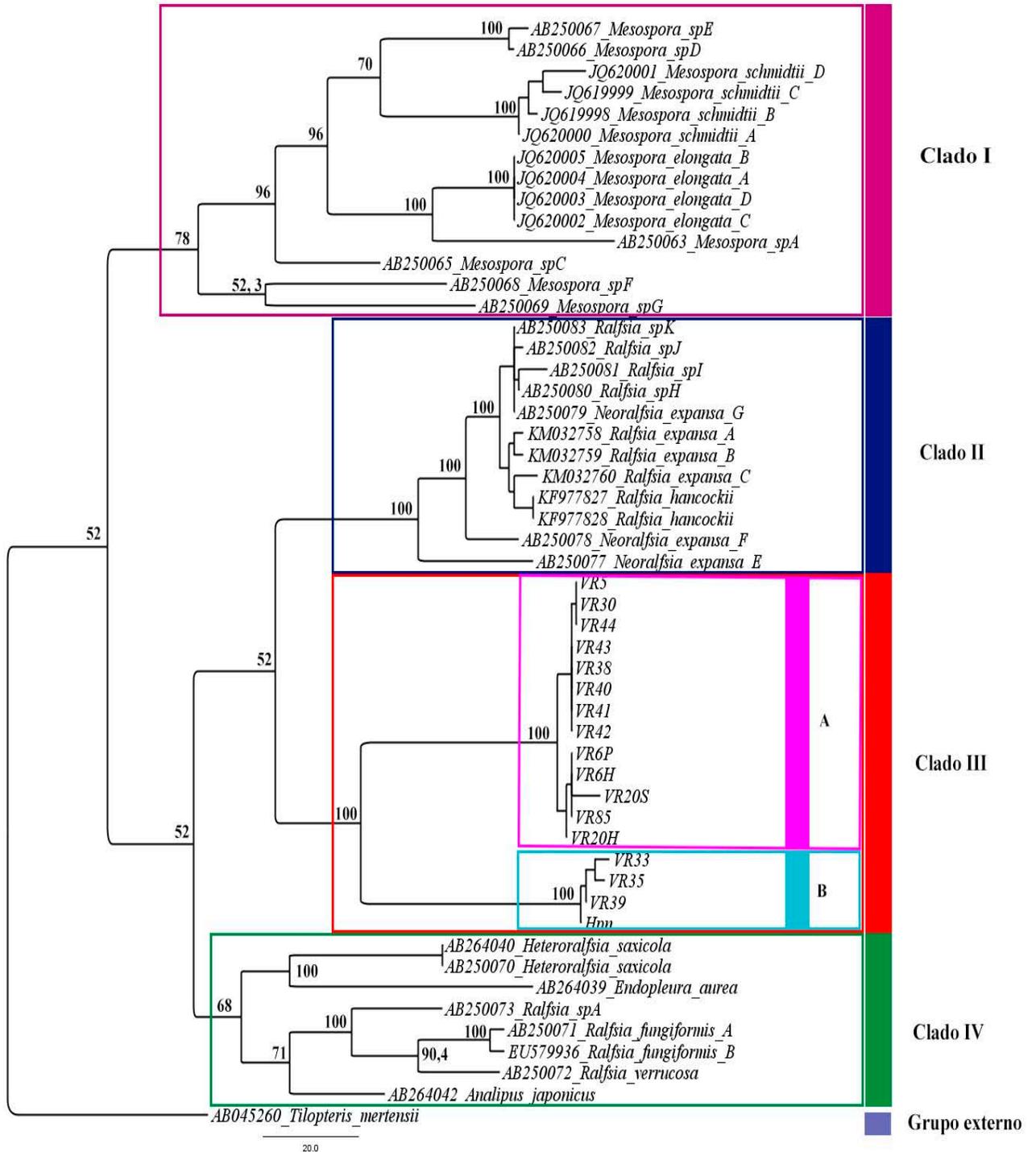
**Apéndice 7. Árbol consenso de MP de *rbcL\_1*.**

Longitud = 46, Índice de Consistencia = 0.4528. En los nodos se muestran los valores de bootstrap (1,000 réplicas). Los nodos que no presentan valores indican resultados de bootstrap inferiores a 50.

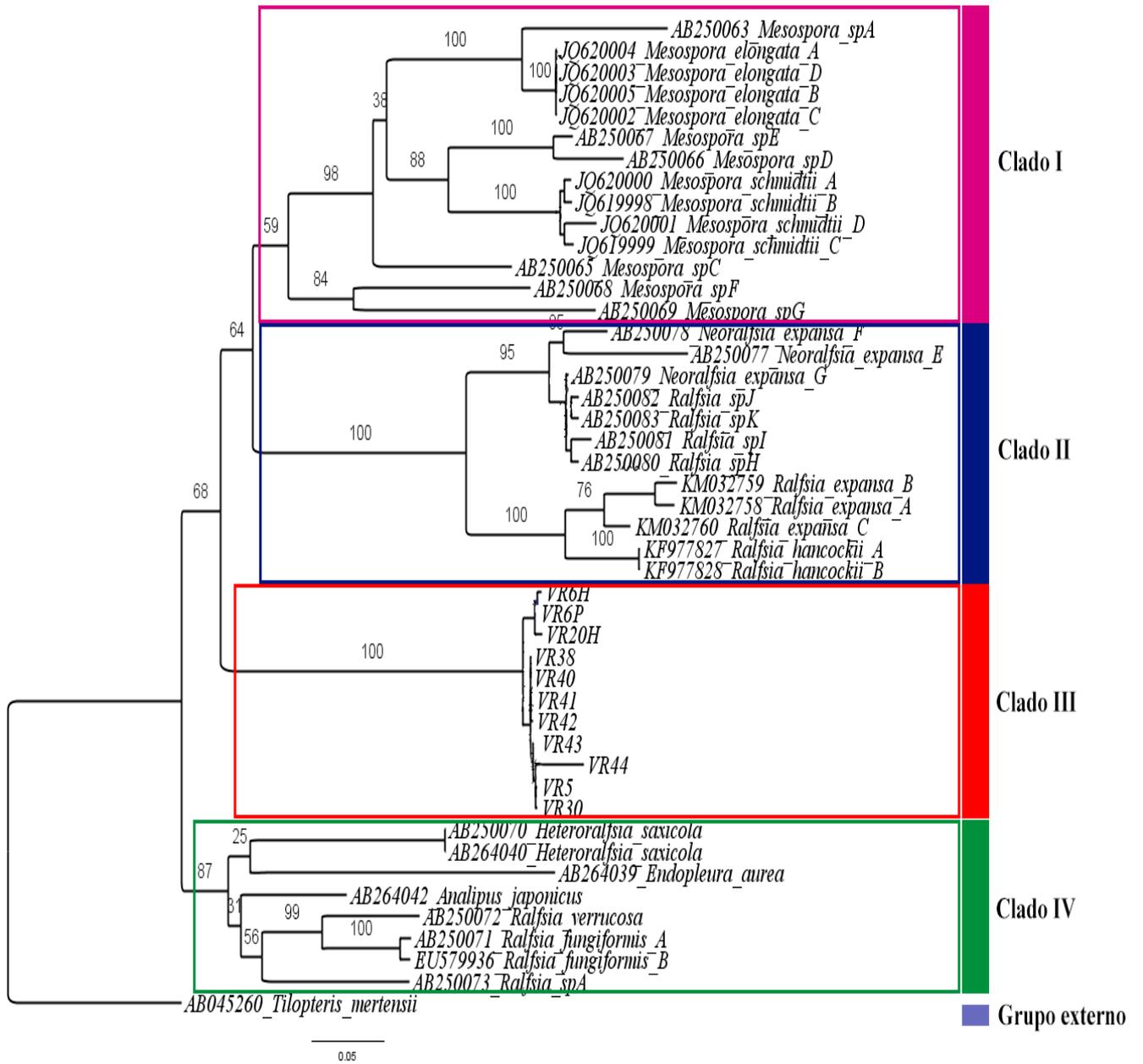


## Apéndice 8. Árbol consenso de MP para *rbcL\_2*.

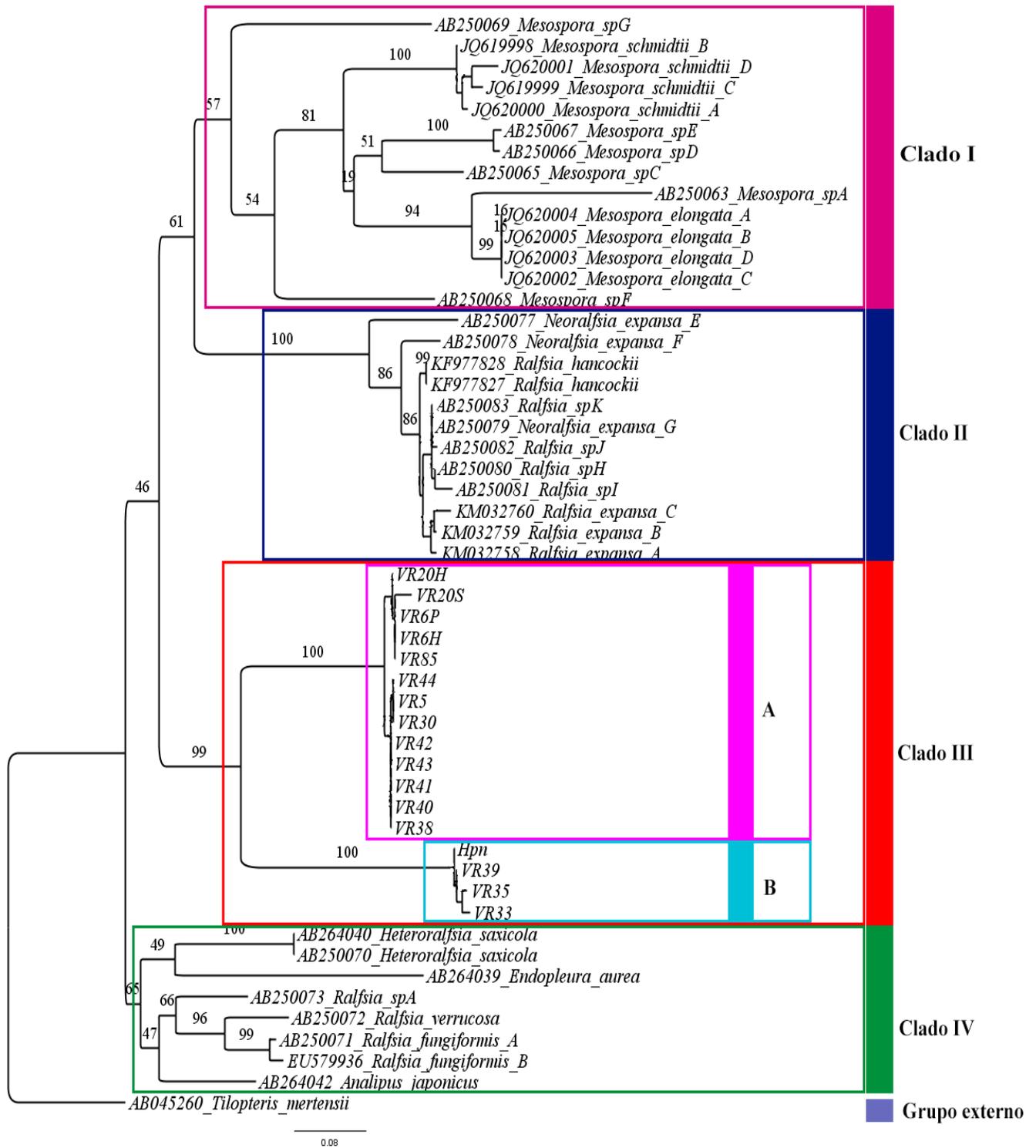
Longitud = 52, Índice de Consistencia = 0.4329. En los nodos se muestran los valores de bootstrap (1,000 réplicas). Los nodos que no presentan valores indican resultados de bootstrap inferiores a 50.



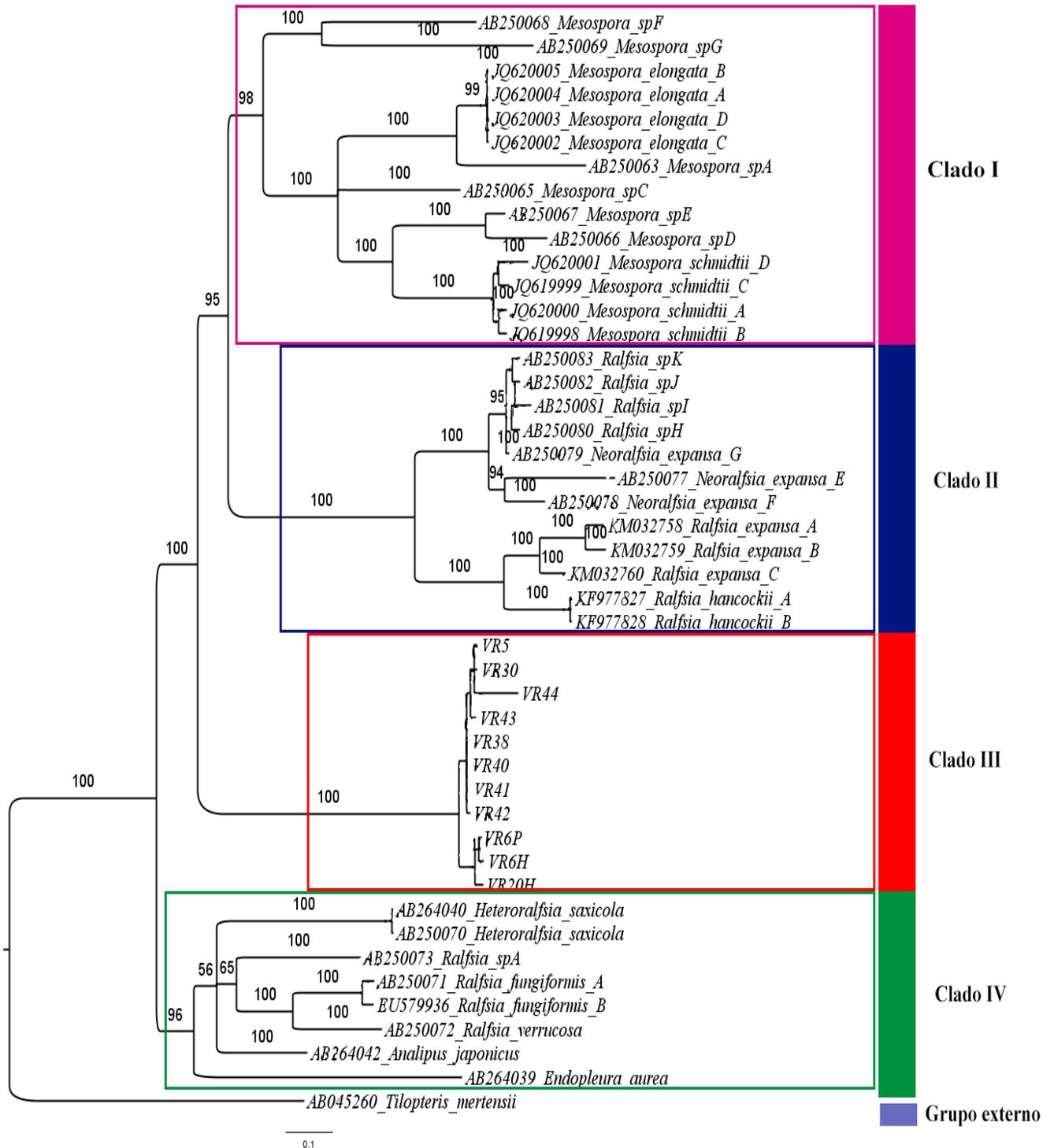
Apéndice 9. Filograma de Máxima Verosimilitud (MV) para *rbcL\_1* con valores bootstrap.



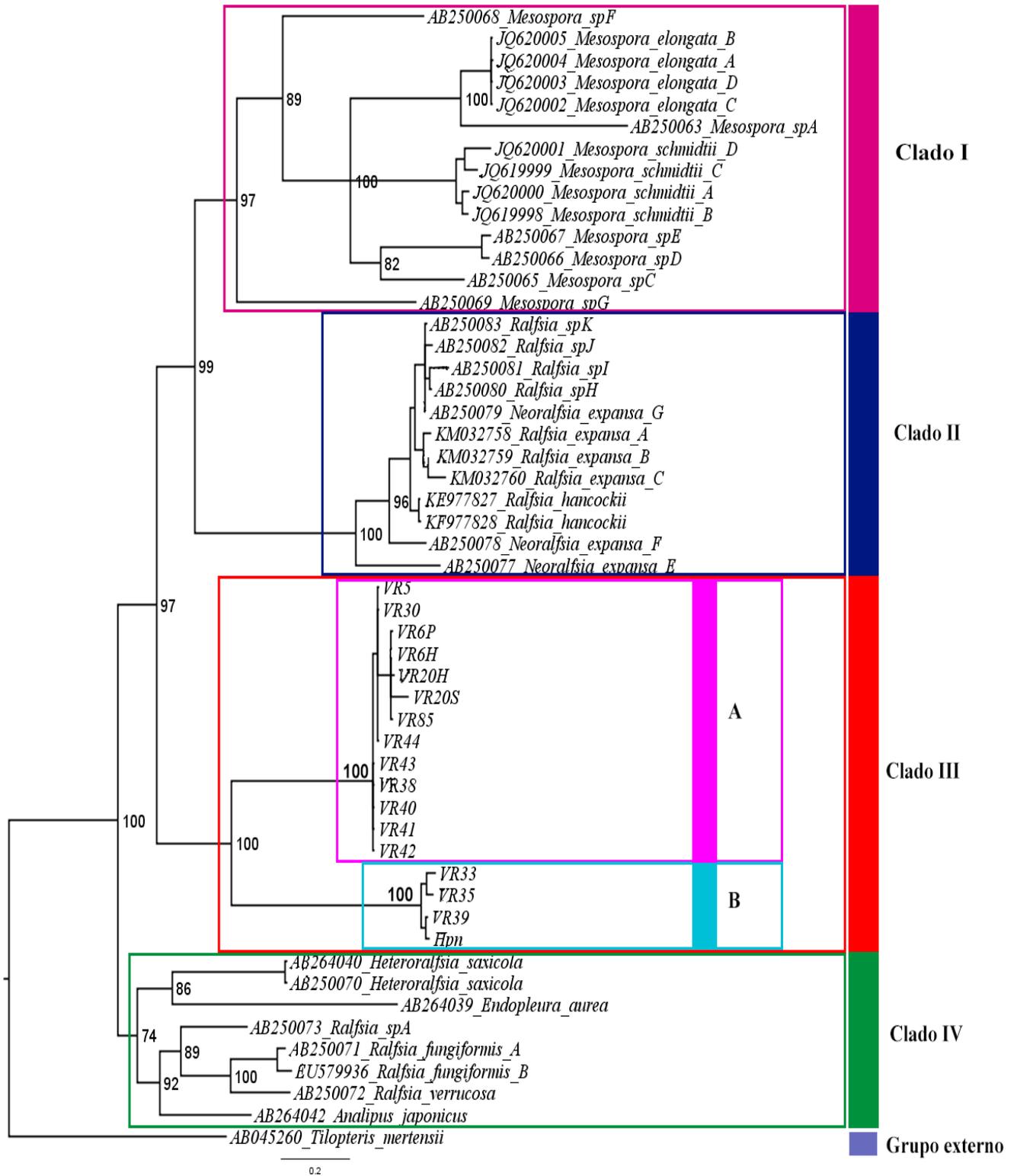
Apéndice 10. Filograma de Máxima Verosimilitud (MV) para *rbcL\_2* con valores bootstrap.



**Apéndice 11. Filograma de Inferencia Bayesiana para la matriz *rbcL*\_1 con valores de probabilidad posterior en las ramas.**



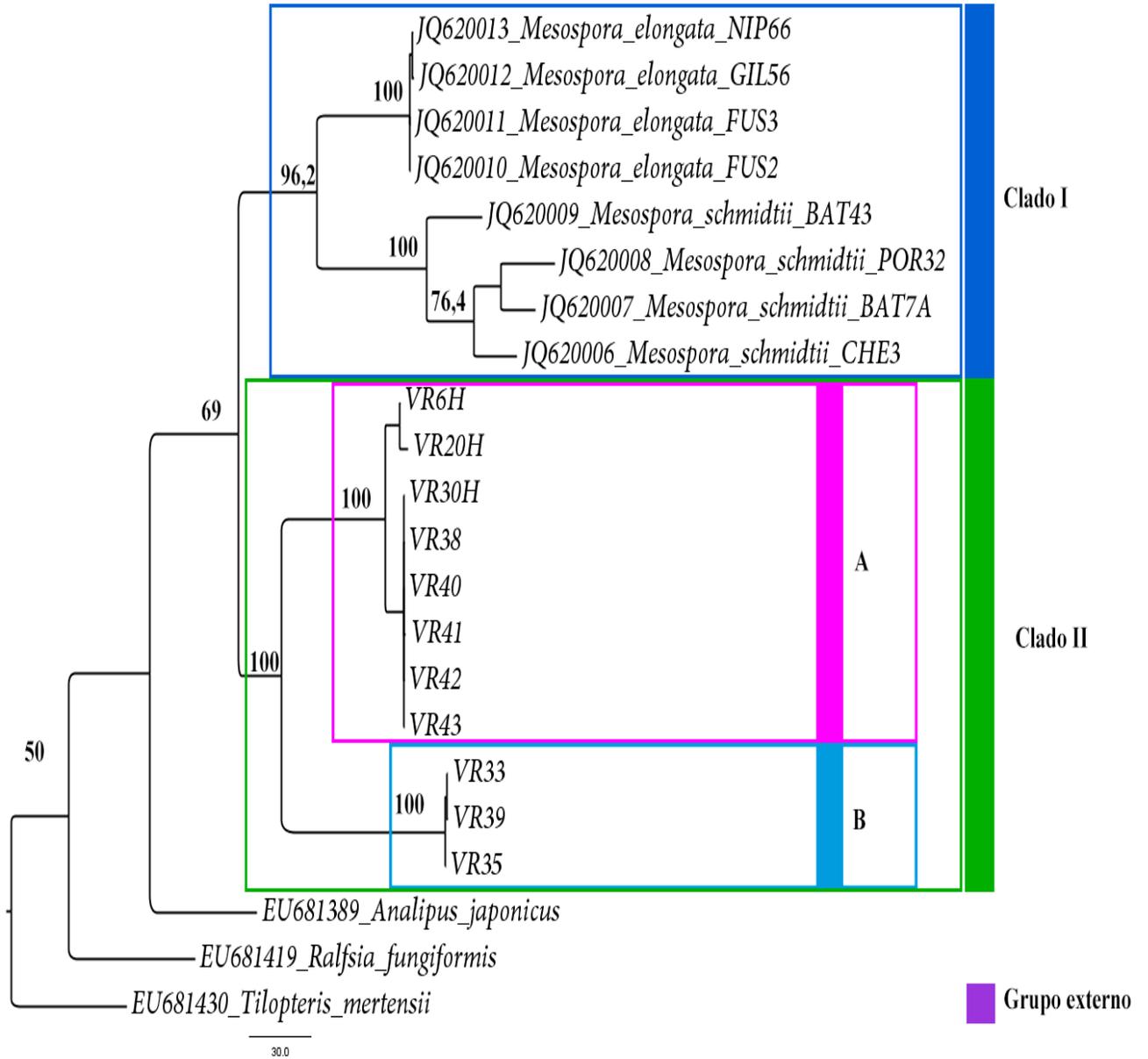
**Apéndice 12. Filograma de Inferencia Bayesiana para la matriz *rbcL\_2* con valores de probabilidad posterior en las ramas.**



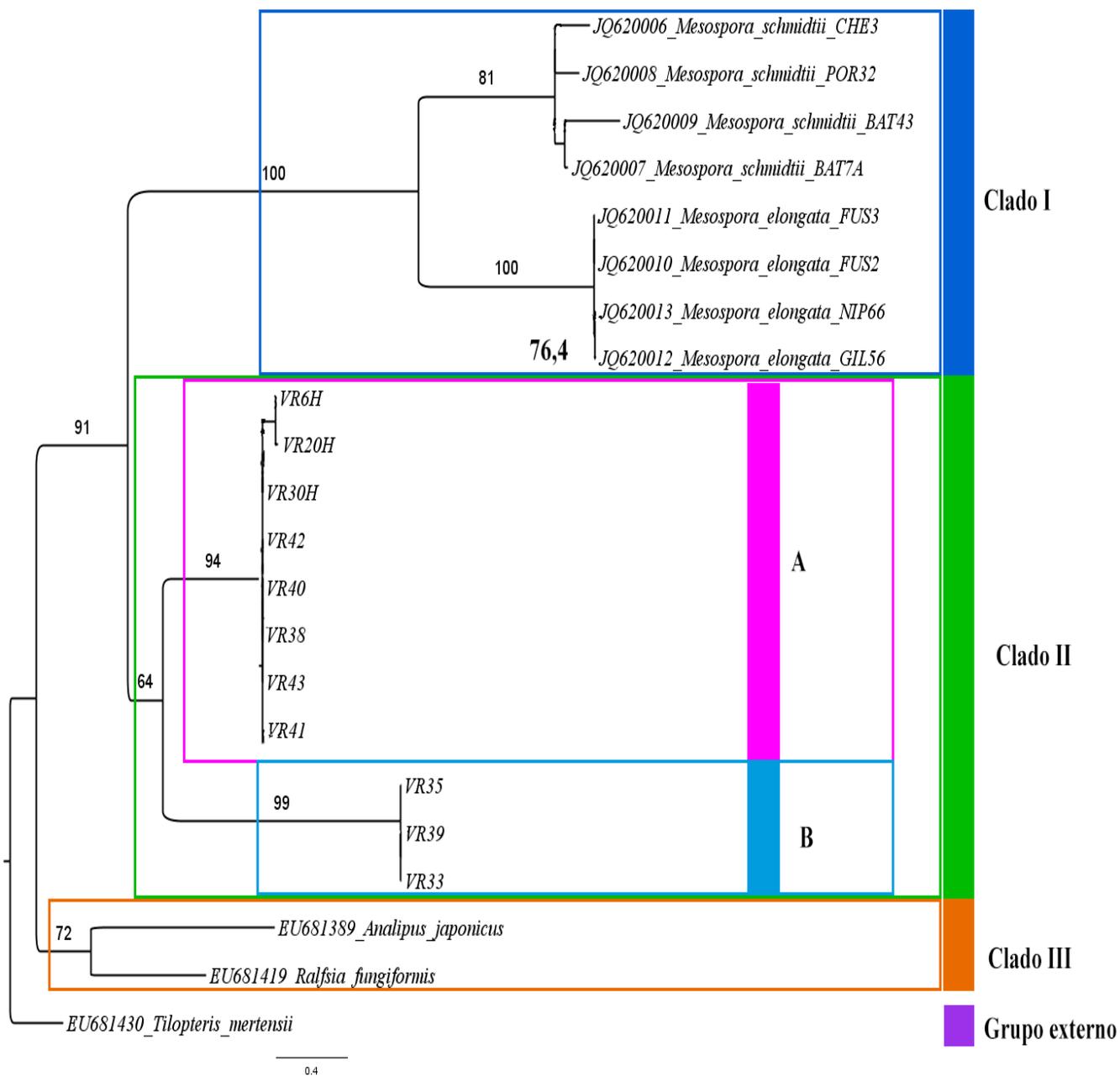
0.2

**Apéndice 13. Árbol consenso de MP para *Cox1*.**

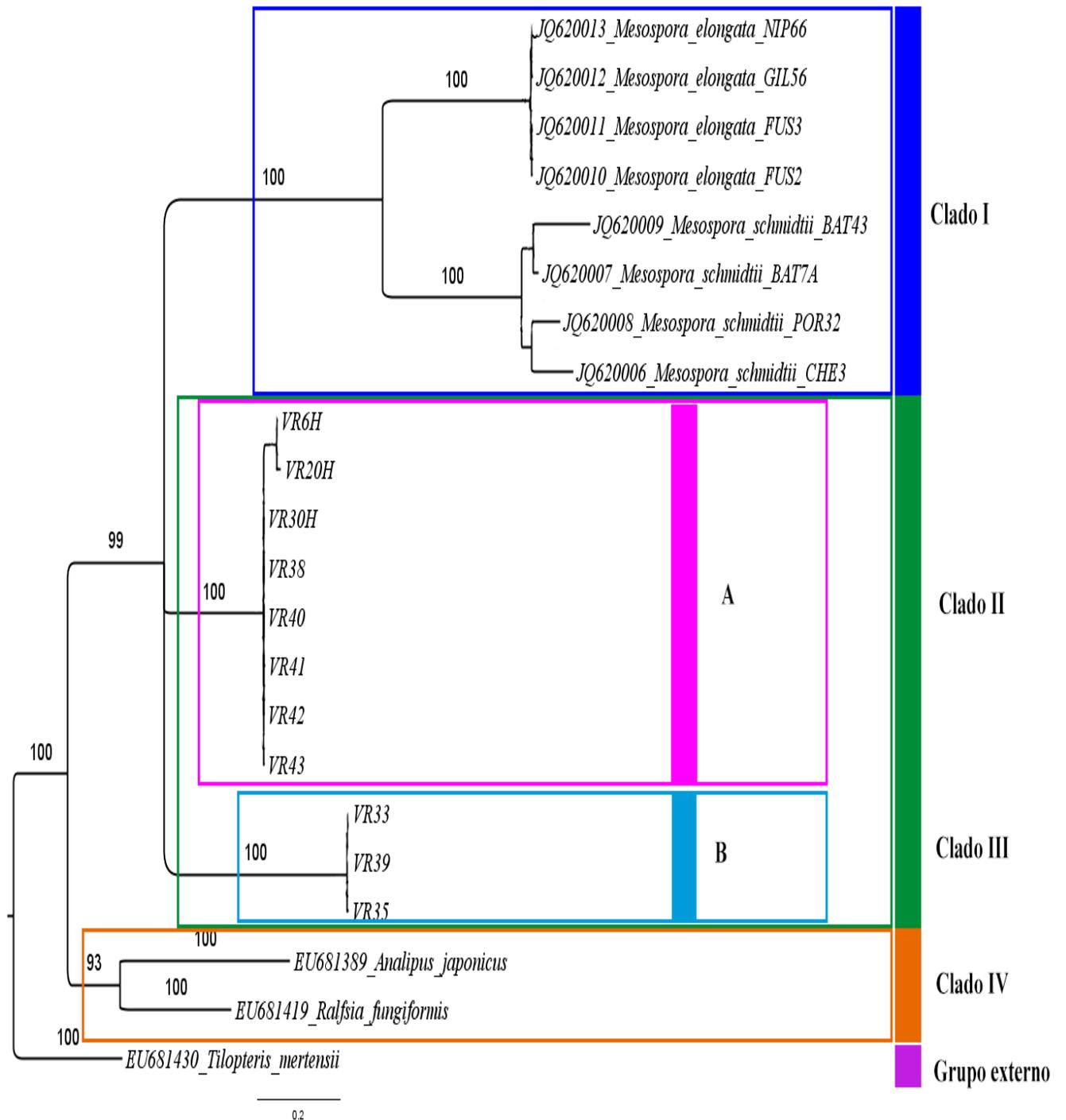
Longitud = 22, Índice de Consistencia = 0.5959. En los nodos se muestran los valores de bootstrap (bp=100).



**Apéndice 14. Filograma de Máxima Verosimilitud (MV) para *Cox1* con valores bootstrap (bp=100)**



**Apéndice 15. Filograma de Inferencia Bayesiana (IB) para *Cox1* con valores de probabilidad posterior en las ramas.**



**Apéndice 16. Análisis morfológico de UPGM incluyendo todos los ejemplares de herbario.**  
 Los nodos que no presentan valores indican resultados de bootstrap inferiores a 50.

