

ARTÍCULO

Diferenciación morfológica y molecular en el complejo *Rhodymenia corallina* (Rhodymeniaceae, Rhodophyta) de Perú central

Morphological and molecular differentiation in the *Rhodymenia corallina* complex (Rhodymeniaceae, Rhodophyta) from Central Peru

Melissa Perez-Alania^{1*}, Natalia Arakaki², Patricia Gil-Kodaka¹, Florence Tellier^{3,4} y María Eliana Ramírez⁵

¹Facultad de Pesquería, Universidad Nacional Agraria La Molina, Avenida La Universidad s/n, La Molina, Lima, Perú

²Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos, Instituto del Mar del Perú, Esquina Gamarra y General Valle s/n, Chucuito, Callao, Perú

³Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias, Universidad Católica de la Santísima Concepción, Alonso de Ribera 2850, Concepción, Chile

⁴Centro de Investigación en Biodiversidad y Ambientes Sustentables (CIBAS), Universidad Católica de la Santísima Concepción, Alonso de Ribera 2850, Concepción, Chile

⁵Área Botánica, Museo Nacional de Historia Natural, Parque Quinta Normal, Santiago, Chile

*Autor corresponsal: pe.al.melissalia@gmail.com

Abstract.- Seven species of *Rhodymenia* have been recorded for the coast of Peru, where six of them grow on the central coast: *R. corallina*, *R. howeana*, *R. multidigitata*, *R. flabellifolia*, *R. skottsbergii* and *R. californica*. The most controversial taxonomically is *R. corallina*, from which *R. howeana* and *R. multidigitata* have been separated, only on the basis of external morphological characters (stipe form and frond habit). Recent and intensive collections of this species complex in the central coast of Peru (9°S to 15°S) have allowed gathering several morphotypes, evidencing high morphological variability, which makes difficult to differentiate each of the taxa involved. The aim of this work was to clarify the taxonomy of this complex by combining morphological data, both vegetative and reproductive, and genetic sequences through the use of *rbcl* and COI-5P markers. Specimens from Callao, type locality of *R. howeana* and *R. multidigitata*, were molecularly analyzed together with material from the central (Casma to Marcona, 9-15°S) and northern coast of Peru (Piura, 6°S), as well as northern Chile (Coquimbo, 30°S), solving two *Rhodymenia* groups. A first phylogenetic group, associated to *R. corallina* from Chile (Coquimbo, 30°S), is distributed along the entire Peruvian central coast (Casma to Marcona, 9-15°S), and a second group is restricted to the northern coast of Peru (Piura to Casma, 6-9°S). These groups differ in characters of external and reproductive morphology. Based on features of the tetrasporangial sori, *R. howeana* is recognized for northern Peru.

Key words: COI-5P, phylogeny, *Rhodymenia howeana*, *Rhodymenia multidigitata*, *rbcl*

Resumen.- Siete especies de *Rhodymenia* han sido registradas para la costa de Perú, donde seis de ellas crecen en la costa central: *R. corallina*, *R. howeana*, *R. multidigitata*, *R. flabellifolia*, *R. skottsbergii* y *R. californica*. La más conflictiva taxonómicamente es *R. corallina*, de la cual se han segregado *R. howeana* y *R. multidigitata*, solo en base a caracteres morfológicos externos (forma del estipe y hábito de la fronda). Recolecciones recientes e intensivas de este complejo de especies en la costa central del Perú (9°S hasta 15°S) han permitido reunir varios morfotipos, evidenciando la alta variabilidad morfológica presente, que dificulta el poder diferenciar cada uno de los taxones involucrados. El objetivo del presente trabajo fue esclarecer la taxonomía de este complejo mediante la combinación de datos morfológicos, tanto vegetativos como reproductivos, y de secuencias genéticas utilizando los marcadores *rbcl* y COI-5P. Especímenes de Callao, localidad tipo de *R. howeana* y *R. multidigitata*, fueron analizados molecularmente junto con material de la costa central (Casma hasta Marcona, 9-15°S) y norte de Perú (Piura, 6°S), así como del norte chico de Chile (Coquimbo, 30°S), resolviendo dos grupos de *Rhodymenia*: un primer grupo filogenético asociado a *R. corallina* de Chile (Coquimbo, 30°S), distribuido a lo largo de toda la costa central peruana (Casma hasta Marcona, 9-15°S) y un segundo grupo restringido a la costa norte de Perú (Piura a Casma, 6-9°S). Estos grupos se diferencian en caracteres de la morfología externa y reproductiva. Basado en características del soro tetrasporangial, se reconoce a *R. howeana* para el norte del Perú.

Palabras clave: COI-5P, filogenia, *Rhodymenia howeana*, *Rhodymenia multidigitata*, *rbcl*

INTRODUCCIÓN

Rhodymenia corallina (Bory) Greville es una de las siete especies del género registradas para la costa peruana (Guiry & Guiry 2019), distribuida desde Paita (5°S) en el norte, hasta Bahía Independencia (14°S) en el sur (Ramírez & Santelices 1991). Esta especie tiene como localidad tipo Concepción, en Chile central (36°S), y presenta registros en Sudamérica temperada (Perú y Chile, Ramírez & Santelices 1991) y en el Pacífico Tropical Oriental, específicamente en el Indo-Pacífico Oeste (Tanzania, Silva *et al.* 1996), Indo-Pacífico central (Indonesia y Papúa Nueva Guinea, Verheij & Prud'homme van Reine 1993, Littler & Littler 2003, Atmadja & Prud'homme van Reine 2012), e Indo-Pacífico Este (Polinesia Francesa, N'Yeurt & Payri 2010, Tsuda & Walsh 2013). En la costa central del Perú (9°S hasta 15°S) se registran además las especies *Rhodymenia multidigitata* E. Y. Dawson, Acleto & Foldvik, endémica de Perú, *Rhodymenia howeana* E. Y. Dawson y *Rhodymenia skottsbergii* E. Y. Dawson, presentes en Perú y Chile, *Rhodymenia flabellifolia* (Bory) Montagne, con distribución desde Ecuador hasta Chile, y *Rhodymenia californica* Kylin, distribuida en las costas del Pacífico Norte y en Sudamérica desde Ecuador hasta Chile (Taylor 1945, Ramírez & Santelices 1991, Silva & Chacana 2005). La especie *Rhodymenia peruviana* J. Agardh fue descrita en 1852 sin especificar una localidad tipo (“al sur de Perú”) (Howe 1914).

Bory de Saint-Vincent (1828) describió *Rhodymenia corallina* (como *Sphaerococcus corallinus*), en base a especímenes recolectados en Concepción, Chile. Los especímenes muestran un estipe bien desarrollado y ramificado, con frondas planas y dicótomas, linealmente elongadas y ápices obtusos. Trabajos posteriores (Howe 1914, Dawson 1941, Dawson *et al.* 1964, Etcheverry 1986) complementan la caracterización de esta especie, describiendo la morfología de sus estructuras reproductivas (soro tetrasporangial y cistocarpo).

La forma y tamaño del estipe, así como el patrón de ramificación y forma de los ápices en las especies de *Rhodymenia* han sido utilizados por Dawson (1941) y Dawson *et al.* (1964) como caracteres diagnósticos para la delimitación de las especies de este género en Perú, indicando que *R. corallina* forma parte del “complejo morfológico de especies de *Rhodymenia* en el área de la costa central del Perú, junto con *R. flabellifolia*, *R. howeana* y *R. multidigitata*”. *Rhodymenia flabellifolia* es una especie claramente reconocida y separada del resto de especies del complejo por presentar un talo arbustivo, con frondas insertas en ejes erectos semi-rígidos que se ramifican simpodialmente (Dawson 1941, Dawson *et al.* 1964). En consecuencia, el complejo morfológico involucraría sólo a tres especies. *R. multidigitata* y *R. howeana* han sido descritas en base a ejemplares de Perú, *R. multidigitata*

con ejemplares de Callao (12°S, Perú central) y el caso particular de *R. howeana* descrita en base a 2 recolectas, con 2 ejemplares de Callao (12°S, Perú central) y un ejemplar de Piura (6°S, norte del Perú).

Las especies de *Rhodymenia* presentan una amplia variabilidad en el hábito y grosor del talo (Hawkes & Scagel 1986, Womersley 1996, Filloramo & Saunders 2016a), por lo cual la naturaleza del estipe y características morfológicas de estructuras reproductivas, como la morfología de los soros, su ubicación respecto al ápice y grado de modificación de los tetrasporangios en la corteza, han sido importantes en la clasificación de especies de este género (Agardh 1876, Dawson 1941, Guiry 1977). De esta forma, la ausencia de estas estructuras de importancia taxonómica en muestras recolectadas, la plasticidad del hábito y la convergencia evolutiva dificultan la determinación de especies en el complejo de especies *R. corallina*. El uso de herramientas moleculares integrado a la taxonomía tradicional ha permitido resolver la identidad de algunos taxones al delimitarlos en base a diferencias en las secuencias genéticas y un análisis morfológico (Cianciola *et al.* 2010, Saunders & McDonald 2010, Filloramo & Saunders 2016a, Filloramo & Saunders 2018).

Estudios de diversidad alfa en *Rhodymenia* y la familia Rhodymeniaceae han demostrado la utilidad del uso de marcadores moleculares en la delimitación de especies dentro de complejos morfológicos que resultan de la monotonía morfológica o la plasticidad fenotípica, especies crípticas, o especies ampliamente distribuidas (Ballantine *et al.* 2010, Saunders & McDonald 2010, Schneider *et al.* 2012, Filloramo & Saunders 2016a, 2018). A pesar de que no existen en la literatura trabajos filogenéticos de *Rhodymenia* de Perú, *R. corallina* ha sido representada con 2 secuencias *rbcL* incluidas en el alineamiento de trabajos recientes, ambas obtenidas de especímenes recolectados en Coquimbo, Chile (Gavio & Fredericq 2003, Schmidt *et al.* 2016). También, una secuencia COI-5P de *R. corallina* de Chile (Chiloé) ha sido generada para un estudio sobre diversidad del género *Rhodymenia* y su distribución en las costas australianas (Filloramo & Saunders 2016a).

La clasificación de los especímenes del complejo morfológico *Rhodymenia corallina* de Perú se dificulta por la presencia de morfologías intermedias entre las formas reconocidas y la ausencia de caracteres estables de importancia taxonómica que ayuden en su diferenciación. En un esfuerzo por generar información filogenética y morfológica acerca del complejo morfológico *R. corallina* de Perú central, se analizaron muestras procedentes de localidades de la costa central con el objetivo de diferenciar la especie *R. corallina* de las especies *R. howeana* y *R. multidigitata*, mediante análisis morfológico y de secuencias *rbcL* y COI-5P.

MATERIALES Y MÉTODOS

RECOLECCIÓN DE MATERIAL

En la costa central del Perú, entre Casma (Ancash, 9°S) y Marcona (Ica, 15°S), se recolectaron 47 especímenes de *Rhodymenia*, provenientes principalmente de material varado o recolectados mediante buceo SCUBA, representando una variedad de morfotipos del complejo. Para tener una mejor representatividad de la diversidad genética del complejo morfológico *R. corallina*, se consideraron también 4 especímenes del norte chico de Chile (Coquimbo, 30°S, a 770 km al norte de la localidad tipo de *R. corallina*) y un ejemplar del norte de Perú (Piura, 6°S), específicamente de la Isla Lobos de Tierra, localidad de recolección de uno de los tres especímenes tipo de *R. howeana* (Fig. 1, Tabla 1). En total, 52 especímenes fueron prensados en hojas de herbario y fragmentos de talo de cada espécimen fueron conservados en una solución de formol al 4% en agua de mar para el estudio de la morfología. Estas muestras, herbario y líquidas, fueron depositadas en la Colección Científica del Instituto del Mar del Perú (IMARPE), Perú.

ANÁLISIS MOLECULAR

Para el análisis molecular se consideraron el ejemplar de Perú norte, los 4 ejemplares de Chile y 22 ejemplares de Perú central que representaban diferentes morfologías (Tabla 1).

A partir de trozos de talo de material herborizado, se extrajo ADN utilizando el protocolo CTAB modificado de Soltis Lab¹ (2002) (basado en Doyle & Doyle 1987, Cullings 1992) y el kit de extracción GF-1 Plant DNA Extraction (Vivantis™). Para los 27 especímenes analizados, las secuencias *rbcL* fueron amplificadas de acuerdo a Schmidt *et al.* (2016), empleando los iniciadores F15, F57, F577, R916, R753, R1150 y R1381 (Hommersand *et al.* 1994, Gabriel *et al.* 2016). Adicionalmente, para 8 especímenes de Perú central, se consideró la región COI-5P como marcador secundario para validar los resultados obtenidos con *rbcL*. La amplificación de esta región se realizó siguiendo el programa para PCR de Filloramo & Saunders (2016a) y se utilizaron los iniciadores GazF1, GazR1, GazF2 (Saunders 2005) y R686 (Sherwood *et al.* 2010). Las muestras fueron purificadas y secuenciadas por MacroGen Inc. (Corea del Sur).

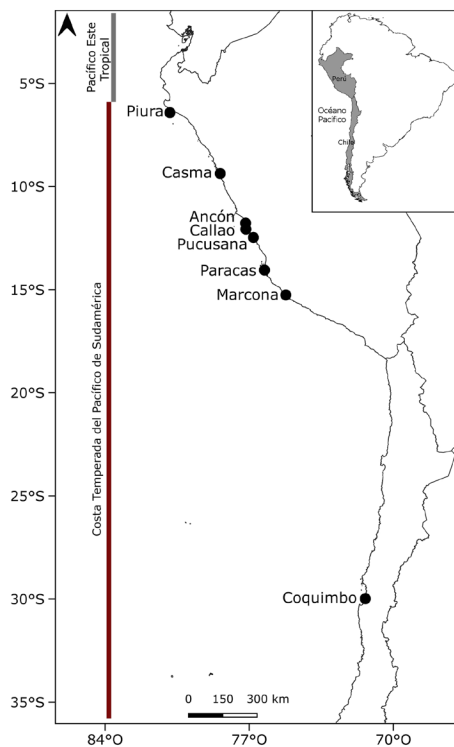


Figura 1. Mapa de la costa de Perú y Chile mostrando las ecorregiones marinas y localidades de recolección de los especímenes de *Rhodymenia* estudiados / Map of Peruvian and Chilean coast showing marine ecoregions and collection sites of *Rhodymenia* specimens in study

¹Soltis Lab. 2002. Florida Museum. <<https://www.floridamuseum.ufl.edu/museum-voices/soltis-lab/files/2014/02/CTAB-DNA-Extraction.pdf>> (Soltis Lab CTAB DNA Extraction Protocol)

Tabla 1. Información de los especímenes de *Rhodymenia* recolectados y utilizados en el análisis molecular: información de recolección, código de espécimen, número de acceso GenBank de las secuencias obtenidas, especie inferida en base a las filogenias y referencia a figuras de ilustración de la morfología / Information about *Rhodymenia* specimens collected and used in molecular analyses: information on collection, specimen code, GenBank accession numbers for the generated sequences, species inferred on the basis of phylogenies and reference to morphology illustration figures

Lugar de recolección	Fecha de colecta	Colectores	Código de espécimen	Secuencia <i>rbcl</i>	Secuencia COI-5P	Especie	Ilustración de la morfología
Piura, Piura, Perú Isla Lobos de Tierra, 06°25'00,59"S, 80°51'15,78"O	26.ii.2018	P. Carbajal & otros	BG-902	MN092232	-	<i>R. howeana</i>	
Casma, Ancash, Perú Caleta de Tortugas, 09°22'11,39"S, 78°24'44,27"O	31.v.2016	N. Arakaki & M. Torres	BG-249	MN092233	MN092259	<i>R. howeana</i>	Fig. 7
			BG-250	MN092234	MN092260	<i>R. howeana</i>	Fig. 7
			BG-300	MN092235	MN092261	<i>R. howeana</i>	Fig. 7
			BG-922	MN092236*	-	<i>R. howeana</i>	
			BG-923	MN092237*	-	<i>R. howeana</i>	
			BG-924	MN092238	-	<i>R. howeana</i>	
			BG-901	MN092239	-	<i>R. corallina</i>	Figs. 4 y 5
Las Mellizas-La Gramita, 09°43'03,34"S, 78°17'42,27"O	16.iii.2018	P. Carbajal & otros					
Ancón, Lima, Perú Bahía de Ancón, 11°46'24,46"S, 77°10'36,13"O	11.xi.2016	M. Perez & otros	BG-237	MN092240	-	<i>R. corallina</i>	Fig. 4
Callao, Perú Muelle de IMARPE, Chucuito, 12°03'57,80"S, 77°09'30,23"O	30.xii.2016	E. Pariona & G. Vega	BG-258	MN092241	-	<i>R. corallina</i>	
			BG-259	MN092242	-	<i>R. corallina</i>	Fig. 4
Cantolao, La Punta, 12°04'12,19"S, 77°09'54,58"O	17.x.2016	M. Perez & otros	BG-241	MN092243	-	<i>R. corallina</i>	
	19.v.2018	M. Perez	BG-920	MN092244	-	<i>R. corallina</i>	Figs. 4 y 5
Isla San Lorenzo, 12°04'12,23"S, 77°13'19,86"O	6.vii.2015	A. Gamarra	BG-256	MN092245	-	<i>R. corallina</i>	Figs. 4, 5 y 6
Pucusana, Lima, Perú El Chunchu, 12°28'18,36"S, 76°47'56,28"O	22.v.2016	A. Gamarra & otros	BG-246	MN092246	-	<i>R. corallina</i>	Figs. 4 y 5
Paracas, Ica, Perú Mendieta, 14°03'07,90"S, 76°15'37,90"O	3.iv.2016	M. Perez & otros	BG-276	MN092247	MN092262	<i>R. corallina</i>	Fig. 5
			BG-277	MN092248	MN092263	<i>R. corallina</i>	Fig. 6
			BG-278	MN092249	MN092264	<i>R. corallina</i>	Figs. 4 y 6
			BG-216	MN092250	-	<i>R. corallina</i>	
Punta Gallinazo, 14°05'22,48"S, 76°17'33,92"O	2.iv.2016	A. Gamarra					
Marcona, Ica, Perú Bahía San Nicolás, 15°15'25,20"S, 75°13'27,70"O	22.x.2016	M. Perez & otros	BG-239	MN092251	-	<i>R. corallina</i>	
			BG-244	MN092252	MN092265	<i>R. corallina</i>	Fig. 4
			BG-245	MN092253	-	<i>R. corallina</i>	Fig. 6
			BG-218	MN092254	MN092266	<i>R. corallina</i>	Figs. 4 y 5
Muelle Marcona, 15°21'31,13"S, 75°09'39,19"O	27.iv.2016	A. Gamarra					
Coquimbo, Chile El Bucanero, La Herradura, 29°58'58,90"S, 71°21'36,60"O	16.vii.2017	E. Macaya & otros	BG-917	MN092255	-	<i>R. corallina</i>	

*: Secuencias *rbcl* de corta longitud (MN092236: 972 pb y MN092237: 910 pb), por lo cual fueron excluidas del análisis filogenético. No obstante, estas secuencias parciales fueron idénticas a la secuencia MN092238, considerándose como *Rhodymenia howeana*

Las secuencias obtenidas fueron editadas manualmente con el programa CodonCode Aligner 7.0. (CodonCode Corporation). Adicionalmente, se incluyeron secuencias disponibles en GenBank para el género *Rhodymenia* y la familia Rhodymeniaceae (Filloramo & Saunders 2016b) como grupo interno, y de la familia Frycellaceae como grupo externo (Saunders & McDonald 2010) (Anexo Tabla S1). El compilado de secuencias fue alineado utilizando el algoritmo MUSCLE en MEGA7 v.7.0.26 (Kumar *et al.* 2016) y las distancias genéticas fueron calculadas en MEGA7 como distancias *P* no corregidas.

Las secuencias de *rbcl* y COI-5P fueron analizadas de forma independiente con los métodos de Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB). El análisis de Máxima Verosimilitud fue implementado en RAXML v.8.2.X (Stamatakis 2014), con un *bootstrap* de 1000 réplicas y utilizando la interfaz gráfica de usuario raxmlGUI v.1.5 (Silvestro & Michalak 2012). Se consideró el modelo GTR+GAMMA+I, seleccionado en jModelTest 2 (Darriba *et al.* 2012) utilizando el Criterio de Información de Akaike (AIC). El análisis filogenético de Inferencia Bayesiana fue realizado con el programa MrBayes v.3.2.6 (Ronquist *et al.* 2012), con el modelo GTR+G+I, seleccionado en jModelTest 2, sin partición de codón. El análisis consistió en 2 procesos independientes, cada uno con 3 cadenas

templadas y una cadena fría, 10 millones de generaciones y muestreos cada 1000 generaciones. La convergencia de corridas fue evaluada con el programa Tracer v.1.6.0 (Rambaut *et al.* 2014), descartando el primer 25% de los árboles de cada proceso como periodo de calentamiento o *burn-in*.

ANÁLISIS MORFOLÓGICO

Con el propósito de comparar los especímenes recolectados para el presente trabajo con aquellos descritos previamente por taxónomos, se revisaron los ejemplares del complejo morfológico que habían sido depositados en el Herbario del Museo de Historia Natural, Lima (USM) y en el Museo Nacional de Historia Natural de Santiago, Chile (SGO) (Thiers 2017). En Lima, 2 ejemplares se encuentran registrados como *Rhodymenia corallina* y 6 como *R. howeana*. Siete de los 8 especímenes han sido recolectados en los alrededores de Lima (Ancón, Callao, Pucusana; 11-12°S), con excepción de un espécimen de *R. corallina* procedente del norte de Perú (Piura, 5-7°S). En Santiago, los 11 especímenes revisados han sido registrados como *R. corallina* y recolectados entre la frontera de Chile con Perú (18°S) y la localidad tipo, Concepción (36°S).

El hábito de los 52 especímenes herborizados para el presente trabajo (47 de Perú central, 1 de Perú norte y 4 de Chile) fue registrado con un escáner y fotografiado con un estereoscopio Zeiss® Discovery V.12.

MORFOLOGÍA INTERNA

Para el análisis de la morfología interna de las estructuras vegetativas y reproductivas, se realizaron cortes longitudinales en 18 ejemplares de Perú central, utilizando para ello una hoja de afeitar de acero inoxidable, bajo estereoscopio. Segmentos del talo fueron teñidos con azul de anilina al 1%, enjuagados con HCl al 1% y montados en jarabe de maíz KARO al 50%. Las observaciones morfológicas fueron registradas con un capturador de imágenes Leica® DFC290 HD acoplado a un microscopio Leica® DM1000 LED.

Los caracteres morfológicos internos considerados fueron: grosor del talo en los segmentos medios, número de capas de células de la médula y corteza y el grado de modificación de la corteza en los soros tetrasporangiales.

MORFOLOGÍA EXTERNA (HÁBITO)

En la evaluación de los caracteres morfológicos externos se analizaron los 22 ejemplares de Perú central también incluidos en el análisis molecular, y 4 ejemplares, recolectados en Casma. Estos últimos fueron agregados para contar con una mayor representatividad de la diversidad morfológica en una de las especies encontradas.

En una primera etapa, se evaluaron los siguientes caracteres de la morfología externa: tipo de estructura de fijación, forma y tamaño del estipe, tipo de ramificación, textura de la fronda, longitud de fronda, número de dicotomías, longitud y ancho del primer segmento (a la primera dicotomía), longitud y ancho de los segmentos medios y finales, crecimiento de proliferaciones, forma de los ápices, ubicación y forma externa de las estructuras reproductivas, principalmente de los soros tetrasporangiales.

En una segunda etapa, y considerando los mismos ejemplares, se realizó un análisis exclusivamente cuantitativo considerando las siguientes variables: longitud de la fronda (Lf), ancho de la fronda (Af), longitud del estipe (Le), ancho del estipe (Ae), longitud del primer segmento (Lps), ancho del primer segmento (Aps), longitud de los segmentos medios (Lsm), ancho de los segmentos medios (Asm), y las razones Lf/Af, Lps/Aps, Lsm/Asm y Lf/Le. Para comparar los caracteres entre las 2 especies encontradas en el análisis filogenético (*Rhodymenia corallina* y *R. howeana*) se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis en IBM SPSS Statistics versión 22 (IBM, Armonk, New York).

RESULTADOS

ANÁLISIS MOLECULAR

rbcL

Todas las secuencias obtenidas para *rbcL* están depositadas en GenBank con los números de acceso MN092232 a MN092258 (Tabla 1). El alineamiento utilizado en el análisis filogenético de la familia Rhodymeniaceae consistió en un total de 58 secuencias de *rbcL* (1004 pares de bases, pb), 25 de las cuales fueron generadas en este estudio (Tabla 1). Las secuencias MN092236 y MN092237 fueron excluidas del análisis filogenético por tener un tamaño inferior (972 y 910 pb, respectivamente). Estas secuencias son idénticas a MN092238.

La filogenia obtenida con el análisis de Inferencia Bayesiana tiene una topología similar a la obtenida con el análisis de Máxima Verosimilitud, a excepción de la posición de *Rhodymenia delicatula*, la cual se describe más adelante. En la topología resultante para ambos análisis, *Rhodymenia* y *Cordylecladia* conforman un clado fuertemente soportado (*bootstrap* para el análisis MV= 90%, y PPB= 0,98 de probabilidad posterior bayesiana), hermano a *Botryocladia*, con el cual se agrupan con bajo soporte (MV < 50%, PPB= 0,54; Fig. 2).

Las especies de *Rhodymenia* forman un grupo con bajo soporte (MV < 50%, PPB= 0,61), donde los valores de divergencia interespecífica varían entre 1,5 y 9% (Tabla 2). *R. pseudopalmata* y *R. divaricata* forman un clado (MV= 89%, PPB= 1,00) posicionado en la base del género. Las otras especies de *Rhodymenia* se resuelven en 2 grupos y el taxón *R. delicatula*. La posición de este último no queda bien resuelta en la filogenia obtenida con MV, mientras que se encuentra separado de los 2 grupos en la filogenia obtenida con IB. Un grupo bien soportado está conformado por *R. bamfieldensis*, *R. rizoides*, *R. californica*, *R. intricata* y *R. pacifica*, todas distribuidas en el Pacífico Norte (EE.UU., Canadá y Japón). El otro grupo, medianamente soportado (MV= 56%; PPB= 0,93), incluye *R. corallina*, *R. capensis*, *R. obtusa*, *R. stenoglossa* y *R. skottsbergii*, distribuidas en el Pacífico Sur y el Atlántico Sur (Perú, Chile, Australia y Sudáfrica), así como las secuencias de *Rhodymenia* generadas en el presente trabajo (Fig. 2).

Las secuencias de *Rhodymenia* de Perú y las secuencias de *R. corallina* de Chile se agrupan en un clado fuertemente soportado (MV= 100%, PPB= 1,00), subdividido en 2 grupos monofiléticos con altos soportes (MV= 98 y 100%; PPB= 1,00 y 0,98), y separados por una distancia *P* media de 1,6% (Tabla 2). Esto sugiere la presencia de 2 especies distintas (véase Discusión), que denominaremos *R. corallina* y *R. howeana*, por la presencia de las 2 secuencias de GenBank registradas como *R. corallina* de Chile en uno de los grupos y la presencia de la secuencia obtenida de Piura (la localidad tipo de uno de los especímenes tipo de *R. howeana*) en el otro grupo.

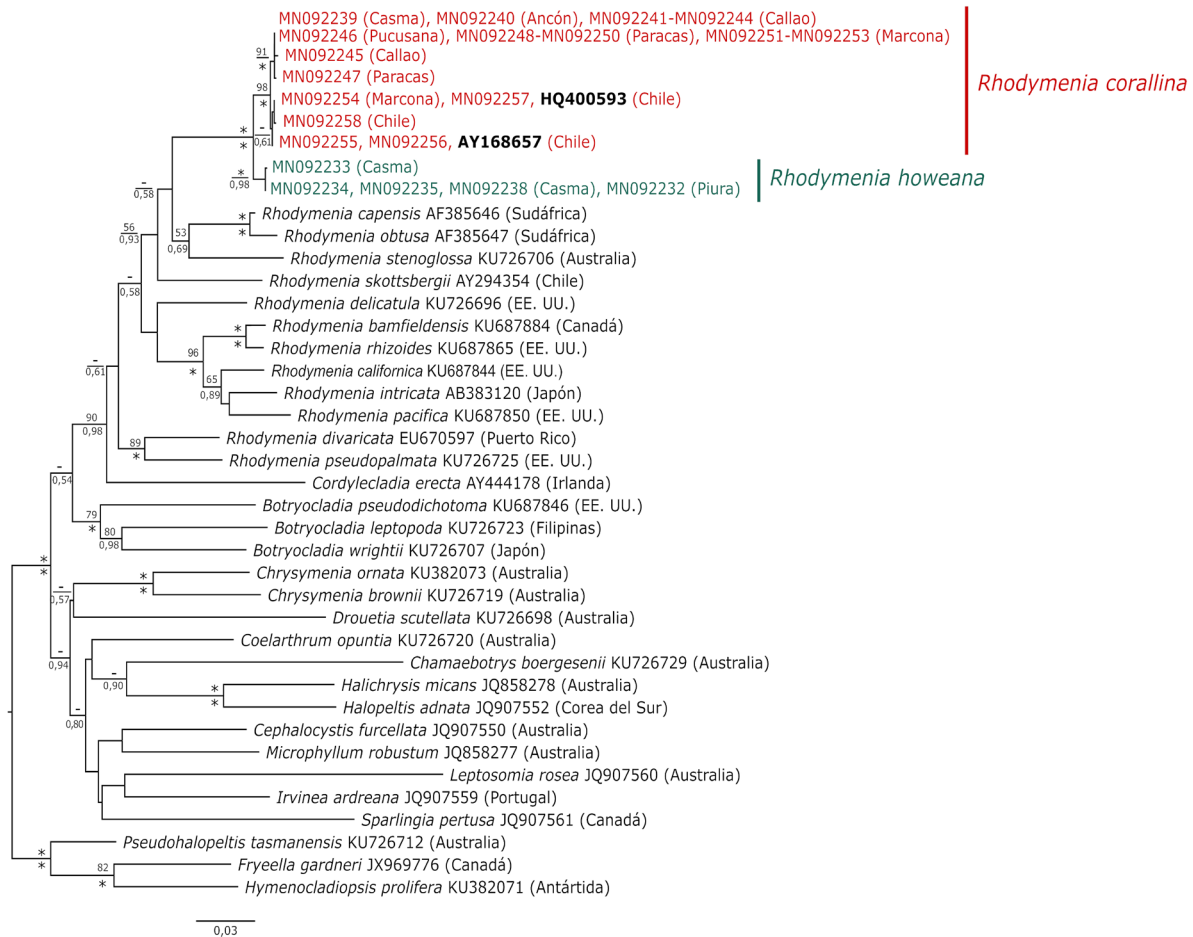


Figura 2. Árbol filogenético inferido en RAxML a partir de secuencias *rbcL* de *Rhodymenia* de la costa central del Perú y de secuencias disponibles en GenBank del género *Rhodymenia* y de otros géneros de la familia Rhodymeniaceae, así como 3 taxones de la familia Fryeellaceae como grupo externo. Las secuencias obtenidas en el presente estudio se indican con color, las secuencias de *R. corallina* disponibles en GenBank en formato negrita. Los números sobre las ramas indican los valores de *bootstrap* (ML) y debajo de las ramas, la probabilidad posterior Bayesiana (PPB). Los asteriscos (*) denotan soporte total (100% o 1,00); no se incluyen soportes con valores por debajo del 50% para ML ni por debajo de 0,5 para PPB / Phylogenetic tree inferred in RAxML from *rbcL* sequences of *Rhodymenia* from the central coast of Peru and sequences available in GenBank for the *Rhodymenia* genus and for other genera of the Rhodymeniaceae family, as well as 3 taxa of the Fryeellaceae family as outgroup. Colored letters indicate the sequences obtained in the present study; sequences of *R. corallina* from GenBank are in bold. The numbers over the branches indicate the bootstrap value (ML) and, below the branches, the posterior Bayesian probability (PPB). Asterisks (*) denote total support (100% or 1.00); supports with values below 50% for ML and below 0.5 for PPB are not included

Tabla 2. Distancias *P* no corregidas (porcentaje) en secuencias *rbcL* entre especies de *Rhodymenia* y *Cordylecladia* incluidas en este estudio. Adicionalmente, se indica el rango de distancias intraespecíficas para *R. corallina* y *R. howeana* / Uncorrected *P*-distances (percentage) in *rbcL* sequences among *Rhodymenia* and *Cordylecladia* species included in this study. In addition, the range of intraspecific distances for *R. corallina* and *R. howeana* is indicated

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1 <i>R. howeana</i> (0-0,1%)														
2 <i>R. corallina</i> (0-0,5%)	1,6													
3 <i>R. obtusa</i>	7,1	7,1												
4 <i>R. capensis</i>	6,6	6,7	1,5											
5 <i>R. stenoglossa</i>	7,3	7,6	6,3	5,8										
6 <i>R. skottsbergii</i>	7,6	7,9	8,1	8,3	8,0									
7 <i>R. californica</i>	8,2	8,5	6,7	6,7	7,4	7,9								
8 <i>R. rhizoides</i>	8,4	9,0	7,3	6,8	7,2	8,3	4,8							
9 <i>R. bamfieldensis</i>	8,0	8,4	7,1	6,6	7,2	7,9	4,8	1,9						
10 <i>R. delicatula</i>	8,6	9,0	7,6	7,4	7,2	8,1	6,9	6,5	6,7					
11 <i>R. pacifica</i>	8,4	8,8	7,6	7,8	7,6	8,1	4,6	5,7	5,3	7,9				
12 <i>R. intricata</i>	8,5	9,0	7,1	6,8	6,8	8,4	4,0	5,4	5,6	7,4	4,5			
13 <i>R. divaricata</i>	7,1	7,0	7,7	7,7	8,4	7,7	7,8	8,3	7,9	7,7	8,1	7,7		
14 <i>R. pseudopalmata</i>	8,0	8,4	8,4	8,0	7,8	8,8	7,2	7,9	8,1	7,4	7,8	7,3	5,8	
15 <i>C. erecta</i>	10,9	10,9	9,5	9,4	10,2	11,1	10,0	10,2	10,5	9,2	10,0	9,3	10,9	10,4

El grupo monofilético correspondiente a *Rhodymenia corallina* incluye 16 secuencias de ejemplares de Perú central (Casma a Marcona, 9-15°S) y 6 secuencias de Chile, tanto las generadas en este trabajo como las procedentes de GenBank, todas de ejemplares recolectados en Coquimbo (30°S). El grupo presenta entre 0 y 0,5% de variación genética intraespecífica y agrupa seis haplotipos, tres de ellos registrados únicamente en Perú, 2 en Chile y uno compartido entre Marcona (Perú) y Coquimbo (Chile).

En *Rhodymenia howeana* se encuentran agrupadas la secuencia del único ejemplar de Piura (6°S) con 6 de las 7 secuencias obtenidas para ejemplares recolectados en Casma (9°S). Nótese que MN092236 y MN092237 no están incluidos en el análisis filogenético, pero son idénticos a MN092238. Este grupo presenta entre 0 y 0,1% de variación genética intraespecífica, con 2 haplotipos, uno presente en Piura y Casma y el otro registrado en un único individuo de Casma.

COI-5P

Todas las secuencias obtenidas para COI-5P están depositadas en GenBank con los números de acceso MN092259 a MN092266 (Tabla 1). El alineamiento de estas secuencias consistió en 562 pb, incluyendo 49 secuencias, 8 de las cuales han sido generadas en este estudio y corresponden a especímenes previamente asignados a *Rhodymenia corallina* o *R. howeana* con el marcador cloroplastidial. La filogenia obtenida con el análisis de IB resuelve las mismas agrupaciones que en la topología obtenida con el análisis de MV, pero no resuelve las relaciones entre aquellas secuencias agrupadas con bajo soporte con el análisis de MV, como por ejemplo entre géneros de Rhodymeniaceae y entre subgrupos de *Rhodymenia* del Pacífico y Atlántico Sur (Fig. 3).

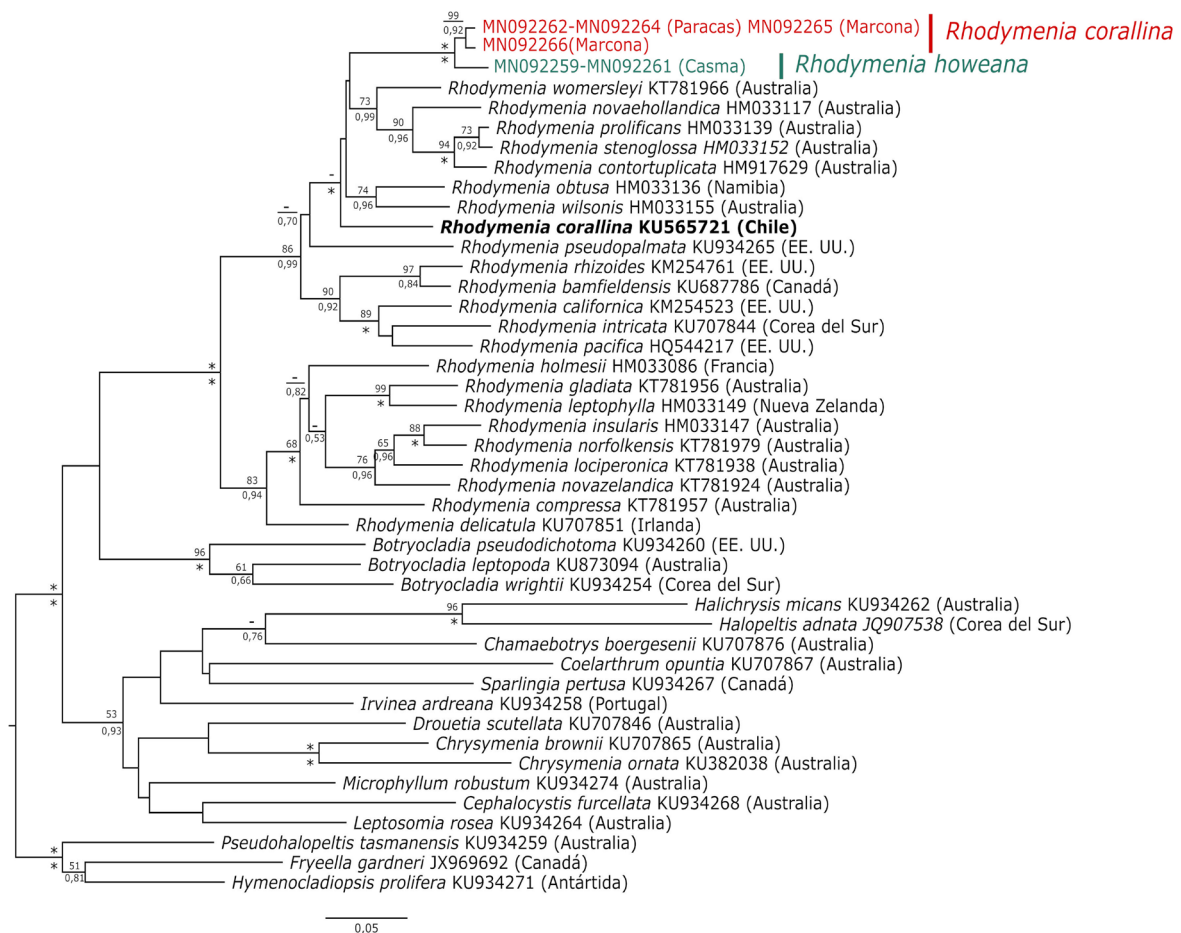


Figura 3. Árbol filogenético inferido en RAxML a partir de secuencias COI-5P de *Rhodymenia* de la costa central del Perú y de secuencias disponibles en GenBank del género *Rhodymenia* y de otros géneros de la familia Rhodymeniaceae, así como 3 taxones de la familia Fryeellaceae como grupo externo. Las secuencias obtenidas en el presente estudio se indican con color, las secuencias de *R. corallina* disponibles en GenBank en formato negrita. Los números sobre las ramas indican los valores de *bootstrap* (ML) y, debajo de las ramas, la probabilidad posterior Bayesiana (PPB); los asteriscos (*) denotan soporte total (100% o 1,00); no se incluyen soportes con valores por debajo del 50% para ML ni por debajo de 0,5 para PPB / Phylogenetic tree inferred in RAxML from COI-5P sequences of *Rhodymenia* from the central coast of Peru and sequences available in GenBank for the *Rhodymenia* genus, and for other genera of the Rhodymeniaceae family, as well as 3 taxa of the Fryeellaceae family as outgroup. Colored letters indicate the sequences obtained in the present study; sequences of *R. corallina* available in GenBank are in bold. The numbers over the branches indicate the bootstrap value (ML) and below the branches, the posterior Bayesian probability (PPB); the asterisks (*) denote total support (100% or 1.00); supports with values below 50% for ML and below 0.5 for PPB are not included

Ambas filogenias muestran un agrupamiento bien soportado de Rhodymeniaceae (MV= 100%, PPB= 1,00), donde *Rhodymenia* forma un clado claramente soportado (MV= 100%, PPB= 1,00; Fig. 3). También se resuelve el clado que representa a *Botryocladia* (MV= 96%, PPB= 1,00), mientras que en un grupo medianamente soportado (ML= 53%, PPB= 0,93) se reúnen el resto de géneros de Rhodymeniaceae: *Halichrysis*, *Halopeltis*, *Chamaebotrys*, *Coelarthrum*, *Sparlingia*, *Irvinea*, *Drouetia*, *Chrysymenia*, *Microphyllum*, *Cephalocystis* y *Leptosomia* (Fig. 3).

Las especies de *Rhodymenia* presentan un rango de divergencia interespecífica entre 1,3 y 15%, dividiéndose en 2 grupos. El primer grupo está formado por especies de Australia, Nueva Zelanda, Irlanda y Francia, a saber *R. holmesii*, *R. gladiata*, *R. leptophylla*, *R. insularis*, *R. norfolkensis*, *R. lociperonica*, *R. novazelandica*, *R. compressa* y *R. delicatula* (Fig. 3). En el segundo grupo se distinguen 2 subgrupos y el taxón correspondiente a la especie tipo *R. pseudopalmata*. Uno de los subgrupos está conformado por especies del Pacífico Norte (EE.UU., Canadá y Corea del Sur): *R. rhizoides*, *R. bamfieldensis*, *R. californica*, *R. intricata* y *R. pacifica*. El otro subgrupo incluye especies del Pacífico sur y del Atlántico Sur (Australia, Sudáfrica, Perú y Chile): *R. womersleyi*, *R. novaehollandica*, *R. prolificans*, *R. stenoglossa*, *R. contortuplicata*, *R. obtusa* y *R. wilsonis*, además de *R. corallina* y las secuencias generadas en este estudio (Fig. 3).

Los tres especímenes asignados a *Rhodymenia howeana* en base al marcador *rbcL* presentan secuencias COI-5P

idénticas (haplotipo único). En un grupo hermano y bien soportado (MV= 99%, PPB= 0,92), se encuentran los cinco especímenes asignados previamente a *R. corallina*, por lo que el análisis de secuencias COI-5P permite corroborar los resultados obtenidos con el marcador *rbcL* para los especímenes de Perú (Fig. 3), diferenciando *R. howeana* y *R. corallina* de Perú. Estas están separadas por una distancia *P* media de 2,9% (Tabla 3), donde *R. corallina* incluye 2 haplotipos, con 1,1% de divergencia intraespecífica. Cabe destacar que la única secuencia de *R. corallina* disponible en GenBank y procedente de Chile no se asocia con el clado *R. corallina* de Perú, siendo separados por una distancia *P* media de 8,6%.

ANÁLISIS MORFOLÓGICO

De los 26 ejemplares de Perú central para los cuales se midieron caracteres -morfológicos externos, 16 fueron asignados a *Rhodymenia corallina* y 6 asignados a *R. howeana*, en base al análisis filogenético. Los 4 ejemplares adicionales, procedentes de Casma, corresponden a un ejemplar de *R. corallina* y a 3 de *R. howeana*. La caracterización morfológica interna se realizó en 15 ejemplares de *R. corallina* y 3 de *R. howeana* de la costa central de Perú. Adicionalmente, se midieron caracteres externos de los 4 ejemplares de Coquimbo. Las características morfológicas vegetativas y reproductivas de ambas especies se presentan en la Tabla 4, donde también se compara con lo descrito en la literatura para *R. multidigitata*, *R. howeana* y *R. corallina*, de acuerdo a Howe (1914), Dawson (1941) y Dawson *et al.* (1964).

Tabla 3. Distancias *P* no corregidas (porcentajes) en secuencias COI-5P entre especies de *Rhodymenia* incluidas en este estudio. Adicionalmente, se indica el rango de distancias intraespecíficas para *R. corallina* y *R. howeana* / Uncorrected *P*-distances (percentage) in COI-5P sequences among *Rhodymenia* species included in this study. In addition, the range of intraspecific distances for *R. corallina* and *R. howeana* is indicated

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
1 <i>R. howeana</i> (0,0%)																									
2 <i>R. corallina</i> (Perú) (0,0-1,1%)	2,9																								
3 <i>R. corallina</i> (Chile)	9,1	8,6																							
4 <i>R. obtusa</i>	8,8	7,6	7,5																						
5 <i>R. wilsonis</i>	8,9	8,8	6,8	6,4																					
6 <i>R. stenoglossa</i>	9,8	8,9	6,8	8,2	8,6																				
7 <i>R. pseudopalmata</i>	11,1	11,1	10,4	9,5	10,0	10,0																			
8 <i>R. rhizoides</i>	9,6	9,8	8,4	10,0	9,1	8,2	10,7																		
9 <i>R. bamfieldensis</i>	9,1	9,3	9,6	9,8	10,2	9,6	10,2	3,8																	
10 <i>R. californica</i>	9,3	9,6	9,3	9,8	10,0	10,5	10,2	8,2	8,9																
11 <i>R. intricata</i>	10,0	10,1	10,5	10,4	11,8	11,1	12,0	9,3	8,8	7,5															
12 <i>R. pacifica</i>	10,4	10,5	10,2	10,7	10,7	10,5	10,4	9,3	9,5	7,1	7,5														
13 <i>R. delicatula</i>	11,1	10,8	9,3	10,2	9,3	10,0	11,8	10,4	10,4	11,6	11,6	10,9													
14 <i>R. compressa</i>	12,5	12,9	12,0	13,8	13,0	12,5	14,8	14,8	14,1	14,5	13,2	13,8	9,1												
15 <i>R. contortuplicata</i>	10,2	9,9	7,3	8,4	8,8	3,4	10,2	8,8	10,2	10,9	10,9	10,7	10,9	13,4											
16 <i>R. novaehollandica</i>	10,2	9,7	8,4	8,2	8,6	6,4	10,2	10,4	11,3	10,9	10,7	10,9	11,4	13,9	6,4										
17 <i>R. gladiata</i>	11,6	10,9	11,8	12,7	12,0	12,5	13,6	11,8	12,3	12,3	14,1	13,8	9,8	9,5	13,4	12,9									
18 <i>R. holmesii</i>	11,4	11,4	9,8	11,4	10,9	11,4	14,3	12,9	12,5	12,3	13,4	13,2	9,1	9,5	12,0	12,7	9,6								
19 <i>R. insularis</i>	12,3	12,0	12,1	12,3	12,7	14,1	15,0	12,7	13,0	13,0	13,6	13,6	11,3	11,1	14,1	13,2	10,5	10,7							
20 <i>R. leptophylla</i>	12,0	11,5	12,3	13,4	12,3	12,7	14,8	12,0	12,1	13,0	14,5	13,2	9,5	10,2	13,8	13,9	6,3	10,2	10,0						
21 <i>R. lociperonica</i>	10,5	11,0	11,6	12,7	12,0	12,3	13,4	11,4	11,8	12,7	12,7	12,3	8,9	9,5	12,9	12,9	9,1	10,0	7,1	9,3					
22 <i>R. norfolkensis</i>	11,6	11,6	11,4	12,0	11,6	13,2	15,0	12,0	12,3	12,0	11,8	12,9	9,6	9,8	13,2	12,7	8,4	8,9	5,0	9,6	6,3				
23 <i>R. novazelandica</i>	11,8	11,5	11,1	11,6	12,0	13,0	14,8	12,7	13,2	13,8	14,5	13,9	10,2	8,8	13,8	13,4	10,4	9,3	7,1	9,8	6,8	7,1			
24 <i>R. prolificans</i>	9,5	9,3	7,0	8,8	8,8	1,3	9,8	8,2	9,5	10,5	10,2	10,2	10,0	12,1	3,2	6,1	12,9	11,8	13,6	12,5	12,0	13,0	13,2		
25 <i>R. womersleyi</i>	8,0	8,4	7,7	7,3	8,2	7,7	10,2	9,3	9,8	9,3	10,4	10,0	10,9	12,5	7,1	7,1	11,8	10,9	13,0	12,1	12,0	12,3	12,1	7,5	

Tabla 4. Comparación de caracteres morfológicos externos, internos, vegetativos y reproductivos descritos en la literatura para *Rhodymenia corallina*, *R. howeana* y *R. multidigitata*, y hallados en el presente estudio para *R. corallina* y *R. howeana* / Comparative analysis of external, internal, vegetative and reproductive morphological characters described in literature for *Rhodymenia corallina*, *R. howeana* y *R. multidigitata*, and found in the present study for *R. corallina* and *R. howeana*

Carácter	Literatura (Howe 1914, Dawson 1941, Dawson <i>et al.</i> 1964, Etcheverry 1986)			Este estudio	
	<i>Rhodymenia corallina</i>	<i>Rhodymenia howeana</i>	<i>Rhodymenia multidigitata</i>	<i>Rhodymenia corallina</i>	<i>Rhodymenia howeana</i>
Tamaño del talo	20-30 cm	15-20 (30) cm	Hasta 10 cm	5,3 (16,5) 43 cm	9 (13,9) 27,5 cm
Estructura de fijación					
Disco	Estolonífero	Simple	3 a 4 mm de diámetro	1 a 5,5 mm de diámetro	1 a 4,5 mm de diámetro
Estolones	Abundantes estolones en la base	Pocos o muchos estolones accesorios, que pueden formar pequeñas nuevas láminas	ND	Estolones ramificados, que pueden formar nuevas láminas	Proliferaciones rizoidales o estoloníferas, crecen desde el estipe hasta la base de las frondas
Estipe					
Forma	Semicilíndrico	Semicilíndrico, delgado	Cilíndrico	Semicilíndrico	Semicilíndrico
Longitud	Hasta 6 cm	0,4 a 0,5 cm	0,2 a 0,3 cm	0,1 (0,9) 2,6 cm (hasta 5 cm en ejemplares de Chile)	0,2 (0,7) 2,1 cm
Diámetro	ND	ND	1 mm	1 (1,3) 2 mm	1 (1,7) 3 mm
Fronda					
Textura	Membranosa	Membrano-cartilaginosa	ND	Membranosa	Membranosa
Grosor	200 µm	100 µm	300 µm	Hasta 220 µm	Hasta 200 µm
Nº de divisiones	6-7 (9)	Abundantemente dividida	ND	Hasta 15 veces	Hasta 11 veces
Tipo de ramificación	Simpodial dicótoma, flabelada	Dicótoma, más o menos flabelada	Dicótoma, flabelada	Simpodial, dicótoma a subdicótoma, flabelada	Simpodial, dicótoma, flabelada
Primer segmento					
Longitud	ND	ND	3 a 4 cm	0,5 (2,3) 5,8 cm	1,0 (1,9) 4,8 cm
Ancho	ND	ND	ND	0,4 (0,9) 1,4 cm	1,0 (1,5) 2,1 cm
Segmentos medios					
Longitud	2,0-2,5 cm	1,0-1,5 cm	ND	0,3 (1,7) 8,5 cm	0,7 (1,7) 5,0 cm
Ancho	0,6-0,9 cm	0,4-0,6 (0,9) cm	ND	0,1 (0,4) 1,1 cm	0,3 (0,6) 1,0 cm
Segmentos finales					
Longitud	ND	ND	0,6-0,7 cm	0,1 (0,9) 4,6 cm	0,4 (1,1) 2,4 cm
Ancho	Hasta 0,4-0,3 cm	ND	0,1-0,2 cm, o menos	0,1 (0,3) 0,8 cm	0,3 (0,6) 0,9 cm
Proliferaciones	ND	En márgenes o puntas dañadas	ND	Crecen sobre el estipe y a partir de partes dañadas en los ápices o los márgenes de la fronda	Crecen sobre el estipe y a partir de partes dañadas de los ápices
Ápices	ND	Redondeados, usualmente dañados	Márgenes externos multidigitados	Simples, multidigitados o irregulares, con márgenes redondeados, obtusos, bilobulados a bipartidos o puntiagudos, a veces muy dañados	Obtusos, redondeados, bilobulados a bipartidos o ligeramente puntiagudos
Corteza	ND	ND	ND	1 a 3 capas de células	1 a 2 capas de células
Médula	ND	ND	ND	4 a 7 capas de células	4 a 8 capas de células (hasta 10 en la base de la fronda)
Soros tetrasporangiales					
Forma	Redondeados-elípticos	Redondeados	ND	Sin forma definida o extendidos en líneas paralelas a los bordes (ejemplares de Chile, con forma de banda), sin bordes definidos	Elíptica o de media luna, con bordes definidos, o no definidos en proliferaciones jóvenes
Localización	Cerca al ápice de cada segmento maduro	Ápices de los últimos segmentos	ND	Cerca al ápice (apical y subapical)	Área apical o subapical
Tetrasporangios					
División	ND	Cruciada	ND	Cruciada	Cruciada
Forma	ND	Elípticos alargados	ND	Elípticos	Elípticos
Grado de modificación en la corteza	Ligera modificación nematecial	Poca modificación en la corteza	ND	No genera modificación en la corteza	Ligera modificación en la corteza observada después de la esporulación
Cistocarpos					
Forma	Mamiformes	Semiesféricos, no rostrados	ND	Semiesféricos (520 µm de diámetro), sobresalientes, rostrados, con un ostiolo central	Semiesféricos (500 µm de diámetro), sobresalientes, rostrados, con un ostiolo central
Localización	Agregados o dispersos en ambas caras de la fronda	Dispersos sobre porciones medias de la fronda	ND	Distribuidos desde la parte media hasta los ápices, en ambas caras de la fronda. Pueden crecer en los bordes de la fronda	Distribuidos en los segmentos medios, en ambas caras de la fronda

ND: No hay información disponible

Rhodymenia corallina presenta una amplia variabilidad morfológica (Figs. 4, 5 y 6) a diferencia de *R. howeana* (Fig. 7, Tabla 4). Los especímenes de *R. howeana* presentan similitud para la mayoría de los caracteres morfológicos, con valores incluidos en el rango de medidas observado para especímenes de *R. corallina*, como la longitud del talo y el tamaño del estipe (Tabla 4). Adicionalmente, los especímenes de *R. howeana* comparten características morfológicas con algunos especímenes de *R. corallina* respecto a sus estructuras de fijación con disco simple y eventual formación de estolones, forma del estipe, ramificación en un solo plano de forma dicótoma a subdicótoma, crecimiento de nuevas láminas

o proliferaciones desde las áreas dañadas (Figs. 4, 7B-C), forma de los ápices (Figs. 5, 7D, 7F), estructuras vegetativas internas, y características de los ejemplares femeninos (Figs. 6C, 6D, 7F-G; Tabla 4).

Rhodymenia corallina se diferencia de *R. howeana* principalmente por la disposición de los tetrasporangios. En *R. corallina* los tetrasporangios están agrupados en soros irregulares y sin bordes definidos (Tabla 4; Figs. 5A-C y 5F), mientras que en *R. howeana* se encuentran agregados en soros redondeados o en forma de media luna, con bordes definidos, ubicados en la parte apical o subapical, generando una ligera modificación en la corteza (huella de soro) (Figs. 7D-E).

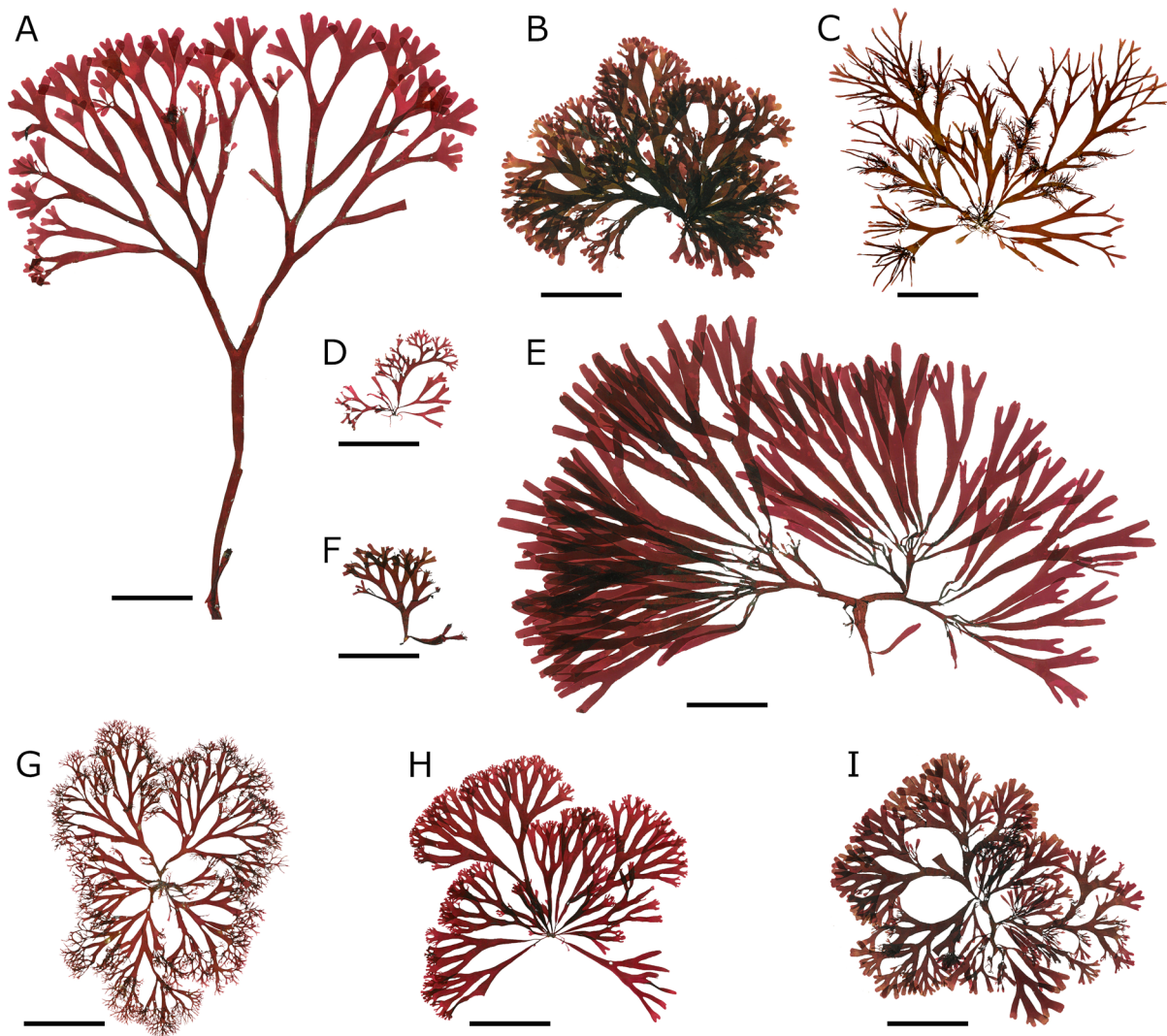


Figura 4. Hábito de los especímenes del clado *Rhodymenia corallina* de la costa central del Perú. A) Marcona (BG-244, vegetativo). B) Marcona (BG-218, vegetativo). C) Paracas (BG-278, femenino). D) Pucusana (BG-246, tetrasporofito). E) Ancón (BG-237, femenino). F) Casma (BG-901, tetrasporofito). G) Callao (BG-256, tetrasporofito). H) Callao (BG-920, vegetativo). I) Callao (BG-259, vegetativo). Barras de escala= 5 cm / Habit of *Rhodymenia corallina* specimens from the central coast of Peru. A) Marcona (BG-244, vegetative). B) Marcona (BG-218, vegetative). C) Paracas (BG-278, female). D) Pucusana (BG-246, tetrasporophyte). E) Ancón (BG-237, female). F) Casma (BG-901, tetrasporophyte). G) Callao (BG-256, tetrasporophyte). H) Callao (BG-920, vegetative). I) Callao (BG-259, vegetative). Scale bars= 5 cm

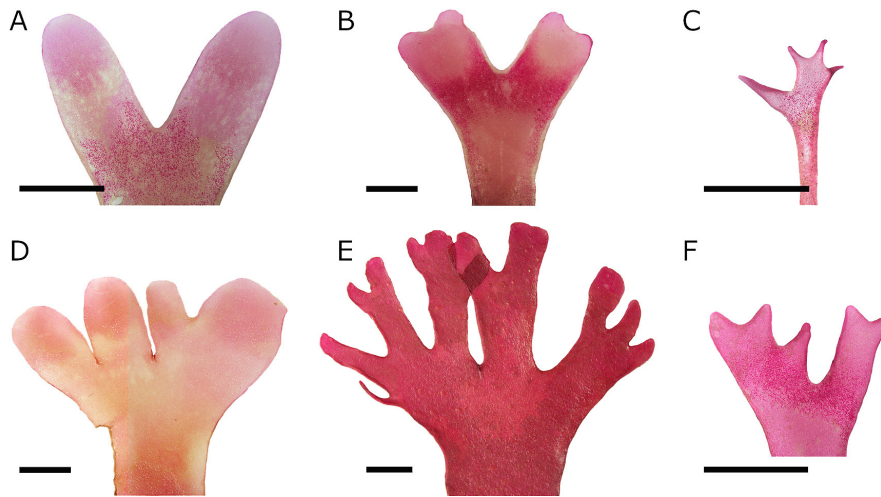


Figura 5. Variación morfológica de ápices y del soro tetrasporangial de *Rhodymenia corallina* de la costa central del Perú. A) Paracas (BG-276, tetrasporofito). B) Casma (BG-901, tetrasporofito). C) Callao (BG-256, tetrasporofito). D) Marcona (BG-218, vegetativo). E) Callao (BG-920, vegetativo). F) Pucusana (BG-246, tetrasporofito). Barras de escala= 2 mm / Morphological variation of apices and tetrasporangial sori of *R. corallina* from the central coast of Peru. A) Paracas (BG-276, tetrasporophyte). B) Casma (BG-901, tetrasporophyte). C) Callao (BG-256, tetrasporophyte). D) Marcona (BG-218, vegetative). E) Callao (BG-920, vegetative). F) Pucusana (BG-246, tetrasporophyte). Scale bars= 2 mm

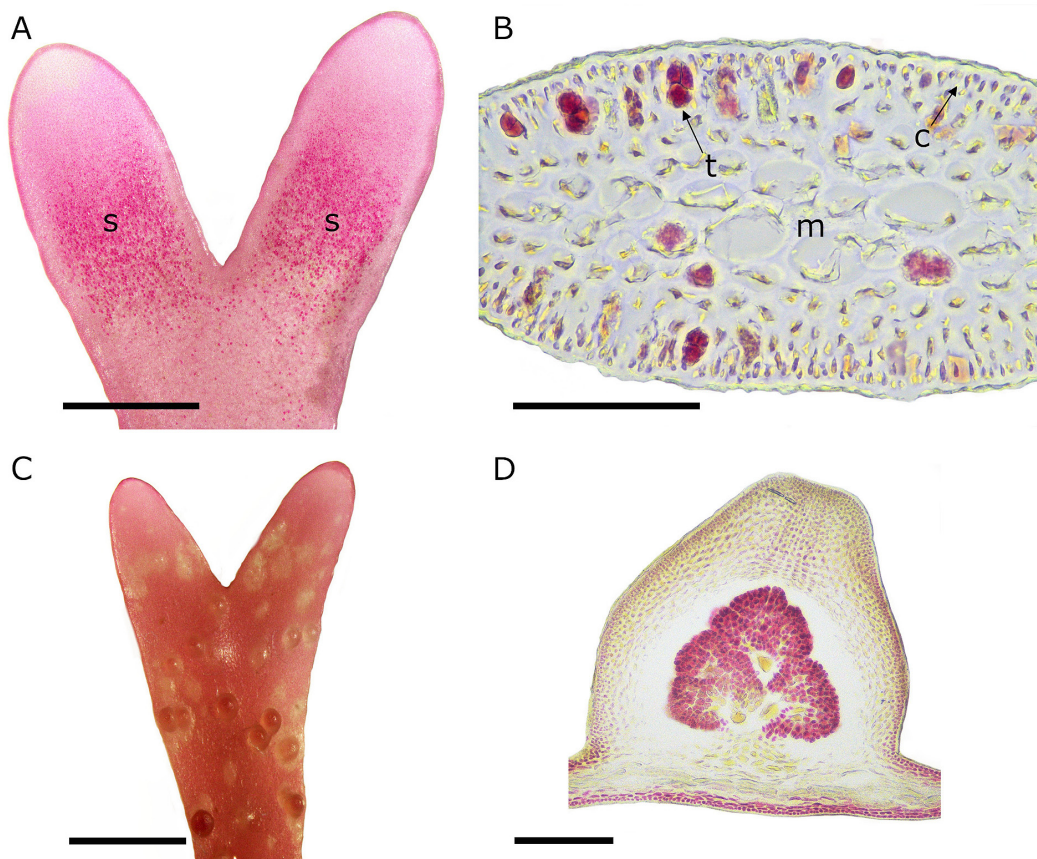


Figura 6. Morfología externa e interna de los soros tetrasporangiales y cistocarpos de *Rhodymenia corallina* de la costa central del Perú. A) Soros tetrasporangiales (s) sin bordes definidos, ubicados en el área subapical (BG-277). B) Sección transversal de un soro tetrasporangial con tetrasporangios (t) insertos en la corteza, sin generar modificación (BG-256), indicando la corteza (c) y médula (m). C) Cistocarpos jóvenes dispersos en el ápice (BG-278). D) Sección transversal de un cistocarpio maduro (BG-245). Barras de escala: A= 1 mm; B= 100 μ m; C= 2 mm; D= 200 μ m / External and internal morphology of the tetrasporangial sori and cystocarps of *Rhodymenia corallina* from the central coast of Peru. A) Tetrasporangial sori (s) without defined borders, located at the subapical area (BG-277). B) Cross section of tetrasporangial sori with tetrasporangia (t) inserted in the cortex, without generating modification (BG-256), with indication of the cortex (c) and marrow (m). C) Young cystocarps scattered at the apex (BG-278). D) Cross section of a mature cystocarp (BG-245). Scale bars: A= 1 mm; B= 100 μ m; C= 2 mm; D= 200 μ m

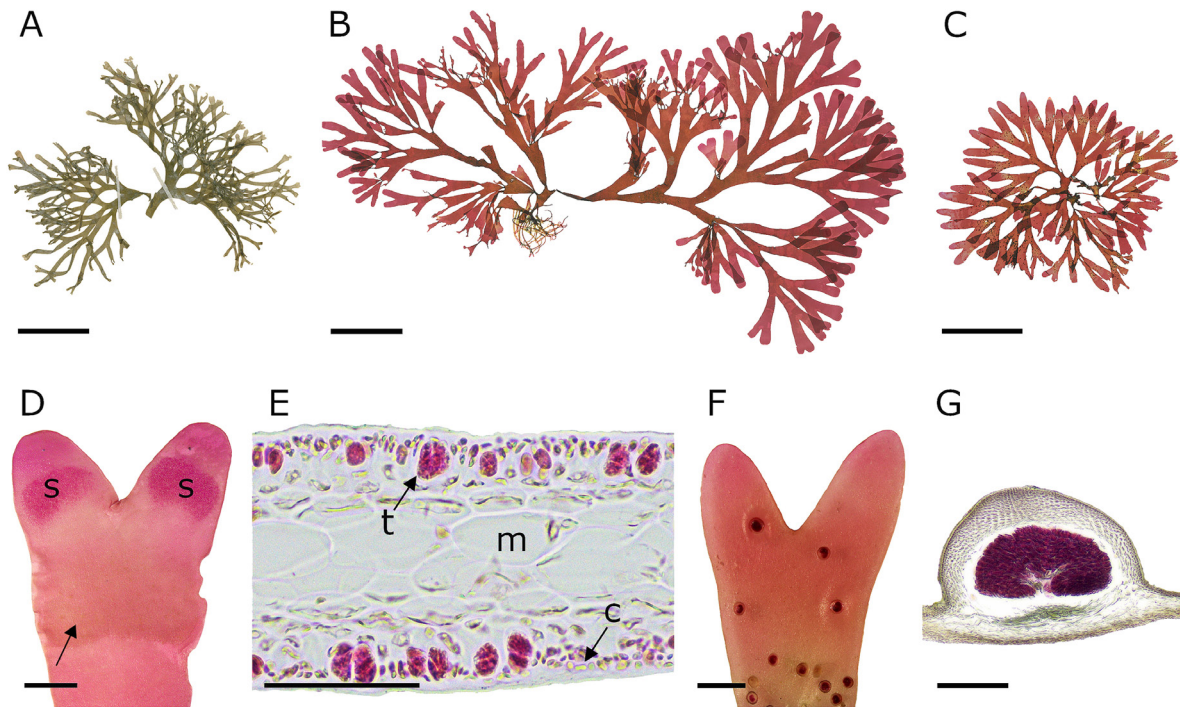


Figura 7. Hábito, morfología externa e interna de los cistocarpos y soros tetrasporangiales de *Rhodymenia howeana*. A) Piura, tipo tetrasporofito de *Rhodymenia howeana* (UC 199622). B) Casma (BG-250, tetrasporofito). C) Casma (BG-300, femenino). D) Soros tetrasporangiales (s) con contorno definido ubicados cerca al ápice y marca de soro después de la esporulación (flecha) (BG-249, Casma). E) Sección longitudinal de un soro mostrando corteza (c), médula (m) y tetrasporangios cruciados insertos en la corteza (t) (BG-250, Casma). F) Cistocarpos sobre la fronda (BG-300, Casma). G) Sección transversal de un cistocarpio maduro (BG-300, Casma). Barras de escala: A, B, C= 5 cm; D= 1 mm; E= 100 μ m; F= 2 mm; G= 200 μ m / Habit, external and internal morphology of the tetrasporangial cystocarps and sori of *Rhodymenia howeana*. A) Piura, tetrasporic type of *Rhodymenia howeana* (UC 199622). B) Casma (BG-250, tetrasporophyte). C) Casma (BG-300, female). D) Tetrasporangial sori (s) with defined contour located near the apex and mark of sori after sporulation (arrow) (BG-249, Casma). E) Longitudinal section of a sorus showing bark (c), marrow (m) and cruciately divided tetrasporangia insert in the bark (t) (BG-250, Casma). F) Cystocarps on the frond (BG-300, Casma). G) Cross section of a mature cystocarp (BG-300, Casma). Scale bars: A, B, C= 5 cm; D= 1 mm; E= 100 μ m; F= 2 mm; G= 200 μ m

El análisis cuantitativo de la morfología externa confirma una sobreposición de la distribución de valores entre las especies, donde los valores para *Rhodymenia howeana* generalmente están incluidos en el rango de valores observados para *R. corallina* (Tabla 4, Fig. 8). No obstante, *R. corallina* y *R. howeana* muestran diferencias altamente significativas (prueba de Kruskal-Wallis; $P \leq 0,001$ y $P \leq 0,01$, Anexo Tabla S2) en la distribución de las siguientes variables: ancho del primer segmento (Aps), ancho de segmentos medios (Asm), longitud del primer segmento/ ancho del primer segmento (Lps/Aps) y longitud de segmentos medios/ancho de segmentos medios (Lsm/Asm) (Anexo Tabla S2, Fig. 8). Para el resto de las variables (Lf,

Af, Le, Ae, Lps, Lsm, Lf/Af y Lf/Le), las distribuciones de medidas para *R. corallina* y *R. howeana* se sobreponen sin diferencia significativa (Fig. 8).

En base a la morfología del hábito y de los soros tetrasporangiales, los especímenes de herbario revisados en las colecciones de los Museos de Historia Natural de Lima y Santiago corresponderían a estas 2 especies. Los herbarios de Lima incluirían 1 ejemplar de *Rhodymenia howeana* del norte de Perú (Piura), y 6 ejemplares de *R. corallina* recolectados en Lima (3 de Ancón, 2 de Callao y 2 de Chorrillos). Los herbarios de Santiago incluirían 11 ejemplares de *R. corallina* procedentes de Arica (3), Antofagasta (1), Coquimbo (5), Valparaíso (1) y Concepción (1).

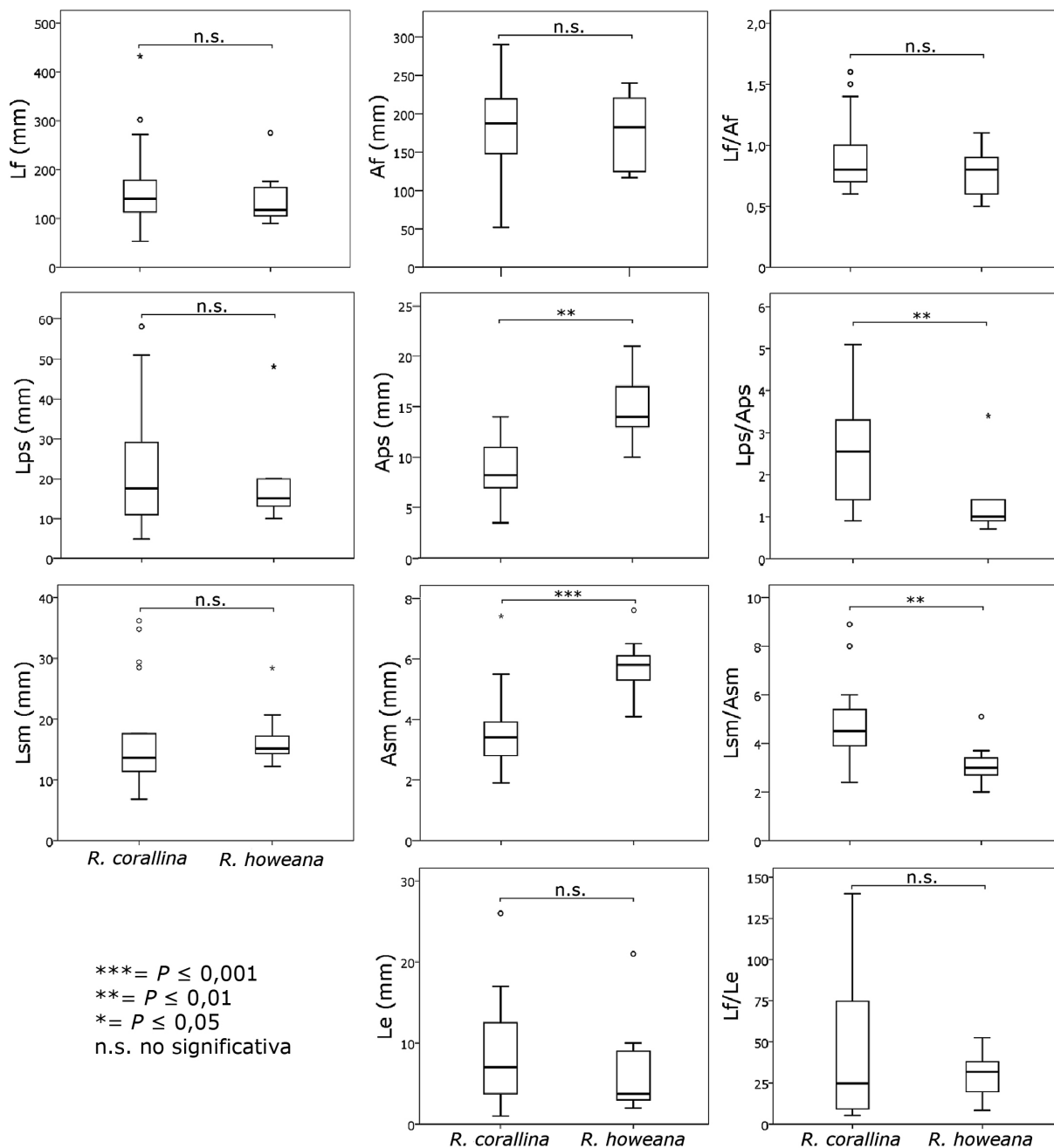


Figura 8. Diagramas de cajas de la distribución de medidas de 12 variables morfológicas externas para *Rhodymenia corallina* y *R. howeana* mostrando diferencias altamente significativas para 4 variables (prueba de Kruskal-Wallis, $P \leq 0,01$). Ver Anexo Tabla S2 para los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis por variable. Diferencias altamente significativas (***) = $P \leq 0,001$ y ** = $P \leq 0,01$; diferencias significativas (*) = $P \leq 0,05$; n.s. = sin diferencias significativas ($P > 0,05$). Longitud de fronda (Lf), Ancho de fronda (Af), Longitud de fronda/Ancho de fronda (Lf/Af), Longitud del primer segmento (Lps), Ancho del primer segmento (Aps), Longitud del primer segmento/Ancho del primer segmento (Lps/Aps), Longitud de segmentos medios (Lsm), Ancho de segmentos medios (Asm), Longitud de segmentos medios/Ancho de segmentos medios (Lsm/Asm), Longitud del estipe (Le) y Longitud de fronda/Longitud de estipe (Lf/Le) / Box-plot diagrams of the distribution of 12 external morphological variables for *Rhodymenia corallina* and *R. howeana* showing highly significant differences for 4 variables (Kruskal-Wallis test, $P \leq 0.01$). See Annex Table S2 for the results of the Kruskal-Wallis test by variable. Highly significant differences (***) = $P \leq 0.001$ and ** = $P \leq 0.01$; significant differences (*) = $P \leq 0.05$; n.s. = no significant differences ($P > 0.05$). Frond length (Lf), Frond width (Af), Frond length/Frond width (Lf/Af), First segment length (Lps), First segment width (Aps), First segment length/First segment width (Lps/Aps), Middle segment length (Lsm), Middle segment width (Asm), Middle segment length/Middle segment width (Lsm/Asm), Stipe length (Le) and Frond length/Stipe length (Lf/Le)

DISCUSIÓN

El estudio del complejo *Rhodymenia corallina*, tal como ha sido señalado, incluyó el análisis combinado de datos tanto de la morfología como de las secuencias genéticas obtenidas con los marcadores *rbcL* y COI-5P. Los resultados obtenidos indican que molecularmente este complejo conforma 2 grupos, uno asignado a *R. corallina* y el otro asignado a *R. howeana*.

Los especímenes recolectados para el presente estudio, con morfologías del complejo *Rhodymenia corallina* (*R. multidigitata*, *R. howeana* y *R. corallina*), conformaron 2 grupos monofiléticos hermanos bien soportados en ambas filogenias realizadas (*rbcL* y COI-5P). La entidad *R. corallina* conforma un único grupo monofilético en la construcción basada en *rbcL*, incluyendo secuencias de especímenes de todas las localidades muestreadas en Perú central (9-15°S), así como las secuencias de Coquimbo, Chile (30°S, a 770 km de la localidad tipo Concepción, Chile) recolectadas para este estudio como por estudios anteriores. Todos los especímenes asignados a *R. corallina* en la base del marcador cloroplastidial conforman un grupo monofilético en la filogenia basada en COI-5P, mostrando congruencia entre marcadores. No obstante, este grupo diverge por 8,6% de la única secuencia disponible en GenBank para *R. corallina*, correspondiente a un espécimen de Chiloé, Chile (42°S). No hay información disponible respecto a la morfología de este espécimen, por lo cual no se puede descartar un problema de identificación taxonómica o la presencia de especies crípticas. Se hace necesario completar el estudio con un muestreo abarcando el sur de la distribución de *R. corallina* e incluyendo los 2 marcadores moleculares.

La segunda entidad encontrada en el complejo morfológico *Rhodymenia corallina*, de forma consistente entre los 2 marcadores moleculares, es asignada a *R. howeana*. La identificación se basa en la secuencia de un espécimen recolectado en una de las localidades tipo señaladas para esta especie (Lobos de Tierra, Piura, 6°S), y en la presencia de caracteres morfológicos similares a la ilustración del espécimen tipo tetrasporofito de *R. howeana* (Dawson 1941), con soros redondeados delimitados y marcas oscuras visibles en los segmentos medios.

La divergencia entre *Rhodymenia corallina* y *R. howeana* para el marcador *rbcL* (1,6%, en promedio) es muy superior a la variación observada a nivel intraespecífico (0-0,5%), tanto en *R. corallina* como en *R. howeana*. Adicionalmente, la divergencia interespecífica cabe dentro del rango de divergencia observada entre las otras especies incluidas en nuestras reconstrucciones filogenéticas (1,5-9,0%). De forma similar, para el marcador COI-5P la distancia interespecífica entre estas 2 especies (2,9%) es superior a la máxima variación intraespecífica observada en *R. corallina* (1,1%), la cual presenta un alto valor comparado con los valores típicos de variación intraespecífica para COI-5P en algas rojas (0-0,6%; Saunders 2005, Filloramo & Saunderson

2016a). Valores altos de divergencia intraespecífica, como el observado para *R. corallina*, ya han sido registrados para otras especies de *Rhodymenia* (*R. novaehollandica*, 1,7%, *R. wilsonis* 2,4%; Filloramo & Saunders 2016a), lo que los autores atribuyen tentativamente al aislamiento entre poblaciones y posterior recurrencia del cruzamiento exitoso, o de una separación pasada e incompleta de linajes (Filloramo & Saunders 2016a). Además, la divergencia interespecífica se encuentra dentro del rango de divergencia observada entre las otras especies incluidas en nuestras reconstrucciones filogenéticas (1,3-15,0%). La distinción de 2 especies filogenéticas, *R. corallina* y *R. howeana*, está por lo tanto soportada por la monofilia recíproca y los valores de divergencia interespecífica.

Características de los tetrasporangios, considerados de importancia taxonómica en la delimitación morfológica de especies de *Rhodymenia* (Dawson 1941, Filloramo & Saunders 2016a), permiten diferenciar a *R. howeana* de *R. corallina* por la forma del soro y el grado de modificación de la corteza producida por el desarrollo de los tetrasporangios. En *R. corallina* de la costa central de Perú y de Chile (Coquimbo), los soros tetrasporangiales presentan formas irregulares o en bandas, sin bordes definidos, y sin generar modificación en la corteza. En *R. howeana*, los soros tetrasporangiales presentan formas de media luna a redondeadas, con bordes definidos, además de “marcas” oscuras visibles en los segmentos medios, después de la esporulación con una ligera modificación en la corteza. Estas características se asemejan a los soros con forma elíptica y asociados a una ligera modificación nematecial en la corteza reportados por Dawson *et al.* (1964) para un espécimen recolectado en la Bahía de Sechura en el norte de Perú (Piura, 5-6°S). Si bien los autores asignaron este espécimen a *R. corallina*, la descripción e ilustración del espécimen son coincidentes con la descripción e ilustración de *R. howeana* de Dawson (1941).

Una comparación del hábito de ambas especies indica que existen diferencias significativas para la distribución de las medidas del ancho de los segmentos (primer segmento y segmentos medios) y de la proporción entre la longitud y ancho de los segmentos (primer segmento y segmentos medios), donde los valores de las medidas del ancho de los segmentos de la fronda de *R. corallina* son menores a *R. howeana* (Anexo Tabla S2, Fig. 8).

La descripción de *R. howeana* (Dawson 1941) fue realizada en base a 3 ejemplares del herbario de Coker procedentes de 2 localidades distintas, 2 ejemplares de Callao (12°S) (estéril y gametofito femenino) y 1 ejemplar de Isla Lobos de Tierra (6°S) (tetrasporofito), contraviniendo la Regla del Código Internacional de Nomenclatura para Algas, Hongos y Plantas (Shenzhen Code 2018, “A efectos de tipificación, un ejemplar es una recolección, o parte de una recolección, de una única especie o taxón infraespecífico, sin tomar en consideración elementos en mezcla”) (Turland *et al.* 2018: Art. 8.2). Las ilustraciones

de los especímenes tipo de *R. howeana* de Callao (herbarios UC197771 y UC199608) muestran similitud con el hábito de *R. corallina*; contrario al espécimen tetrasporofito (herbario UC199622) recolectado en Isla Lobos de Tierra (Fig. 7A), cuyo hábito (ancho de los segmentos de la fronda) y soros tetrasporangiales (soros delimitados y huellas de los soros después de la esporulación en los últimos segmentos y segmentos finales) son similares al hábito del espécimen recolectado en Isla Lobos de Tierra (Piura) en el presente estudio, el cual se diferencia filogenéticamente como una especie distinta a *R. corallina*. Por lo tanto, *R. howeana* estaría representada solo por el espécimen tipo de Isla Lobos de Tierra (Piura). La especie de *Rhodymenia* diferenciada en este trabajo para el norte de Perú (Casma, 9°S y Lobos de Tierra, 6°S) sería asignada como *R. howeana*, siendo necesario tipificar el ejemplar del norte de Perú (UC199622, Fig. 7A) como holotipo de *R. howeana*, modificando la descripción y distribución de la especie. Asimismo, se debieran considerar los ejemplares de Callao como reportes de *R. corallina*.

Los especímenes del norte de Perú asignados en este estudio a *Rhodymenia howeana*, presentan poca variabilidad en la morfología del hábito, a diferencia de *R. corallina* (Fig. 7B-C). En *R. corallina* se integran las morfologías descritas en la literatura para *R. multidigitata* de Callao y de 2 de los 3 ejemplares tipos de *R. howeana*, aquellos procedentes de Callao (Dawson 1941, Dawson *et al.* 1964). Los caracteres morfológicos externos, como tamaño del estipe, conformación de los segmentos de la fronda y forma de los ápices, fueron determinantes para la diferenciación de las especies de *Rhodymenia* en Perú central. No obstante, estos caracteres se presentan muy variables entre los especímenes de *R. corallina* recolectados recientemente en Perú central, abarcando las medidas descritas en la literatura para *R. howeana* y *R. multidigitata* (Tabla 4). *R. corallina* presenta un estipe de 0,1 a 2,6 cm de longitud (hasta 5,4 en ejemplares de Coquimbo, Chile), así como frondas flabeladas divididas dicotómica o subdicotómicamente hasta 15 veces. Su longitud en los segmentos medios tiene un rango de 0,3 a 8,5 cm, presentándose una gran variabilidad en la forma de los ápices, los que pueden ser enteros simple o bilobados, redondeados hasta multidigitados. En base a este último carácter, Dawson *et al.* (1964) describieron a la nueva especie *R. multidigitata*, ahora incluida en *R. corallina*.

Con el presente trabajo se confirma que *Rhodymenia corallina* se encuentra distribuida en la costa central del Perú, desde los 9°S (Casma) hasta los 15°S (Marcona). Hasta este punto, y solo basado en la evidencia filogenética de este estudio, se podría establecer que la distribución de *R. corallina* abarcaría al menos hasta los 30°S, a lo largo de la Costa Temperada del Pacífico de Sudamérica, influenciada por el sistema de la Corriente de Humboldt (Camus 2001, Spalding *et al.* 2007, Briggs & Bowen 2012). De acuerdo a la literatura, su rango de distribución incluye localidades de la costa norte y central de Chile entre 18°S y 43°S (Ramírez & Santelices 1991), región donde se encuentra la localidad

tipo de la especie (Concepción, 36°S). Recolecciones extensivas e intensivas en Chile son necesarias para clarificar los rangos de distribución de las especies y corroborar los registros de las colecciones de herbarios. A pesar de que *R. corallina* ha sido también registrada en el Océano Indo-Pacífico (Silva *et al.* 1996, Littler & Littler 2003, N'Yeurt & Payri 2010, Atmadja & Prud'homme van Reine 2012), actualmente no hay secuencias disponibles en GenBank que procedan de esas áreas.

Por otra parte, el presente trabajo muestra que *Rhodymenia howeana* tendría una distribución actual más limitada, al menos desde Piura, norte de Perú (6°S), hasta Casma, límite norte de Perú central (9°S). No hay evidencia filogenética de la presencia de *R. howeana* al sur de 9°S, aunque un mayor esfuerzo de muestreo sería necesario para confirmarlo. En la literatura, esta especie ha sido registrada en Perú de 6-14°S (Piura, La Libertad, Áncash, Lima, Callao, Ica) y en Chile de 23-42°S (Antofagasta, Puerto Montt, Isla de Chiloé) (Ramírez & Santelices 1991). Por ahora, la distribución de *R. howeana* estaría restringida al límite norte de la Costa Temperada del Pacífico de Sudamérica con el Pacífico Este Tropical (Spalding *et al.* 2007).

El complejo morfológico de especies de *Rhodymenia* de Perú central (9-15°S) ha sido resuelto en base al análisis de secuencias *rbcL* y COI-5P, morfología externa y estructuras reproductivas del tetrasporofito, diferenciando 2 especies, donde morfológicamente habían sido registradas tres. La especie *R. corallina*, con localidad tipo Concepción (Chile), se distribuye a lo largo de toda la costa central del Perú desde Casma (9°S) hasta Marcona (15°S). La otra especie se asigna a *R. howeana*, en base al análisis comparativo con la ilustración del espécimen tipo de *R. howeana* procedente de Isla Lobos de Tierra (Piura) de Dawson (1941), y se distribuye en el norte de Perú desde Piura (6°S) hasta Casma (9°S). De esta forma, se recomienda considerar el espécimen tipo de *R. howeana* de Isla Lobos de Tierra (UC199622) como holotipo de *R. howeana*, y considerar los ejemplares recolectados en Callao (UC197771 y UC199608) como registros de *R. corallina*.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por el Convenio de Subvención N° 219-2015-FONDECYT, CONCYTEC Perú. Las autoras agradecen al personal del Área Funcional de Investigaciones en Biodiversidad del IMARPE por el uso de sus instalaciones y al financiamiento complementario otorgado por la Universidad Católica de la Santísima Concepción (Proyecto DIN 22/2016 y Financiamiento de Actividades Académicas).

LITERATURA CITADA

Agardh JG. 1876. Species, genera et ordines algarum, seu descriptiones succinctae specierum, generum et ordinum, quibus algarum regnum constituitur. Volumen Tertium: De florideis curae posteriores, 724 pp. Apud C.W.K. Gleerum, Lundae.

- Atmadja WS & WF Prud'homme van Reine. 2012.** Checklist of the seaweed species biodiversity of Indonesia with their distribution and classification: Rhodophyceae, 72 pp. Coral Reef Information and Training Centre, Coral Reef Rehabilitation and Management Program, Indonesian Institute of Sciences, Jakarta.
- Ballantine DL, H Ruiz & C Lozada-Troche. 2010.** *Chamaeobotrys prolifera* sp. nov. (Rhodymeniaceae, Rhodophyta) from Puerto Rico, Caribbean Sea, based on morphology and small subunit rDNA sequences. *Phycological Research* 58(1): 69-77.
- Bory de Saint-Vincent M. 1828.** Voyage autour du monde, exécuté par ordre du Roi, sur la corvette de Sa Majesté, la Coquille, pendant les années 1822, 1823, 1824 et 1825. Botanique, 301 pp. Arthus Bertrand, Paris.
- Briggs JC & BW Bowen. 2012.** A realignment of marine biogeographic provinces with particular reference to fish distributions. *Journal of Biogeography* 39(1): 12-30.
- Camus PA. 2001.** Marine biogeography of continental Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 74: 587-617.
- Cianciola EN, TR Popolizio, CW Schneider & CE Lane. 2010.** Using molecular-assisted alpha taxonomy to better understand red algal biodiversity in Bermuda. *Diversity* 2: 946-958.
- Cullings KW. 1992.** Design and testing of a plant specific PCR primer for ecological and evolutionary studies. *Molecular Ecology* 1(4): 233-240.
- Darriba D, GL Taboada, R Doallo & D Posada. 2012.** JModelTest 2: More models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9(8): 772.
- Dawson EY. 1941.** A review of the genus *Rhodymenia* with descriptions of new species, 130 pp. Allan Hancock Pacific Expeditions 3. University of California, California.
- Dawson EY, C Acleto & N Foldvik. 1964.** The seaweeds of Peru, 111 pp. Schweizerbart Science Publishers, Stuttgart.
- Dixon KR & GW Saunders. 2013.** DNA barcoding and phylogenetics of *Ramicrusta* and *Incendia* gen. nov., two early diverging lineages of the Peyssonneliaceae (Rhodophyta). *Phycologia* 52(1): 82-108.
- Doyle JJ & JL Doyle. 1987.** A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15.
- Etcheverry H. 1986.** Algas marinas bentónicas de Chile, 379 pp. UNESCO, Montevideo.
- Filloramo GV & GW Saunders. 2016a.** Molecular-assisted alpha taxonomy of the genus *Rhodymenia* (Rhodymeniaceae, Rhodymeniales) from Australia reveals overlooked species diversity. *European Journal of Phycology* 51(3): 1-14.
- Filloramo GV & GW Saunders. 2016b.** Application of multigene phylogenetics and site-stripping to resolve intraordinal relationships in the Rhodymeniales (Rhodophyta). *Journal of Phycology* 52(3): 339-355.
- Filloramo GV & GW Saunders. 2018.** Assessment of the order Rhodymeniales (Rhodophyta) from British Columbia using an integrative taxonomic approach reveals overlooked and cryptic species diversity. *Botany* 96(6): 359-383.
- Gabriel D, SGA Draisma, T Sauvage, WE Schmidt, T Schils, P-E Lim, DJ Harris & S Fredericq. 2016.** Multilocus phylogeny reveals *Gibsmithia hawaiiensis* (Dumontiaceae, Rhodophyta) to be a species complex from the Indo-Pacific, with the proposal of *G. eilatensis* sp. nov. *Phytotaxa* 277(1): 1-20.
- Gavio B & S Fredericq. 2003.** *Botryocladia caraibica* (Rhodymeniales, Rhodophyta), a new species from the Caribbean. *Cryptogamie Algologie* 24(2): 93-106.
- Gavio B, E Hickerson & S Fredericq. 2005.** *Platoma chrysymenioides* sp. nov. (Schizymeniaceae), and *Sebdenia integra* sp. nov. (Sebdeniaceae), two new red algal species from the Northwestern Gulf of Mexico, with a phylogenetic assessment of the Cryptonemiales complex (Rhodophyta). *Gulf of Mexico Science* 23(1): 38-57.
- Guiry MD. 1977.** Studies on marine algae of the British Isles. 10. The genus *Rhodymenia*. *British Phycological Journal* 12(4): 385-425.
- Guiry MD & GM Guiry. 2019.** *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <<http://www.algaebase.org>>
- Hawkes MW & RF Scagel. 1986.** The marine algae of British Columbia and northern Washington: division Rhodophyta (red algae), class Rhodophyceae, order Rhodymeniales. *Canadian Journal of Botany* 64: 1549-1580.
- Hommersand MH & S Fredericq. 2003.** Biogeography of the marine red algae of the South African West Coast: a molecular approach. In: *Proceedings 17th International Seaweed Symposium Cape Town, 2001*, pp. 325-336. Oxford University Press, Oxford.
- Hommersand MH, S Fredericq & DW Freshwater. 1994.** Phylogenetic systematics and biogeography of the Gigartinales (Gigartinales, Rhodophyta) based on sequence analysis of *rbcL*. *Botanica Marina* 37: 193-203.
- Howe MA. 1914.** The marine algae of Peru, 330 pp. The New Era Printing Company, New York.
- Kumar S, G Stecher & K Tamura. 2016.** MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33(7): 1870-1874.
- Littler DS & MM Littler. 2003.** South Pacific reef plants: a divers' guide to the plant life of South Pacific coral reefs, 331 pp. Offshore Graphics, Washington.
- Lozada-Troche C & DL Ballantine. 2010.** Observations on morphology and the taxonomic affiliation of *Coelothrix irregularis* (Harv.) Børgesen (Rhodymeniales, Rhodophyta). *Caribbean Journal of Science* 46(1): 71-82.
- N'Yeurt ADR & C Payri. 2010.** Marine algal flora of French Polynesia III. Rhodophyta, with additions to the Phaeophyceae and Chlorophyta. *Cryptogamie Algologie* 31(1): 3-201.
- Rambaut A, MA Suchard, D Xie & AJ Drummond. 2014.** Tracer v1.6. <<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>>
- Ramírez ME & B Santelices. 1991.** Catálogo de las algas marinas bentónicas de la costa temperada del Pacífico de Sudamérica. *Monografías Biológicas* 5: 1-437, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago.
- Ronquist F, M Teslenko, P Van Der Mark, DL Ayres, A Darling, S Höhna, B Larget, L Liu, MA Suchard & JP Huelsenbeck. 2012.** MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61(3): 539-542.

- Saunders GW. 2005.** Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 360: 1879-1888.
- Saunders GW & B McDonald. 2010.** DNA barcoding reveals multiple overlooked Australian species of the red algal order Rhodymeniales (Florideophyceae), with resurrection of *Halopeltis* J. Agardh and description of *Pseudohalopeltis* gen. nov. *Botany* 88(7): 639-667.
- Saunders GW, GV Filloramo, K Dixon, L Le Gall, CA Maggs & GT Kraft. 2016.** Multigene analyses resolve early diverging lineages in the Rhodymeniophycidae (Florideophyceae, Rhodophyta). *Journal of Phycology* 52(4): 505-522.
- Schmidt WE, CFD Gurgel & S Fredericq. 2016.** Taxonomic transfer of the red algal genus *Gloiosaccion* to *Chrysymenia* (Rhodymeniaceae, Rhodymeniales), including the description of a new species, *Chrysymenia pseudoventricosa*, for the Gulf of Mexico. *Phytotaxa* 243(1): 54-70.
- Schneider CW, DW Freshwater & GW Saunders. 2012.** First report of *Halopeltis* (Rhodophyta, Rhodymeniaceae) from the non-tropical Northern Hemisphere: *H. adnata* (Okamura) comb. nov. from Korea, and *H. pellucida* sp. nov. and *H. willisii* sp. nov. from the North Atlantic. *Algae* 27(2): 95-108.
- Sherwood AR, A Kurihara, KY Conklin, T Sauvage & GG Presting. 2010.** The Hawaiian Rhodophyta Biodiversity Survey (2006-2010): a summary of principal findings. *BMC Plant Biology* 10: 258.
- Silva PC & ME Chacana. 2005.** Marine algae from Islas San Félix y San Ambrosio (Chilean Oceanic Islands). *Cryptogamie Algologie* 26: 103-118.
- Silva PC, PW Basson & RL Moe. 1996.** Catalogue of the benthic marine algae of the Indian Ocean, 1259 pp. University of California Publications in Botany, California.
- Silvestro D & I Michalak. 2012.** RaxmlGUI: A graphical front-end for RAXML. *Organisms Diversity and Evolution* 12(4): 335-337.
- Spalding MD, H Fox, GR Allen, NC Davidson, ZA Ferdaña, M Finlayson, BS Halpern, MA Jorge, A Lombana, SA Lourie, KD Martin, E McManus, J Molnar, CA Recchia & J Robertson. 2007.** Marine ecoregions of the world: a bioregionalization of coastal and shelf areas. *BioScience* 57: 573-583.
- Stamatakis A. 2014.** RAXML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30(9): 1312-1313.
- Suzuki M, T Hashimoto, N Takeshi & M Yoshizaki. 2010.** Morphology and molecular relationships of *Leptofaucheia rhodymenioides* (Rhodymeniales, Rhodophyta), a new record for Japan. *Phycological Research* 58(2): 116-131.
- Taylor WR. 1945.** Pacific marine algae of the Allan Hancock expeditions to the Galápagos Islands. *Allan Hancock Pacific Expeditions* 12: 1-528.
- Thiers B. 2017.** Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <<http://sweetgum.nybg.org/science/ih/>>
- Tsuda RT & SK Walsh. 2013.** Bibliographic checklist of the marine benthic algae of Central Polynesia in the Pacific Ocean (excluding Hawaii and French Polynesia). *Micronesica* 2: 1-91.
- Turland NJ, JH Wiersema, FR Barrie, W Greuter, DL Hawksworth, PS Herendeen, S Knapp, W-H Kusber, D-Z Li, K Marhold, TW May, J McNeill, AM Monro, J Prado, MJ Price & GF Smith. 2018.** International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code) adopted by the Nineteenth International Botanical Congress Shenzhen, China, July 2017. Koeltz Botanical Books, Glashütten. <<https://www.iapt-taxon.org/nomen/main.php>>
- Verheij E & WF Prud'homme van Reine. 1993.** Seaweeds of the Spermonde Archipelago, SW Sulawesi, Indonesia. *Blumea - Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants* 37(2): 385-510.
- Wilkes RJ, L McIvor & MD Guiry. 2006.** Vegetative morphology and *rbcL* phylogeny of some members of the genera *Botryocladia* and *Irvinea* (Rhodymeniaceae, Rhodophyta). *Phycologia* 45(5): 481-494.
- Womersley HBS. 1996.** The marine benthic flora of Southern Australia. Rhodophyta. Part IIIB. Gracilariales, Rhodymeniales, Corallinales and Bonnemaisoniales, 392 pp. Australian Biological Resources Study, Canberra.

Recibido el 23 de agosto de 2018 y aceptado el 9 de julio de 2019

Editor asociado: Pilar Muñoz M.

ANEXO

Tabla S1. Especie, lugar de recolección de los especímenes, número de acceso a GenBank y referencia de las secuencias *rbcl* y COI-5P de *Rhodymenia*, *Botryocladia*, *Cephalocystis*, *Chrysymenia*, *Chamaebotrys*, *Coelarthrum*, *Cordylecladia*, *Drouetia*, *Fryeella*, *Halopeltis*, *Halichrysis*, *Hymenocladopsis*, *Irvinea*, *Leptosomia*, *Microphyllum*, *Pseudohalopeltis* y *Sparlingia* incluidas en los análisis / Species, place of specimens collection, GenBank accession number and reference of *rbcl* and COI-5P sequences of *Rhodymenia*, *Botryocladia*, *Cephalocystis*, *Chrysymenia*, *Chamaebotrys*, *Coelarthrum*, *Cordylecladia*, *Drouetia*, *Fryeella*, *Halopeltis*, *Halichrysis*, *Hymenocladopsis*, *Irvinea*, *Leptosomia*, *Microphyllum*, *Pseudohalopeltis* and *Sparlingia* included in the analyses

Especie	Lugar de colecta	N° de acceso GenBank <i>rbcl</i>	N° de acceso GenBank COI-5P	Referencia
<i>Botryocladia leptopoda</i> (J. Agardh) Kylin	Dancalan, Bulusan, Sorsogon, Luzon sur, Filipinas	KU726723	ND	Filloramo & Saunders 2016b
	Islas Norfolk, Bahía Duncombe, Australia	ND	KU873094	Filloramo & Saunders 2018
<i>Botryocladia pseudodichotoma</i> (Farlow) Kylin	Point Loma, San Diego, California, EE. UU.	KU687846	KU934260	Filloramo & Saunders 2018
<i>Botryocladia wrightii</i> (Harvey) W.E. Schmidt, D.L. Ballantine & Fredericq	Yamada-wan, Ouranohama, Prefectura Iwate-Ken, Japón	KU726707	ND	Filloramo & Saunders 2016b
	Arrecife rocoso en el punto del faro, Isla Piyang-do, Jeju, Corea del Sur	ND	KU934254	Filloramo & Saunders 2016b
<i>Cephalocystis furcellata</i> (J. Agardh) A.J.K. Millar, G.W. Saunders, I.M. Strachan & Kraft	Queenscliff, Cottage by the Sea Reef, Victoria, Australia	JQ907550	ND	Schneider <i>et al.</i> 2012
		ND	KU934268	Filloramo & Saunders 2016b
<i>Chamaebotrys boergesenii</i> (Weber Bosse) Huisman	Australia	KU726729	KU707876	Filloramo & Saunders 2016b
<i>Chrysymenia brownii</i> (Harvey) De Toni	En la boca del río Huon, Tasmania, Australia	KU726719	KU707865	Filloramo & Saunders 2016b
<i>Chrysymenia ornata</i> (J. Agardh) Kylin	Kallymenia Flats, New South Wales, Australia	KU382073	KU382038	Saunders <i>et al.</i> 2016
<i>Coelarthrum opuntia</i> (Endlicher) Borgesen	Bahía Port Phillip, Puerto Nepean, Victoria, Australia	KU726720	KU707867	Filloramo & Saunders 2016b
<i>Cordylecladia erecta</i> (Greville) J. Agardh	Clare, Irlanda	AY444178	ND	Wilkes <i>et al.</i> 2006
<i>Drouetia scutellata</i> Filloramo & G.W. Saunders	Coffs Harbour, Mutton Bird Island (N), New South Wales, Australia	KU726698	KU707846	Filloramo & Saunders 2016b
<i>Fryeella gardneri</i> (Setchell) Kylin	Mud Cove, Bamfield, Columbia Británica, Canadá	JX969776	JX969692	Dixon & Saunders 2013
<i>Halichrysis micans</i> (Hauptfleisch) P. Huvé & H. Huvé	Lord Howe I., Malabar Reef, New South Wales, Australia	JQ858278	ND	Schneider <i>et al.</i> 2012
		ND	KU934262	Filloramo & Saunders 2016b
<i>Halopeltis adnata</i> (Okamura) G.W. Saunders & C.W. Schneider	Piyangdo Island, Rocky Reef at Lighthouse, Cheju-do, Corea del Sur	JQ907552	JQ907538	Schneider <i>et al.</i> 2012
<i>Hymenocladopsis prolifera</i> (Reinsch) M.J. Wynne	Antártida	KU382071	KU934271	Filloramo & Saunders 2016b
<i>Irvinea ardreana</i> (J. Brodie & Guiry) Guiry	Sines, Portugal	JQ907559	ND	Schneider <i>et al.</i> 2012
		ND	KU934258	Filloramo & Saunders 2016b
<i>Leptosomia rosea</i> (Harvey) Womersley	Flinders Jetty, Victoria, Australia	JQ907560	ND	Schneider <i>et al.</i> 2012
		ND	KU934264	Filloramo & Saunders 2016b
<i>Microphyllum robustum</i> G.W. Saunders	New South Wales, Australia	JQ858277	ND	Schneider <i>et al.</i> 2012
		ND	KU934274	Filloramo & Saunders 2016b
<i>Pseudohalopeltis tasmanensis</i> G.W. Saunders	Bicheno, Reserva Marina Governor Island, Tasmania, Australia	KU726712	KU934259	Filloramo & Saunders 2016b
	Playa La Herradura, Coquimbo, Chile	HQ400593	ND	Schmidt <i>et al.</i> 2016
	Bahía de Pumillahue, Chiloé, Chile	ND	KU565721	Filloramo & Saunders 2016a

ND. Secuencia no disponible

Continuación Tabla S1 / Continued Table S1

Especie	Lugar de colecta	Nº de acceso GenBank <i>rbcL</i>	Nº de acceso GenBank COI-5P	Referencia
<i>Rhodymenia bamfieldensis</i> Filloramo & G.W. Saunders	Bordelais Islands (Bahía Norte), Bamfield, Columbia Británica, Canadá	KU687884	KU687786	Filloramo & Saunders 2018
<i>Rhodymenia californica</i> Kylin	McAbee Beach, Monterrey, California, EE.UU.	KU687844	KM254523	Filloramo & Saunders 2018
<i>Rhodymenia capensis</i> J. Agardh	Península Cape, Sudáfrica	AF385646	ND	Hommersand & Fredericq 2003
<i>Rhodymenia compressa</i> Filloramo & G.W. Saunders	Mutton Bird Island (Sur), Coffs Harbour, New South Wales, Australia	ND	KT781957	Filloramo & Saunders 2016a
<i>Rhodymenia contortuplicata</i> Filloramo & G.W. Saunders	Burying Ground Point, Tasmania, Australia	ND	HM917629	Filloramo & Saunders 2016a
<i>Rhodymenia corallina</i> (Bory) Greville	Playa Changa, Coquimbo, Chile	AY168657	ND	Gavio & Fredericq 2003
<i>Rhodymenia delicatula</i> P.J.L. Dangeard	Woods Hole (MBL), Massachusetts, EE. UU.	KU726696	ND	Filloramo & Saunders 2016b
	Fánaid, Doaghbeg, Donegal, Irlanda	ND	KU707851	Filloramo & Saunders 2016b
<i>Rhodymenia divaricata</i> E.Y. Dawson	La Parguera, Puerto Rico	EU670597	ND	Lozada-Troche & Ballantine 2010
<i>Rhodymenia gladiata</i> Filloramo & G.W. Saunders	Isla fragmentada solitaria (Noroeste), Coffs Harbour, New South Wales, Australia	ND	KT781956	Filloramo & Saunders 2016a
<i>Rhodymenia holmesii</i> Ardissone	Cabo Gris Nez, Francia	ND	HM033086	Saunders & McDonald 2010
<i>Rhodymenia insularis</i> Filloramo & G.W. Saunders	Islas fuera de Pirámide de Ball, Lord Howe Island, New South Wales, Australia	ND	HM033147	Filloramo & Saunders 2016a
<i>Rhodymenia intricata</i> (Okamura) Okamura	Ei, Ibusuki County, Kagoshima, Japón	AB383120	ND	Suzuki <i>et al.</i> 2010
	Canal entre las islas Little y Big Munseom, Jeju, Corea del Sur	ND	KU707844	Filloramo & Saunders 2016b
<i>Rhodymenia leptophylla</i> J. Agardh	Pahi, cerca de Auckland, Nueva Zelanda	ND	HM033149	Saunders & McDonald 2010
<i>Rhodymenia lociperonica</i> Filloramo & G.W. Saunders	Puente Peron, Western Australia, Australia	ND	KT781938	Filloramo & Saunders 2016a
<i>Rhodymenia norfolkensis</i> Filloramo & G.W. Saunders	Little Organ, Norfolk Island, Australia	ND	KT781979	Filloramo & Saunders 2016a
<i>Rhodymenia novaehollandica</i> G.W. Saunders	Port Phillip Head, Queenscliff Jetty, Victoria, Australia	ND	HM033117	Saunders & McDonald 2010
<i>Rhodymenia novazelandica</i> E.Y. Dawson	Malabar Reef, Lord Howe Island, New South Wales, Australia	ND	KT781924	Filloramo & Saunders 2016a
<i>Rhodymenia obtusa</i> (Greville) Womersley	Península Cape, Sudáfrica	AF385647	ND	Hommersand & Fredericq 2003
	Grossebucht, Luderitz, Namibia	ND	HM033136	Saunders & McDonald 2010
<i>Rhodymenia pacifica</i> Kylin	McAbee Beach, Monterrey, California, EE. UU.	KU687850	HQ544217	Filloramo & Saunders 2018
<i>Rhodymenia prolificans</i> Zanardini	Eaglehawk Neck, Tasmania, Australia.	ND	HM033139	Saunders & McDonald 2010
<i>Rhodymenia pseudopalmeta</i> (J.V. Lamouroux) P.C. Silva	Puerto Arkansas, South Jetty, Texas, EE. UU.	KU726725	KU934265	Filloramo & Saunders 2016b
<i>Rhodymenia rhizoides</i> E.Y. Dawson	Aquarium Reef, Monterey Bay, California, EE. UU.	KU687865	KM254761	Filloramo & Saunders 2018
<i>Rhodymenia skottsbergii</i> E.Y. Dawson	La Boca, Navidad, Chile	AY294354	ND	Gavio <i>et al.</i> 2005
<i>Rhodymenia stenoglossa</i> J. Agardh	Warmambool, Victoria, Australia	KU726706	HM033152	Filloramo & Saunders 2016b
<i>Rhodymenia wilsonis</i> (Sonder) G.W. Saunders	Wilsons Promontory, Victoria, Australia	ND	HM033155	Saunders & McDonald 2010
<i>Rhodymenia womersleyi</i> Filloramo & G.W. Saunders	Mutton Bird Island (Norte, Coffs Harbour, New South Wales, Australia	ND	KT781966	Filloramo & Saunders 2016a
<i>Sparlingia pertusa</i> (Postels & Ruprecht) G.W. Saunders, I.M. Strachan & Kraft	Dixon I., Bamfield, Columbia Británica, Canadá	JQ907561	ND	Schneider <i>et al.</i> 2012
		ND	KU934267	Filloramo & Saunders 2016b

ND. Secuencia no disponible

Tabla S2. Resultados de la prueba de Kruskal-Wallis para dos muestras independientes (especies *Rhodymenia corallina* y *R. howeana*) por cada variable morfológica externa medida (grados de libertad = 1). N= número de individuos (total y por especie); nivel de significancia= 0,05; ***= $P \leq 0,001$ y **= $P \leq 0,01$ (diferencias altamente significativas); *= $P \leq 0,05$ (diferencias significativas); n.s.= $P > 0,05$ (sin diferencias significativas). Longitud de fronda (Lf), Ancho de fronda (Af), Longitud de fronda/Ancho de fronda (Lf/Af), Longitud del primer segmento (Lps), Ancho del primer segmento (Aps), Longitud del primer segmento/Ancho del primer segmento (Lps/Aps), Longitud de segmentos medios (Lsm), Ancho de segmentos medios (Asm), Longitud de segmentos medios/Ancho de segmentos medios (Lsm/Asm), Longitud del estipe (Le) y Longitud de fronda/Longitud de estipe (Lf/Le) / Results of Kruskal-Wallis test for two independent samples (*Rhodymenia corallina* and *R. howeana* species) for each morphological variable measured (degrees of freedom= 1). N= number of individuals (total and per species); level of significance= 0.05; ***= $P \leq 0.001$ and **= $P \leq 0.01$ (highly significant differences); *= $P \leq 0.05$ (significant differences); n.s.= $P > 0.05$ (no significant differences). Frond length (Lf), Frond width (Af), Frond length/ Frond width (Lf/Af), First segment length (Lps), First segment width (Aps), First segment length/First segment width (Lps/Aps), Middle segment length (Lsm), Middle segment width (Asm), Middle segment length/Middle segment width (Lsm/Asm), Stipe length (Le) and Frond length/Stipe length (Lf/Le)

Variable	Valor P	Estadístico de contraste	N total	N (<i>R. corallina</i>)	N (<i>R. howeana</i>)
Lf	0,434	0,611	26	17	9
Af	0,850	0,036	26	17	9
Lf/Af	0,478	0,503	26	17	9
Lps	0,825	0,049	23	14	9
Aps	0,002	10,010	23	14	9
Lps/Aps	0,010	6,694	23	14	9
Lsm	0,269	1,222	26	17	9
Asm	0,001	10,316	26	17	9
Lsm/Asm	0,009	6,840	26	17	9
Le	0,486	0,486	20	12	8
Lf/Le	0,440	0,595	20	12	8