

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POST GRADO

MAESTRÍA EN ECOLOGÍA APLICADA



**“ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE *Macrocystis spp.*
(Laminariales) EN LA COSTA CENTRO SUR DEL PERÚ, EMPLEANDO
MARCADORES MITOCONDRIALES”**

Presentado por:

ERIKA ALEXANDRA SALAVARRÍA PALMA

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE

MAGISTER SCIENTIAE EN ECOLOGÍA APLICADA

Lima - Perú

2014

RESUMEN

Las macroalgas pardas son consideradas recursos hidrobiológicos con una significativa importancia ecológica, económica y social. Numerosos pescadores, en el sur de Perú y norte de Chile dependen de la recolección y cosecha de estos recursos para su sustento. Regulaciones Ministeriales establecen vedas que prohíben la actividad extractiva de macroalgas pardas; dada la deficiente recuperación en las poblaciones y extracción de ejemplares adultos. Estudios moleculares recientes en costa Sudamericana han determinado que *Macrocystis* tiene muy poca variabilidad genética, aunque muestras obtenidas en dos localidades de Perú presentan un patrón genético distinto. Se realizó colectas en el Callao, Ica y Arequipa, tomando un promedio de 10 individuos en 8 localidades muestreadas, para la extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación, usando marcadores mitocondriales ITS y COI. Los resultados indicaron que *Macrocystis pyrifer* y *M. integrifolia* son una misma especie, la estructura genética de las poblaciones muestreadas de *Macrocystis* mostró una baja variabilidad genética y sugieren que estos ecomorfos provienen de un antecesor en común (Mpyr1). De acuerdo con los análisis de las secuencias, las muestras presentaron baja diversidad haplotípica entre $H_e = 0,500 - 0,800$ y $\pi = 0,00253 - 0,00458$ y alto flujo de genes. Este estudio encontró haplotipos más frecuentes en las localidades de Bahía Independencia, San Juan de Marcona y Callao. Aunque los resultados obtenidos con COI asumen un alto número de haplotipos, probablemente a la deficiente calidad de las secuencias obtenidas. No obstante, permitió observar la utilidad de este marcador. Finalmente, se obtuvo dos nuevos y únicos haplotipos correspondientes a poblaciones en San Juan de Marcona y Callao, estos datos proporciona información útil e importante a nivel molecular para la aplicación de estrategias en el manejo y conservación del recurso *Macrocystis* en el Perú.

Palabras claves: *Macrocystis pyrifer*, Haplotipo, Variabilidad genética.

INDICE GENERAL

RESUMEN

ABSTRACT

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISION DE LITERATURA.....	4
2.1 ASPECTOS GENERALES DEL ALGA PARDA <i>MACROCYSTIS</i>	4
2.1.1. TAXONOMÍA DE <i>MACROCYSTIS</i> (Linnaeus) C. AGARDH 1820.....	4
2.1.2. DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DEL ALGA PARDA <i>MACROCYSTIS</i> ..	7
2.2. ASPECTOS REPRODUCTIVOS.....	9
2.3. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.....	9
2.4. ASPECTOS ECOLÓGICOS.....	11
2.4.1. SISTEMA DE CORRIENTES PERUANAS.....	12
2.4.2. EVENTOS: EL NIÑO OSCILACIÓN SUR (ENOS) Y LA NIÑA.....	15
2.4.3. RELACIÓN DE <i>MACROCYSTIS</i> CON LOS PARÁMETROS.....	17
2.5. ASPECTOS ECONÓMICOS DE <i>MACROCYSTIS</i>	18
2.5.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA DE <i>MACROCYSTIS</i> EN EL PERÚ.....	20
2.6. ESTUDIOS POBLACIONALES DE MACROALGAS PARDAS.....	21
2.7. FILOGENIA MOLECULAR.....	24
2.8. DIVERSIDAD GENÉTICA.....	26
2.8.1. MIGRACIÓN O FLUJO GÉNICO.....	27
2.8.2. MUTACIÓN.....	27
2.8.3. SELECCIÓN.....	27
2.8.4. DERIVA GÉNICA DENTRO DE SUBPOBLACIONES (ENDOGAMIA).....	28

2.8.5. DERIVA GÉNICA ENTRE POBLACIONES: ESTADÍSTICO F DE WRIGHT.....	28
2.8.6. DISTANCIA GENÉTICA.....	28
2.8.7. REPRESENTACIONES <i>NETWORK</i>	29
2.8.8. HISTORIA DEMOGRÁFICA.....	29
2.9 TÉCNICAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA.....	30
2.10 MARCADORES MOLECULARES: ADN MITOCONDRIAL ADN _{mt}	31
2.11. MARCADORES MITOCONDRIALES EN MACROALGAS.....	34
2.12. ESTUDIOS GENÉTICOS CON MARCADORES MITOCONDRIALES EN <i>MACROCYSTIS</i>	36
III. MATERIALES Y METODOLOGÍA	
3.1. ÁREA DE ESTUDIO.....	38
3.1.1. SITIOS DE MUESTREO Y COLECTA.....	39
3.1.2. CONSERVACIÓN Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS.....	40
3.2. ANÁLISIS EN LABORATORIO.....	41
3.2.1. EXTRACCIÓN DE ADN.....	41
3.2.2. REACCIÓN EN CADENA POLIMERASA (PCR).....	42
3.2.3. SECUENCIAMIENTO DEL ADN.....	43
3.3. ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO.....	43
3.3.1. EDICIÓN Y ALINEAMIENTO MÚLTIPLE DE SECUENCIAS.....	44
3.3.2. CARACTERIZACIÓN DE SECUENCIAS.....	45
3.3.3. DIVERSIDAD GENÉTICA.....	44
3.3.4. REDES DE HAPLOTIPOS (<i>NETWORKS</i>).....	45
3.3.5. HISTORIA DEMOGRÁFICA.....	46
3.3.6. DISTANCIA GENÉTICA.....	46

IV. RESULTADOS.....	47
4.1. ANÁLISIS DEL MARCADOR MITOCONDRIAL atp8-S.....	47
4.1.1. DESCRIPCIÓN DE LAS SECUENCIAS OBTENIDAS.....	47
4.1.2. ALINEAMIENTO MÚLTIPLE DE SECUENCIAS.....	47
4.1.3. DIVERSIDAD GENÉTICA.....	49
4.1.4. REDES DE HAPLOTIPOS.....	51
4.1.5. HISTORIA DEMOGRÁFICA.....	55
4.1.6. DISTANCIA GENÉTICA.....	59
4.2. ANÁLISIS DEL MARCADOR MITOCONDRIAL CITOCROMO C OXIDASA SUBUNIDAD I (COI).....	60
4.2.1. DESCRIPCIÓN DE LAS SECUENCIAS OBTENIDAS.....	60
4.2.2. ALINEAMIENTO MÚLTIPLE DE SECUENCIAS.....	60
4.2.3. DIVERSIDAD GENÉTICA.....	61
4.2.4. RED DE HAPLOTIPOS (NETWORKS).....	63
V. DISCUSIONES.....	65
VI. CONCLUSIONES.....	67
VII. RECOMENDACIONES.....	68
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
IX. ANEXOS.....	93

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Ubicación geográfica de los sitios de colecta.....	39
Cuadro 2. Distancia lineal en kilómetros entre los sitios de colecta.....	40
Cuadro 3. Diversidad haplotípica y nucleotídica con atp8-S.....	50
Cuadro 4. Distribución de los haplotipos con atp8-S de <i>Macrocystis pyrifera</i> y <i>M. integrifolia</i> en las localidades y sitios muestreados en el centro y sur del Perú.....	50
Cuadro 5. Relación directa entre la diversidad nucleotídica (π), número de sitios polimórficos (S) y los valores de diferencia a pares (k).....	55
Cuadro 6. Relación directa entre los estimadores de las poblaciones agrupadas por regiones geográficas analizadas con el marcador mitocondrial atp8-S.....	55
Cuadro 7. Valores de Tajima (D) y Fu (Fs) de las poblaciones de <i>Macrocystis pyrifera</i> y <i>M. integrifolia</i> de acuerdo a la región geográfica.....	56
Cuadro 8. Diversidad haplotípica y nucleotídica con COI.....	61
Cuadro 9. Distribución de los haplotipos con COI de <i>Macrocystis pyrifera</i> y <i>M. integrifolia</i> en las localidades y sitios muestreados en el centro y sur del Perú.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación esquemática del ADN mitocondrial.....	32
Figura 2. Primera porción del alineamiento múltiple de secuencias con atp8-S.....	48
Figura 3. Sitios polimórficos de la primera porción del alineamiento múltiple de secuencias con atp8-S.....	49
Figura 4. Red de haplotipos para localidades del Perú con marcador mitocondrial atp8-S.....	51
Figura 5. Mapa del Perú mostrando los haplotipos y la localización de los sitios de colecta.....	52
Figura 6. Red de haplotipos para las localidades de la costa sudeste del Pacífico, Centro y Sur del Perú, con el marcador mitocondrial atp8-S.....	53
Figura 7. Mapa de la distribución global de los haplotipos con la localización de los sitios de colecta.....	54
Figura 8. Curvas de distribuciones pareadas o <i>mismatch distributions</i> del marcador atp8-S para las poblaciones de (a) <i>Macrocystis pyrifera</i> y (b) <i>M. integrifolia</i>	56
Figura 9. Curvas de distribución a pares con atp8-S en las zonas geográficas: a. Centro y sur del Perú (poblaciones muestreadas para este estudio), b. Perú (incluye las poblaciones de Atico y Paracas), c. Costa Sudeste del Pacífico SEP (poblaciones del centro y Sur del Perú).....	57
Figura 10. Comparación de las condiciones climáticas y posible evento de expansión súbita de las poblaciones de <i>Macrocystis</i> pertenecientes a la Costa sudeste del Pacífico (incluye poblaciones del centro y sur del Perú).....	58
Figura 11. Primera región del alineamiento múltiple de secuencias con COI.....	61
Figura 12. Red de haplotipos de <i>Macrocystis</i> para las localidades del Perú con el marcador mitocondrial COI.....	63

Figura 13. Red de haplotipos de *Macrocystis* de distribución mundial comparada con haplotipos del centro y sur del Perú, empleando marcador mitocondrial COI.....64

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Ubicación geográfica de las localidades de muestreo. Escala 1:2'500.000.....	93
ANEXO 2. Localidades de muestreo ubicadas en la zona costera centro – sur del Perú...	94
ANEXO 3. Sitios de muestreo.....	95
ANEXO 4. Códigos y localidades muestreadas.....	96
ANEXO 5. Rizoides (a) <i>Macrocystis pyrifer</i> a (b) <i>Macrocystis integrifolia</i> . Aerocistos y frondas de (a) <i>Macrocystis pyrifer</i> a (b) <i>Macrocystis integrifolia</i>	97
ANEXO 6. Protocolo de muestreo para <i>Macrocystis</i>	98
ANEXO 7. Método de extracción CTAB (Bromuro de Cetil Trimetil Amonio) adaptado por Zuccarello y Lokhorst, 2005.....	99
ANEXO 8. Lecturas de las absorbancias en las muestras de ADN en el espectrofotómetro Nanodrop (ND 1000) a 230, 260 y 280 nm.....	100
ANEXO 9. Descripción del <i>Master Mix</i> empleado en la PCR para la Amplificación del ADN.....	101
ANEXO 10. Secuencias con el marcador atp8-S de <i>Macrocystis spp.</i> comparadas con secuencias registradas en el <i>GenBank</i>	102
ANEXO 11. Matriz de Distancia genética con el marcador mitocondrial atp8-S de las poblaciones del centro y sur del Perú.....	104
ANEXO 12. Secuencias con el marcador mitocondrial COI de <i>Macrocystis spp.</i> comparadas con secuencias reportadas en el <i>GenBank</i>	106

I. INTRODUCCIÓN

Las macroalgas pardas son consideradas recursos hidrobiológicos con una significativa importancia ecológica, económica y social; se exportan para ser utilizadas principalmente como fuente de alginatos que a nivel mundial, generan anualmente más de 250 millones de dólares (Vásquez, 2009). En Perú, el alga parda *Macrocystis pyrifera*, es conocida como “sargazo” o “bolita” es un recurso que constituye el sustento económico de numerosas familias en el litoral peruano y debido a su creciente demanda de los mercados internacionales para la obtención de materia prima, se ha incrementado su extracción propendiendo a la sobreexplotación del recurso (IMARPE, 2012). Consecuentemente, se hace urgente la implementación de planes de manejo para el aprovechamiento racional y al mismo tiempo mejorar la productividad de las algas de importancia comercial, entre ellas *Macrocystis pyrifera*.

El Instituto del Mar del Perú (IMARPE) evalúa la distribución y pesquería de las principales especies de macroalgas en el litoral centro y sur. Así mismo, investiga el impacto de eventos naturales y las actividades antrópicas, determinando la biodiversidad asociada a estas poblaciones de algas, a fin de establecer estrategias de ordenamiento pesquero para la sostenibilidad de estos recursos (Zavala, 2011). Regulaciones Ministeriales, apoyadas en estudios técnicos del IMARPE, han establecido vedas que prohíben la actividad extractiva de las macroalgas pardas debido a la deficiente recuperación en las poblaciones de ejemplares adultos y extracción racional.

Por otra parte, las modernas técnicas de análisis de ADN ponen de manifiesto la variación genética existente tanto entre poblaciones, individuos o especies revelando la biodiversidad presente en un ecosistema. La diversidad genética es crítica para la conservación, ya que proporciona a las especies y a sus poblaciones plasticidad fenotípica para sobrevivir ante cambios ambientales inesperados, fluctuaciones demográficas e impactos humanos (Redondo *et al.*, 2003). Por lo tanto, es necesario estudiar no solo los aspectos biológicos de las especies y sus poblaciones, sino también incluir análisis genéticos cuyas herramientas moleculares, como las tecnologías en el estudio del ADN, nos permitirán tomar decisiones adecuadas para la conservación de los recursos naturales.

Con el uso de métodos moleculares actuales y sensibles al polimorfismo genético, como por ejemplo el empleo del ADN mitocondrial (ADNmit), es posible obtener información para detectar diferencias genéticas entre poblaciones subdivididas o similares.

El ADNmit posee características especiales que lo diferencian de otros marcadores moleculares, estos son: (1) alta tasa de mutación la cual es usada para estudiar el análisis de la estructura genética de las poblaciones, (2) no presentan recombinación y (3) herencia uniparental, sólo por vía materna, por lo que puede ser usado en el estudio de relaciones filogenéticas y evolutivas (Avice, 2004).

Adicionalmente, los bajos costos en los análisis de secuenciación en la actualidad, proporcionan la posibilidad de desarrollar investigación genómica y de esta forma establecer las bases para el uso sostenible de los recursos y la conservación de los mismos. Un estudio reciente realizado en la costa sudamericana, determinó que *Macrocystis pyrifera* posee muy poca variabilidad genética (Macaya y Zuccarello, 2010a). Sin embargo este estudio también reportó dos localidades de Perú, Atico y Paracas, que presentaban un patrón genético distinto conformado por haplotipos únicos.

Astorga *et al.*, 2012 empleando Análisis Bayesiano y Métodos Filogenéticos Comparativos, evaluaron en las costas chilenas el origen del género *Macrocystis* y su filogenia, mediante la región del espaciador intergénico ITS-2 DNA, concluyendo que el haplotipo ancestral corresponde a *M. pyrifera* y se originó en hemisferio norte para posteriormente colonizar el hemisferio sur. Con la finalidad de conocer con mayor detalle la estructura genética de esta macroalga, esta Tesis de maestría plantea la siguiente hipótesis: La variabilidad en la estructura genética entre las poblaciones de *Macrocystis spp.* es baja en la costa centro, sur del Perú.

En el Perú existen trabajos sobre caracteres morfológicos distintivos, distribución geográfica y usos de esta importante macroalga *Macrocystis* (Acleto, 1986). No obstante, las investigaciones en el campo genético son escasas. Por consiguiente, la presente Tesis tiene como objetivo analizar la variabilidad genética mediante marcadores mitocondriales: citocromo c oxidasa subunidad COI (Lane *et al.*, 2007) y atp8-S (Voisin *et al.*, 2005) de las poblaciones de *Macrocystis spp.* a recolectarse en la zona centro, sur del Perú.

OBJETIVOS

1. Determinar la frecuencia de haplotipos en las poblaciones de *Macrocystis* provenientes de la costa centro sur del Perú.
2. Analizar la estructura genética de las poblaciones a estudiar de *Macrocystis*.
3. Inferir las relaciones filogenéticas entre las poblaciones de *Macrocystis* de la costa centro sur del Perú.
4. Analizar y comparar los resultados con las secuencias disponibles en *GenBank* para la especie, a nivel global y en Sudamérica.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ASPECTOS GENERALES DEL ALGA PARDA *MACROCYSTIS*

2.1.1. TAXONOMIA DE *MACROCYSTIS* (Linnaeus) C. AGARDH 1820

La ubicación taxonómica de *Macrocystis* (Linnaeus) C. AGARDH 1820 corresponde:

División:	Heterokontophyta
Clase:	Phaeophyceae
Orden:	Laminariales
Familia:	Laminariaceae
Género:	<i>Macrocystis</i>
Especie:	<i>Macrocystis pyrifera</i>

Las especies de *Macrocystis* han sido tradicionalmente descritas basadas en los caracteres morfológicos. Uno de los primeros estudios realizados por Skottsberg (1907) indica un alto grado de diversidad morfológica en *Macrocystis*. La clasificación de las especies dentro del género se basó originalmente en la morfología de la fronda produciendo más de 17 especies (North, 1971); esta morfología se consideraba un rasgo plástico fuertemente afectado por las condiciones ambientales y posteriormente todas esas especies fueron consideradas sinonimia de *Macrocystis pyrifera* (Hooker, 1847). Sin embargo, estudios posteriores reconocieron las especies basadas en la morfología del disco de fijación (Womersley, 1954): *M. pyrifera*, *M. angustifolia*, *M. integrifolia* y *M. laevys*, desde Islas Marion en el sudeste del Océano Índico basado en las características de sus frondas lisas (Hay, 1986); desde entonces cuatro especies han sido referidas.

Estudios morfométricos, de hibridación y genéticos indican que *M. pyrifera*, *M. angustifolia* y *M. integrifolia* son conspicuas (Lewis *et al.*, 1986; Brostoff, 1988; Lewis y Neushul, 1994). Estudios en poblaciones de *M. pyrifera* al sudeste de California que muestran ambos discos de fijación tipo: *M. angustifolia* y *M. pyrifera*, indican que las diferencias morfológicas están genéticamente determinadas en el disco de fijación, como por ejemplo el largo del estipe basal. Sin embargo, formas intermedias del disco de fijación

puede ser encontradas, indicando diferenciación ecotípica pero no separación entre especies (Brostoff, 1988). Experimentos de hibridación de discos de fijación entre poblaciones de *M. pyrifera*, así como de *M. integrifolia*, en el Sudeste de California; fueron capaces de entrecruzarse y formar una progenie híbrida completamente viable (Lewis *et al.*, 1986). Esto ha sido apoyado en estudios moleculares y filogenéticos de Laminariales, usando análisis de restricción de ADN cloroplástico (ctDNA) que han revelado que los patrones de Fragmentos de Restricción en el hemisferio norte de *M. pyrifera* y *M. integrifolia* son idénticos (Fain, 1992).

En el último experimento de hibridación sobre el aislamiento de gametofitos de *Macrocystis pyrifera* y *M. integrifolia* localizados en el extremo del hemisferio noreste extendido a lo largo de la costa del Pacífico Norte y en el hemisferio sudeste (Tasmania – Australia) todas las combinaciones de individuos: *M. pyrifera* (C. Agardh), *M. integrifolia* y *M. angustifolia* (Bory); hibridaron. Aunque las tres especies de *Macrocystis* pueden ser consideradas conspicuas de acuerdo al concepto de especie biológica. Lewis y Neushul, 1994 recomendaron que se sigan reconociendo como especies separadas sobre la base de sus características morfológicas.

Estudios taxonómicos recientes sugieren que mientras la mayoría de especies australianas de *Macrocystis* se pueden distinguir entre *Macrocystis pyrifera* y *M. integrifolia* sobre sus caracteres morfológicos; algunas especies del norte y de las costas sudestes protegidas de Tasmania, muestran caracteres intermedios (Womersley, 1987).

Estudios de campo en Australia sugieren que *Macrocystis pyrifera* se limita al sudeste de Tasmania, produciéndose principalmente en aguas más profundas, dominando desde ocho a veintidos metros de profundidad; mientras que *M. angustifolia* se produce a lo largo de la costa de Australia del sur (al este de Cabo Jaffa) Victoria, la costa norte y noroeste de Tasmania desde el nivel de marea baja a diez metros de profundidad. (Edgar, 1987).

Cuatro líneas se evidenciaron de *Macrocystis*, sin embargo, se sugirió que esta clasificación actual, también necesita revisión debido a: (1) *M. pyrifera*, *M. integrifolia* y *M. angustifolia* son interfértiles (Lewis *et al.*, 1986; Lewis y Neushul 1994); la interfertilidad con *M. laevis* no ha sido probada, (2) morfologías intermedias se han observado (Setchell, 1932; Neushul, 1959); (3) las características morfológicas han demostrado ser de valor taxonómico limitado en Laminarias, que presentan una gran

plasticidad morfológica (Demes *et al.*, 2009). En casos extremos, tal plasticidad se ha traducido en la construcción incorrecta de nuevas morfológicas variantes generadas para explicar una sola especie (Lane *et al.*, 2007) y lo más importante, (4) patrones de relación genética entre las cuatro especies no están en concordancia con la clasificación morfológica actual (Coyer *et al.*, 2001). Esta evidencia se apoya en el reconocimiento del género como una sola especie morfológicamente plástica, con poblaciones mundiales unidas por el flujo de genes. Por lo tanto, para estos investigadores, las cuatro especies actualmente reconocidas son referidas simplemente como las algas gigantes *Macrocystis*.

En *Macrocystis*, los factores ambientales se han considerado importantes para la variación morfológica que presenta. Skottsberg (1907) calculó previamente que las especies de *Macrocystis* reconocidas en el cambio de siglo eran simplemente sinónimos de *M. pyrifera*; argumentó que las condiciones locales del medio ambiente, por ejemplo, el movimiento del agua y la luz, fueron los responsables de las diferencias en la morfología de la hoja que fue la base fundamental para la delimitación de las especies. En efecto, la alta plasticidad en la morfología de las frondas en las algas inducida por factores ambientales, ha sido demostrada en una variedad de escalas espaciales (Druehl, 1978; Hurd *et al.*, 1996; Hurd y Stevens, 1997; Hurd, 2000; Koehl *et al.*, 2008).

Según Demes *et al.*, 2009 el reconocimiento de *M. integrifolia*, *M. angustifolia*, y *M. laevis*, como forma distinta de *M. pyrifera* ha sido rechazado con firmeza sobre la base de los conceptos biológicos y filogenéticos de la especie. Estos investigadores, consideraron que el reconocimiento actual de cuatro especies de *Macrocystis*, basado en el concepto morfológico de especie, es injustificable al considerar la naturaleza altamente polimórfica del género.

Recientemente, Macaya & Zuccarello 2010b, realizaron investigaciones utilizando el código de barras del gen COI, sus resultados evidenciaron el reconocimiento de una sola especie *Macrocystis pyrifera*, el nombre más antiguo, reportando haplotipos compartidos en varios sitios distantes en todo el hemisferio sur y variabilidad genética muy baja en las muestras recolectadas. Otros estudios, publicados por estos investigadores, dan a conocer sobre la estructura genética de *Macrocystis* a lo largo de las costas del Pacífico Sudeste (SEP), en concreto se analizó la concordancia de los supuestos puntos biogeográficos con las discontinuidades genéticas y el efecto de los acontecimientos históricos y contemporáneos en el patrón genético de esta importante alga utilizando las secuencias

atp8-S de *Macrocystis pyrifera* a lo largo de la SEP. Aunque el objetivo de sus estudios se centró en aspectos taxonómicos, lo hicieron bajo una estructura genética y haplotipos compartidos entre áreas distantes del hemisferio sur. En este estudio, se reportó la presencia única de haplotipos en Atico y el haplotipo ancestral Mpyrt1 en Paracas, lo que sugirió un aumento en el número de muestras a ser colectadas en Perú. (Macaya & Zuccarello 2010a).

Astorga *et al.*, 2012 evaluaron en las costas chilenas la divergencia genética de los ecomorfos *Macrocystis pyrifera* y *M. integrifolia* y el origen del género, usando secuencias de la región del espaciador inter génico ITS-2 DNA, comparando los resultados obtenidos de estos ecomorfos en Chile con las secuencias registradas en el *Genbank* de *M. pyrifera* y *M. integrifolia* en las costas del Pacífico de Canadá y Estados Unidos, *M. leavis* de las Islas Marion en Sudáfrica y *M. angustifolia* de Nueva Zelanda y Australia; los resultados del análisis filogenético, indicaron una separación entre los ecomorfos de las costas chilenas; Sin embargo, a nivel global la consistencia de esa separación no se observó al obtener altos valores de divergencia genética entre las muestras de iguales ecomorfos entre los diferentes hemisferios analizados. Además, concluyeron que el haplotipo de *M. pyrifera* es el antecesor más antiguo, indicando que procesos históricos asociados a la diversificación del género determinaron su distribución y variabilidad morfológica, que el género se originó en el Pacífico Nororiental y posteriormente colonizó el Pacífico Suroriental. Confirmando la presencia de una sola especie, *Macrocystis pyrifera*.

Otros estudios en Laminariales, como respuesta a las condiciones ambientales, han sido descritos por Shibneva, *et al.*, 2013 quienes examinaron si las diferencias morfológicas entre las formas de *Undaria pinnatifida* en la Bahía Gran Peter estaban genéticamente arregladas o eran inducidas como respuesta al ambiente; empleando Polimorfismos en la Longitud de Fragmentos Amplificados AFLP y Microsatélites, cultivando además las tres formas de *Undaria* en iguales condiciones y realizando análisis bioinformáticos. Concluyeron que las morfologías de *Undaria pinnatifida* obedecían a una adaptación ontogénica al ambiente local.

2.1.2. DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DEL ALGA PARDA *MACROCYSTIS*

Las grandes algas pardas se caracterizan porque su cuerpo vegetativo se encuentra diferenciado y es análogo a las plantas superiores, en su morfología se distinguen claramente un rizoide en forma de disco o grampon que alcanza hasta 40 cm de diámetro y

35 cm de altura que cumple la función de fijar el alga a un sustrato, posee aerocistos o neumotocistos que son vesículas llenas de aire permitiendo que la gran masa de alga flote en la columna de agua, uno o varios cauloides cilíndricos, flexibles, de ramificación dicotómica, parecidos a tallos y muchas filoides o frondas generalmente aplanadas que son lanceoladas, rugosas y asemejan a hojas con márgenes dentados; aquellas cercanas al disco basal no presentan aerocistos de flotación. Un organismo maduro puede tener 40 o más frondas en diferentes estados de crecimiento (juveniles, adultas, senescentes). *Macrocystis* es de color café verdoso o amarillo parduzco y pueden llegar a medir 70 cm de largo y 30 cm de ancho; la planta completa sobrepasa los 30 m. (Hauenstein y González, 1994) y se adhiere fuertemente a los fondos rocosos mediante sus rizoides o discos de fijación formando extensas praderas una vez que las frondas alcanzan la superficie.

Macrocystis es una de las algas marinas más extensamente distribuidas en el mundo, forma densos bosques tanto en el hemisferio norte como en el sur, comparables a los bosques terrestres. Los neumotocistos en esporofitos adultos tienen también una estructura compleja y altos niveles de productividad primaria (Mann, 1973; Towle y Pearse, 1973; Jackson, 1977).

Además, aunque la productividad primaria de *Macrocystis* puede alimentar la productividad secundaria a través de pastoreo directo, más carbón fijado probablemente se ingresa en la red alimentaria a través de la vía del detritus o es exportado del sistema (Gerard, 1976; Pearse y Hines, 1976; Castilla y Moreno, 1982; Castilla, 1985; Inglis, 1989; Harrold *et al.*, 1998; Graham, 2004). En algunas regiones, como hábitat y suministro de energía puede dar soporte a 40 o más de 275 especies en común (Beckley and Branch, 1992; Vásquez *et al.*, 2001; Graham, 2004). Evidenciando su rol ecológico en los ecosistemas donde habita.

En la zona centro sur del Perú los *kelps* se encuentran representadas por la familia Lessoniaceae y Laminariaceae en la actualidad se evalúa la distribución, concentración estado de las poblaciones y las pesquerías de las principales especies de *kelp* de esta zona. (Zavala, 2011). Estos estudios constituyen estrategias para la conservación de los *kelp* por su importancia ecológica debido a que otros recursos hidrobiológicos cohabitan en ellas, por su importancia ambiental a causa de su capacidad de absorción frente a metales pesados y por su importancia económica porque son el sustento de las comunidades costeras del centro y sur del Perú.

2.2.ASPECTOS REPRODUCTIVOS

Las algas pardas muestran diversas formas de reproducción asexual y sexual, correspondientes a los ciclos de vida de cada grupo taxonómico en particular (Acleto y Zúñiga, 1998). La generación asexual está representada por las plantas esporofíticas que tienen esporangios unicelulares, uniloculares que dan lugar a planosporas o numerosas zoosporas biflageladas; libres que germinan y dan origen a las plantas sexuales. En la generación sexual, las plantas gametofíticas o sexuales en ordenes como las Laminariales, son filamentosas, pequeñas, en contraste con los esporofitos macroscópicos parenquimatosos. Los gametangios son pluricelulares y pluriloculares y cada lóculo da lugar a un solo gameto. Los gametos son piriformes generalmente con dos flagelos laterales, desiguales en longitud, siendo el anterior más largo y provistos de mastigonemas y el posterior corto y liso.

El gametofito masculino difiere del femenino por tener células más pequeñas y estar abundantemente ramificado. La reproducción sexual es oogámica. El gametofito masculino produce en cada anteridio un solo anterozoide, que es biflagelado y móvil. El gametofito femenino lleva en cada oogonio una simple ovocélula, la cual es fertilizada cuando emerge parcialmente de la pared oogonial. El cigote secreta su pared celular y después de cierto tiempo se divide germinando en un nuevo esporofito. En *Macrocystis*, los esporangios uniloculares se agrupan en soros, sobre ambas superficies de las láminas basales o esporófilos. El gametofito es microscópico, filamentosos, ramificado y dioico los cuales por fecundación darán origen a esporofitos (Acleto y Zúñiga, 1998).

A los 30 días de esporulación se observa esporofitos de aproximadamente 1 mm o menos, al cabo de 60 días se puede observar esporofitos con un tamaño de 2 y 5 mm, posteriormente son trasladados al mar. Al cabo de uno o dos meses, dependiendo de las condiciones del mar, estos esporofitos miden entre 5 y 20 cm, momento en el que son desdoblados. Finalmente después de cinco meses se cosechan (Juan Diego Dupuy Soto, Jefe de Operaciones PSW, com. pers.). Avila *et al.*, 2010.

2.3.DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Macrocystis pyrifera AGARDH (1820) es una alga parda cuya distribución ha sido reportada principalmente a lo largo de las Costas del Pacífico de América del Norte (México, Norte de Baja California, y Alaska) y del Sur (Perú hasta Cabo de Hornos)

(Alveal, 1995), Sudáfrica, Australia, Nueva Zelanda (Druehl, 2000); en Chile se distribuye desde Tocopilla (28°S) (Levring, 1960) hasta el Cabo de Hornos (55°S) (Ramírez y Santelices, 1991; Hoffmann y Santelices, 1997; Buschmann *et al.*, 2004), sus poblaciones forman cordones continuos paralelos a la costa hasta 100 metros, habitando preferentemente en áreas protegidas y semi protegidas del oleaje. Las especies se caracterizan por formar densos bosques (Candia *et al.*, 1979; Palacios y Mancilla, 2003), crecen fijadas al sustrato rocoso mediante un grampon o disco de fijación formando extensos cinturones costeros en el sur de Argentina y Chile (Barrales y Lobban, 1975; Santelices y Ojeda, 1984; Dayton, 1985) constituyendo la mayor reserva mundial de alginatos.

Macrocystis es un buen colonizador, las frondas con sus neumatocistos les permiten flotar y las frondas fértiles pueden liberar las esporas mientras que están a la deriva (Dayton, 1985; Schiel y Foster, 1986; Santelices, 1990). Adicionalmente, las esporas pueden permanecer competentes en la columna de agua por varios días y latentes sobre los sustratos por algunos meses (Reed *et al.*, 1992, 2006; Dieck, 1993; Ladah, 1999). Por lo tanto la habilidad de colonización de *Macrocystis* es un importante aspecto de su dispersión geográfica y el flujo genético. Esto podría sugerir una homogeneidad genética inter poblacional de *M. pyrifera*. A través de secuencias ITS, Coyer *et al.*, 2001 encontraron poca diferenciación genética en las muestras recogidas a través de un amplio rango de distribución geográfica en Chile, Sudáfrica, Marion Island, Tasmania, Australia y Nueva Zelanda.

Existe evidencia reciente que sugiere que las algas adultas con estructuras flotantes son más propensas a tener una importante dispersión a larga distancia (Macaya *et al.*, 2005; Hernández-Carmona *et al.*, 2006). A lo largo de la costa chilena, Macaya *et al.* (2005), determinó que el 27% de las estructuras flotantes de *M. pyrifera* poseían frondas reproductivas funcionales, esporas viables en libertad, y se estimó que la fertilidad puede mantenerse durante un mínimo de 21 días.

La distribución bipolar de *Macrocystis* ha sido explicada por la migración de un centro de origen a través de los trópicos por medio de la dispersión. La controversia se centra sin embargo en cuál es el verdadero centro de origen (Lewis y Neushul, 1994; Chin *et al.*, 1991). Estudios biogeográficos del género *Macrocystis* sugieren que la actual distribución antitropical mundial se originó con la aparición del género en el hemisferio norte y una posterior colonización al hemisferio sur (Lindberg, 1991).

Alternativamente Chin *et al.*, (1991) propusieron un origen en el hemisferio sur. Sin embargo, esta hipótesis ha sido cuestionada (Lindberg, 1991). La filogeografía del género fue descrita por Coyer *et al.*, (2001), lo que sugiere una dispersión reciente de *Macrocystis* del hemisferio norte al hemisferio sur y el cruce de la barrera tropical entre 3,1 millones a 10.000 años, con base a un grupo parafilético del hemisferio norte en relación con el origen monofilético encontrado en el hemisferio sur y la mayor diversidad de secuencias dentro de los individuos del Hemisferio Norte. Además, Macaya y Zucarrello (2010b) realizaron un estudio en 39 localidades a lo largo del sudeste de la Costa del Pacífico, los estudios moleculares realizados con secuencias del citocromo c oxidasa subunidad I (COI) indicaron que *M. integrifolia* está presente a lo largo de la costa chilena y el norte del Perú (6 ° hasta 32 ° S) y *M. pyrifera* se distribuye a partir de 37 ° S hasta la Patagonia 55 ° S.

2.4. ASPECTOS ECOLÓGICOS

Los bosques de *kelps* se desarrollan en aguas frías y ricas en nutrientes, son unos de los hábitats más importantes de producción biológica en el ambiente marino. Se encuentran alrededor del mundo en las aguas costeras abiertas y los bosques más grandes se restringen a temperaturas inferiores a 20°C, extendiéndose desde los círculos Árticos hasta la Antártica. La dependencia a la luz para la fotosíntesis las limita hasta profundidades de 15 a 40 m. Las características oceanográficas y continentales del territorio peruano ofrecen condiciones complejas, determinadas por la interacción de las corrientes debido a la dinámica de los ciclones y anticiclones, corrientes marinas, orogenia andina, cuencas hidrográficas del Pacífico, del Atlántico, del Lago Titicaca y los bosques tropicales. Estas características han generado un territorio extremadamente heterogéneo, con diversidades culturales, ecológicas, climáticas y químicas. Con respecto al ecosistema marino, debido a su ubicación geográfica presenta especies de las Provincia Biogeográfica Panameña (Golfo de California, México 30° 30'N) hasta el sur de Cabo Blanco en el norte del Perú (04° 15'S) siendo su fauna típicamente tropical (Kameya, 2002).

El litoral peruano también posee especies de la Provincia Biogeográfica Peruana desde Punta Aguja, Perú (6°S) hasta cerca a la Isla Chiloé, Chile (42°S); es decir, presentan especies de aguas templadas típicas de la Corriente Peruana, fenómeno físico influenciado por los vientos alisios del Sureste, produciendo los afloramientos, que tiene enorme significado biológico en la economía del mar peruano debido a la fertilización de

los estratos superiores, incrementando la producción primaria; constituyendo el primer nivel trófico, sobrepasando los 400 g carbono/m² (Kameya, 2002).

En el ambiente rocosos se encuentra diferentes especies de algas desde la zona supralitoral hasta los aproximadamente 30 m de profundidad, cuyas características ecológicas y económicas (Lleellish, 2001), son las siguientes: En esta zona, existen dos especies principales que conforman praderas submarinas: el “sargazo” *Macrocystis pyrifera* y el “aracanto” *Lessonia trabeculata*. Ambas viven sobre el sustrato rocoso, principalmente entre los 4-20 m de profundidad, habitan frecuentemente aguas frías, siendo abundante en la costa central y sur del Perú.

El mecanismo de dispersión de *M. pyrifera* en el ecosistema marino del Perú es aprovechado por el pez volador *Cypselurus heterurus* (IMARPE, 2008) para acercarse a la costa, en épocas de desove (noviembre a febrero), permitiendo que las balsas flotantes transportadas mar a fuera (Macaya y Thiel, 2008) hacia aguas oceánicas con temperatura superficial por encima de 20⁰C (Oxenford *et al.*, 1995) permita el desove de este pez, cumpliendo un papel significativo en el proceso reproductivo de esta importante especie para la pesquería artesanal.

Los bosques de *Macrocystis* constituyen hábitat, refugio y alimento de una gran diversidad de especies de invertebrados y peces, con reconocida importancia para las comunidades bentónicas; así como, sustrato para otras especies de algas (Plana *et al.*, 2007). La importancia de las macroalgas en el ambiente marino se manifiesta no sólo en su productividad, sino también en diversas formas tales como la prevención de remoción del sustrato al actuar como trampas de sedimentos; la filtración de agua marina al utilizar para su crecimiento grandes cantidades de Nitrógeno N, Fósforo P y el hecho de que proveen de un hábitat insustituible para la fauna marina al servir de sustrato, alimento y refugio para peces e invertebrados marinos. Además, la biomasa de algunas especies proporciona aplicaciones en diversas industrias a beneficio del ser humano, lo que les confiere su interés económico.

2.4.1. SISTEMA DE CORRIENTES PERUANAS

La circulación marina peruana es muy compleja, integrada por corrientes superficiales y subsuperficiales; buena parte del conocimiento de la circulación marina peruana se sustenta en cálculos geostroficados basados en datos hidrográficos colectados

durante extensos períodos de tiempo (Wooster y Gilmartin, 1961; Wyrcki, 1967; Strub *et al.*, 1998). El sistema de corrientes frente al Perú forma parte del Ecosistema de la Corriente de Humboldt que se extiende, de sur a norte, desde 40° - 45° S hasta 4° S, proyectándose a veces hasta el Ecuador, en sentido este-oeste está definida desde el continente sudamericano hasta cerca de 87° W perpendicular frente al Callao. Esta corriente frente al Perú recibe el nombre de Corriente del Perú, por acuerdo en la Primera Conferencia Oceanográfica Iberoamericana, celebrada en Málaga en 1935.

El sistema de corrientes superficiales hacia el Ecuador está compuesto por la Corriente Costera Peruana (CCP) y la Corriente Oceánica Peruana (COP), que transportan aguas de origen subantártico. De acuerdo a Wyrcki (1967) la CCP presenta velocidades de 4-15 cm/s, fluye entre los 78° W y la costa; es más intensa entre abril y setiembre, cuando se intensifican los vientos alisios del SE y transportan un volumen aproximado de seis millones de m^3/s . Parte del flujo se desvía hacia el oeste a los 15° S, persistiendo luego como un flujo débil y confinado a los primeros 25-50 m.

La COP llega hasta 700 m de profundidad y alcanza mayores velocidades que la CCP, ubicada al oeste de los 82° W, fluye hacia el norte y alrededor de los 10° S gira hacia el oeste. Entre julio y octubre forma un solo flujo con la CCP, está situada al oeste de la línea máxima de acción del viento, transporta un caudal de unos ocho millones de m^3/s . Entre la CCP y la COP fluye una contracorriente, a la que se denomina Corriente Peruana Subsuperficial (CPSS), o Corriente Subsuperficial Peruano-Chilena, presenta velocidades ligeramente superiores a 20 cm/s frente a Punta Falsa, debilitándose en su avance hacia el sur. Esta corriente comienza frente a Talara extendiéndose unos 250 km mar adentro, con un flujo más intenso cerca de los 100 m de profundidad.

Asociadas al Sistema de Corrientes Ecuatoriales, las corrientes hacia los polos son dominantes bajo las capas superficiales en el Perú y norte de Chile. Brink *et al.*, 1983, demostraron que gran parte del flujo a 100 mn cerca de las costas de Perú se dirige hacia los polos, contrario a los vientos prevalecientes y al sistema de corrientes de márgenes orientales de los océanos. Esto incluso se cumple sobre el zócalo, donde la deriva de los vientos y el afloramiento hacia el Ecuador están configurados a niveles de 50 m de profundidad (Gutiérrez, 2002). Lukas, 1986, usó mediciones hidrográficas para inferir que la Corriente Submarina Ecuatorial (CSE) o Corriente de Cromwell (Knauss, 1960) se fracciona en las Islas Galápagos: Un ramal se dirige al norte hasta los 3° - 6° N con

velocidades máximas a 100 y 200 m de profundidad. Hacia el sur, CSE se bifurca en dos ramales: uno costero y otro fuera de la costa próximo a los 84°W. Estos dos flujos, que se debilitan hacia el sur, están separados por una corriente débil hacia el Ecuador.

Un ramal costero tiene un máximo superficial a 4°S y un máximo subsuperficial a 6°S y es el origen de la Corriente Submarina Peruana (CSP) o Corriente de Gunther o Extensión Sur de la Corriente de Cromwell (ESCC) descubierta por Wooster y Gilmartin, 1961 durante la expedición STEP-1. La CSP fluye hacia los polos paralela al zócalo continental a 5 y 25 mn mar afuera, a 5 y 10 cm/s, entre 50 y 300 m de profundidad.

Además la CSP se distingue por su bajo contenido de oxígeno debajo de la termoclina, altos valores de salinidad e isothermas de 10° a 13°C, salinidades de 34,9 a 35,1 ups y concentraciones relativamente altas de oxígeno (>1,0 mL/L a 100 o 200 m de profundidad). El segundo ramal fluye al sudeste de las islas Galápagos y se ubica a 50-150 mn alrededor de los 6°-7°S formando la Contracorriente Peruano-Chilena (CCPC) que prevalece hasta los 35°-40°S (Strub *et al.*, 1998) siendo máxima en primavera y mínima en otoño. Tsuchiya (1985) usa las lenguas de la distribución mínima de fosfatos para inferir trayectorias similares entre la CSE, la CSP y la CCPC.

En 1992 Santelices en su estudio sobre fitogeografía marina del Archipiélago Juan Fernández, constituido por un grupo de islas ubicadas en el Pacífico Sur frente a las costas chilenas, corroboró el análisis de Skottesberg (1943) quien había indicado que el Sistema de Corrientes Humboldt era la vía de transporte utilizadas por un gran número de especies de algas marinas presentes en dicho Archipiélago, constituyéndose en una ruta para la migración de estas especies. No obstante, puede ofrecer enormes dificultades por la complejidad del sistema de corrientes que presenta. Fuertes eventos de El Niño y La Niña puede jugar un rol importante en la dispersión y flujo de genes. Los cambios en las condiciones oceanográficas relacionadas con ENOS pueden reducir la supervivencia de las poblaciones de *Macrocystis* originadas de las aguas frías por corrientes de origen subantártico, como por ejemplo las corrientes costeras y oceánicas peruanas.

Según Vega *et al.*, 2005 en su estudio sobre la biología poblacional de huirales submareales de *Macrocystis integrifolia* y *Lessonia trabeculata*, realizado al norte de Chile en un ecosistema de surgencias; en el Pacífico Sudamericano temperado, eventos oceanográficos que actúan a distintas escalas espacio-temporales y procesos biológicos estocásticos de baja frecuencia (cambios en la abundancia de pastoreadores) que actúan a

escala local, generan variabilidad interanual en la dinámica de las poblaciones de huiros a largo plazo. Además, el efecto interactivo entre centros de surgencia permanente y la periodicidad temporal oscilatoria de eventos oceanográficos que generan anomalías térmicas positivas (El Niño) y negativas (La Niña) modifican el arreglo espacial de las poblaciones submareales de huiros en el gradiente latitudinal.

2.4.2. EVENTOS: EL NIÑO OSCILACION SUR (ENOS) Y LA NIÑA

Aunque factores severos como la herbivoría, fuertes tormentas, depredación, entre otros, son responsables de la pérdida de praderas naturales de *Macrocystis*; la presencia de eventos oceanográficos tales como El Niño y la Niña en la Oscilación Decadal del Pacífico (ODP) tienen influencia notoria. La ODP es descrita como una fluctuación o variabilidad climática durante un largo periodo en el Océano Pacífico afectando principalmente la cuenca del Pacífico y el clima del Norteamérica (Hare, 1995). Eventos registrados durante 1977 a 1993 generaron presiones mucho más fuertes y con amplios efectos sobre las poblaciones de *Macrocystis* (Foster y Schiel, 1985; Tegner *et al.*, 1996, 1997; Edwards, 1998). Los efectos de los Eventos de El Niño o El Niño Oscilación Sur (ENOS), provocan que la capa de la termoclina se profundice, incrementando la extensión de aguas superficiales calientes y pobres en nutrientes cercanas a las zonas costeras, tal como ocurrió a lo largo del área costera occidental de Norteamérica, particularmente al sur de Punta Concepción (California, Estados Unidos) y consecuentemente la reducción o eliminación de las poblaciones de *Macrocystis* en esas zonas (Tegner y Dayton, 1987; Dayton *et al.*, 1992, 1998; Foster y Schiel, 1992; Tegner *et al.*, 1996, 1997). Desde hace 98 años, 23 eventos de El Niño han sido recordados y dos eventos: 1982-1983 y 1997-1998 han sido notablemente severos.

Después de unos 15 años de estabilidad relativa, la población de *Macrocystis pyrifera* fue de nuevo devastada por las tormentas y el agua caliente de El Niño en 1982-1984 (Dayton y Tegner, 1984, 1990; Tegner y Dayton, 1987). A pesar de la perturbación física más grande de este evento, muchos bosques de algas marinas costeras se recuperaron mucho más rápidamente que después de El Niño 1957-1959 (Tegner y Dayton, 1981).

Durante los Eventos del Niño 1997-1998, por ejemplo, *M. pyrifera* fue eliminada de los límites meridionales en Bahía Tortuga (Baja California, México) y su distribución retrocedió hacia el norte cerca de 500 km (Ladah *et al.*, 1999). En el centro de Perú, El Niño de 1997-98 devastó las poblaciones de *Macrocystis* disminuyendo la densidad de

esporofitos y la diversidad de especies asociadas (Lleellish *et al.*, 2001). Adicionalmente, un estudio de 90 sitios que abarcó el rango de distribución de *Macrocystis* en las zonas costeras de Estados Unidos y México, inmediatamente pocos meses después de este evento, reveló que poblaciones en Punta Concepción fueron críticamente limitadas; las poblaciones del norte no estaban relativamente afectadas, pero poblaciones al sur estaban severamente afectadas con rangos altamente variables de recuperación (Edwards, 1998). Consecuentemente, condiciones anómalas de temperatura provocada por eventos como El Niño, pueden provocar la mortalidad natural de extensas praderas de *Macrocystis* constituyendo una de las principales causas para reducir el tiempo de vida de esta importante macroalga.

Otros estudios con Asteroideos como *Meyenaster* y *Luidia*, evidenciaron una disminución significativa junto con las poblaciones de *Macrocystis* durante el niño de 1997 y 1998, potencialmente migraron a aguas profundas, mientras *Heliaster* y *Stichaster* incrementaron en abundancia durante igual periodo (Vásquez *et al.*, in press). Queda por determinado si el ENSO disminuyó la abundancia de *Luidia* y *Meyenaster*, ambos predadores importantes en *Tetrapygyus* (Viviani 1979, Vásquez 1993, Vásquez and Buschmann 1997) fueron la última causa de en la explosión en la población de *Tetrapygyus niger* (erizo negro) durante el 1998 y 1999 (Vega *et al.*, 2005, Vásquez *et al.*, in press).

El evento de La Niña es esencialmente contrario al ENOS, aguas ricas en nutrientes, de bajas temperatura o frías, fluyen en el sur a lo largo de las costas de Norteamérica. Durante el evento de La Niña se generan condiciones óptimas de crecimiento y rápida recolonización de *M. pyrifera* (Tegner *et al.*, 1997), entre eventos extremos de El Niño y La Niña, existen condiciones oceanográficas intermedias durante periodos variables de tiempo (Coyer *et al.*, 2001).

La baja frecuencia y alternancia de eventos El Niño - La Niña, intercalados con largos e intermedios régimen oceanográficos; pueden resultar una mezcla de los genotipos de *Macrocystis* del norte y sur en áreas espacialmente intermedias, como en Isla Santa Catalina (California, Estados Unidos), es muy posible que esta isla sea simultáneamente un punto de presencias de genotipos de *M. pyrifera* de zonas del norte y sur; debido a que está ubicada en el centro de distribución de las especies en un área que ha experimentado fluctuaciones significantes de poblaciones de *Macrocystis* desde los años 1900s (Foster y Schiel, 1985).

2.4.3. RELACIÓN DE *MACROCYSTIS* CON LOS PARÁMETROS AMBIENTALES

Las diferencias morfológicas de una especie de amplia distribución pueden alternativamente reflejar una respuesta diferencial a factores ambientales que varían a través del espacio geográfico (Fowler-Walker *et al.*, 2005). Los bosques de algas gigantes están expuestos a diferentes gradientes medioambientales de factores abióticos y bióticos desde la superficie al sustrato inferior. Los estudios han indicado que la irradiación, la temperatura, la salinidad, la sedimentación, la concentración de nutrientes, la acción del oleaje y la cantidad de epífitas adheridas a las frondas; pueden afectar significativamente el crecimiento de los *kelps* (Dean y Jacobsen 1984; North *et al.*, 1986; Edwards y Hernández-Carmona, 2005).

En su hábitat natural, los bosques de algas se desarrollan en las costas rocosas poco profundas con suficiente penetración de luz (Steneck *et al.*, 2002). Como tal, la baja abundancia de algas en las zonas árticas y sub-antárticas se cree que es un resultado de la limitación de luz (Henley y Dunton, 1997). También se ha demostrado que las temperaturas menores a 15°C son óptimas para la supervivencia de algas gigantes y que las temperaturas mayores a 20°C promueve la degradación de la especie (Rothäusler *et al.*, 2009). Sin embargo, *Macrocystis* se produce a lo largo de las costas del sur de California con tasas de fotosíntesis y de temperaturas más altas, entre 20°C y 25°C, (Clendenning y Sargent, 1971). Además, el máximo crecimiento de algas marinas se ha observado a concentraciones de nitratos entre 1 y 2 µM (Zimmerman y Kremer, 1986).

Los cambios climáticos han alterado la productividad de los ecosistemas marinos en varios niveles tróficos (Polovina *et al.*, 1994). El aumento en la temperatura del mar puede reducir la población de *Macrocystis spp.* mediante la limitación de la disponibilidad de nutrientes. Una fuerte correlación negativa se observó entre la temperatura y la disponibilidad de nitratos (Gerard, 1982; Zimmerman y Kremer, 1986), cuando la concentración de nitrato cae por debajo de 1 µM. Desapariciones en gran escala pueden explicarse porque el crecimiento está soportado por transferencia de nitrógeno de las partes inferiores de la macroalga que se bañan en agua con concentraciones superiores de nitratos (Jackson, 1977). Si las partes inferiores no pueden transferir suficiente nitrógeno a la superficie, el dosel muere y los individuos sucumben probablemente debido a las bajas reservas de nitrógeno (Gerard, 1984). Además de la limitación de los nitratos, provocando

con ello la muerte de *Macrocystis spp.*, altas temperaturas también inhibe el reclutamiento exitoso de nuevas células del alga en las praderas. Por lo tanto, la población no puede recuperarse hasta que la temperatura disminuye (Jackson, 1977).

Por otra parte, debido a la tolerancia de los *kelps* frente a contaminantes como metales pesados y residuos diluidos de petróleo; *Macrocystis pyrifera* ha sido utilizada como un dosímetro costero natural para medir la exposición de isótopos radioactivos como I^{131} liberado por accidentes nucleares como el sucedido en la planta nuclear de Fukushima Daiichi, afectada por un terremoto y un tsunami el 11 de marzo del 2011, provocando la liberación de grandes cantidades de I^{131} a la atmósfera, lo cual fue asimilado por las frondas de los bosques de *M. pyrifera* muestreados en las costas de California. La actividad específica calculada, al estimar los rangos de deposición y asimilación, fueron de 0.6 a 2.5 Bq/gdwt⁻¹. Esos niveles de I^{131} representan un significativo ingreso a los ecosistemas de bosques de *kelp* (Manley y Lowe, 2012).

2.5. ASPECTOS ECONÓMICOS DE MACROCYSTIS

La amplia y abundante distribución mundial de *Macrocystis*, su alta capacidad de crecimiento, la posibilidad de cosechar hasta el 75 por ciento de su biomasa y no afectar sus estructuras reproductivas, su extensa aplicación industrial en las áreas: farmacéutica, alimentaria, textil, papelera, cosmética y cervecera; le han otorgado un importante interés económico y constituye la principal fuente de extracción de alginatos, alrededor de 25.000 toneladas de ácido algínico se extraen en todo el mundo (Edyvane, 2003). La producción mundial de ácido algínico durante 1991, alcanzó las 27.000 toneladas generando divisas del orden de los US\$ 250 millones anuales (Vásquez, 2009).

En Perú, para el ecomorfo *Macrocystis integrifolia*, según los datos estadísticos de exportación nacional, esta macroalga se ha destinado a los mercados de Canadá, China y México. Como principales importadores a nivel mundial tenemos a Japón, Estados Unidos, China y Taiwán. Perú figura como proveedor de estos principales mercados compradores, siendo sus principales mercados de destino: China, Francia, Taiwán, Estados Unidos y Japón. Las presentaciones con las cuales se ha exportado las algas han sido: secas, secas y molidas, micropulverizado, frescas congeladas, predominando la presentación en seco (ADEX, 2008). El principal mercado para la exportación de las macroalgas pardas en Perú, está dirigido a su uso como materia prima en la industria de alginatos, carragenanos y agar.

Las algas son productos de alto consumo en los países asiáticos en diferentes presentaciones, ya sea en ensaladas, sopas y como bocados. La actual demanda es de carácter industrial, es decir para aquellos fabricantes de alimentos que en sus recetas utilizan algas como materia prima para sus productos. Además como insumo de diferentes compuestos industriales como aglutinante, emulsificante, etc. Perú puede desarrollar fuertemente su oferta exportable en este sector y China, constituyendo sin duda un gran mercado ya sea por la gran cantidad de mano de obra involucrada en el proceso de recolección así como la factibilidad del desarrollo de cultivos.

El uso significativo de las algas cafés y en particular de *Macrocystis pyrifera*, parte del empleo del mucílago localizado en la pared celular y en los espacios intercelulares, el cual al ser tratado con carbonato de sodio y posteriormente con ácido mineral, produce el ácido algínico; este es un compuesto poliurónico muy estable a la hidrólisis, que por sí mismo es insoluble en el agua, pero tiene capacidad de absorberla y sus sales, excepto la del calcio, son solubles en agua. (Fujiki *et al.*, 1994). Los alginatos se emplean en procesos en los que se requiere un agente espesante, gelificante, emulsificante, formador de películas o que de cuerpo a ciertas sustancias (Guzmán del Proo *et al.*, 1981). Vásquez, 1999 indica que los alginatos son ampliamente utilizados en la industria de textiles aproximadamente en un 42 por ciento, alimentos con 34 por ciento, papel con 9.4 por ciento, farmacéutica y productos dentales con 5.3 por ciento y otras actividades productivas equivalente al 3.2 por ciento.

En nutrición de organismos acuáticos, *Macrocystis pyrifera* y *Ulva sp.* se han utilizado frescas y en alimentos extruidos para el erizo de mar *Loxechinus albus* en Chile, obteniendo buenos resultados en la formación de gónadas especialmente con el alimento extruido conteniendo en el *kelp* (Lawrence *et al.*, 1997); en alimentos para el abulón, *Haliotis spp.* (Stuart y Brown, 1994; Marsden y Williams, 1996; González-Aviles y Shepherd, 1996; Viana *et al.* 1996; Fleming 1998) y como attractante en la misma especie aunque en forma fresca (Viana *et al.*, 1994).

Por otro lado, se ha probado un efecto inmunoestimulante en alginatos de sodio de *Undaria pinnatifida* y *Macrocystis pyrifera* en contra de infecciones bacterianas (*Edwardsiella tarda*) en *Cyprinus carpio* L. (carpa común). Cruz-Suárez *et al.*, 2000 evaluaron el efecto de la harina de *M. pyrifera* sobre algunas propiedades químicas y funcionales de alimentos para camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, concluyendo en el

aumento de la biomasa, crecimiento y consumo del alimento por parte del camarón blanco de la harina de *M. pyrifera*, la cual funcionó como un excelente aditivo, attractante, aglutinante y texturizante que permite la utilización más eficiente de los nutrientes dietarios al asegurar una menor lixiviación y amplia ingesta.

2.5.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA DE *MACROCYSTIS* EN EL PERÚ.

En el ámbito de las exportaciones, según ADEX (2008), la evolución de las exportaciones peruanas de macroalgas desde el 2000 al 2008; evidencian rubros del 18,09 por ciento para *Macrocystis integrifolia*; 7,86 por ciento para la especie de *Macrocystis pyrifera* ocupando el segundo y tercer lugar a nivel nacional, respectivamente; y cuya exportación se efectúa en presentación: seca, seca y molida, micro pulverizadas, frescas congeladas pero predominando la presentación en seco. Para el año 2008, las empresas exportadoras en el Perú de *Macrocystis integrifolia* (algas pardas) fueron: Globe Seaweed International S.A.C. con \$ 1,004,734; Algas Multiexport del Peru S.A.C. con \$ 52,731; Alimentos Procesados S. A. con exportaciones equivalentes a \$ 41,244 y Peruvian Seaweeds SRL con \$ 5,617 exportados a países como China, República de Corea e Indonesia. Lo que pone en evidencia la importancia comercial de *Macrocystis* en el mercado internacional.

En Perú, existen dos formas de aprovechamiento de las algas pardas: extracción directa de algas y el recojo, colecta o acopio de algas varadas. Actualmente está prohibida la actividad extractiva en todo el litoral peruano mediante la Resolución Ministerial N^o. 839 - 2008 – PRODUCE, emitida el 4 de diciembre de 2008, y expresa que en referencia a los estudios realizados por el Instituto del Mar del Perú IMARPE mediante el oficio N^o. DE – 100 -266 -2008 – PRODUCE/IMP emite el documento “Opinión técnica sobre la macroalga *Macrocystis integrifolia* en el Litoral Peruano” presentando algunas consideraciones técnicas sobre las macroalgas marinas pardas, anotando las praderas y bosques que forman estos recursos en áreas intermareales o submareales someras.

En el mismo informe, el IMARPE reporta haber constatado que las praderas de *Macrocystis pyrifera* (sargazo) no se han recuperado en el litoral de Ica, encontrándose sólo agregaciones de ejemplares juveniles y que la extracción de *Macrocystis integrifolia* al estar dirigida principalmente a los ejemplares adultos de la población, interfiere en el ciclo reproductivo natural de esta especie, por lo cual recomienda, en aplicación al principio precautorio, prohibir la extracción de ambas especies sea de orilla o desde

embarcación en el litoral peruano hasta que el IMARPE proporcione los elementos de juicio necesarios que permitan establecer las medidas de manejo racional y sostenible de la especie. Y se resuelve establecer la veda de las algas marinas pardas *Macrocystis integrifolia* y *M. pyrifera*, quedando prohibidos la extracción, el transporte, la comercialización y el procesamiento de las citadas algas en el litoral peruano.

Así como prohibir temporalmente el recojo, la colecta y el acopio de especímenes de algas pardas *Macrocystis* varadas en las riberas de playas y orillas por acción de las olas corrientes marinas, en el litoral peruano. Posteriormente el 18 de mayo de 2009, mediante Resolución Ministerial N0. 211 – 2009 – PRODUCE resuelve autorizar el recojo, colecta y acopio de especímenes varados de algas pardas del género *Macrocystis*; manteniéndose la prohibición por siega y/o remoción de especímenes en las praderas ubicadas entre las localidades de San Fernando y Yanyarina al igual que el resto del litoral peruano.

2.6. ESTUDIOS POBLACIONALES DE MACROALGAS PARDAS

El Laboratorio Costero de Pisco del IMARPE ha realizado estudios de distribución y abundancia de macroalgas en el ámbito de su jurisdicción. Entre julio 2003 y diciembre 2005, se iniciaron los estudios relacionados con la importancia de las praderas de macroalgas pardas en el desove del pejerrey (*Odonthestes regia regia*), en el área de Pisco; y la interacción con la extracción de *Chondracanthus chamissoi*. En el período noviembre - diciembre del 2004 a febrero 2005, se realizaron prospecciones de las poblaciones de macroalgas bentónicas en San Juan de Marcona (Nazca, Ica), Islay - Camaná (Arequipa) y finalmente Caravelí (Arequipa). Posteriormente, se ejecutaron varias prospecciones:

- Prospección de praderas de macroalgas entre Punta Lomitas y Santa Rosa. Marzo 2006.
- Prospección de praderas de macroalgas en Bahía de Paracas, julio 2006.
- Prospección de praderas de macroalgas entre Bahía Independencia Lagunillas, Marzo 2007.
- Prospección de praderas de macroalgas en Bahía de Paracas, Julio 2007.
- Prospección de praderas de macroalgas en la Bahía de Paracas, Diciembre 2007.
- Monitoreo biológico pesquero de algas pardas en San Juan de Marcona, 2008.

En marzo 2006 se realizó una Prospección Biológico Ambiental de las principales praderas de macroalgas comerciales entre Punta Lomitas e Isla Santa Rosa, los resultados

mostraron que una de las especies dominantes es *Macrocystis pyrifera* después de *Lessonia trabeculata*; entre otros resultados se puede destacar que las poblaciones de macroalgas pardas dominan los ambientes costeros en Marcona e Isla Sta. Rosa pero en dirección norte al sur de Bahía Independencia, la calidad del sustrato no permite el establecimiento de las poblaciones de algas pardas.

El informe ejecutivo de la situación del recurso algas pardas en San Juan de Marcona (15°S); realizado entre abril a julio 2008 entre otros resultados halló que una de las principales especies de macroalgas que se extraen comercialmente es el sargazo *Macrocystis pyrifera*, al igual que los aracantos *Lessonia trabeculata* y *L. nigrescens*, y las principales zonas de distribución de estas macroalgas se encuentran al sur de Punta San Juan registrándose importantes praderas en Punta San Nicolás. Se determinó además, que los tamaños de las plantas extraídas comercialmente mostraban alto porcentaje por encima de los 20 cm de diámetro del disco; sin embargo, otros indicadores como el promedio del Diámetro Mayor del Rizoide (DMR) sugirieron una baja de los tamaños promedio, evidenciando poblaciones jóvenes entre abril a julio 2008. En el contexto de los resultados obtenidos en este informe, se sugirió elaborar un Reglamento para la extracción de macroalgas pardas debido a su importancia económica en el centro y sur del Litoral, el mismo que se formuló en el 2009 y recomendó que la extracción debe realizarse siguiendo las pautas establecidas en la normativa, referida al tamaño del disco y al entresacado de la macroalga.

Del 1 al 8 de marzo 2009, el IMARPE realizó un estudio titulado “Evaluación de los varaderos tradicionales de macroalgas entre Patín (15°58'20''S) y La Mina (16°5'22''S), Caravelí, Arequipa” colectando algas varadas en seis lugares seleccionados entre Atico y Puerto Viejo mostrando un importante volumen de algas varadas, en su mayoría *Macrocystis pyrifera*. Estas varaciones correspondieron a la mortalidad natural por efecto del impacto del oleaje y las corrientes de fondo sobre las poblaciones algales, a nivel intermareal y submareal. Los muestreos del IMARPE revelaron que los individuos de *Macrocystis pyrifera* varados, fueron principalmente adultos, tanto en función del tamaño del rizoide como de longitud total, demostrando la existencia de biomasa adulta que podría ser aprovechada de manera pasiva mediante colecta y estimando necesario que las praderas circundantes permanezcan sin explotación para mantener altas tasas de varamiento de las macroalgas de los géneros *Macrocystis* y *Lessonia*.

El IMARPE, entre setiembre y diciembre 2009, realizó cinco actividades de investigación denominadas “Extracciones Exploratorias de Macroalgas” autorizadas mediante Resoluciones Ministeriales y coordinadas a través de la Dirección General de Extracción y Procesamiento Pesquero (DGEPP) del Ministerio de la Producción; en estas actividades se evaluaron el estado de las poblaciones del alga parda *Lessonia nigrescens* y *L. trabeculata*, en términos poblacionales se estimó relaciones morfológicas, registro de desembarques, la densidad, la biomasa, estructura de tallas para proponer alternativas de manejo como la elaboración de un Plan de Administración de las Pesquerías de Macroalgas Pardas en el sur del Perú.

Un Programa de Estudio de Algas Pardas (EAP) de importancia comercial, se ha establecido por el Laboratorio costero de la sede IMARPE, Pisco en San Juan de Marcona; considerando prospecciones, evaluaciones de la biomasa disponible y monitoreos de poblaciones naturales.

Se ha establecido planes de manejo y recomendaciones para la sustentabilidad de la pesquería. La evaluación e identificación de varaderos históricos entre Choza Caída y Yanyarina, permitió al IMARPE recomendar lo siguiente: (1) mantener las praderas circundantes a los varaderos sin explotación, permitiendo mantener altas tasas de varamiento del género *Macrocystis* (2) la recolección pasiva de *Macrocystis* en el litoral de Marcona, comprendido entre San Fernando y Yanyarina (3) monitorear los procesos de varamiento para determinar los cambios estacionales que se producen en los principales varaderos de la zona autorizada (4) el monitoreo permitirá consolidar las evidencias sobre la dinámica de varamiento y determinar sus variaciones espacio temporales (5) autorización de la colecta de *Macrocystis* en las playas del litoral de Marcona por un período de 30 días calendario, mediante Registro Ministerial R.M. 093-2009-PRODUCE (6) efectuar la colecta de *Macrocystis sp.* y *Lessonia sp.* por 60 días entre San Fernando y Yanyarina, R.M. 2011-2009-PRODUCE (7) finalmente, se autoriza la colecta de algas varadas en todo el litoral (R.M. 264-2009-PRODUCE).

Otros estudios poblacionales de *Lessonia trabeculata*, se realizaron en la región de Ica al sur de San Juan de Marcona, específicamente en el sector entre El Basural y Yanyarina durante los años 2009 y 2010, para determinar zonas de evaluación y abundancia de esta macroalgas; los indicadores evaluados fueron: (a) diámetro mayor del rizoide (b) densidad de plantas adultas (c) biomasa. En agosto 2009, el IMARPE estimó

una cuota de captura permisible de 3000 t entre las zonas Campamento y Pingüinera de San Juan de Macona, por lo cual PRODUCE autorizó su extracción mediante R.M. N^o 501-2009-PRODUCE. Una nueva evaluación de este recurso se realizó por el IMARPE en marzo 2010, en la misma zona, estimando una captura permisible de 4166 t las que podrían extraerse hasta diciembre de ese mismo año, excluyendo los meses de otoño por ser período reproductivo de la especie. Sin embargo, dicha cuota no se autorizó. En junio 2010, el IMARPE realizó la evaluación poblacional de *Lessonia trabeculata* al sur de San Juan de Marcona estimando una captura permisible de 2301 t en base a la cual PRODUCE emitió la normativa que autorizó la extracción de esta especie en el área comprendida entre Lobo Fino y Yanyarina (R.M. N^o 205-2010-PRODUCE) la que se dio por finalizada en octubre 2010 (R.M. N^o 267-2010-PRODUCE).

En base a los resultados de estas investigaciones, de acuerdo a las condiciones de las poblaciones y la disponibilidad de biomasa en los sectores evaluados, un eventual aprovechamiento de este recurso por recomendaciones del IMARPE, deberá considerar: La autorización de extracción de cosecha por sectores según el estado del indicador de densidades de plantas adultas en las áreas evaluadas, la cuota de extracción para estos sectores deberá establecerse de acuerdo al rendimiento anual estimado para cada sector considerando una veda reproductiva de abril a junio (otoño), la extracción de *Lessonia trabeculata* debe ejecutarse bajo un estricto control que permita garantizar la sostenibilidad de las praderas de la especie y se sugirió que algunas embarcaciones lleven un equipo de GPS debidamente calibrado con la finalidad de ubicar geográficamente las cosechas y ubicar la flota pesquera artesanal. Adicionalmente, este registro deberá ser parte de un monitoreo biológico y pesquero coordinado con IMARPE, PRODUCE y DIREPRO Ica conjuntamente con los representantes de pescadores artesanales.

2.7. FILOGENIA MOLECULAR

En las últimas décadas la biología molecular ofrece herramientas útiles para desarrollar investigación en ecología bajo una perspectiva más precisa proporcionando información para caracterizar a nivel genético una especie, comunidad o población; dando origen a la ecología molecular respondiendo a preguntas relacionadas a identificar especies, cuantificar la biodiversidad desde el ámbito de la diversidad genética o rastrear la dispersión de los organismos sobre hechos históricos evolutivos; toda esta información es dirigida en parte al manejo sustentable de los recursos naturales y por consiguiente una

forma para la aplicación de la ecología. No obstante, comúnmente se observa incongruencias entre la información obtenida del uso de datos morfológicos, que siempre han sido empleados para responder cuestiones ecológicas, y la conseguida de datos moleculares lo que ha provocado disyuntivas en el uso adecuado de la información para probar hipótesis evolutivas.

Avise (1994), señala que el argumento principal para el empleo de información molecular es que es universal, en especial cuando se requiere comparar linajes con divergencias tempranas, en cuyos casos es imposible establecer hipótesis sobre la base morfológica.

Dentro de la ecología molecular se enmarca la filogeografía, la cual según Avise, 2000 la define como el campo de estudio relacionado con los principios y procesos que gobiernan la distribución geográfica de linajes de genes, sobre todo aquellos dentro y entre especies cercanamente relacionadas; enfatiza aspectos históricos de la distribución espacial y actual de linajes de genes utilizando información temporal (histórica) que ha sido posible obtener a partir del uso y análisis de la información contenida en las moléculas de ADN, es decir trata de interpretar la extensión y el modo en que los procesos demográficos históricos han dejado marcas evolutivas en la distribución geográfica actual de caracteres basados genéticamente. Para ello, la genética de poblaciones describe las fuerzas responsables de la variación genética como la mutación, la deriva genética y la selección natural. Adicionalmente; mediante el uso y la descripción de árboles (representaciones de genealogías) que relacionan unidades evolutivas, la filogenia se une a la Teoría de la Coalescencia, esta última constituye un análisis matemático formal y tratamiento estadístico para analizar las genealogías génicas dentro y entre especies relacionadas (Avise, 2000) y a la Teoría Neutral que considera que las mutaciones neutras se acumulan a lo largo del tiempo en la rama de los árboles que representan las genealogías génicas, proporciona un marco teórico para estudiar la evolución en el nivel molecular y un modelo nulo con el cual contrastar escenarios más complejos de evolución (Futuyma, 2009).

Kingman (1982), desarrolló el concepto de coalescencia y demostró que la unión de linajes hacia un ancestro común se describe por un proceso matemático (*n-coalescent*); la idea básica de la coalescencia es que en ausencia de selección se puede ver como diferentes linajes observados en una muestra de la población se relacionan y convergen hacia atrás en el tiempo con sus linajes ancestrales. La Teoría de la Coalescencia, es un

modelo retrospectivo basado en la genealogía de los alelos, un modelo de separación de linajes y deriva genética que retrocede hacia un ancestro en común (Harding, 1996). Usa un modelo básico, usualmente Wright – Fisher, para describir la dinámica de la unión de los linajes hasta un ancestro común; surge como una extensión de la genética de poblaciones clásicas tomando también algunas características e ideas de la filogenia y de la teoría neutral de la evolución molecular (Hein *et al.*, 2005).

Para Vásquez (2007), los estudios filogeográficos consideran algunos aspectos fundamentales como: (1) la unidad de estudio es el individuo, específicamente el haplotipo, (2) se evalúan polimorfismos que son únicos y definen la filogenia de los mismos, (3) utiliza árboles de genes, con base en haplotipos y no árboles de especies o taxones o áreas con los que puede trazar la filogenia matrilineal en el caso del ADNmt (haploide), así como las genealogías de genes nucleares (diploides), (4) se utilizan enfoques basados en los principios de coalescencia para evaluar formal y estadísticamente las predicciones filogeográficas.

2.8. DIVERSIDAD GENÉTICA

Para el estudio de la biodiversidad se puede considerar tres componentes: diversidad taxonómica, ecológica y genética. La definición de diversidad genética según Roche y Dourojeanni (1984) indica: “*Diversidad genética incluye la totalidad de la variabilidad heredable vegetal y animal de todo el mundo, ya sea con valor demostrado, de valor desconocido o de organismos perjudiciales conocidos, como las pestes y enfermedades*”. Para estos autores la diversidad genética y por tanto los recursos genéticos existen entre las especies y dentro de las especies. La variabilidad existente en el interior de las especies es un hecho fácilmente perceptible, los individuos no son idénticos entre sí. Esta variación surge por mutación del material hereditario y es el requisito necesario para que la especie evolucione y se adapte a nuevas condiciones, debido a que la selección no puede actuar sino existen diversas alternativas.

Dada la importancia de la variación, su cuantificación ha sido un objetivo perseguido por los genetistas de poblaciones. Sin embargo, no es fácil estimar el verdadero grado de variación genética. En principio las únicas diferencias observables entre individuos eran rasgos fenotípicos, pero la variación genética correspondiente a estas diferencias no está

bien determinada ya sea por rasgos controlados debido a varios genes, interacción entre ellos, influencia del ambiente. Adicionalmente, existen procesos sistemáticos y dispersivos que actúan como mecanismos evolutivos sobre las poblaciones.

Entre los procesos sistemáticos tenemos:

2.8.1. Migración o Flujo génico.- La migración consiste en el movimiento de individuos de una población a otra distinta provocando una alteración de las frecuencias alélicas que tienden a homogenizar a las poblaciones afectadas (Edding y Laval, 1999). El grado de variación dependerá de la proporción de migrantes en la población receptora y de las diferencias de las frecuencias alélicas entre ambas poblaciones.

2.8.2. Mutación.- Se definen como cambios heredables en el material genético, de manera muy general se puede definir dos tipos de mutaciones (Griffiths *et al.*, 2007):

a) cromosómicas, que afectan al número, estructura y configuración de los cromosomas.

b) génicas, consiste en la alteración de la secuencia de nucleótidos. Existen diversos tipos: como sustituciones, deleciones, inserciones y traslocaciones. Las mutaciones nuevas tienen mayor probabilidad de ser perjudiciales que beneficiosas para los individuos y esto se debe a que son eventos aleatorios con respecto a la adaptación, es decir que el que ocurra o no una mutación en particular, es independiente de las consecuencias que pueda tener en sus portadores.

2.8.3. Selección.- Sobre las poblaciones pueden actuar dos tipos de selección: la natural, que ocurre sin la intervención del hombre y favorece a los individuos mejor adaptados al medio y la artificial, en la que el ser humano selecciona a los individuos que serán futuros reproductores (Falconer y Mackay, 1996). En cualquiera de las dos situaciones no todos los individuos van a dejar descendencia a la siguiente generación y de los que lo hacen no todos los dejan en la misma proporción, ya que existen diferencias en la viabilidad y fertilidad de los individuos. La selección provoca un cambio en las frecuencias génicas que dependerá de la intensidad de selección y de la frecuencia génica inicial de las poblaciones.

Entre los procesos dispersivos tenemos:

En poblaciones finitas estructuradas en subpoblaciones, donde no actúan los procesos sistemáticos las frecuencias génicas actúan erráticamente de generación en generación, en

un proceso denominado deriva génica (Falconer y Mackay, 1996). Las consecuencias de este proceso dispersivo son el aumento de los homocigotos y por tanto una homogeneidad cada vez mayor de los individuos pertenecientes a la subpoblación, además de una diferenciación paulatina de las subpoblaciones. Con el paso del tiempo y debido a la endogamia, la frecuencia de los alelos deletéreos es cada vez mayor provocando una menor adaptación al medio de sus portadores y una disminución de la viabilidad y fertilidad.

2.8.4. Deriva génica dentro de subpoblaciones (Endogamia).- El proceso de la deriva génica dentro de las poblaciones tras largos periodos de tiempo provoca un aumento de la endogamia, de tal manera que los individuos de una misma población cada vez se parecerán más al aumentar los homocigotos y disminuir los heterocigotos (Edding y Laval, 1999).

2.8.5. Deriva génica entre poblaciones: Estadísticos F de Wright.- Las fluctuaciones de las frecuencias génicas conllevan a la pérdida o fijación de alelos diferentes en cada una de las subpoblaciones, provocando una disminución de la diversidad genética. Wright desarrolló en 1965 la teoría de los índices de fijación o estadísticos de Wright que mide mediante el cálculo de tres parámetros: variabilidad genética debido a diferencias dentro las subpoblaciones (Fis), variabilidad genética total (Frr), variabilidad genética debido a diferencias entre subpoblaciones (Fst), un valor menor a 0,5 indica que no hay diferencia entre las poblaciones; la pérdida de heterocigosis de la estructura de la población en subpoblaciones y por tanto es una medida de la diversidad genética entre las subpoblaciones. (Wright, 1969).

2.8.6. Distancia genética.- La caracterización genética de las poblaciones o de los individuos o también llamados de manera genética las Unidades Taxonómicas Operativas OTUs (Sokal y Sneath, 1963) nos permite calcular la distancia genética entre ellos y representarla espacialmente mediante métodos de agrupamiento.

En los marcadores neutros, como el espaciador intergénico atp8-S y COI utilizados en este estudio, donde los diferentes alelos no perjudican ni favorecen al individuo que los porta; los cambios en las frecuencias alélicas son debidos fundamentalmente a la deriva genética y la mutación, siendo las causas que diferencian las poblaciones. En el estudio de los linajes de genes a lo largo de su distribución geográfica, los tiempos de divergencia pueden ser relativamente cortos por lo que las variaciones de las frecuencias alélicas en las poblaciones se debe fundamentalmente a la deriva génica ya que las mutaciones necesitan

que pasen un mayor número de generaciones para alterarlas. Es necesario tener en consideración estos aspectos en la elección de la distancia, utilizando la más apropiada en el estudio en función de las fuentes de variación que se consideren.

2.8.7. Representaciones *Network*.- El proceso evolutivo mediante la recombinación de genes, hibridación entre linajes y homoplasia o convergencia (cambio evolutivo paralelo), genera relaciones entre las poblaciones que no representan los métodos tradicionales de filogenia basados en árboles bifurcados, ya que frecuentemente las genealogías de poblaciones están multifurcadas donde coexisten los genes descendientes con sus ancestros y los eventos de recombinación pueden producir relaciones reticuladas (Posada y Crandall, 2001). Para su representación gráfica se han desarrollado las redes o *Networks* que tienen en cuenta estos fenómenos a nivel de población y permiten estimar la filogenia y evolución intraespecífica. Según Posada y Crandall, 2001, el método *Network* es una representación donde se conectan nodos que muestran la información de cada estado genético presente en la población, siendo el principal interés de sus aplicaciones. Así se han empleado para determinar recombinaciones, delimitar especies, inferir modos de especiación, partición de la historia, estructura de la población y estudiar las asociaciones entre fenotipos y genotipos.

El *Network* pueden detectar presencia de haplotipos ancestrales en la población, ya que cuando un haplotipo muta no es probable que lo hagan todas las copias del haplotipo o se extingan rápidamente, por lo tanto un solo haplotipo ancestral da lugar a múltiples descendientes, representándose como un árbol de haplotipos con multifurcaciones. Así la teoría de la Genética de poblaciones predice que el haplotipo más antiguo está asociado con el mayor número de haplotipos descendientes (Posada y Crandall, 2001).

2.8.8. Historia demográfica.- La reconstrucción de la historia demográfica de una población nos permite obtener información útil para interpretar diversos procesos evolución y genética de poblaciones (Ho y Shapiro, 2011). Existe una variedad de métodos para estimar patrones demográficos empleando secuencias de ADN entre ellas, las pruebas de neutralidad que fueron desarrolladas para determinar si el polimorfismo contenido en un grupo de datos para un simple locus dentro de una especie se comporta bajo lo esperado por la Teoría neutral. Estos análisis parten de la premisa de que las poblaciones han estado en equilibrio entre mutación y deriva genética durante un tiempo evolutivamente largo

(Nei y Kumar, 2000). El Test de Tajima (D) fue uno de los primeros en desarrollarse y actualmente es uno de los más utilizados para estos tipos de análisis. Esta prueba compara diferencias entre dos estimadores del parámetro neutral: el número de sitios polimórficos (S) y la diversidad nucleotídica (π). Valores positivos y negativos en los tests de neutralidad corresponden a desviaciones de lo esperado bajo la Teoría neutral. Con valores significativamente positivos puede asumirse que se está frente a procesos de selección balanceadora y también puede indicar presencia de subdivisión poblacional. Valores significativamente negativos son consistentes con procesos de barridas selectivas, cuellos de botellas y/o expansiones poblacionales recientes (Hartl, 1999). Si las poblaciones sufren fuertes expansiones demográficas dejan de estar en equilibrio entre mutación y deriva génica, y los índices de estas pruebas de neutralidad tienden a tener valores significativamente negativos.

2.9.TÉCNICAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA

A partir de los años 60, el desarrollo de técnicas para estudiar la variación a nivel molecular abrió la posibilidad de estudiar caracteres con un control genético sencillo, tales como la diferencia de movilidad en las proteínas; posteriormente, se ha hecho posible estudiar, directamente la variación en la molécula de ADN. Pero, si al estudiar la variabilidad fenotípica, desconocíamos la variación subyacente en el genoma, al cuantificar la variación molecular o ignoramos el reflejo que tiene sobre el fenotipo, o sabemos que es nulo, pues a menudo se estudian fragmentos de ADN que no se transcriben, es decir que no codifican para ningún carácter. Existe, por lo tanto dos tipos de variación genética: una diversidad neutral que no se ve afectada por la selección natural y una diversidad correspondiente a los caracteres con valor adaptativo.

En los caracteres neutrales, las frecuencias de las diferentes variantes son consecuencia de procesos aleatorios o direccionales, como la migración entre poblaciones y la deriva génica, mientras que el mantenimiento de nuevos fenotipos surgidos por mutación depende de su valor selectivo. Para determinar la cantidad y distribución de la diversidad genética en una especie se requiere el análisis de ambos tipos de variación, pues la acción de distintos procesos evolutivos sobre cada tipo de caracteres hace que los patrones de variación no se correspondan entre si.

La selección no actúa de igual modo en todas las partes del genoma, mientras las tasas de migración son iguales para todos los genes, por lo que los marcadores neutrales no

predicen necesariamente los patrones de variación de los rasgos sujetos a selección diferencial (Karhu *et al.*, 1996).

La evaluación de la diversidad genética neutral se realiza mediante marcadores moleculares; existen distintos tipos de técnicas que ofrecen diferentes tipos de información según las características de la molécula o fragmento de la molécula analizada. Lo más común es detectar diferencias de tamaño; a partir de las frecuencias con que aparece cada una de las distintas variantes (alelos) se calculan diversos parámetros que nos dan la medida de la diversidad neutral permitiendo comparar entre especies. A partir de estas relaciones también es posible establecer relaciones filogenéticas o analizar que procesos están ocurriendo en las poblaciones como: migración, deriva genética, cuellos de botella, etc.

Un marcador molecular de ADN es un fragmento de ADN cuya transmisión de una generación a otra es posible seguir (Griffiths *et al.*, 2007), se caracterizan por tener una localización cromosómica fija y poder presentar diferentes variantes o alelos que determinan su elevado polimorfismo. Se han convertido en la herramienta más utilizada para estudios filogenéticos, análisis de variabilidad genética en poblaciones, establecimiento de mapas genómicos (Klug, 2005). El estudio de un conjunto de marcadores moleculares, nos permite a partir del cálculo de frecuencias alélicas, caracterizar genéticamente a una población, estudiar su diversidad genética y su parecido a otras poblaciones.

2.10. MARCADORES MOLECULARES: ADN MITOCONDRIAL (ADNmt)

Los marcadores moleculares, son herramientas para generar datos a partir de uno o más genomas (Freelan, 2005) se usan para localizar y aislar genes de interés; actualmente existen técnicas moleculares que nos permiten conocer cómo se encuentran las proporciones de genes en las poblaciones naturales de manera directa con estudios de ADN, los diferentes tipos de marcadores se distinguen por su capacidad de detectar polimorfismos en *loci* únicos o múltiples y son de tipo dominantes o co dominantes (Simpson, 1997); los marcadores co dominantes permiten identificar todos los alelos que están presentes en un determinado lugar, mientras los marcadores dominantes revelarán un solo alelo dominante.

Para Freelan (2005), además de los factores prácticos a considerar para la elección de un marcador molecular, como la experiencia en su uso y el aspecto económico; es necesario tener en cuenta el nivel esperado de variabilidad del marcador, es decir los marcadores que permiten diferenciar organismos estrechamente relacionados tendrá que ser muy variable, mientras que las relaciones entre los taxones más alejados pueden ser resueltos por marcadores menos variables.

Entre las características moleculares que hacen especial al ADNmt están que es una molécula circular covalentemente cerrada, de tamaño pequeño (ca 16-20 Kb), conformada por un total de 37 genes (13 ARN mensajeros, 2 ARN ribosomales y 22 ARN de transferencia) codifica para 13 proteínas subunidades 6 – 8 de la F₀ Atpasa (*atp6 – atp8*), citocromo c oxidasa (*Cox1 – Cox3*) posee un fragmento pequeño, el *D-loop*, que controla la replicación y transcripción en la molécula, tiene una tasa alta de sustitución y polimorfismo en muchos taxones (Lunt *et al.*, 1998).

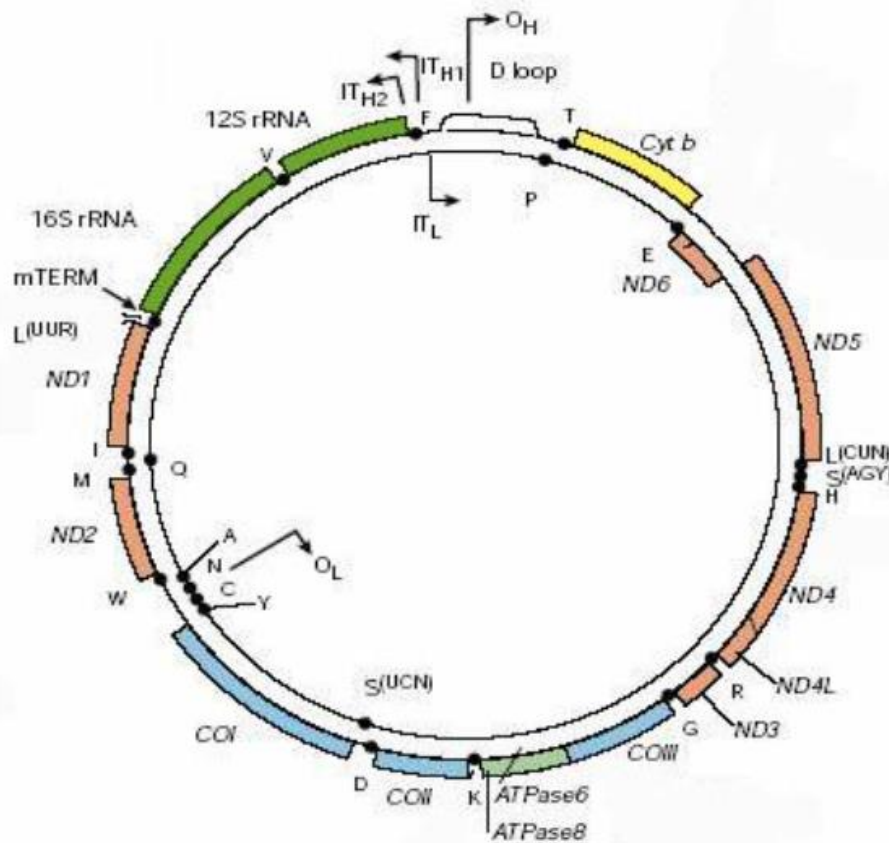


Figura 1. Representación esquemática del ADN mitocondrial. ND genes codificantes de subunidades proteicas del Complejo I; CO: genes codificantes de Subunidades del Complejo IV; ATPasas 6 y 8 genes codificantes de estas subunidades del

Complejo V: ARNr 12S y 16S genes codificantes de los ARN ribosomales mitocondriales. Los genes codificantes de los ARNt se encuentran representados con el código estándar. D-loop: bucle-D; región no codificante de ADNmt. P_H y P_L: promotores de transcripción de las cadenas pesadas (H) y ligera (L). O_H y O_L: orígenes de replicación de las cadenas pesada y ligera. Las flechas indican el sentido de la replicación y de la transcripción de ambas cadenas (Smeitink *et al.*, 2001).

El genoma mitocondrial ADNmt posee características que lo hace útil para estudios evolutivos, entre las cuales podemos mencionar según Avise *et al.*, 1987:

- Es una molécula que se encuentra ampliamente distribuida en el árbol evolutivo lo que permite hacer estudios comparativos dentro de una vasta gama de organismos.
- Es una molécula fácil de aislar y se presenta múltiples copias por células.
- Presentan un modo de transmisión genética matrilineal, es decir solo se hereda vía materna sin recombinación u otro reordenamiento genético.
- Presenta una estructura genética simple: Ausencia de ADN repetitivo, elementos transponibles, pseudogenes e intrones.
- Posee alta tasa de evolución (sustitución) a nivel de secuencias de nucleótidos, es entre una a diez veces mayor que cualquier copia simple del ADN nuclear (Brown *et al.*, 1979; Vawter y Brown, 1986).

Los genomas mitocondriales contienen genes que codifican RNAs ribosomales, RNAs de transferencia (tRNA) (Salinas *et al.*, 2008), proteínas de los distintos complejos enzimáticos de la cadena respiratoria y ocasionalmente algunas proteínas ribosomales (Burger *et al.*, 2003). No obstante, a pesar de que la información contenida en el genoma mitocondrial está conservada entre los eucariontes, se caracteriza por una gran diversidad en estructura, tamaño, contenido de genes y organización en los distintos organismos eucariontes (Gray *et al.*, 1999; Burger *et al.*, 2003).

Existen genomas mitocondriales que presentan un patrón de organización similar al de su ancestro bacteriano: en su mayoría son codificantes, prácticamente no contienen intrones; contienen genes que codifican todos los tRNA necesarios y tienen un uso de codones universal (Gray *et al.*, 1999). Algunos ejemplos de este tipo de genomas mitocondriales son los de animales, hongos y plantas (Gray *et al.*, 1999). Sin embargo, hay genomas mitocondriales que muestran un patrón distinto al de su ancestro bacteriano: presentan una notable reducción en el contenido de genes, exhiben genes que codifican

rRNA fragmentados y dispersos; y tienen un uso de codones no universal. Tal es el caso de los genomas mitocondriales de algunas algas verdes.

2.11. MARCADORES MOLECULARES EN MACROALGAS

El genoma mitocondrial ha sido utilizado ampliamente en estudios de evolución por ser heredado de manera uniparental, por contener una copia única de genes ortólogos y por tener una alta tasa de mutación, utilizada para definir la distancia genética entre organismos cercanamente relacionados y así establecer sus relaciones filogenéticas (Brown *et al.*, 1979; Avise, 2000; Barr *et al.*, 2005). Tales estudios han sido facilitados por el desarrollo de una PCR basada en marcadores citoplasmáticos, por ejemplo en plantas (Taberlet *et al.*, 1991; Duminil *et al.*, 2002) y animales (Kocher *et al.*, 1989; Folmer *et al.*, 1994).

En algas pardas particularmente, debido a pocos estudios en sus relaciones evolutivas y a la baja resolución intraespecífica del plastidio espaciador intergénico RuBisCo (Stache-Crain *et al.*, 1997; Yoon y Boo, 1999; Kraan y Guiry, 2000; Kraan *et al.*, 2001) probablemente ha contribuido a la escasa generación de estudios filogeográficos de este grupo, en comparación con las algas verdes y rojas (Wattier *et al.*, 2001; Wattier y Maggs, 2001; Gabrielson *et al.*, 2002; Zuccarello y West, 2002; Meusnier *et al.*, 2004; Provan *et al.*, 2005; Zuccarello *et al.*, 2005). Aunque los *primers* de ADN mitocondrial y plastidios han estado disponibles para ambos grupos de algas verdes y rojas (Zuccarello *et al.*, 1999; Provan *et al.*, 2004), ellos no son transferibles para algas pardas debido a que constituyen los tres mayores grupos de macroalgas con un linaje evolutivo por separado y con diferentes vías endosimbióticas (Bhattacharya *et al.*, 2003).

En Phaeophyceae la existencia de una variedad de marcadores mitocondriales ha estado generalmente limitado para conservar las regiones codificantes usados para ordenes filogenéticos superiores (Ehara *et al.*, 1999; Lane *et al.*, 2006; Oudot-Le Secq *et al.*, 2006) en la detección de hibridación interespecífica (Coyer *et al.*, 2002a, b) y más recientemente para estudios filogeográficos (Muraoka y Saitho, 2005; Uwai *et al.*, 2006a). Sin embargo, para los bajos niveles taxonómicos y estudios poblacionales, presumiblemente neutrales con regiones no codificantes, tales como intrones o espaciadores intergénicos, son usados preferiblemente para evitar confundir los efectos de la selección los cuales son particularmente problemáticos en los estudios filogeográficos donde los patrones del flujo de genes pueden ser inferidos por la genealogía de los genes.

Por otra parte estas regiones son más fácilmente variables (Gielly y Taberlet, 1994) haciéndolos marcadores más eficientes. Por ejemplo, regiones de espaciadores intergénicos de DNA cloroplástico han probado ser herramientas extremadamente importantes en el análisis filogenético de grupos de plantas vasculares, particularmente a bajos niveles taxonómicos (Kelchner, 2000). Hasta la fecha, de cinco genomas mitocondriales completos de algas pardas (Oudot-Le Secq *et al.*, 2002, 2006), solo uno posee intrones *Pylaiella littoralis* (Ectocarpales).

Por otra parte, aunque el genoma mitocondrial de algas pardas es generalmente muy compacto, los espaciadores intergénicos están presentes del 3 al 7% de las secuencias en su genoma total (Oudot-Le Secq *et al.*, 2002, 2006). Sin embargo esas regiones espaciadoras han sido sub utilizadas y han sido solamente empleadas para cuatro estudios: (1) identificación de taxones en *Ectocarpus* (Peters *et al.*, 2004), (2) filogenia intragenérica en *Fucus* (Coyer *et al.*, 2006), (3) análisis filogeográficos y (4) diversidad genética de *Fucus serratus* en Europa (Hoarau *et al.*, 2007) y el alga invasiva *Undaria pinnatifida* (Voisin *et al.*, 2005; Uwai *et al.*, 2006b).

Engel *et al.*, 2008 desarrollaron marcadores mitocondriales universales basados en la PCR y evaluaron su utilidad para estudios de filogeografía y a bajo nivel de filogenias para un amplio grupo de algas pardas, mediante la comparación de dos secuencias del genoma mitocondrial completo de *Laminaria digitata* y *Pylaiella littoralis* (Oudot-Le Secq *et al.*, 2002). Probaron ocho loci, siete regiones intergénicas espaciadoras y una repetición mononucleotídica dentro de una región de codificación de interés, en doce especies ecológicamente importantes de algas pardas. Este conjunto de especies que cubren los niveles de familia, especies y población se utilizó para evaluar las regiones conservadas en los niveles taxonómicos, así como para evaluar la utilidad de los marcadores polimórficos.

Los datos de secuencias de ADN son comúnmente utilizados para contestar preguntas relacionadas a los *kelps*. En Phaeophyceae, la secuencias 18S rDNA son utilizados para responder relaciones entre los órdenes (Tan y Druehl, 1996) pero también son utilizadas para distinguir relaciones entre Alariaceae, Laminariaceae y Lessoniaceae (Druehl y Saunders, 1992). En contraste la filogenia entre las especies de Alariaceae, Laminariaceae y Lessoniaceae usan el espaciador transcrito interno (ITS) 3'18S y la secuencia 1-5.8S diferenciada de la filogenia clásica basada en la morfología y provee nueva información dentro de las relaciones taxonómicas (Saunders y Druehl, 1993).

2.12. ESTUDIOS GENÉTICOS CON MARCADORES MOLECULARES EN *MACROCYSTIS*

El uso de un gen mitocondrial, el citocromo c oxidasa subunidad I (COI) como un marcador estándar se ha sugerido útil para la identificación de especies de macroalgas, tal es el caso por ejemplo de Saunders, 2005 utilizó este marcador mitocondrial para la identificación de macroalgas rojas. Robba *et al.*, 2006 usó COI para DNA *Barcoding* en seis órdenes de algas rojas demostrando que el gen (COI I) es un útil marcador para la identificación de especies. Lane *et al.*, 2007, identificó especies del género *Alaria* Grenville usando la región final 5' del citocromo c oxidasa (COI-5'). El gen COI es una pieza relativamente corta de ADN que puede ser fácilmente amplificado y secuenciado con un juego de cebadores (Robba *et al.*, 2006) tiene la ventaja de ser una herramienta molecular de identificación específica en los casos donde la identificación es ambigua (Kucera y Saunders, 2008).

Macaya y Zuccarello (2010b) reportaron en el estudio de la estructura genética de *Macrocystis pyrifera* a lo largo del Pacífico Suroriental (SEP), cinco haplotipos entre los individuos recolectados en 4.800 Km de costa, con una diversidad de haplotipos baja y una genealogía poco profunda en comparación con otras especies de macroalgas. Esta investigación concluyó que la baja diversidad genética en el norte de Chile pudo estar relacionada con acontecimientos contemporáneos, como por ejemplo: El Niño Oscilación del Sur (ENOS), mientras que en el Sur de Chile la distribución de haplotipos pudo reflejar el efecto de los acontecimientos históricos como el Último Máximo Glacial (LGM).

Además se compararon los datos de SEP con muestras de algunas de las islas Sub Antárticas y Nueva Zelanda, así como en Perú. Los resultados mostraron haplotipos compartidos entre algunas de las Islas Sub antárticas y el centro sur de Chile, lo que sugiere una colonización reciente de la región sub antártica. En los estudios realizados en Perú, en la localidad de Paracas, se presentó el mismo haplotipo que en la zona central de Chile; mientras que en Atico, se encontró dos haplotipos restringidos a ese sitio (Macaya y Zuccarello, 2010b).

Los valores de divergencia entre los ecotipos de *Macrocystis* son mucho menores que la variación interespecífica empleando marcadores como COI, detectado en las algas del género *Alaria* (Lane *et al.*, 2007). Estudios moleculares anteriores realizados en *Macrocystis* también mostraron una baja diversidad genética. Utilizando el ADN del

cloroplasto. Yoon *et al.* (2001) reportó baja divergencia genética entre los tres ecomorfos de *Macrocystis* recogidos en California y Argentina.

Utilizando regiones del ITS1 ITS2, Coyer *et al.* (2001) no establecieron diferencias entre *M. pyrifera* y *M. integrifolia* del hemisferio norte y las muestras del hemisferio sur mostraron un valor de divergencia bajo. Sin embargo, los resultados obtenidos por Macaya y Zuccarello (2010b), evidenciaron haplotipos únicos y mayor variabilidad en la costa del Perú. En este contexto, se consideró necesario efectuar investigaciones con un mayor número de localidades de muestreo en la costa peruana, único lugar encontrado hasta hoy con más de un haplotipo.

A pesar de los avances desarrollados en el estudio de *Macrocystis* a nivel mundial, quedan muchas preguntas sobre la historia evolutiva de esta macroalga. Más importante aún es conocer: ¿cómo puede esta especie única, distribuida en casi todo el mundo, mantener el flujo de genes en todo su rango? sin embargo, a escala regional presentan uniformidad geográfica relativamente alta de estructuras aparentemente tan importantes como las frondas y la morfología del disco adhesivo, es decir, ecotipos o formas. A pesar del flujo de genes aparentemente alto y la plasticidad morfológica, las distintas formas pueden dominar los diferentes hábitats a menudo adyacentes unos a otros, por ejemplo, la presencia de *M. integrifolia* en aguas poco profundas frente a *M. pyrifera* en aguas profundas. (Graham *et al.*, 2007).

III. MATERIALES Y METODOLOGÍA

3.1. ÁREA DE ESTUDIO

La selección de las cuatro localidades de muestreos en la zona centro - sur a lo largo de la costa del Perú fueron en los Departamentos de: Lima (Callao), Ica (Punta San Juanito, Los Bancos y Bahía Independencia) y Arequipa (La Planchada). Anexo 1.

El Distrito del Callao perteneciente a la Provincia del Callao, ubicada en el Departamento de Lima, perteneciente a la Región de Lima. Limita por el norte con el Distrito de Ventanilla, al este con la provincia de Lima y el Distrito de Carmen de La Legua – Reynoso, al sur del Distrito de Bellavista y el Distrito de la Perla al oeste limita con el Océano Pacífico y comprende también el Distrito de la Punta.

El Distrito de Marcona perteneciente a la Provincia de Nazca, ubicada en el Departamento de Ica, perteneciente a la Región Ica. Limita por el norte con el Distrito de Nazca, por el sur con la Provincia de Caravelí (Arequipa), por el este con la Provincia de Lucanas (Ayacucho) y por el oeste con el Océano Pacífico; se encuentran las localidades de: Bahía San Nicolás, Los bancos y Punta San Juanito. Esta zona está influenciada por el Sistema de Corrientes Peruanas o Sistema de la Corriente de Humboldt (SCH), de aguas frías provenientes del sur, que abarca desde los 4° latitud sur, hasta Chile; siendo Marcona uno de los principales lugares de afloramiento en el mundo (IMARPE, 2010). En el litoral de la Provincia de Pisco del mismo Departamento, se encuentra la Bahía de la Independencia ubicada dentro de los límites de la Reserva Nacional de Paracas; en donde se hallan las localidades utilizadas para el muestreo: Isla La Vieja, Isla Santa Rosita y Pan de Azúcar.

En el Distrito de Camaná que forma parte de la provincia de Camaná se encuentra la Caleta del Inca en la zona de la Planchada del Departamento de Arequipa; limita por el norte con las Provincias de Condesuyos, Castilla y Caylloma; al este con la provincia de Arequipa y la Provincia de Islay, al sur con el Océano Pacífico y al oeste con la Provincia de Caraveli. Anexo 2.

3.1.1. SITIOS DE MUESTREO Y COLECTA

En el Departamento de Lima, se realizó un muestreo submareal en una estación localizada en la Isla San Lorenzo, Callao. En el Departamento de Ica, se realizaron muestreos en tres estaciones ubicadas en la zona intermareal. Dichas estaciones estuvieron en: Bahía San Nicolás, Los Bancos y Punta San Juanito. Posteriormente, se realizaron muestreos en Bahía Independencia en tres localidades: Isla La Vieja, Isla Santa Rosita y Pan de Azúcar. Se utilizó para cada estación una embarcación, las cuales contaron con un buzo para muestreos submareales. En el Departamento de Arequipa, el muestreo submareal se efectuó en una estación localizada en Caleta del Inca en la zona de la Planchada. Anexo 3. Se muestra la ubicación geográfica con los sitios de muestreo y detalles de colecta (Cuadro1). Las distancias lineales recorridas en kilómetros entre las localidades de muestreos, se hallan registradas en el Cuadro 2.

Cuadro 1. Ubicación geográfica de los sitios de colecta.

Localidad	Coordenadas		Colector	N
	LS	LW		
Isla San Lorenzo	S 12 ⁰ 04' 13.1''	W 77 ⁰ 13' 12.9''	A. Gamarra	8
Isla La Vieja	S 14 ⁰ 17' 15,23''	W 76 ⁰ 10' 38,90''	S. Guamaní	11
Isla Santa Rosita	S 14 ⁰ 18,9' 80''	W 76 ⁰ 10' 30,80''	S. Guamaní	5
Pan de Azúcar	S 14 ⁰ 18' 52,80''	W 76 ⁰ 10' 1,96''	S. Guamaní	8
Bahía San Nicolás	S 15 ⁰ 13' 58.1''	W 75 ⁰ 13' 18.5''	E. Salavarría	7
Los Bancos	S 15 ⁰ 14' 59.0''	W 75 ⁰ 13' 18.4''	E. Salavarría	5
Punta San Juanito	S 15 ⁰ 14' 43.2''	W 75 ⁰ 15' 31.9''	E. Salavarría	8
Caleta del Inca	S 16 ⁰ 30' 51.61''	W 72 ⁰ 58' 40.33''	U. Zanabría	4

Valores de coordenadas LS: Latitud Sur, LW: Latitud Oeste, nombre del colector/a y N= número de muestras.

Cuadro 2. Distancia lineal en kilómetros entre los sitios de colecta

	I. S. Lorenzo	I. La Vieja	I. Sta. Rosita	I. Pan de Azúcar	Bahía S. Nicolás	Los Bancos	Pta. S. Juanito	C. del Inca
I. S. Lorenzo	X	294,14	317,46	292,37	254,92	254,19	440,36	672,10
I. La Vieja	294,14	X	1,97	3,21	133,63	144,63	144,78	406,87
I. Sta. Rosita	317,46	1,97	X	1,63	126,25	151,49	142,81	414,41
I. Pan de Azúcar	292,37	3,21	1,63	X	124,99	162,28	141,68	392,89
Bahía S. Nicolás	254,92	133,63	126,25	124,99	X	1,89	4,22	443,72
Los Bancos	254,19	144,63	151,49	162,28	1,89	X	3,99	273,66
Pta. S. Juanito	440,36	144,78	142,81	141,68	4,22	3,99	X	265,05
C. del Inca	672,10	406,87	414,41	392,89	443,72	273,66	265,05	X

Se realizó una codificación que correspondió al ecomorfo y localidades muestreadas: Mp l_atp8 = *Macrocystis pyrifera*, Isla San Lorenzo, Callao; Mp v_atp8= *Macrocystis pyrifera*, Isla La Vieja, Bahía Independencia; Mi r_atp8= *Macrocystis integrifolia*, Isla Santa Rosita, Bahía Independencia; Mi z_atp8= *Macrocystis integrifolia*, Isla Pan de Azúcar, Bahía Independencia; Mp p_atp8= *Macrocystis pyrifera*, Bahía San Nicolás (PSW), San Juan de Marcona; Mp b_atp8= *Macrocystis pyrifera*, Los Bancos, San Juan de Marcona; Mi s_atp8= *Macrocystis integrifolia*, Punta San Juanito, San Juan de Marcona; Mi c_atp8= *Macrocystis integrifolia*, Isla Caleta del Inca, Ocoña. Anexo 4.

3.1.2. CONSERVACIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras de *Macrocystis* se identificaron de acuerdo a sus características morfológicas principalmente sobre la base de la morfología del disco adhesivo y frondas. Anexo 5. La colecta se realizó en la superficie de las frondas por lo menos a un metro alejado de la región de crecimiento apical y evitando los esporofitos reproductivos cercanos a la base del individuo, colectando muestras de frondas en buenas condiciones (2 cm²) sin epífitas o epibiontes. Los individuos fueron colectados al azar y siguiendo el protocolo de muestreo (Macaya, 2010c) Anexo 6.

El muestreo no fue destructivo, ya que no afectó la sobrevivencia y la reproducción de la macroalga tratándose de muestras de tejido pequeñas y alejadas de las estructuras reproductivas. Además, no hubo efecto de la recolección sobre el medio ambiente, acatando de esta manera el principio bioético que prohíbe alterar el equilibrio de un ecosistema (FAO, 2004). Luego de su recolección, las muestras se limpiaron con agua de mar y se las preservó con silica gel en bolsas rotuladas, fueron trasladadas a Lima y enviadas a la Universidad de Concepción (Chile) para los análisis de extracción del ADN y PCR.

3.2. ANÁLISIS DE LABORATORIO

Se procedió al análisis de extracción del ADN, realizando la lisis celular mediante la trituración mecánica con el *Mixer Mill* MM200, equipo que pulveriza en pocos minutos muestras de tamaño equivalente a 6mm en partículas de 10um, posteriormente se aplicó el protocolo de extracción CTAB modificado por Zuccarello y Lokhorst (2005). Anexo 7, una vez extraído el ADN se midió la pureza de sus concentraciones mediante el espectrofotómetro Nanodrop (ND1000) a partir de muestras de 2ul, las lecturas registradas se observan en el Anexo 8. Para el análisis de amplificación del ADN, se utilizó un *máster mix* cuya descripción se detalla en el Anexo 9. Ambos procedimientos de análisis, extracción y amplificación, se realizaron en el Laboratorio de Biotecnología y Genómica Acuícola del Centro de Biotecnología de la Universidad de Concepción – Chile. Los análisis de secuenciación fueron enviados a los laboratorios de MacroGen en Corea del Sur. Finalmente, las secuencias obtenidas fueron procesadas en Lima - Perú mediante análisis bioinformáticos.

3.2.1. EXTRACCIÓN DE ADN

Se utilizó el método de extracción CTAB (Bromuro de Cetil Trimetil Amonio) descrito por Zuccarello y Lokhorst, 2005. A continuación se describe el procedimiento:

- Se obtuvo de 4 a 10 gr. de tejido algal y en tubos *eppendorf* se agregó 500 µl de *buffer* CTAB (3% m/V CTAB, 1% de polyvinylpyrrolidone PVP, 1.4 M NaCl, 20mM EDTA, pH 8.0, 100mM Tris HCl pH 8.0) y se homogenizó;
- Las muestras fueron incubadas por 2 horas o toda la noche a 60°C;

- Bajo campana, se adicionó 500 µl de 24:1 cloroformo: alcohol isoamilico se mezcló vigorosamente y luego los tubos fueron centrifugados durante 5 min a 11.000 rpm.
- Bajo campana, la fase acuosa, aproximadamente 500 µl, fue colectada en un tubo *eppendorf* y el restante se descartó, se agregó 500 µl de 24:1 cloroformo: alcohol isoamilico se mezcló vigorosamente y luego los tubos fueron centrifugados durante 5 min a 11.000 rpm.
- Bajo campana se recató el sobrenadante, aproximadamente 450 µl en tubos *eppendorf* y se agregó 450 µl de isopropanol al 100%, se mezcló y dejó a temperatura ambiente por 20 a 30 minutos, se centrifugó los tubos a 14000rpm por 20 min a 4°C;
- Con cuidado se descartó el sobrenadante y se observó el *pellet*;
- Se adicionó 500 µl de etanol al 70%, se mezcló y centrifugó a 14000 rpm por 5 min a 4°C
- Se eliminó el líquido y se dejó secar los tubos boca abajo por 1 hora;
- Se adicionó 100 µl de *buffer* TE 0.1X (10mM Tris HCl pH 8.0, 0.1 mM EDTA pH 8.0) y se dejó a 50°C por 5 min.
- Se midió la concentración y pureza de ADN con espectrofotómetro Nanodrop (ND1000) para determinar la relación A260/280 y A260/230.

3.2.2. REACCIÓN EN CADENA POLIMERASA (PCR)

La región del *atp8-S* se amplificó utilizando los partidores *atp8- trnS-F* y *atp8-trnS-R* (Voisin et al. 2005).

Los *primers* desarrollados por Voisin *et al.*, 2005:

ATP8F 5'- TAGCAAACCAAGGCTTTCAAC-3'

ATP8R 5'-TGTACGTTTCATATTACCTTCTTTAGC-3'

La región del COI se amplificó utilizando los *primers* o partidores GAZF2 y GAZR2 (Lane *et al.* 2007).

Se utilizaron los *primers* desarrollados por Lane *et al.*, 2007:

GAZF2 5'- CCAACCAAYAAAGATATWGGTAC-3'

GAZR2 5'- GGATGACCAAARAACCAAAA-3'

Las amplificaciones de PCR se realizaron con un termociclador de gradiente de temperatura, teniendo en cuenta una reacción de 30ul volumen que consta de amortiguador 1X (New England Biolabs, Beverly, MA, EE.UU.), 2,5 mM dNTPs, 2,5 mM MgCl₂, 0,025% de BSA, 10 nM de cada partidor y 1 U de Taq polimerasa (New England Biolabs), más 1,5 ul de ADN. El ciclo de PCR tuvo un paso de desnaturalización a 95 ° C durante 5 min, seguido por 5 ciclos de 30s a 95 ° C, 30 s a 60 ° C reduce en 1 ° C cada ciclo, y 45 s a 72 ° C, seguido por 30 ciclos de 95 ° C durante 30 s, 55 ° C durante 30 s, y 72 ° C durante 45 s con un período de extensión final de 10 minutos a 72 ° C. Se usó un marcador de tamaño molecular, para verificar el tamaño del fragmento amplificado. Los productos PCR fueron purificados con ExoSAP-IT (USB, Cleveland, OH, EE.UU.) y posteriormente enviados para ser secuenciados a los laboratorios de Macrogen Inc., Seúl, en Corea del Sur.

3.2.3. SECUENCIAMIENTO DEL ADN

Los productos de la PCR que presentaron un grado de alta pureza en la relación A260/280 fueron aquellas lecturas registradas en el rango de 1.8 – 2 (Liang *et al.*, 2009). En la relación A260/230 los valores que se encontraban en el rango de 2 – 2.4 se consideraron con un grado de alta pureza; para ambos casos fueron seleccionadas las muestras para ser enviadas a secuenciar.

El ADN amplificado fue transferido en microtubos de 1.5µl, sellados y rotulados. El Producto de PCR con un volumen mínimo de 20µl fue enviado a los laboratorios de Macrogen Seúl en Corea del Sur, donde se efectuó la purificación del amplificado. Las reacciones de secuenciamiento fueron realizadas mediante una secuenciación a gran escala desarrollada por “*Applied Biosystems*” en un secuenciador modelo 3730XL.

3.3. ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO

Se realizó el análisis bioinformático de 57 secuencias con el marcador mitocondrial atp8-S, obtenidas de las poblaciones de *Macrocystis pyrifera* y *M. integrifolia*. Con el marcador COI se analizaron 15 secuencias.

3.3.1. EDICIÓN Y ALINEAMIENTO MÚLTIPLE DE SECUENCIAS

Las secuencias obtenidas fueron editadas con el programa BIOEDIT (Hall, 1999). Se obtuvo las secuencias para ambas hebras de ADN en cada individuo, una perteneciente a la hebra molde (F) y la otra complementaria (R).

Se procedió al ensamblaje de ambas secuencias generándose un “*contig*” o secuencia consenso. El ensamblaje se realizó mediante el *software* CAP3 (Huang y Madan, 1999). La secuencia consenso obtenida fue guardada en un archivo de texto simple en formato Fasta.

Al conjunto de secuencias de *Macrocystis pyrifera* y *M. integrifolia* procedentes de las localidades muestreadas en el centro y sur del Perú, se les sumó las secuencias de *Macrocystis pyrifera* reportadas por Macaya y Zuccarello, 2010b muestreadas en siete localidades a lo largo del Sudeste en las costas del Pacífico que incluían las secuencias de Atico y Paracas (Perú). Las secuencias a utilizar fueron cargadas en el *software* Clustal W del programa BIOEDIT (Hall, 1999) donde se realizó el alineamiento múltiple y se calculó el número de haplotipos diferentes.

El alineamiento múltiple consistió en la comparación de varias secuencias permitiendo encontrar sitios homólogos, análisis de importancia para la investigación.

3.3.2. CARACTERIZACIÓN DE SECUENCIAS

Cada secuencia fue comparada con la base de datos del GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) por medio de la herramienta *Blast* del NCBI (National Center for Biotechnology Information), esta búsqueda permitió comparar la similitud entre las secuencias obtenidas y las almacenadas en la base de datos.

3.3.3. DIVERSIDAD GENÉTICA

Los haplotipos fueron encontrados utilizando el programa DNAsp v. 5.1 (Rozas y Rozas 1995) y Arlequin v. 3.1. (Excoffier *et al.*, 2005). Los estadísticos resumen se calcularon con DNAsp, estos valores permiten tener una idea de la diversidad genética en las secuencias, así como de los parámetros de crecimiento poblacional:

Número de sitios polimórficos (S) definido como el número de posiciones nucleotídicas de las secuencias analizadas que presenta más de una variante. Se pueden clasificar en dos grupos:

- a) Transiciones.- Cambio de bases Púricas o Pirimidínicas entre sí.
- b) Transversiones.- Se produce un cambio de una base Púrica por una Pirimidínica o viceversa.

Número de haplotipos (h) es el número de secuencias distintas identificadas en el total de las muestras analizadas.

La diversidad haplotípica (H_e), número de sitios que son diferentes entre secuencias (Nei, 1987). La diversidad nucleotídica (π) es el número promedio de diferencias por sitios entre secuencias tomadas a pares, está definida como:

$$\pi = k/m$$

Donde m es el número total de posición de los nucleótidos (incluyendo posiciones monomórficas, pero excluyendo sitios *gaps*) y k es el número de diferencias de nucleótidos.

La distancia genética entre poblaciones fue calculada con el programa Arlequin.

3.3.4. REDES DE HAPLOTIPOS (*NETWORKS*)

La mejor forma de expresar la multitud de los posibles árboles resultantes a la hora de reconstruir filogenias de datos intraespecíficos, como la variación de ADN mitocondrial, es una red que muestre las posibles vías evolutivas en forma de ciclos (Bandelt *et al.*, 1999).

El análisis de filogenia intraespecífica utilizando “*networks*” o redes de haplotipos, fue realizado con el programa NETWORK (Bandelt *et al.*, 1999) con el algoritmo “*median joining*” para las secuencias del gen mitocondrial atp8-S y COI obtenidas en *Macrocystis*.

El *median joining network*, es un tipo de representación gráfica que construye redes de datos de poblaciones libres de recombinaciones mediante la conjunción de las características del algoritmo de Kruskal (1956) para encontrar “*minimum spanning trees*” combinando todos los haplotipos dentro de una sola red, a la que simultáneamente se le

añaden secuencias consenso de tres secuencias mutuamente cercanas con un criterio de parsimonia que constituyen los vectores medios; estos representan posiciones intermedias que biológicamente se pueden interpretar como secuencias existentes no muestreadas o como secuencias ancestrales extintas.

3.3.5. HISTORIA DEMOGRÁFICA

Se estimó el número de sitios polimórficos (S) y los valores de diferencia a pares (k) para tener una idea de los parámetros de crecimiento poblacional. Se realizó un análisis mediante pruebas de neutralidad usando los estadísticos D de Tajima (1989) y F_s de Fu (1997) utilizando el programa Arlequin v 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005) mediante distribuciones pareadas (*mismatch distributions*) utilizando el programa DNAsp v. 5.1 (Rozas y Rozas 1995), para evaluar si existió una expansión demográfica súbita en las poblaciones (Rogers y Harpending, 1992).

3.3.6. DISTANCIA GENÉTICA

Permite estimar cuantitativamente la divergencia genética entre pares de secuencias de una taxa (Avice, 2004). Las distancias genéticas entre y dentro de las poblaciones se estimaron mediante el programa MEGA v.4.0 (Tamura *et al.*, 2007) utilizando la proporción de sitios variables entre secuencias (*p-distance*) Nei y Kumar, 2000.

IV.RESULTADOS

4.1. ANÁLISIS DEL MARCADOR MITOCONDRIAL atp8-S

4.1.1.DESCRIPCIÓN DE LAS SECUENCIAS OBTENIDAS

Se obtuvieron secuencias de 57 individuos correspondientes a 32 de *Macrocystis pyrifera* y 25 de *M. integrifolia*, colectadas en ocho localidades del centro y sur del Perú. A este grupo de datos se le agregaron inicialmente tres secuencias reportadas: una para Paracas y dos para Atico, totalizando 60 secuencias con la finalidad de comparar las poblaciones del Perú Posteriormente, en un nuevo análisis, se agregó dos secuencias procedentes del norte y sur de Chile y dos de Nueva Zelanda e Islas subantárticas, conformando un grupo de siete secuencias (Mpy_MEPS_atp8) reportadas por Macaya y Zuccarello, 2010a. *GenBank* accesión HQ336480 a HQ336486. Totalizando 64 secuencias para comparar las poblaciones de la costa sudeste del Pacífico (SEP).

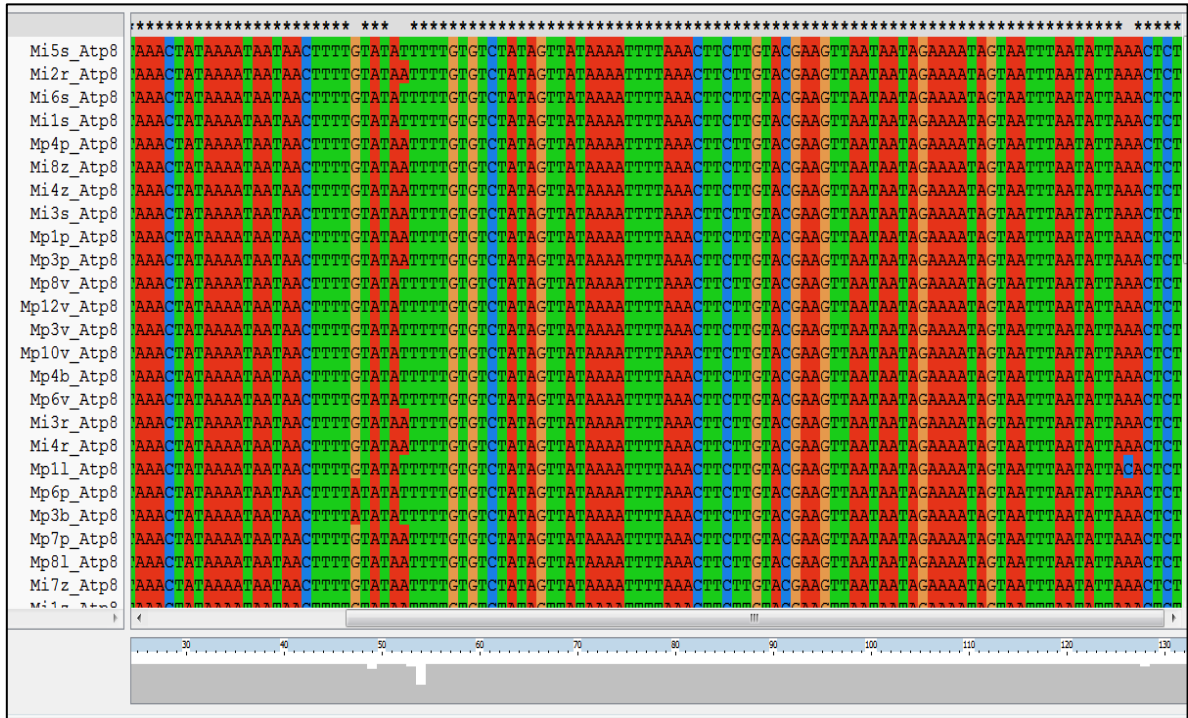
El análisis de comparación de las 57 secuencias obtenidas se realizó utilizando la herramienta BLASTN del NCBI. Se verificó en todos los casos que el espaciador intergénico amplificado fue atp8-S. Todas las secuencias de *Macrocystis pyrifera* y *M. integrifolia* de las muestras colectadas para esta tesis, resultaron similares al miembro de la familia de Laminariaceae, *Macrocystis pyrifera*. Los valores de identidad varían entre el 98 y 100 por ciento. Se presenta en el Anexo 10.

4.1.2. ALINEAMIENTO MÚLTIPLE DE SECUENCIAS

El alineamiento múltiple de las 60 secuencias procedentes de las poblaciones del Perú con atp8-S fue realizado con el programa ClustalX 2.0, obtuvo 133 sitios alineados, presentando cuatro sitios variables o polimórficos (S) con igual número de mutaciones. Los sitios polimórficos mostraron un número de haplotipos (h) igual a cuatro con una diversidad haplotípica de 0,575 (He). Diversidad nucleotídica (π) igual a 0,00490 y el promedio del número de diferencias por nucleótidos (k) 0,651.

El primer polimorfismo fue generado por las secuencia de *Macrocystis pyrifera* procedentes de la localidad de San Juan de Marcona en Bahía San Nicolás (Concesión PSW) y Los Bancos. Se observa pocas mutaciones. (Figura 2)

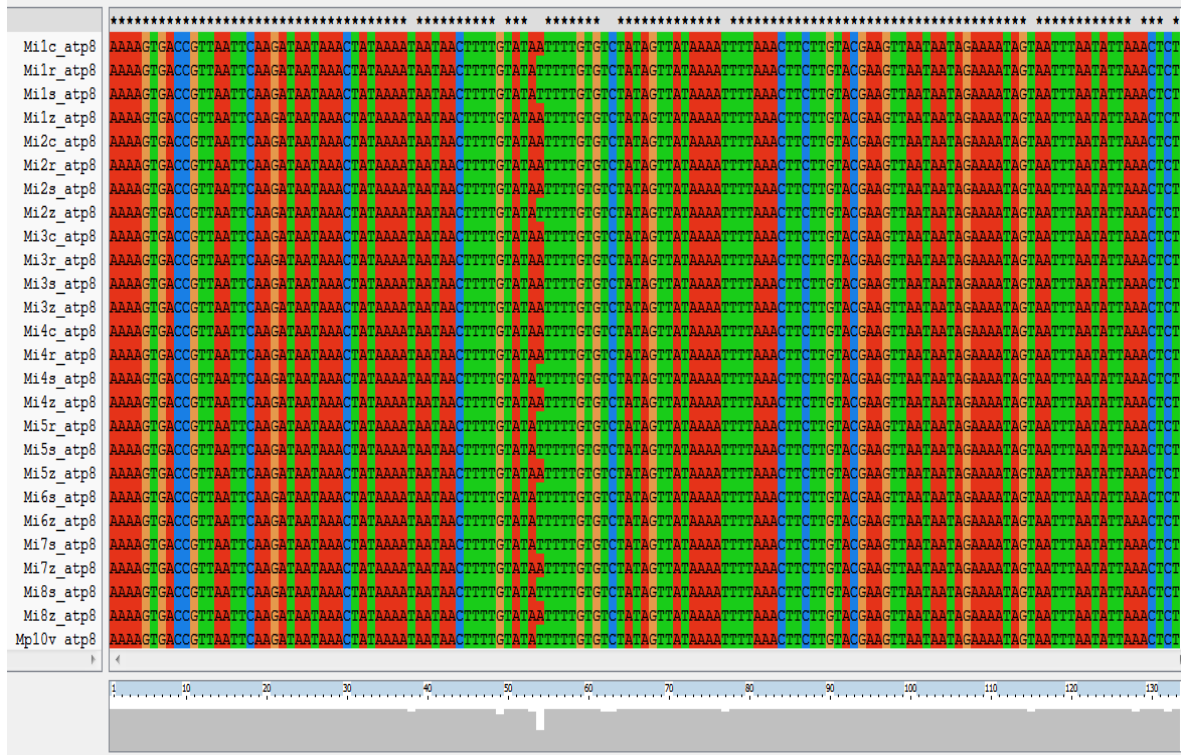
Figura 2. Primera porción del alineamiento múltiple de secuencias con atp8-S.



Los datos de las 64 secuencias, que incluyen las secuencias obtenidas de la costa sudeste del Pacífico (SEP), también mostraron 132 sitios alineados, con diez sitios polimórficos (S) y nueve haplotipos (h). La diversidad haplotípica (H_e) fue 0,627; diversidad nucleotídica (π) 0,00619 y el promedio del número de diferencia por nucleótidos (k) 0,817.

En el primer segmento inferior del alineamiento múltiple de las 64 secuencias, se observa varias sustituciones de bases. (Figura 3).

Figura 3. Sitios polimórficos de la primera porción del alineamiento múltiple de secuencias con atp8-S.



4.1.3. DIVERSIDAD GENÉTICA

Para el análisis poblacional se utilizaron 57 secuencias en total, correspondientes a 32 secuencias de *M. pyrifera* y 25 de *M. integrifolia*; excluyendo los siete secuencias Mpy_MEPS_atp8. Se obtuvo 129 sitios alineados, tres sitios variables (S). Los sitios polimórficos mostraron cuatro haplotipos (h), con una diversidad haplotípica de 0,562 (He). Diversidad nucleotídica (π) 0,00480 y el promedio del números de diferencias por nucleótidos (k) 0,619.

Al realizar el análisis de la diversidad haplotípica por especies, *Macrocystis pyrifera* presentó un valor mayor a *M. integrifolia* (Cuadro 3).

Cuadro 3. Diversidad haplotípica y nucleotídica con marcador mitocondrial atp8.

Ecomorfos	N	h	He	π
<i>M. pyrifer</i>	32	4	0,528	0,00458
<i>M. integrifolia</i>	25	2	0,500	0,00388

Dónde: N= número de muestras, h= número de haplotipos, He= diversidad haplotípica, π = diversidad nucleotídica.

En la distribución de haplotipos por localidades y sitios muestreados (Cuadro 4), se observa que la mayoría de haplotipos tiene una abundante distribución en las localidades de Bahía Independencia y San Juna de Marcona; encontrándose los haplotipos más frecuentes: H1 con 31 individuos (54,39%) y H4 con 22 individuos (38,60%), en ambas localidades.

Cuadro 3. Distribución de los haplotipos con atp8-S de *Macrocystis pyrifer* y *M. integrifolia* en las localidades y sitios muestreados del centro y sur del Perú.

Localidad	Sitio	Especies	Haplotipos				Total
			H1	H2	H3	H4	
Callao	Isla San Lorenzo	<i>M. pyrifer</i>	6	1	-	1	8
Bahía Independencia	isla La vieja	<i>M. pyrifer</i>	11	-	-	-	24
Bahía Independencia	Isla Santa Rosita	<i>M. integrifolia</i>	2	-	-	3	
Bahía Independencia	Isla Pan de Azúcar	<i>M. integrifolia</i>	2	-	-	6	
San Juan de Marcona	Bahía San Nicolás (PSW)	<i>M. pyrifer</i>	-	-	1	6	21
San Juan de Marcona	Los Bancos	<i>M. pyrifer</i>	4	-	2	-	
San Juan de Marcona	Punta San Juanito	<i>M. integrifolia</i>	6	-	-	2	
Ocoña (Arequipa)	Isla Caleta del Inca	<i>M. integrifolia</i>	-	-	-	4	4
	Total		31	1	3	22	57

4.1.4. REDES DE HAPLOTIPOS (*NETWORKS*)

En la red de haplotipos se observa que el tamaño del círculo es proporcional a la frecuencia de haplotipos. Los números representan las posiciones mutadas en el alineamiento.

Los haplotipos se muestran de acuerdo a los dos ecomorfos presentes en la costa centro y sur del Perú. Se observa el haplotipo ancestral Mpyr1 del que se derivan otros haplotipos. Los colores representan los dos ecomorfos, las líneas que conectan los haplotipos representan las mutaciones por pares de bases y las líneas cortas representan el número de sustituciones entre haplotipos. (Figura 4).

Figura 4. Red de haplotipos para localidades de Perú con marcador mitocondrial atp8-S

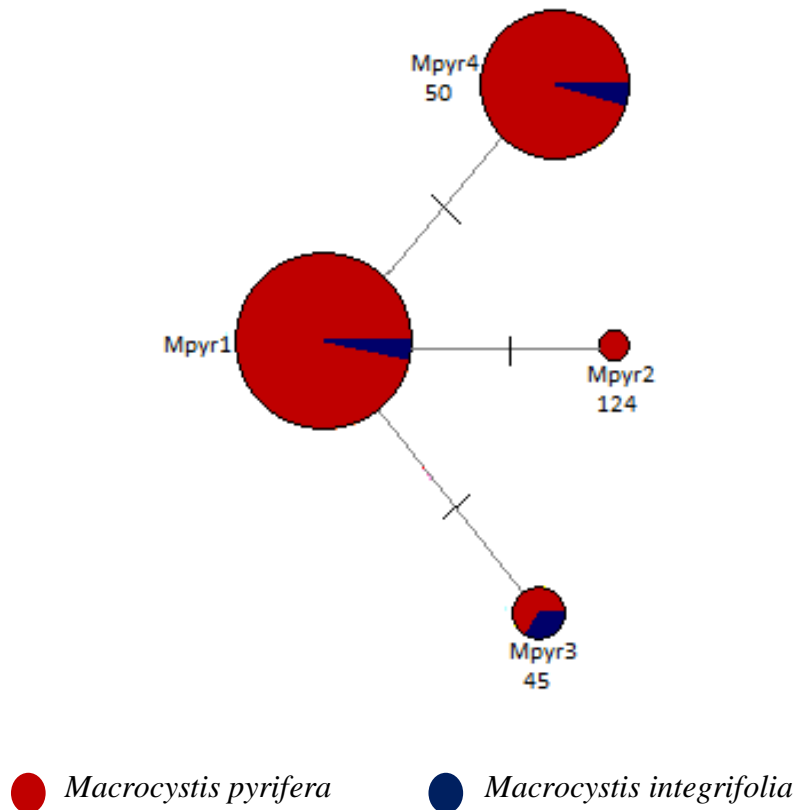
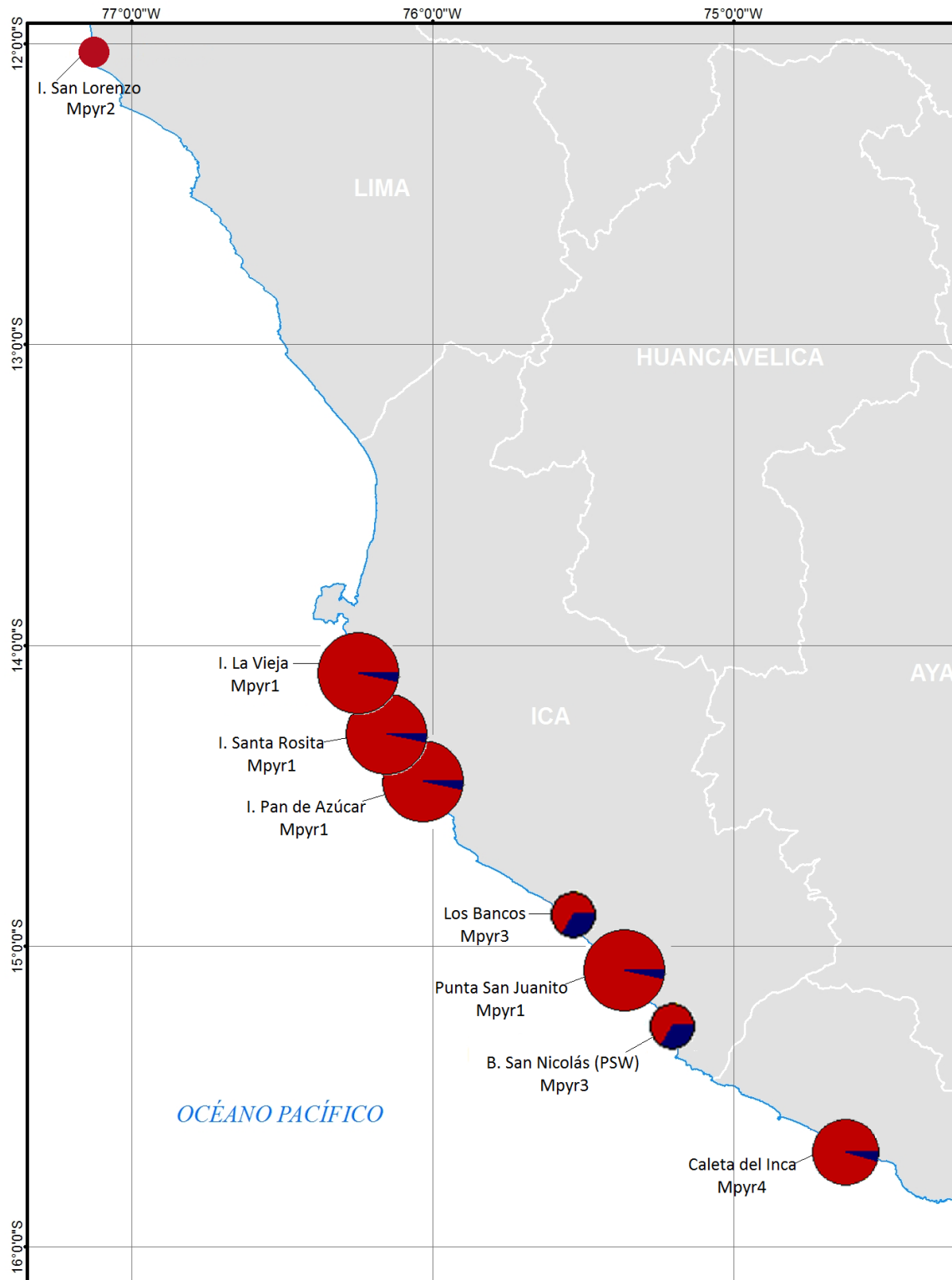
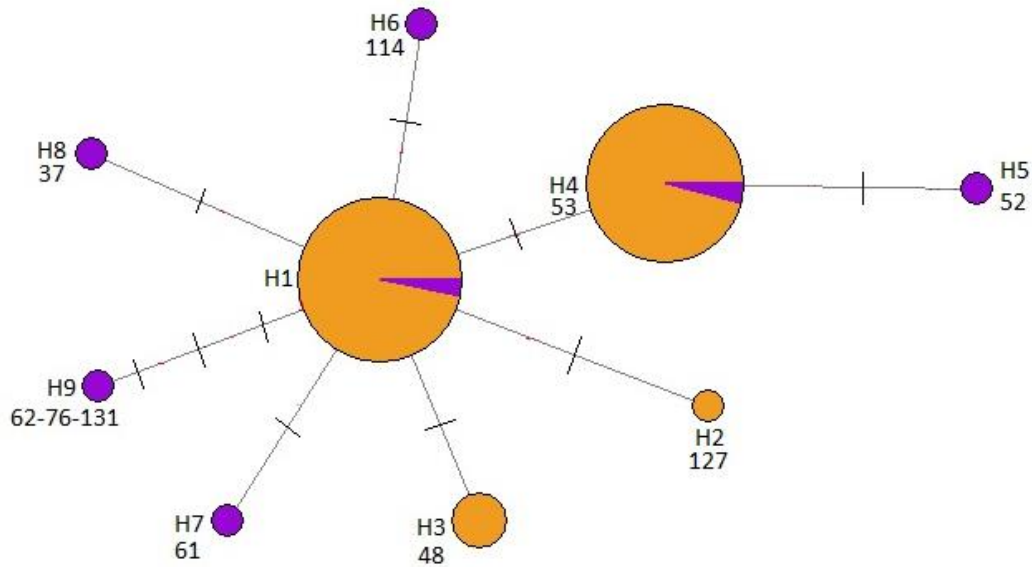


Figura 5. Mapa del Perú: Mostrando los haplotipos y la localización de los sitios de colecta.



Los haplotipos se muestran de acuerdo a su origen geográfico, se observan haplotipos compartidos entre los sitios de muestreo; evidenciando la dispersión de los mismos entre las poblaciones muestreadas. Los colores representan los ecomorfos.

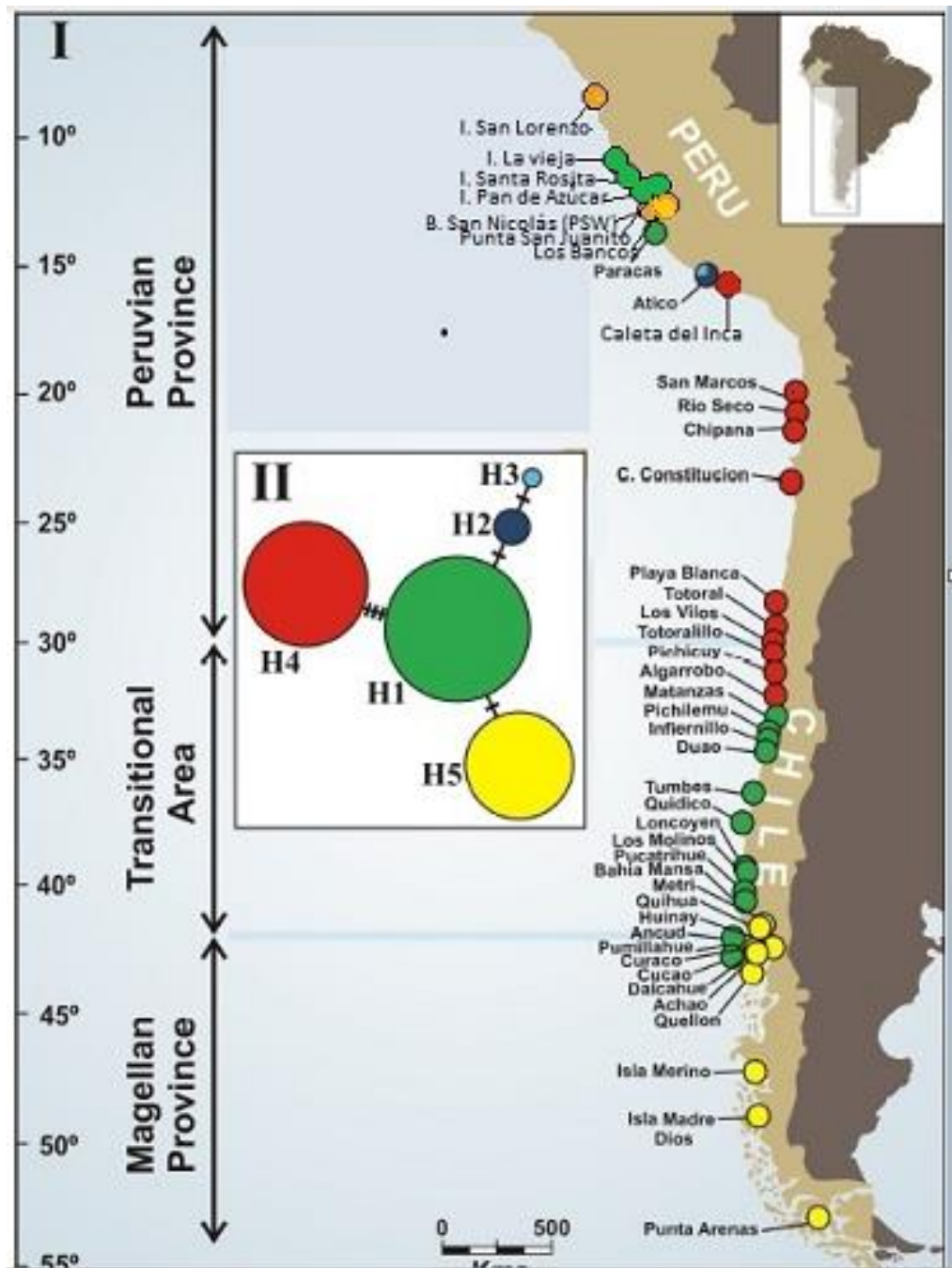
Figura 6. Red de haplotipos para las localidades de la costa sureste del Pacífico y centro sur del Perú, con el marcador mitocondrial atp8-S.



● Haplotipos costa sureste del Pacífico (SEP) ● Haplotipos costa centro y sur del Perú.

Se observa el haplotipo uno (H1) central. Los haplotipos están sombreados de acuerdo al origen geográfico. Los haplotipos a lo largo de la costa sureste del Pacífico (SEP) reportados por Macaya y Zuccarello (2010a) corresponden a: San Marcos a Algarrobo, norte y centro de Chile; Matanzas a Cucao, centro y sur de Chile; Metri a Punta Arenas, sur de Chile; Atico y Paracas, Perú e Islas Sub antárticas y Nueva Zelanda. Haplotipos de la costa centro y sur de Perú son procedentes de: Isla San Lorenzo, Callao; Isla La Vieja, Bahía Independencia; Isla Santa Rosita, Bahía Independencia; Isla Pan de Azúcar, Bahía Independencia; Bahía San Nicolás (PSW), San Juan de Marcona; Los Bancos, San Juan de Marcona; Punta San Juanito, San Juan de Marcona; Isla Caleta del Inca, Ocoña. Nótese los haplotipos únicos H2 y H3 encontrados en este estudio.

Figura 7. Mapa de la distribución global de los haplotipos con la localización de los sitios de colecta.



Fuente: Macaya, E. (2010c) modificado

Distribución de haplotipos de acuerdo al sitio geográfico de los muestreos. Se observan los haplotipos reportados para la costa sureste del Pacífico SEP y los de la costa centro y sur del Perú para este estudio. Nótese el haplotipo ancestral H1 presente en las zonas centrales de Chile y Perú, El haplotipo H4 presente en el sur del Perú, es compartido con los haplotipos del norte de Chile.

4.1.5. HISTORIA DEMOGRÁFICA

Los resultados obtenidos del grupo de 57 secuencias, analizadas con el marcador atp8-S, para la diversidad nucleotídica (π), número de sitios polimórficos (S) y los valores de diferencia a pares (k). Así como la red de haplotipos muestran la posibilidad de expansión súbita de la población previa a un evento de cuello de botella (*bottleneck*). Adicionalmente se realizó el cálculo de la distribución de diferencias a pares entre las secuencias (*mismatch distribution*).

Cuadro 5. Relación directa entre la diversidad nucleotídica (π), número de sitios polimórficos (S) y los valores de diferencia a pares (k).

Ecomorfos	N	h	He	π	S	k
<i>M. pyrifer</i>	32	4	0,528	0,00458	3	0,591
<i>M. integrifolia</i>	25	2	0,500	0,00388	1	0,500

Dónde: N= número de muestras, h= número de haplotipos, He= diversidad haplotípica, π = diversidad nucleotídica.

En el Cuadro 5 se incluyeron los datos de números de haplotipos (h) y diversidad haplotípica (He) para comparar los estimadores calculados. Al existir un mayor valor de diversidad (He), los demás valores en el análisis de la filogenia intraespecífica se expresan mayores. Sí analizamos las secuencias del número de muestras, indicada en el cuadro por N, se observa que los valores de diversidad haplotípica (He) para ambos grupos son bajos, si se compara con altos valores de diversidad usualmente dados, y los valores de los otros estimadores de diversidad son también bajos indicando que existe mayor similitud entre las secuencias de cada ecomorfo.

Se encontró bajos valores en los estadísticos de diversidad debido al bajo número de sitios polimórficos al comparar las secuencias (Cuadro 6).

Cuadro 6. Relación directa entre los estimadores de las poblaciones agrupadas por regiones geográficas analizadas con el marcador mitocondrial atp8-S.

Regiones	N	h	He	π	S	k
Centro y Sur de Perú	57	4	0,562	0,00480	3	0,619
Perú	60	5	0,575	0,00490	4	0,651
Costa Sureste del Pacífico SEP	64	9	0,627	0,00619	10	0,817

Donde N= número de muestras, h= número de haplotipos, He= diversidad haplotípica, π = diversidad nucleotídica.

Para comprobar eventos de expansión poblacional súbita, se realizó los análisis de la filogenia intraespecífica (π , S, k) cuyos valores pueden indicar el rastro que deja estos eventos en la estructura genética de las poblaciones. La red de haplotipos, con topología en estrella también sugirió un cuello de botella genético seguido de expansión poblacional.

Pruebas de Neutralidad

En el Cuadro 7 se presentan los valores de Tajima (D) y Fu (Fs). Al considerar las secuencias por sitios geográficos, se obtuvo valores negativos no significativos en todos los grupos pero reflejan la presencia de un posible evento de expansión poblacional.

Cuadro 7. Valores de Tajima (D) y Fu (Fs) de las poblaciones de *Macrocystis pyrifera* y *M. integrifolia* de acuerdo a la región geográfica.

Regiones	N	D	Fs
Centro y Sur del Perú	57	-0,09717	-0,39799
Perú	60	-0,52519	-121,906
Costa Sureste del Pacifico SEP	64	-1,68123	-3,63924*

Dónde: N= número de muestras, D= valores de la prueba de Tajima y de Fs= Prueba de Fu. $p < 0.10$ * $p < 0.02$.

Distribución de diferencias pareadas

A nivel de poblaciones por ecomorfos, el análisis de distribución de diferencias por pares de secuencias con atp8-S, sugiere una historia de expansión poblacional para *Macrocystis pyrifera* y *M. integrifolia* reflejando una distribución unimodal y un número de diferencias pareadas (k) igual a 0,591 y 0,500 respectivamente

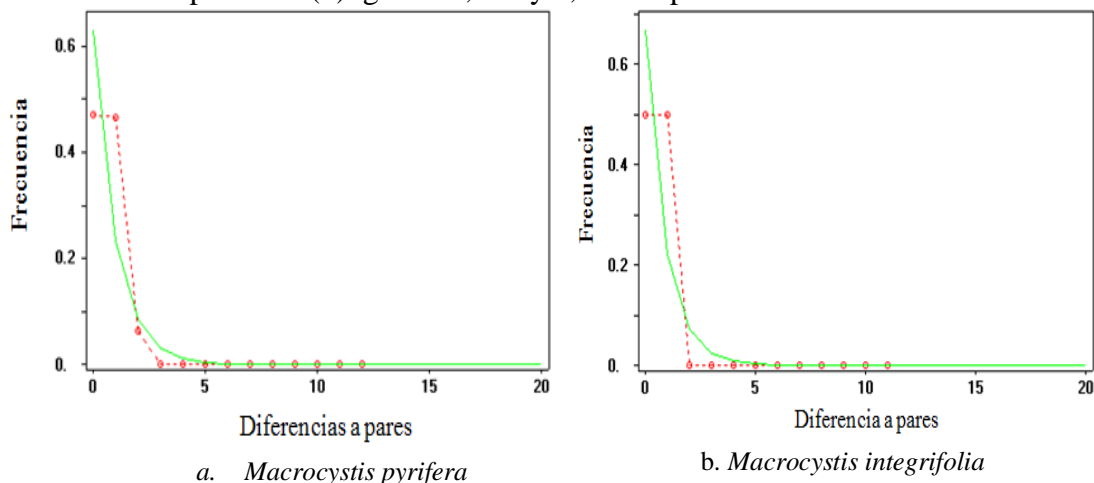


Figura 8. Curvas de distribuciones pareadas o mismatch distributions del marcador atp8-S para las poblaciones de (a) *Macrocystis pyrifera* y (b) *M. integrifolia*.

La línea roja corresponden a la distribución observada, mientras la línea verde a la distribución esperada. Las gráficas coinciden con la baja diversidad genética encontrada, los resultados se asemejan a la hipótesis de expansión poblacional súbita seguido a un cuello de botella genético.

Al analizar la distribución de diferencias pareadas por sitios geográficos con el marcador mitocondrial atp8-S, las poblaciones presentan una distribución unimodal ajustándose a la hipótesis de expansión poblacional.

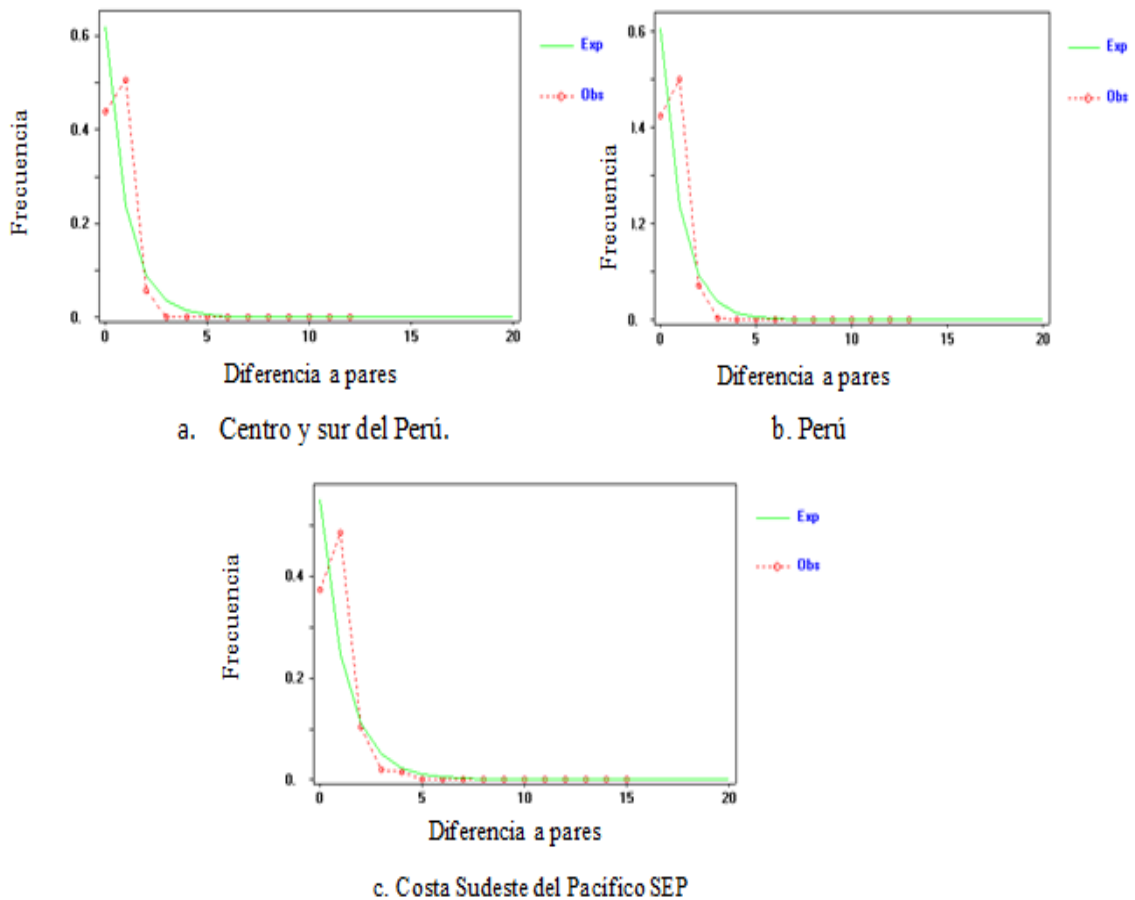


Figura 9. Curvas de distribución a pares con atp8-S en las zonas geográficas: a. Centro y sur del Perú (poblaciones muestreadas para este estudio), b. Perú (incluye las poblaciones de Atico y Paracas), c. Costa Sudeste del Pacifico SEP (poblaciones del centro y Sur del Perú).

En la Figura 9 se muestra en el eje horizontal las diferencias a pares entre las secuencias y en el eje vertical su frecuencia. Las líneas rojas representan la distribución observada y la distribución esperada está representada por las líneas verdes. Un mejor ajuste de la distribución observada a la distribución esperada implica la posibilidad de un evento de expansión poblacional súbita seguido de un cuello de botella genético.

Al comparar la distribución pareada de las poblaciones correspondientes a la costa Sureste de Pacífico, incluyendo el centro y sur del Perú, con el último máximo glacial LGM se observa una coincidencia de la curva presentada de la distribución pareada correspondiente a una expansión poblacional en 15.000 años aproximadamente y el tiempo estimado del último periodo glacial (20.000 – 25.000 años), donde los glaciales alcanzaron su mayor extensión, aumentando su temperatura descendiendo el nivel del hielo (Petit *et al.*, 1999).

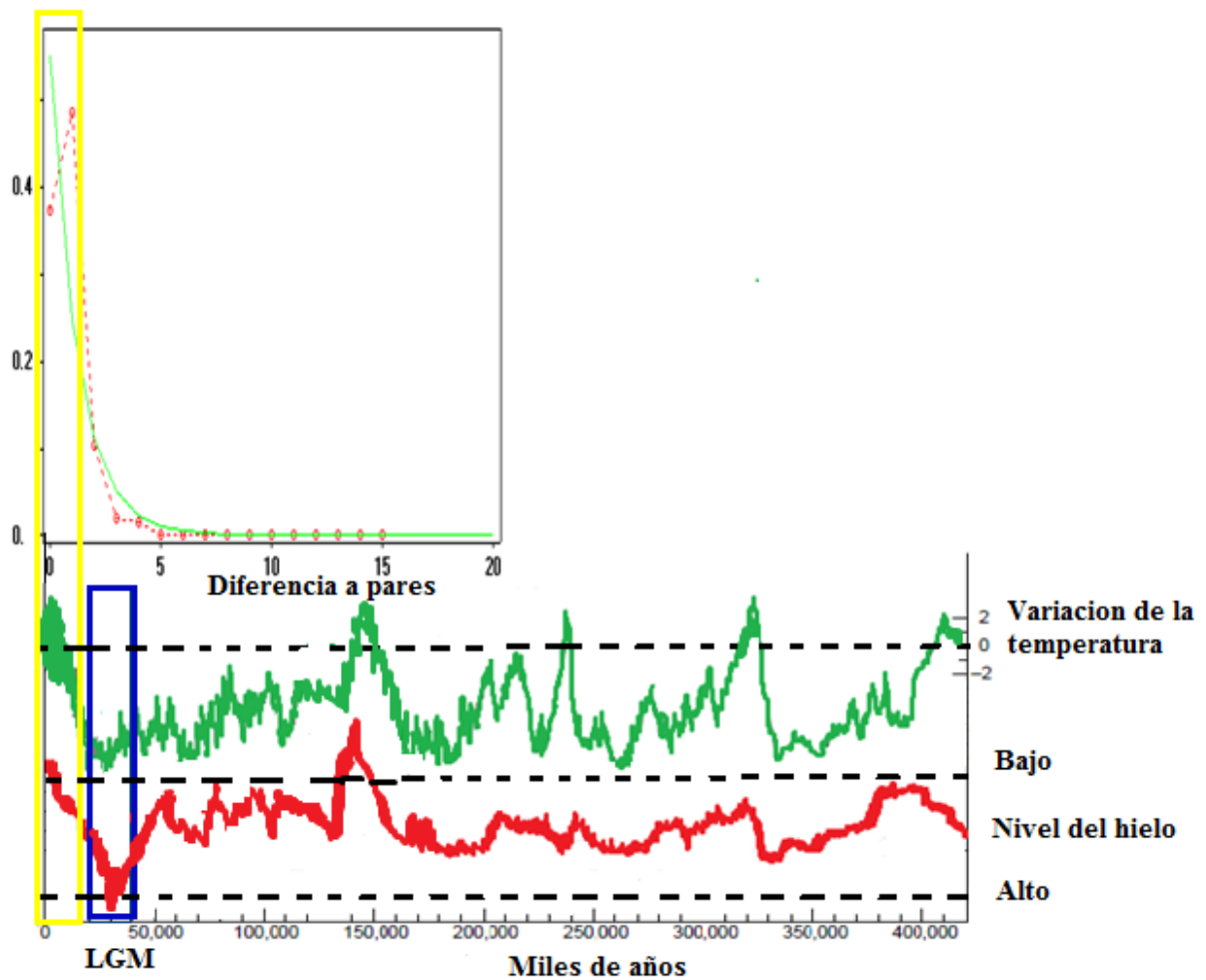


Figura 10. Comparación de las condiciones climáticas y posible evento de expansión súbita de las poblaciones de *Macrocytis* pertenecientes a la Costa sudeste del Pacífico (incluye poblaciones del centro y sur del Perú).

Se observan en la Figura 10 las condiciones climáticas estimadas hace 15.000 años (línea amarilla) y la última máxima glaciación (LGM) hace 20.000 años aproximadamente (línea azul). Modificado de Petit *et al.*, 1999.

4.1.6. DISTANCIA GENETICA

Los análisis de distancia genética dentro de las poblaciones de *Macrocystis pyrifera* y *M. integrifolia* evidenciaron que existe una gran similitud de las muestras colectadas en el centro y sur del Perú, mostrando una distancia genética de 0.008. La población de Isla San Lorenzo en Callao, mostró una distancia de 0.0016 con las demás localidades.

La matriz de distancia genética con el marcador mitocondrial atp8-S para las poblaciones del centro y sur del Perú (Anexo 11), mostró el número de sustituciones por sitio de análisis entre las secuencias. Todos los resultados estuvieron basados en el análisis de 57 secuencias para las poblaciones del Centro y Sur del Perú y 64 para todas las poblaciones del Pacífico Sudeste. Los análisis se realizaron con el Método Compuesto de *Likelihood*. Todas las posiciones que contenían datos de *gaps* y *missing* fueron eliminados de la base de datos. Hubo un total de 129 posiciones para las 57 secuencias y 132 posiciones para el total de las 64 secuencias.

La distancia genética (F_{st}) entre *M. pyrifera* y *M. integrifolia* fue de 0,19947 mostrando similitud entre las poblaciones.

4.2. ANÁLISIS DEL MARCADOR MITOCONDRIAL CITOCROMO C OXIDASA SUBUNIDAD I (COI)

4.2.1. DESCRIPCIÓN DE LAS SECUENCIAS OBTENIDAS

Se obtuvieron secuencias de 15 individuos correspondientes a nueve de *Macrocystis pyrifera* y seis de *M. integrifolia*, con el marcador mitocondrial COI, colectadas en ocho localidades del centro y sur del Perú. A este grupo de datos se le agregaron nueve secuencias reportadas por Macaya y Zuccarello (2010b) y registradas en el *GenBank*, Accesoión HM153257 a HM153265, totalizando 24 secuencias con la finalidad de comparar las poblaciones en un amplio rango de distribución.

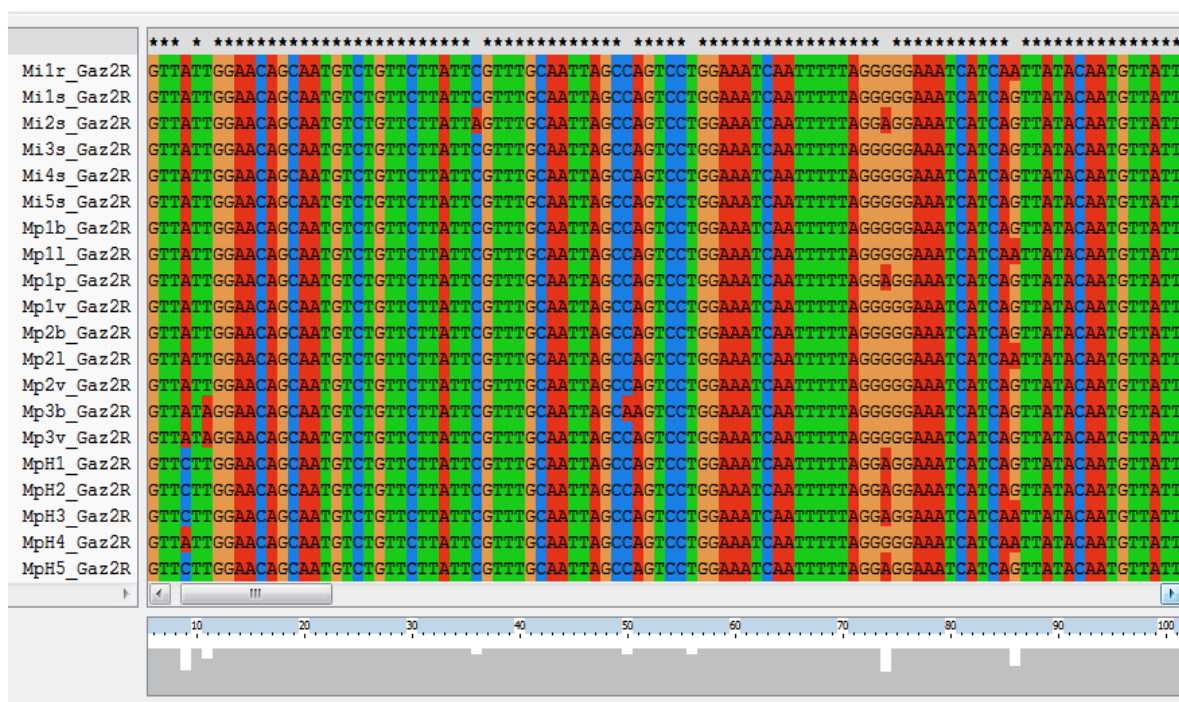
El análisis de comparación de las 15 secuencias obtenidas se realizó utilizando la herramienta BLASTN del NCBI. Se verificó en todos los casos que la amplificación correspondía al marcador COI. Todas las secuencias de *Macrocystis pyrifera* y *M. integrifolia*, resultaron similares al miembro de la familia de Laminariaceae, *Macrocystis pyrifera* y *M. integrifolia*, respectivamente. Los valores de identidad varían entre el 99 y 100 por ciento. Anexo12.

4.2.2. ALINEAMIENTO MÚLTIPLE DE SECUENCIAS

El alineamiento múltiple de las 24 secuencias con COI resultó en 559 sitios alineados, observándose la presencia de 540 sitios conservados, 19 polimorfismos con igual número de mutaciones. Los sitios polimórficos resultaron 17 haplotipos, con un valor de diversidad haplotípica de 0,942. Diversidad nucleotídica (π) 0,00487 y un promedio del número de diferencias por nucleótidos (k) 2,725.

Las secuencias de *Macrocystis pyrifera* de la localidad de San Juan de Marcona en Los Bancos y Bahía Independencia en Isla La Vieja, generaron el primer polimorfismo entre las poblaciones muestreadas. Se observa varias mutaciones (sustituciones). Figura 11.

Figura 11. Primera región del alineamiento múltiple de secuencias con COI.



4.2.3. DIVERSIDAD GENÉTICA

Se utilizaron las 15 secuencias de las poblaciones del centro y sur del Perú. El nuevo alineamiento de secuencias de COI para *Macrocyctis pyrifera* y *M. integrifolia* resultó en 528 sitios alineados, de los cuales 518 son sitios conservados, 10 posiciones variables. Se encontraron 9 haplotipos, la diversidad genética (H_e) fue 0,876, el valor de P_i de la diversidad nucleotídica fue 0,00335, el número promedio de diferencia de nucleótidos (k) fue 1,771.

La diversidad haplotípica por especies resultó mayor para *Macrocyctis pyrifera*. (Cuadro 8).

Cuadro 8. Diversidad haplotípica y nucleotídica con COI

Especies	N	H	Hd	π
<i>M. pyrifera</i>	9	7	0,944	0,00400
<i>M. integrifolia</i>	6	4	0,800	0,00253

Donde: N= número de muestras, H= número de haplotipos, H_e = diversidad haplotípica, π = diversidad nucleotídica.

En la distribución de haplotipos por localidades y sitios de muestreo, se observa que las localidades de Callao y San Juan de Marcona tienen la mayoría de haplotipos; siendo los haplotipos más frecuentes: H1 con tres individuos equivalente al 20 por ciento y H4 con cinco individuos representando el 33 por ciento. Cuadro 9.

Cuadro 9. Distribución de los haplotipos con COI de *Macrocystis pyrifera* y *M. integrifolia* en las localidades y sitios muestreados del centro y sur del Perú.

Localidad	Sitio	Especies	Haplotipos									Sub total	Total
			H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9		
Callao	Isla San Lorenzo	<i>M. pyrifera</i>	2									2	2
Bahía Independencia	isla La vieja	<i>M. pyrifera</i>				1			1		1	3	4
Bahía Independencia	Isla Santa Rosita	<i>M. integrifolia</i>	1								1		
Bahía Independencia	Isla Pan de Azúcar	<i>M. integrifolia</i>											
San Juan de Marcona	Bahía San Nicolás (PSW)	<i>M. pyrifera</i>						1				1	9
San Juan de Marcona	Los Bancos	<i>M. pyrifera</i>				1	1			1		3	
San Juan de Marcona	Punta San Juanito	<i>M. integrifolia</i>		1	1	3						5	
Ocoña (Arequipa)	Isla Caleta del Inca	<i>M. integrifolia</i>											
Total			3	1	1	5	1	1	1	1	1	15	15

4.2.4. RED DE HAPLOTIPOS (*NETWORKS*)

Los haplotipos se observan según los dos ecomorfos presentes en Perú. En esta representación, los números en rojo es la posición mutada durante el alineamiento. Se observa un haplotipo central H4, este resultado podría obedecer a las cortas secuencias obtenidas de la amplificación (530). No obstante, evidencian el útil uso del marcador mitocondrial COI.

Figura 12. Red de haplotipos de *Macrocystis* para los ecomorfos en Perú con el marcador mitocondrial COI.

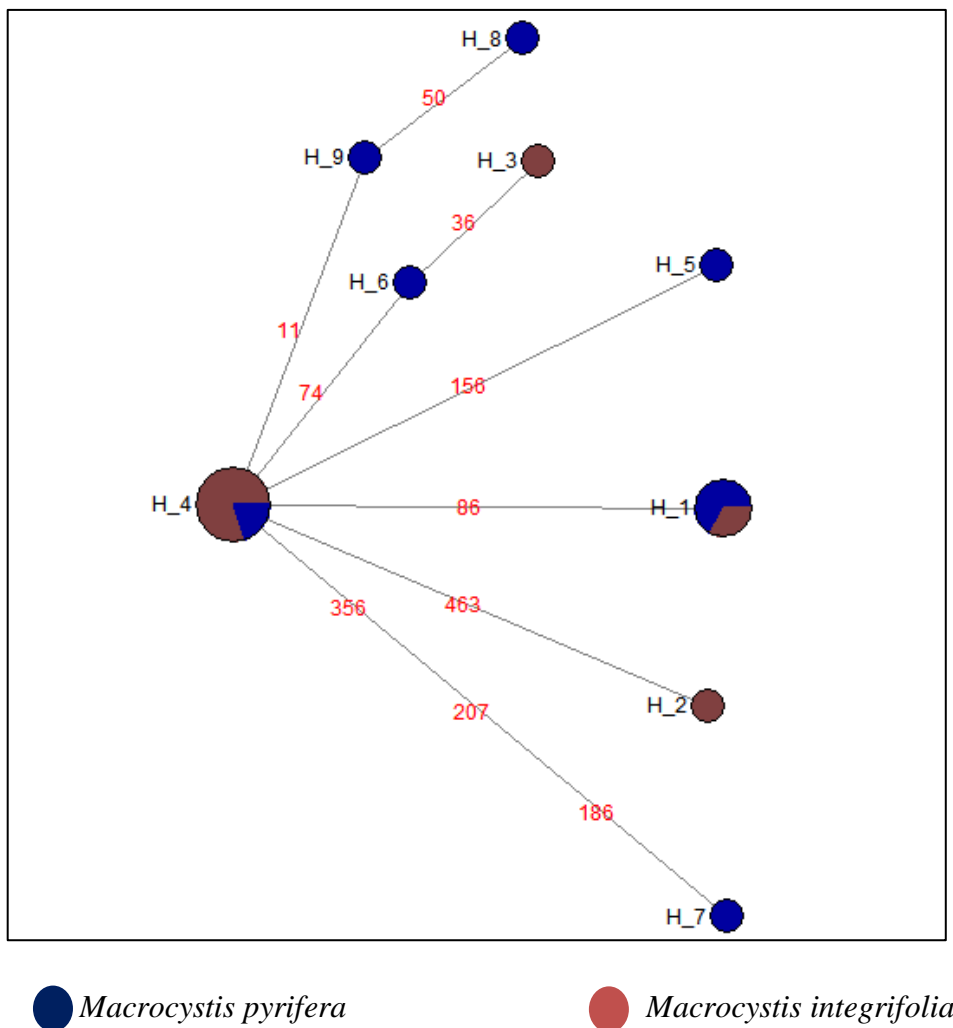
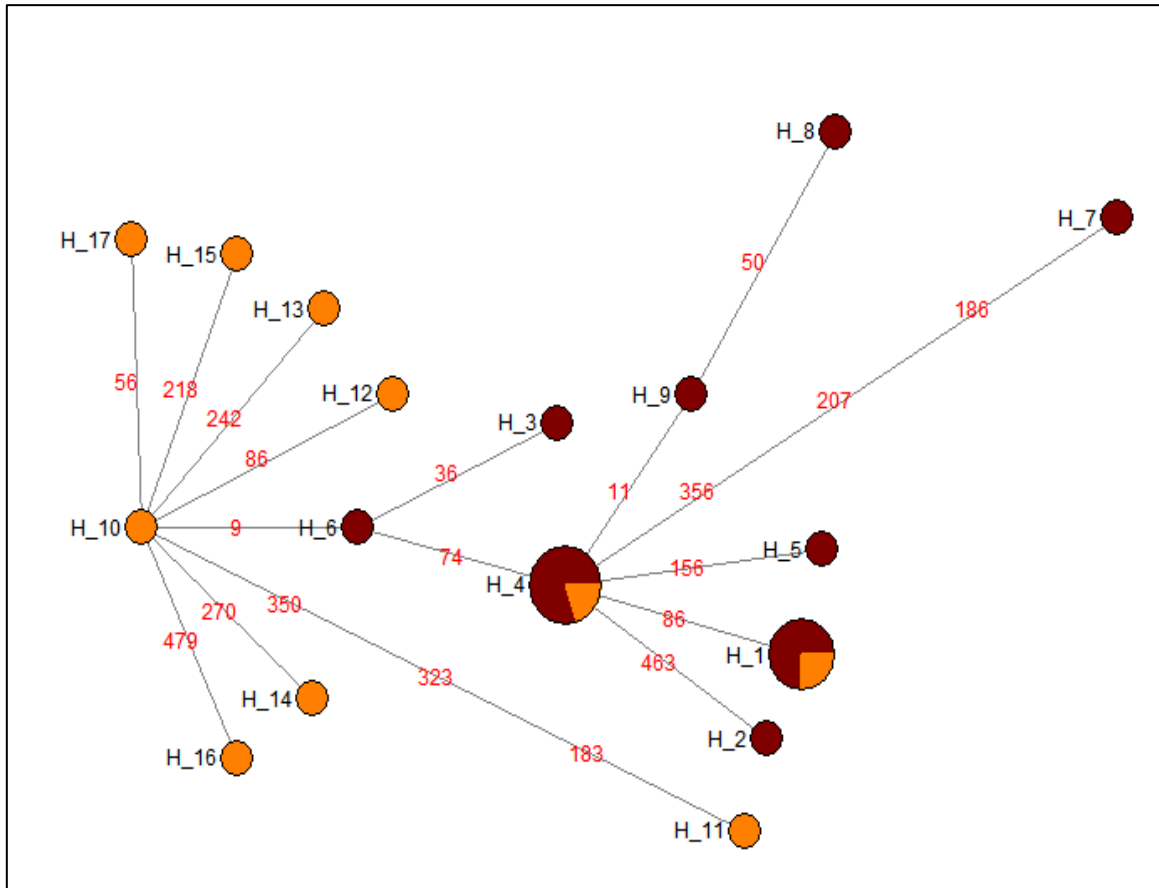


Figura 13. Red de haplotipos de *Macrocystis* de distribución mundial comparada con haplotipos del centro y sur del Perú, empleando el marcador mitocondrial COI.



● Haplotipos costa centro y sur del Perú ● Haplotipos de distribución mundial

En la red se observa que los haplotipos están sombreados de acuerdo al origen geográfico. Los haplotipos de distribución mundial corresponden a: Noreste del y sudeste del Pacífico, Australasia, África e Islas Subantártica y los haplotipos de la costa centro y sur del Perú obtenidos para este estudio son: San Lorenzo, Callao; Isla La Vieja, Bahía Independencia; Santa Rosita, Bahía Independencia; Bahía San Nicolás, San Juan de Marcona; Los Bancos, San Juan de Marcona; Punta San Juanito, San Juan de Marcona. El elevado número de haplotipos (H17) podrían deberse a la calidad de las secuencias obtenidas. No observando concordancia con los resultados reportados por Macaya y Zuccarello, 2010b.

V. DISCUSIONES

La estructura genética de las especies puede ser modelada por procesos climáticos, geológicos y puede ser evidenciada por análisis filogenéticos (Avise, 2000). Para la presente Tesis se utilizó dos marcadores mitocondriales atp8-S y COI. Se confirmó la amplificación y el alineamiento del segmento de genoma estudiado. La comparación de las secuencias atp8-S y COI con la base de datos del *Genbank* produjo resultados similares con las muestras analizadas: *Macrocystis pyrifera* y *M. integrifolia*. El alineamiento múltiple presentó sitios conservados y poco polimorfismo.

El análisis de la variabilidad genética y filogenia de los haplotipos del área de estudio, zona centro y sur del Perú, muestra que *Macrocystis pyrifera* y *M. integrifolia* son una misma especie como fue previamente comprobado por Hooker, 1847; Skottsberg, 1907; Graham *et al.*, 2007; Demes *et al.*, 2009; Macaya y Zuccarello 2010b; Astorga *et al.*, 2012. Confirmando la presencia de una sola especie *Macrocystis pyrifera*. La estructura genética de las poblaciones muestreadas de *Macrocystis* mostró una baja variabilidad genética y sugieren que estos ecomorfos provienen de un antecesor en común (Mpyr1).

La alta plasticidad que presenta las frondas y el disco de fijación o rizoide, por factores abióticos como: temperatura, oleajes, corrientes y profundidad (North, 1971; Brandt, 1923; Drhuel, 1978; Wheeler, 1980; Kain, 1982; Hurd, 1996; Clendening, 1964; van Tüssenbroeck, 1989; Demes *et al.*, 2009) confieren a *Macrocystis pyrifera*, otros ecomorfos como el presente en la costa centro y sur del Perú representado por *M. integrifolia*. Adicionalmente, *Macrocystis* presenta inter fertilidad dada a conocer por Lewis *et al.*, 1986; Lewis y Neushul, 1994, 1995; Druehl *et al.*, 2005; Westermeier *et al.*, 2007 lo que le atribuye la calidad de especie monoespecífica, no concordando taxonomías antiguamente establecidas con la evidencia molecular obtenida.

De acuerdo con los análisis de las secuencias, empleando el marcador mitocondrial atp8-S, las muestras presentaron baja diversidad haplotípica entre $H_e = 0,500 - 0,800$, nucleotídica $\pi = 0,00253 - 0,00458$. La distancia genética calculada entre las poblaciones de *Macrocystis* fue de 0,19947 evidenciando ninguna diferencia entre los grupos. Se observó un alto flujo de genes, esto último en la distribución global de los haplotipos comparados con los haplotipos obtenidos para esta investigación, debido a varios factores entre ellos el

origen de *Macrocystis* en el hemisferio norte y su posterior colonización reciente al hemisferio sur basada en estudios de ITS y COI (Coyer *et al.*, 2001; Macaya y Zuccarello 2010b) que respaldan esta teoría. El alto flujo de genes entre las poblaciones de *Macrocystis* debido a su alto potencial de dispersión (Macaya *et al.*, 2005; Hernández-Carmona *et al.*, 2006) probablemente ocurrió durante eventos históricos como la Última Máxima Glaciación (*Last Glacial Maximum*), que abarcó el Pleistoceno hace 20.000 años, cuando los trópicos estuvieron cubiertos por hielo para posterior derretimiento de los glaciales provocando la dispersión de muchas especies (Estes y Steinberg 1988). El análisis de distribuciones pareadas o “*mistmach distributions*” con atp8-S sugiere una expansión poblacional reciente. Adicionalmente, Fraser (2009) reportó la colonización de haplotipos únicos de *Durvillaea antarctica*, una kelp con alta capacidad de flotación, en áreas de desglaciación en todo el océano austral. Por otra parte, eventos más recientes como La Niña propician las condiciones oceanográficas ambientales adecuadas para la recuperación de las poblaciones, sucediendo lo contrario con los eventos de El Niño.

La presencia de los ecomorfos de *Macrocystis* obedece a la adaptación de este *kelp* a las condiciones ambientales específicas. *M. pyrifera* se encuentra en aguas profundas mientras *M. integrifolia* habita en zonas intermareales (Graham *et al.*, 2007). Consecuentemente; la estructura física oceanográfica del Sistema de Corrientes del Perú, en especial las corrientes costeras (0 - 20m), ofrece las condiciones adecuadas para la presencia del ecomorfo de *M. integrifolia*. Tellier *et al.*, 2009 sugieren estudios sobre la fisiología de las macroalgas y el rol del genoma mitocondrial en diferentes condiciones ambientales para una mejor comprensión de posibles adaptaciones a ambientes específicos. Adicionalmente, Shibneva, *et al.*, 2013 demostraron en *Undaria pinnatifida*, la presencia de morfologías específicas producto de una adaptación al medio ambiente y no por condiciones genotípicas. Por otra parte, se corrobora la presencia de un haplotipo ancestral Mpyr1 de *M. pyrifera* con los resultados obtenidos por Macaya y Zuccarello 2010b y haplotipos compartidos Mpyr4 en las costas del sur del Perú y norte del Chile.

VI. CONCLUSIONES

La filogenia de los haplotipos basadas en los polimorfismos de marcador mitocondrial *atp8-S* y *COI*, genera haplotipos más frecuentes en las localidades de Bahía Independencia, San Juan de Marcona y Callao.

La estructura genética actual en las poblaciones estudiadas en un área aproximada de 2500 km muestra baja diversidad, aceptándose la hipótesis planteada, encontrándose nueve haplotipos con *atp8-S*, con diez mutaciones que las separa, de los cuales dos son haplotipos comunes (H1, H4) en el análisis de las secuencias de manera global, cinco corresponden a los haplotipos ya reportados MEPS (H5, H6, H7, H8, H9), dos son nuevos (H2, H3) restringidos a las localidades de San Juan de Marcona y Callao; constituyéndose en puntos de diversidad. Para el análisis de las secuencias en Sudamérica, se observa un haplotipo ancestral (Mpyr1) y los haplotipos compartidos ya reportados (Mpyr4). Los resultados obtenidos con *COI* asumen un alto número de haplotipos, debido a la deficiente calidad de las secuencias obtenidas. No obstante, nos permite observar la utilidad de este marcador.

En cuanto a las relaciones filogenéticas entre las poblaciones estudiadas; eventos históricos (Último Máximo Glacial LGM) y recientes como La Niña y El Niño explican la baja diversidad genética debido a la reciente colonización de *Macrocystis* en el hemisferio sur, originado en el hemisferio norte (Coyer *et al.*, 2001; Astorga *et al.*, 2012). La alta capacidad de dispersión de *Macrocystis* obedece al flujo de genes que se observa en su amplia distribución geográfica en la zona costera centro y sur del Perú, propiciada por el sistema de corrientes Humboldt que origina la alta dispersión de este género.

Al comparar las secuencias obtenidas con las secuencias de las poblaciones a nivel mundial se observa nueve haplotipos para este estudio, hallándose el haplotipo H1 como el ancestral y compartido con el haplotipo encontrado en la costa central de Chile, probablemente por el sistema de corrientes superficiales hacia el Ecuador compuesto por la Corriente Costera Peruana (CCP) que transporta aguas de origen subantártico y propicia las condiciones ambientales adecuadas para la propagación de *Macrocystis* sumado a su elevada capacidad de dispersión. La presencia del ecomorfo *M. integrifolia* en las costas del Perú se explica por la alta plasticidad presente en este género, dando lugar a procesos de adaptación a condiciones de oleajes y batimetría. Se observó el haplotipo H4

compartido con el haplotipo presente en el norte de Chile, evidenciando nuevamente el alto flujo de genes en *Macrocystis*.

Finalmente, se obtuvo dos nuevos y únicos haplotipos correspondientes a poblaciones en San Juan de Marcona y Callao, estos datos evidencian la alta riqueza genética y consecuentemente sobre la biodiversidad presente debido a las condiciones ambientales, en este caso a nivel oceanográfico con el Sistema de Corrientes Humboldt, proporcionando al mismo tiempo información útil e importante a nivel molecular para la aplicación de estrategias en el manejo y conservación del recurso *Macrocystis* en el Perú. Isla San Lorenzo, Callao, es la zona que ha soportado incrementos en las temperaturas por efecto del evento del Niño, mermando las poblaciones de *Macrocystis* pero recuperándose posteriormente durante eventos de la Niña.

La presencia de ecomorfos en las costas peruana podría obedecer a una respuesta al complejo de corrientes del Sistema Humboldt. En *Undaria pinnatifida* Shibneva, *et al.*, 2013 demostraron que presentan morfologías producto de una adaptación al ambiente local y no de un arreglo genético; al realizar los análisis genéticos y el cultivo en iguales condiciones ambientales de tres morfologías diferentes de *Undaria*. El ensayo de distintos fenotipos en un mismo ambiente se realiza con el fin de minimizar la variabilidad ambiental. Así, la evaluación de la variación adaptativa tiene como uso mejorar las especies de importancia comercial, que implica los caracteres de importancia productiva, como por ejemplo el crecimiento y por consiguiente mayor biomasa; lo cual puede contribuir a seleccionar los espacios para cultivos caracterizados por los rasgos más óptimos a las condiciones ambientales.

VII. RECOMENDACIONES

Emplear otros marcadores moleculares que presenten mayor variabilidad y utilizar nuevamente el marcador mitocondrial COI, con un mayor número de individuos de todas las localidades muestreadas en este estudio, para corroborar los resultados obtenidos.

Realizar estudios morfométricos de *Macrocystis* en cultivos con iguales condiciones ambientales, para correlacionar los diferentes morfos y verificar la influencia del entorno sobre el fenotipo.

Estimar la fertilidad que puedan mantener las frondas reproductivas funcionales de *Macrocystis* a lo largo de la costa peruana, para conocer mejor las rutas de dispersión de estas estructuras flotantes en el Sistema de corrientes del Humboldt.

Aplicar la información obtenida como una herramienta de gestión de los ecosistemas marinos costeros en la zona centro y sur del Perú para el fortalecimiento de las actuales medidas de control, manejo del recojo y cosecha de *Macrocystis*.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acleto, C. 1986. Algas marinas del Perú de importancia económica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos UNMSM. Serie de divulgación. N° 5. 107 p.
2. Acleto, C. 1973. Las algas marinas del Perú. Boletín de la Sociedad Peruana de Botánica. Vol. VI (1-2). 164 p.
3. Acleto, C., Zúñiga, R. 1998. Introducción a las algas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. UNMSM. 1 ed. Lima. Perú. 383 p.
4. ADEX (Asociación de Exportadores del Perú). 2008. Informe comercial de algas marinas. 15 p.
5. Agardh, C.A. 1820. Species of algae have been duly noted, with synonymous specific differences and concise descriptions. Vol 1. Part 1. Lund. Berling. 168 p.
6. Alveal, K. 1995. Manejo de algas marinas. En: Alveal, K., Ferrario, M., Oliveira, E. & Sar, E. (Eds.) Manual de Métodos Ficológicos. Ediciones Universidad de Concepción, Concepción. 825-863 p.
7. Astorga, M., Hernández, C., Valenzuela, C., Avaria-Llautureo, J. & Westermeier, R. 2012. Origin, diversification, and historical biogeography of the giant kelps genus *Macrocystis*: Evidence from Bayesian phylogenetic analysis. Revista de biología marina y oceanografía 47: 573-579.
8. Avila, M., Merino, C., Guissen, K., Piel, M. 2010. Manual de Cultivo de algas pardas. Desde el laboratorio al océano. Universidad Arturo Prat. Departamento de Ciencias del Mar. Mpus Huayquique. Iquique. Chile. 33p.
9. Avise, J.C., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, T., Lamb, Neigel, J.G., Reeb, C.A., Saunders, N.C. 1987. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge

- between population genetic and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 489-522.
10. Avise, J.C. 1994. *Molecular markers, natural history and evolution*. Chapman & Hall, New York.
 11. Avise, J. 2000. *Phylogeography the history and formation of species*. Harvard University Press. Cambridge. USA.
 12. Avise, J. 2004. *Molecular markers, natural history and evolution*. 2da. Edition. Chapman & Hall New York.
 13. Bandelt, H., Forster, P., Röhl. A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Journal Molecular Biology and Evolution* 16: 37- 48.
 14. Barrales, H., Lobban, C.S. 1975. The comparative ecology of *Macrocystis pyrifera* with emphasis in the forest of Chubut, Argentina. *Journal of Ecology* 63: 657-677.
 15. Barr, C.M., Neiman, M., Taylor, D.R. 2005. Inheritance and recombination of mitochondrial genomes in plants, fungi and animals. *New Phytologist* 168 (1): 39-50.
 16. Beckley, L. E. & Branch, G. M. 1992. A quantitative scuba-diving survey of the sublittoral macrobenthos at subantarctic Marion Island. *Polar Biology* 11:553-563.
 17. Bhattacharya, D., Yoon, H.S., Hackett, J.D. 2003. Photosynthetic eukaryotes unite: endosymbiosis connects the dots. *BioEssays*. 26: 50-60.
 18. Burger, G., Gray, M.W., Lang, B.F. 2003. Mitochondrial genomes: anything goes. *Trends in Genetic* 19(12): 709-16.
 19. Buschmann, A.H., Vásquez, J.A., Osorio, P., Reyes, E., Filún, L., Hernández-González, M.C. & Vega, A. 2004. The effect of water movement, temperature and salinity on abundance and reproductive patterns of *Macrocystis spp.* (Phaeophyta) at different latitudes in Chile. *Marine Biology* 145: 849-862.

20. Brandt, R.P. 1923. Potash from kelp. Early growth and development of the giant kelp *Macrocystis pyrifera*. Buletin U.S. Department Agriculture. 1191: 1-40
21. Brink, K.H., Halpern, D., Huyer, A., Smith, R.L. 1983. The physical environment of the Peruvian upwelling system. *Progress Oceanography* 12: 285-305.
22. Brostoff, W.N. 1988. Taxonomic studies of *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Agardh (Phaeophyta) in southern California: holdfasts and basal stipes. *Aquatic Botany* 31: 289-305.
23. Candia, A., Romo, H., Alveal, K., & Dallarossa, V. 1979. Cultivo unialgal de *Macrocystis pyrifera* (L) C. Agardh de la Bahía de Concepción, Chile. *Rickia* 8: 75-83.
24. Castilla, J.C. 1985. Food webs and functional aspects of the kelp *Macrocystis pyrifera*, community in the Beagle Channel, Chile. In *Antarctic Nutrient Cycles and Food Webs*. Siegfried, W.R.(Eds.). Heidelberg, Germany: Springer-Verlag. 407-414 p.
25. Castilla, J.C. & Moreno, C.A. 1982. Sea urchins and *Macrocystis pyrifera*: Experimental test of their ecological relations in southern Chile. In *Proceedings of the International Echinoderm Conference*. Lawrence, J.M. (Eds.). Rotterdam: A.A. Balkema, 257-263 p.
26. Coyer, J.A., Smith, G.J., Andersen, R.A. 2001. Evolution of *Macrocystis spp* (Phaeophyceae) as determined by ITS1 and ITS2 sequences. *Journal Phycology* 37: 574-585.
27. Coyer, J.A., Peters, A.F., Hoarau, G., Stam, W.T., Olsen, J.L. 2002a. Hybridization of the marine seaweeds, *Fucus serratus* and *Fucus evanescens* (Heterokontophyta: Phaeophyceae) in a 100-year-old zone of secondary contact. *Proceeding of the Royal Society of London. Series B* 269: 1829-1834.
28. Coyer, J.A., Peters, A.F., Hoarau, G., Stam, W.T., Olsen, J.L. 2002b. Inheritance patterns of ITS1, chloroplasts and mitochondria in artificial hybrids of the seaweeds *Fucus serratus* and *F. evanescens* (Phaeophyceae). *European Journal Phycology* 37: 173-178.

29. Clendenning, K.A. 1964. Photosynthesis and growth in *Macrocystis pyrifera*. Proceeding International Seaweed Symposium. 4: 55-65.
30. Clendenning K.A., Sargent M.C. 1971. Photosynthesis and general development in *Macrocystis*. Nova Hedwigia 32: 169–190
31. Coyer, J.A.; Hoarau, G., Oudot-Le Secq, M.P., Stam, W.T., Olsen, J.L. 2006. A mtDNA-based phylogeny of the brown algal genus *Fucus* (Heterokontophyta; Phaeophyta). Molecular Phylogenetic and Evolution 39: 209-222.
32. Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Guajardo-Barbosa, C. 2000. Uso de harina de Kelp (*Macrocystis pyrifera*) en alimentos para camarón. En: Cruz - Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán.
33. Chin, N.K.M., Brown, M.T., Heads, M. J. 1991. The Biogeography of Lessoniaceae, with special reference to *Macrocystis* Agardh, C. (Phaeophyta, Laminariales). Hydrobiologia 215: 1-11.
34. Dayton, P.K., Tegner, M. 1984. Catastrophic storms, El Niño, and patch stability in a southern California kelp community. Science 224: 283–85.
35. Dayton, P.K. 1985. The structure and regulation of some South American kelps communities. Ecological Monograph 55: 447-468.
36. Dayton P.K., Tegner M.J. 1990. Bottoms beneath troubled waters: benthic impacts of the 1982–1983 El Niño in the temperate zone. In: Glynn, P.W. (Eds.). Global ecological consequences of the 1982–83 El Niño-Southern Oscillation. Elsevier. Miami.
37. Dayton, P.K., Tegner, M.J., Parnell, P.E., Edwards, P.B. 1992. Temporal and spatial patterns of disturbance and recovery in a kelp forest community Ecological Monograph 62: 421-445.

38. Dayton, P.K., Tegner, M.J., Edwards, P.B., Riser, K.L. 1998. Sliding baselines, ghosts and reduced expectations in kelp forest communities. *Ecology Applied* 8: 309 - 322.
39. Dean, T.A. & Jacobsen, F.R. 1984. Growth of juvenile *Macrocystis pyrifera* (Laminariales) in relation to environmental factors. *Marine Biology* 83, 301-11.
40. Demes, K.W., Graham, M.H., Suskiewicz, T.S. 2009. Phenotypic plasticity reconciles incongruous molecular and morphological taxonomies: The giant kelp, *Macrocystis* (Laminariales, Phaeophyceae), is a monoespecific genus. *Journal Phycology* 45(6): 1266-1269.
41. Dieck, T.I. 1993. Temperature tolerance and survival in darkness of kelp gametophytes (Laminariales, Phaeophyta): Ecological and biogeographical implications. *Marine Ecology Progress Series* 100: 253-264.
42. Dixon, J., Schroeter, S.C., Kastendiek, J. 1981. Effects of the encrusting bryozoan, *Membranipora membranacea*, on the loss of blades and fronds by the giant kelp, *Macrocystis pyrifera* (Laminariales). *Journal of Phycology* 17:341-345
43. Domínguez, N., Quispe, J., Vásquez, L. 2011. Principales corrientes marinas frente a la costa peruana durante el 2008 – 2009. *Boletín. Instituto del Mar del Perú*. 26(1/2): 39-48.
44. Duminil, J., Pemonge, M.H., Petit, R.J. 2002. A set of consensus primer paires amplifying genes and introns of plant mitochondrial DNA. *Molecular Ecology Notes* 2: 428-430.
45. Druehl, L.D. 1978. The distribution of *Macrocystis integrifolia* in British Columbia as related to environmental factors. *Canadian Journal of Botany* 56: 69-79
46. Druehl, L.D; Saunders, G.W. 1992. Molecular explorations in kelp evolution. *Progress in Phycological Research* 8: 47-83.
47. Druehl, L. 2000. *Pacific Seaweeds, A guide to common seaweeds of the west coast*. The Canada Council For the Arts Since, Canada. 93 p.

48. Druehl, L.D., Collins, J.D., Lane, C.E., Saunders, G.W. 2005. An evaluation of methods used to assess intergeneric hybridization in kelp using Pacific Laminariales (Phaeophyceae). *Journal of Phycology*. 41: 250-62.
49. Edding, J., Laval, G. 1999. Measuring genetic uniqueness in livestock. In: *Genebanks and the conservation of farm animal genetic resources*. Ed. J. K. Oldenbroek. DLO.
50. Edgar, G.J. 1987. Dispersal of faunal and floral propagules associated with drifting *Macrocystis pyrifera* plants. *Marine Biology* 95: 599-610.
51. Edwards, M.S. 1998. Disaster and recovery in kelp forests in the Northeast Pacific. Abstract, 79th. Annual Meeting. Western Society of Naturalists. San Diego. California.
52. Edwards, M. S., Hernández-Carmona, G. 2005. Delayed recovery of giant kelp near its southern range limit in the North Pacific following El Niño. *Marine Biology* 147: 273-279.
53. Edyvane, K. 2003. Conservation, Monitoring and Recovery of Threatened Giant Kelp (*Macrocystis pyrifera*) Beds in Tasmania – Final Report. 166 p.
54. Ehara, M., Kitayama, T., Watanabe, K.I., Inagaki, Y., Hayashiishimaru, Y., Ohama, T. 1999. Comprehensive molecular phylogenetic analysis of a heterokont alga (NIES 548) using genes from all three cellular compartments. *Phycological Research* 47: 225-231.
55. Engel, C.R, Billard, E., Voisin, M., Viard, F. 2008. Conservation and polymorphism of mitochondrial intergenérica sequence in brown algae (Phaeophyceae). *Journal of Phycology* 43(2): 195-205.
56. Estes J.A., Steinberg P.D. 1988. Predation, herbivory and kelp evolution. *Paleobiology* 14:19-36.
57. Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S. 2005. Arlequin (versión 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics* 1: 47-50.

58. Fain, S.R. 1992. Interpopulation chloroplast DNA sequence variation in the giant kelp *Macrocystis*. *Phycology* 28(Suppl.):16.
59. Falconer, D., Mackay, T. 1996. Introduction to quantitative genetics. Longman house, Harlow, Essex, Reino Unido.
60. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) 2004. The state of world fisheries and aquaculture (SOFIA). Fisheries and aquaculture Department.
61. Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 294-299.
62. Foster, M.S., Schiel, D.R. 1985. The ecology of giant kelp forest in California: A Community Profile. U.S. Fish and Wildlife Service Biology Report 85 (7.2), Slidell L.A. 152 p.
63. Foster, M.S., Schiel, D.R. 1992. Zonation, El Niño disturbance, and the dynamics of subtidal vegetation along a 30 m depth gradient in two giant kelp forests. *Proceedings of the International Temperate Reef Symposium 2*: 151-162.
64. Fowler-Walker, M.J., Connell, S.D., Gillanders, B.M. 2005. To what extent do geographic and associated environmental variables correlate with kelp morphology across temperature Australia?. *Marine and Freshwater Research*. 56: 877-887.
65. Fleming, A.E. 1998. Growth, intake, feed conversion efficiency and chemosensory preference of the Australian abalone, *Haliotis rubra*. *Aquaculture* 132 (3-4): 297-311.
66. Fraser, C.I., Hay, C.H., Spencer, H.G., Waters, J.M. 2009. Genetic and morphological analyses of the Southern Bull Kelp *Durvillaea antarctica* (Phaeophyceae: Durvillaeales) in New Zealand reveal cryptic species. *Journal of Phycology* 45:436-43.
67. Freeland, J.R. 2005. *Molecular Ecology*. John Wiley & Sons. USA. 388 p.
68. Fu, Y.X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*. 147:915-925.

69. Fujiki, K., Matsuyama, H., Yano, T. 1994. Protective effect of sodium alginates against bacterial infection in common carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Diseases*, 17(4): 349-355.
70. Futuyma, D.J. 2009. *Evolution* 2ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts 633p.
71. Gabrielson, T.M., Brochmann, C., Rueness, J. 2002. The Baltic Sea as a model system for studying postglacial colonization and ecological differentiation, exemplified by the red alga *Ceramium tenuicorne*. *Molecular Ecology* 11: 2083-2095.
72. Gerard, V.A. 1976. Some aspects of material dynamics and energy flow in a kelp forest in Monterey Bay, California. Ph.D. dissertation, University of California Santa Cruz, Santa Cruz, California.
73. Gerard, V.A. 1982. Growth and utilization of internal nitrogen reserves by the giant kelp *Macrocystis pyrifera* in a low nitrogen environment. *Marine Biology* 66: 27-35.
74. Gerard, V.A. 1984. Physiological effects of El Niño on giant Kelp in Southern California. *Marine Biology Letters* 5: 317-322.
75. Gielly, L., Taberlet, P. 1994. The use of chloroplast DNA to resolve plant phylogenies: noncoding versus rbcL sequences. *Molecular Biology and Evolution* 11: 769-777.
76. Gonzalez-Aviles, J.G., Shepherd, S.A. 1996. Growth and survival of the blue abalone *Haliotis fulgens* in barrels at Cedros Island, Baja California, with a review of abalone barrel culture. *Aquaculture* 140(1-2): 169-176.
77. Gutiérrez. 2002. Informe interno IMARPE: Proyecto integrado del gran ecosistema marino de la Corriente de Humboldt.
78. Guzmán del Proo, S.A., Casas-Valdez, M., Díaz-Carrillo, A., Díaz-López, M.L., Pineda-Barrera, J., Sánchez-Rodríguez, M.E. 1986. Diagnóstico sobre las investigaciones y explotación de las algas marinas en México. *Investigaciones Marinas Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas CICIMAR*. 3(2): 1-63.

79. Graham, M. H. 2004. Effects of local deforestation on the diversity and structure of Southern California giant kelp forest foods webs. *Journal Ecosystems* 7: 341-357.
80. Graham, M.H., Vásquez, J.A., Buschmann, A. 2007. Global ecology of the gigant kelp *Macrocystis*: From ecotypes to ecosystems. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*. 39 – 88 p.
81. Gray, M.W., Burger, G., Lang, B.F. 1999. Mitochondrial evolution. *Science*. 283: 1476-1481.
82. Griffiths, J., Wessler, S., Lewontin, R., Carroll, S. 2007. Introduction to genetics analisis. Editorial McGraw –Hill.
83. 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.
84. Harding, R.M. 1996. New Phylogenies: An introductory look at the coalescent. 15-22p. In: Harvey, P.H.A., Leigh Brown, J. Maynard Smith y S. Nee (eds.). *New uses for new phylogenies*. Oxford University Press. New York.
85. Hare, S.R., Francis, R.C. 1995. Climate Change and Salmon Production in the Northeast Pacic Ocean. In R.J. Beamish (Ed.) *Ocean Climate and northern fish populations*. Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Science 121: 357-372.
86. Harrold, C., Light, K. & Lisin, S. 1998. Organic enrichment of submarine-canyon and continental shelf benthic communities by macroalgal drift imported from nearshore kelp forests. *Limnology and Oceanography* 43: 669-678.
87. Hartl, D.L. 1999. *A primer of population genetics (Third Edition)*. Sinauer Associates. Inc. Sunderland Massachusetts. USA. 221p.
88. Hauenstein, E., González, M. 1994. *Biología de las algas y plantas acuáticas. Manual de actividades prácticas*. Universidad Católica de Temuco. Chile.
89. Hay, C.H. 1986. A new species of *Macrocystis* C. Agardh (Phaeophyta) from Marion Island, southern Indian Ocean. *Journal of Phycology* 25: 241-252.

90. Hein, J.M.H., Schierup, Wiuf, C. 2005. Gene genealogies, variation and evolution: A primer in coalescent theory. Oxford University Press. Londres.
91. Henley, W.J., Dunton, K.H. 1997. Effects of nitrogen supply and continuous darkness on growth and photosynthesis of the arctic kelp *Laminaria solidungula*. Limnology and Oceanography 42(2): 209-216.
92. Hernández-Carmona G., Hughes, B., Graham, M.H. 2006. Reproductive longevity of drifting kelp *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyceae) in Monterey Bay, USA. Journal of Phycology 42: 1199-1207.
93. Ho, S., Shapiro, B. 2011. Skyline-plot methods for estimating demographic history from nucleotide sequence. Molecular Ecology. 11: 423-434.
94. Hoarau, G., Coyer, J.A., Veldsink, J., Stam, W.T., Olsen, J.L. 2007. Glacial refuge and recolonization pathways in the brown seaweed *Fucus serratus*. Molecular Ecology 16: 3606-3616.
95. Hoffmann, A.J. & Santelices, B. 1997. Flora Marina de Chile Central. Ediciones Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago. 434 p.
96. Hooker, J.D. 1847. Algae. In: The botany of the Antarctic voyage of H. M. Discovery Ships Erebus and Terror in the years 1839-1843. I. Flora Antarctica, Part 2. London: Reeve. 454-502 p.
97. Huang, X., Madan, A. 1999. CAP3: A DNA sequence assembly program. Genome Research 9: 868-877.
98. Hurd, C.L., Harrison, P.J., Druehl, L.D. 1996. Effect of seawater velocity on inorganic nitrogen uptake by morphologically distinct forms of *Macrocystis integrifolia* from wave-sheltered and exposed sites. Marine Biology 126: 205-214.
99. Hurd, C.L., Stevens, C.L., Laval, B.E., Lawrence, G.A. & Harrison, P.J. 1997. Visualization of seawater flow around morphologically distinct forms of the giant kelp *Macrocystis integrifolia* from wave-sheltered and exposed sites. Limnology and Oceanography 42: 156-163.

- 100.Hurd, C. 2000. Water motion marine macroalgal ecophysiology and production. *Journal of Phycology* 36: 453-472.
- 101.IMARPE (Instituto del Mar del Perú). 2008. Situación actual de las praderas de las macroalgas marinas en el litoral costero de la región de Arequipa. Octubre – Noviembre. IMARPE Ilo. Informe interno.
- 102.IMARPE (Instituto del Mar del Perú). 2010. Caracterización bio-oceanográfica del Área Marino Costera entre Punta San Juan y Playa Yanyarina. Perú, s.e. 55 p.
- 103.IMARPE (Instituto del Mar del Perú). 2012. Estudios sobre macroalgas pardas en el sur del Perú. 2011- 2015. Volumen Extraordinario. Setiembre. Callao, Perú. 200 p.
- 104.Inglis, G. 1989. The colonization and degradation of stranded *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Ag. by the macrofauna of a New Zealand sandy beach. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 125: 203-218.
- 105.Jackson, G.A. 1977. Nutrients and production of giant kelp, *Macrocystis pyrifera*, southern California. *Limnology and Oceanography* 22: 979-995.
- 106.Kameya, A. 2002. Características ecológicas del mar peruano. Seminario virtual de las Ciencias del Mar. Ecología. Consultado 6 de set. 2012. Disponible en: <http://www.oannes.org.pe/seminario/02oceanografKameyaMarPeruano.htm>
- 107.Karhu, A., Hurme, P., Karjalainen, M., Karvonen, P., Kärkkäinen, K., Neale, D., Savolainen, O. 1996. Do molecular markers reflect patterns of differentiation in adaptive traits of conifers? *Theoretical Applied Genetics* 93: 215-221.
- 108.Kingman, J.F.C. 1982. The coalescent. *Stochastic Processes and their Applications*. 13:235-248.
- 109.Knauss, J. A. 1960. Measurements of the Cromwell current. *Deep-Sea Research*. 6: 265-286.
- 110.Kocher, T.D., Thomas, W.K., Meyer, A., Edwards, S.V., Paabo, S., Villablanca, F.X., Wilson, A.C. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals:

- Amplification and sequencing with conserved primers. Proceedings of the National Academy of Sciences 86: 6196-6200.
111. Kucera, H., Saunders, G.W. 2008. Assigning morphological variants of *Fucus* (Fucales, Phaeophyceae) in Canadian waters to recognized species using DNA barcoding. *Botany-Botanique* 86: 1065-1079.
112. Khoel, M., Silk, W., Liang, H., Mahadevan, L. 2008. How kelp produce blade shapes suited to different flow regimes: A new wrinkle. *Integrative and Comparative Biology* 48: 834–851.
113. Klug, W. 2005. *Conceptos de Genética*. Prentice Hall.
114. Kraan, S., Guiry, M.D. 2000. Sexual hybridization experiments and phylogenetic relationships as inferred from RuBisCo spacer sequences in the genus *Alaria* (Alariaceae, Phaeophyceae). *Journal of Phycology* 35: 190-198.
115. Kraan, S., Rueness, J., Guiry, M.D. 2001. Are North Atlantic *Alaria esculenta* and *A. grandifolia* (Alariaceae, Phaeophyceae) conspecific? *European Journal of Phycology* 36: 35-42.
116. Ladah, L.B., Zertuche, J.A., Hernández-Carmona, G. 1999. Giant kelp (*Macrocystis pyrifera*, Phaeophyceae) recruitment near its southern limit in Baja California after mass disappearance during ENSO 1997 – 1998. *Phycology* 35: 1106-1112.
117. Lane, C.E., Mayes, C., Druehl, L.D., Saunders, G.W., 2006. A multi-gene molecular investigation of the kelp (Laminariales, Phaeophyceae) supports substantial taxonomic re-organization. *Journal of Phycology* 42: 493-512.
118. Lane, C., Lindstrom, S., Saunders, G. 2007. A molecular assessment of northeast Pacific *Alaria* species (Laminariales, Phaeophyceae) with reference to the utility of DNA barcoding. *Journal Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 634-648.
119. Lawrence J.M., Olave, S., Otaiza, R., Lawrence, A. L., Bustos, E., 1997. Enhancement of gonad production in the sea urchin *Loxechinus albus* in Chile fed extruded feeds. *Journal of the World Aquaculture Society* 28(1), 91-96.

120. Levring, T. 1960. Contributions to the marine algal flora of Chile. Reports of the Lund University Chile Expedition. 1948-1949 p.
121. Lewis, R.J., Neushul, M., Harger, B.W. 1986. Interspecific hybridization of the species of *Macrocystis* in California. *Aquaculture* 57: 203-210.
122. Lewis, R.J., Neushul, M. 1994. Northern and Southern Hemisphere hybrids of *Macrocystis* (Phaeophyceae). *Journal of Phycology* 30: 346-353.
123. Lewis, R.J., Neushul, M. 1995. Intergenic hybridization among five genera of the family Lessoniaceae (Phaeophyceae) and evidence for polyploidy in a fertile *Pelagophycus x Macrocystis* hybrid. *Journal of Phycology*. 31: 1012-17.
124. Liang, W., Fenge, L., Changyan, D., Dequan, X. 2009. A method for obtaining DNA from compost. *Applied Microbiology Biotechnology* 84: 389-395.
125. Lindberg, D.R. 1991. Marine biotic interchange between the Northern and Southern Hemispheres. *Paleobiology* 17: 308-324.
126. Lukas, R. 1986. The termination of the equatorial undercurrent in the eastern Pacific. *Progress Oceanography* 16: 63-90.
127. Lunt, D.H., Whipple, L.E., Hyman, B.C. 1998. Mitochondrial DNA variable number tandem repeats (VNTRs): utility and problems in molecular ecology. *Molecular Ecology* 7: 1441-1455.
128. Llellish, J., Fernández, E. & Hooker, Y. 2001. Disturbancia del bosque submareal de *Macrocystis pyrifera* durante El Niño 1997-1998 en la Bahía de Pucusana. En: Alveal K & T Antezana (Eds.). *Sustentabilidad de la biodiversidad. Un problema actual: bases científico técnicas, teorizaciones y proyecciones*. 331-350 p. Ediciones Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
129. Macaya, E., Boltaña, S., Hinojosa, I., Macchiavello, J., Valdivia, N., Vásquez, N. 2005. Presence of porophylls. In floating kelp rafts of *Macrocystis spp.* (Phaeophyceae) along the Chilean Pacific Coast. *Journal Phycol* 41: 913-922.

130. Macaya, E., Thiel, M. 2008. In situ test on inducible defenses in *Dictyota kunthii* and *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyceae) from the Chilean coast. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 354: 28-38.
131. Macaya, E., Zuccarello, G.C. 2010a. Genetic structure of the giant kelp *Macrocystis pyrifera* along the southeastern Pacific. *Journal: Marine Ecology Progress Series MEPS* 420: 103-112.
132. Macaya, E., Zuccarello, G.C. 2010b. ADN Barcoding and genetic divergence in the giant kelp *Macrocystis* (Laminariales). *Journal of Phycology* 46: 736-742.
133. Macaya, E. 2010c. Phylogeny, connectivity and dispersal patterns of the giant kelp *Macrocystis* (Phaeophyceae). Thesis Ph.D. in Marine Biology. Victoria University of Wellington. 163 p.
134. Mann, K. 1973. Seaweeds: their productivity and strategy for growth. *Science* 182: 975-981.
135. Manley, S., Lowe, G.C. 2012. Canopy-Forming Kelps as California's coastal dosimeter: 131I from damaged Japanese Reactor Measured in *Macrocystis pyrifera*. *Environmental Science Technology* 46: 3731-3736.
136. Marsden, I. D., Williams, P. M.J., 1996. Factors affecting the grazing rate of the New Zealand abalone *Haliotis iris* (Martyn). *Journal of Shellfish Research* 15(2): 401-406.
137. Meusnier, I., Valero, M., Olsen, J.L. Stam, W.T. 2004. Analyses of rDNA-ITS1 indels in *Caulerpa taxifolia* (Chlorophyta) support a derived, incipient species status for the invasive strain. *European Journal Phycology* 39: 83-92.
138. Muraoka, D., Saitoh, K. 2005. Identification *Undaria pinnatifida* and *Undaria undariodes* Laminariales, Phaeophyceae using mitochondrial 23S ribosomal DNA sequences. *Fisheries Sciences*. 71: 1365-1369.
139. Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, NY.

- 140.Nei, M., Kumar, S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press. New York. 333p.
- 141.Neushul, M. 1959. Studies on the growth and reproduction of the giant kelp *Macrocystis*. Ph.D. dissertation, University of California, Los Angeles, California.
- 142.North, W.J. 1971. Introduction and background. In: North WJ (ed) *The biology of giant kelp beds (Macrocystis) in California*. Verlag von J. Cramer, Lehre. 1- 97 p.
- 143.North, W.J., Jackson, G.A. & Manley S.L. 1986. *Macrocystis* and its environment: knowns and unknowns. *Aquatic Botany* 26: 9-26.
- 144.North, W.J. 1994. Review of *Macrocystis* biology. In *Biology of Economic Algae*, I. Akatsuka (ed.). Hague: Academic Publishing, 447-527.
- 145.Oudot-Le Secq, M.P., Kloareg, B., De Goer, S. 2002. The complete sequence of the mitochondrial genome of *Laminaria digitata* (Laminariales). *Phycology* 37: 163-172.
- 146.Oudot-Le Secq, M.P., Loiseaux-De Goer, S., Stam, W.T., Olsen, J.L. 2006. Complete mitochondrial genomes of the three brown algae (Heterokonta: Phaeophyceae) *Dictyota dichotoma*, *Fucus vesiculosus* and *Desmarestia viridis*. *Current Genetic* 49: 47-58.
- 147.Oxenford, H. A., Mahon, R., Hunte, W. 1995. Distribution and relative abundance of flyingfish (Exocoetidae) in the eastern Caribbean. III Juveniles. *Marine Ecology Progress Series* 117: 39-47.
- 148.Palacios, M., Mansilla, A. 2003. Desarrollo de gametofitos y esporofitos de *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Agarh (Laminariales: Lessoniaceae) de la Región de Magallanes en condiciones de laboratorio. *Anales del Instituto de la Patagonia Ex Serie Ciencias Naturales* 31: 43-63.
- 149.Pearse, J.S. & Hines, A.H. 1976. Kelp forest ecology of the central California coast. University of California, Sea Grant College Program Annual Report 1975-76: Sea Grant Publication 57: 56-58.

150. Peters, A.F., Scornet, D., Muller, D.G., Kloareg, B.; Cock, J.M. 2004. Inheritance of organelles in artificial hybrids of the isogamous multicellular chromist alga *Ectocarpus siliculosus*. *European Journal of Phycology* 39: 235-242.
151. Petit, J., Jouzel, J., Raynaud, D., Barkov, N., Barnola, J., Basile, I., Bender, J., Chapellaz, J., Davis, J., Delaygue, G., Delmotte, M., Kotlyakov, V., Legrand, M., Lipenkov, V., Lorius, C., Pépin, L., Ritz, C., Saltzman, E., Stievenard, M. 1999. Climate and Atmospheric History of the Past 420,000 years of the Vostok Ice Core, Antarctica. *Nature*. 399:429-436.
152. Polovina, J.J., Mitchum, G.T., Evans, G.T. 1994. Decadal and basin-scale variation in mixed layer depth and the impact on the biological production in the Central and North Pacific, 1960-88. *Deep Sea Research* 42:1701-1716.
153. Posada, D., Crandall, K. 2001. Evaluation of methods for detecting recombination from DNA sequences: computer simulations. *Proceeding of the National Academy of Sciences*. 98:13757 – 13762.
154. Plana, J., Mansilla, A., Palacios, M., Navarro, N. 2007. Estudio poblacional de *Macrocystis pyrifera* L.C. AGARHD (Laminariales: Phaeophyta) en ambientes protegidos y expuestos al oleaje en Tierra del Fuego. *Gayana* 71(1): 66-75.
155. Provan, J., Murphy, S., Maggs, C.A. 2004. Universal plastid primers for Chlorophyta and Rhodophyta. *European Journal Phycology* 39: 43-50.
156. Ramírez, M. & B. Santelices. 1991. Catálogo de las algas marinas bentónicas de la costa temperada del Pacífico de Sudamérica. *Monografías Biológicas*. N°5. Facultad de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica de Chile.
157. Redondo, S., Castillo, J., Rubio-Casal, A., Luque, T., Figueroa, E. 2003. El conocimiento de la diversidad genética como base para la conservación de la naturaleza. *Análisis genéticos y conservación*. Universidad de Sevilla. N°38.
158. Reed D.C., Amsler C.D., Ebeling A.W. 1992. Dispersal in kelps: factors affecting spore swimming and competence. *Ecology* 73: 1577-1585.

159. Reed, D.C., Kinlan, B.P., Raimondi, P.T., Washburn, L., Gaylord, B., Drake, P.T. 2006. A Metapopulations perspective on patch dynamics and connectivity of giant kelp. In: Kritzer, J.P., Sale, P.F. (Eds.). *Marine Metapopulations*. Academic Press, San Diego. 353-386 p.
160. Robba L, Russell S.J, Barker G.L, Brodie J. 2006. Assessing the use of the mitochondrial *cox1* marker for use in DNA barcoding of red algae (Rhodophyta). *American Journal of Botany* 93: 1101-08.
161. Roche, L., Dourojeani, M. 1984. A guide to *in situ* conservation of genetic resources of tropical wood species. FORGEN/MISC/84/2. FAO, Rome. 47p.
162. Rogers, A. R., Harpending, H.C. 1992. Population growth makes waves in the distributions of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*. 9:552-562.
163. Rothäusler, E., Gómez, I., Hinojosa, A., Karsten, U., Tala, F., Thiel, M. 2009. Effect of temperature and grazing on growth and reproduction of floating *Macrocystis spp.* (Phaeophyceae) along a latitudinal gradient. *Journal of Phycology* 45: 547–559
164. Rozas, J., Librado, J.C., Sánchez – Del Barrio, X., Messeguer y Rozas, R. 1995. DnaSP v.5.10.1. Universidad de Barcelona.
165. Salavarría, E., Macaya, E., Gil-Kodaka, P. 2012. Estructura genética del alga parda *Macrocystis* en las costas de Perú y Chile. Presentado en: III Congreso de Ciencias del Mar del Perú CONCIMAR. Lima 25 al 29 de junio 2012.
166. Salinas, T., Duchêne, A.M., Maréchal-Drouard, L. 2008. Recent advances in tRNA mitochondrial import. *Trends in Biochemical Science* 33: 320-329.
167. Santelices, B., Ojeda, F.P. 1984. Effects of canopy removal on the understory algal community structure of coastal forest of *Macrocystis pyrifera* from Southern South América. *Journal Marine Ecology Progress* 14: 165-173.

- 168.Santelices, B. 1990. Patterns of reproduction dispersal and recruitment in seaweeds. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review* 28: 177-276.
- 169.Santaelices, B. 1992. Marine Phytogeography of the Juan Fernández Archipelago: A new Assessment. *Pacific Science* 46(4): 438-452.
- 170.Saunders, G.W, Druehl, L.D. 1993. Revision of the kelp family Alariaceae and the taxonomic affinities of *Lessoniopsis Reinke* (Laminariales, Phaeophyta) *Hydrobiologia* 260/261: 689-697.
- 171.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: 1879-88.
- 172.Setchell, W.A. 1932. *Macrocystis* and its holdfasts. University of California. *Publications in Botany* 16: 445-92.
- 173.Simpson J. 1997. Amplified fragment length polymorphisms. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 60: 73-76.
- 174.Schiel, D.R. & Foster, M.S. 1986. The structure of subtidal algal stands in temperate waters. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* 24: 265–307.
- 175.Schweisser, E. 1964. *El litoral peruano*. Editorial gráfica Morsom S.A. Lima. Perú. 193 p.
- 176.Skottsberg, C. 1907. The knowledge of the sub-Antarctic and Antarctic marine algae. I Phaeophyceae. *Scientific Results of the Swedish South Polar Expedition 1901-1903*. 4: 1-172.
- 177.Skottsberg, C. 1943. Additional remarks to "Marine algal communities of the Juan Fernandez Island." 761-762 p. En Skottsberg, C. ed. *The natural history of Juan Fernandez and Easter Island* 2. Almquist and Wiksell's. Sweden.
- 178.Shibneva, S., Skriptsoba, A., Shan, Ti Feng., Pang, Shao Jun. 2013. The different morfs of *Undaria pinnatifida* (Phaeophyceae: Laminariales) in Peter the Great Bay

- (Sea of Japan) are phenotypic variants: direct evidence. *Journal Applied Ecology*. 25: 1909-1916.
- 179.Smeitink, J., van den Heuvel L., Di Mauro, S. 2001. The Genetics and pathology of oxidative phosphorylation. *Nature Reviews Genetics*. 5: 342-352.
- 180.Sokal, R., Sneath, P. 1963. Principles of numerical taxonomy. Freeman, H.W. and Co. San Francisco. Estados Unidos.
- 181.Stache-Crain, B., Muller, D.G., Goff, L.J. 1997. Molecular systematics of *Ectocarpus* and *Kuckuckia* (Ectocarpales, Phaeophyceae) inferred from DNA phylogenetic analysis of nuclear- and plastid-encoded DNA sequences. *Phycology* 33: 152–168.
- 182.Steneck R.S, Graham, M.H., Bourque, B.J., Corbett, D., Erlandson, J.M., Estes, J.A., Tegner, M.J. 2002. Kelp forest ecosystems: biodiversity, stability, resilience and future. *Environmental Conservation* 29:436-59.
- 183.Stuart, M.D., Brown, M.T., 1994. Growth and diet of cultivated black-footed abalone, *Haliotis iris* (Martyn). *Aquaculture* 127(4): 329-337.
- 184.Strub, P.T., Mesías, J.M., Montecino, V., Rutllant, J. 1998. Coastal ocean circulation off western South America. In: Robinson, A.R. & K.H. Brink (Eds.). The global coastal ocean. The Sea. Interscience. New York 2: 273-313.
- 185.Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., Bouvet, J. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17: 1105–1109.
- 186.Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*. 123:585-595.
- 187.Tamura, K., Dudley, J., Ney, M., Kumar, S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analisis (MEGA) software version 4.0 *Molecular Biology and Evolution* 24:1596-1599. (Publication PDF at <http://www.kumarlab.net/publications>).

188. Tan, I.H.A., Druehl, L.D. 1996. A ribosomal DNA phylogeny supports the close evolutionary relationships among the Sporochonales, Desmarestiales and Laminariales (Phaeophyceae). *Phycology* 32: 112-118.
189. Tegner, M. J., Dayton, P. K. 1981. Population structure, recruitment, and mortality of two sea urchins (*Strongylocentrotus franciscanus* and *S. purpuratus*) in a kelp forest near San Diego, California. *Marine Ecology Progress Series*, 77: 49–63.
190. Tegner, M.J., Dayton, P.K., Edwards, P.B., Riser, K.L. 1996. Is there evidence for long term climatic change in southern California Kelp forest?. *California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations Report* 37: 111-126.
191. Tegner, M.J., Dayton, P.K., Edwards, P.B., Riser, K.L. 1997. Large-scale, low-frequency oceanographic effects on kelp forest successions: a tale two cohorts. *Marine Ecology Progress Series* 146: 117-134.
192. Tellier, F., Meynard, A., Correa, J., Faugeron, S., Valero, M. 2009 Phylogeographic analyses of the 30°S south – east Pacific biogeographic transition zone establish the occurrence of a sharp genetic discontinuity in the kelp *Lessonia*
193. Towle, D.W. & Pearse, J.S. 1973. Production of the giant kelp, *Macrocystis* estimated by in situ incorporation of ¹⁴C in polyethylene bags. *Limnology and Oceanography* 18: 155-159.
194. Tsuchiya, M. 1985. The subthermocline phosphate distribution and circulation in the far eastern equatorial Pacific Ocean *Deep Sea Research* 32 (3): 299-313.
195. Uwai, S., Yotsukura, N., Serisawa, Y., Muraoka, D., Hiraoka, M., Kogame, K. 2006a. Intraspecific genetic diversity of *Undaria pinnatifida* in Japan, based on the mitochondrial *cox3* gene and the ITS of nrDNA. *Hydrobiologia* 553: 345-356.
196. Uwai, S., Nelson, W., Neill, K., Wang, W.D., Aguilar-Rosas, L.E., Boo, S.M., Kitayama, T., Kawai, H. 2006b. Genetic diversity in *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Phaeophyceae) deduced from mitochondria genes – origins and succession of introduced populations. *Phycology* 45(6): 687-695.

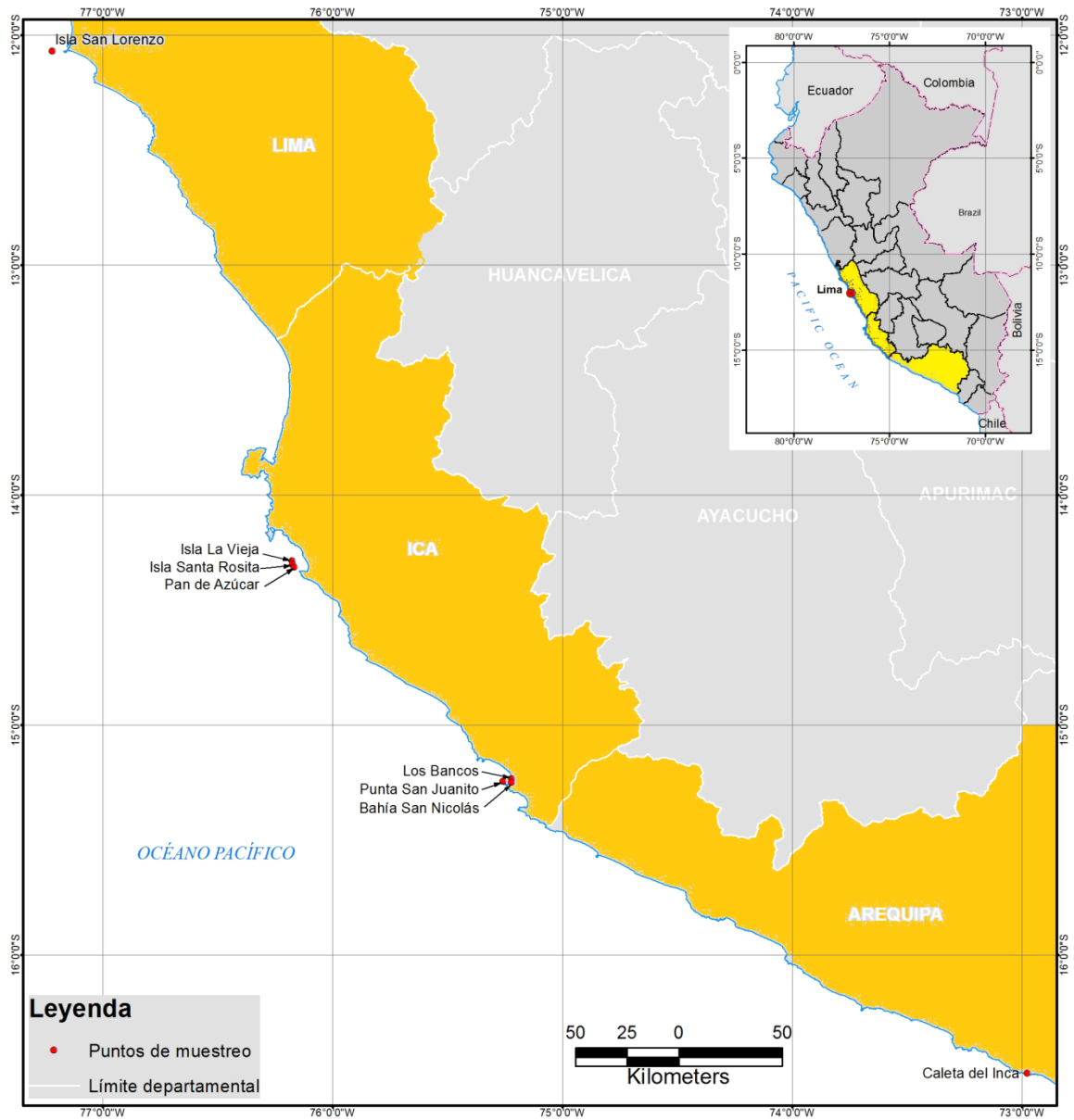
197. Van Tüssenbroeck, B. I. 1989. Morphological variations of *Macrocystis pyrifera* in the Falkland Islands in relation to environment and season. *Marine Biology*. 102: 545-56.
198. Vásquez, J. A. 1993. Effects on the animal community of dislodgement of holdfasts of *Macrocystis pyrifera*. *Pacific Science* 47:180-184.
199. Vásquez, J.A. & Buschmann, A.H. 1997. Herbivore-kelp interactions in Chilean subtidal communities: a review. *Revista Chilena de Historia Natural* 70: 41-52.
200. Vásquez, J.A. 1999. The effect of harvesting of brown seaweeds: A social, ecological and economic importance resource. *Journal World Aquaculture* 31(1): 19-22.
201. Vásquez, J. A., Véliz, D. & Pardo, L. M. 2001. Biodiversidad bajo las grandes algas. In *Sustentabilidad de la Biodiversidad: Un problema actual, bases científico-técnicas, teorizaciones y perspectivas*, K. Alveal & T. Antezana (eds.), Concepción: Universidad de Concepción, 293-308 p.
202. Vásquez, D.E. 2007. Filogeografía y Vertebrados. En: *Ecología Molecular*. (Eds.). Instituto Nacional de Ecología SEMARNAT. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad CONABIO. México.
203. Vásquez, J.A. 2009. Estudio de investigación de poblaciones y de las condiciones de viabilidad ecológica de las actividades extractivas de algas pardas e invertebrados en la zona costera sur, en apoyo de la investigación y desarrollo del Instituto del Mar del Perú IMARPE. Informe Final. Proyecto UE – Perú/ PENX. Ala 2004/016 -913. Código Ref. Mincetur POG 3.3.2.1. Sector Pesca y Acuicultura. Lima. 90 p.
204. Vega, J. M. A., Vásquez, J. A. & Buschmann, A. H. 2005. Population biology of the subtidal kelps *Macrocystis integrifolia* and *Lessonia trabeculata* (Laminariales, Phaeophyceae) in an upwelling ecosystem of northern Chile: Interannual variability and El Niño 1997-1998. *Revista Chilena de Historia Natural* 78:33-50.
205. Viana, M.T., López, L.M., García-Esquivel, Z., Méndez, E. 1996. The use of silage made from fish and abalone viscera as ingredient in abalone feed. *Aquaculture*, 140(1-2): 87-98.

206. Viana, M.T., Cervantes-Trujano, M., Solana-Sansores, R. 1994. Attraction and palatability activities in juvenile abalone (*Haliotis fulgens*): nine ingredients used in artificial diets. *Aquaculture*, 127(1): 19-28.
207. Viviani, C. A. 1979. Ecogeografía del litoral Chileno. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 14:65-123.
208. Voisin, M., Engel C.R, Viard, F. 2005. Differential shuffling of native genetic diversity across introduced regions in a brown alga: Aquaculture vs. maritime traffic effects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102: 5432-5437
209. Wattier, R., Maggs, C.A. 2001. Intraspecific variation in seaweeds: the application of new tools and approaches. *Advances in Botanical Research* 35: 171-212.
210. Wattier, R., Davidson, A.L., Ward, B.A., Maggs, C.A. 2001. cpDNA-RFLP in *Ceramium* (Rhodophyta): intraspecific polymorphism and species-level phylogeny. *American Journal of Botanical* 88: 1209-1213.
211. Westermeier, R., Patiño, D., Müller, D.G. 2007. Sexual compatibility and hybrid formation between the kelp species *Macrocystis pyrifera* and *M. integrifolia* (Laminariales, Phaeophyceae) in Chile. *Journal of Applied Phycology*. 19: 215-21
212. Womersley, H.B.S. 1954. The species of *Macrocystis* with special reference to those in southern Australian coasts. *University of California Publications in Botany* 27: 109-32.
213. Womersley, H.B.S. 1987. The Marine Benthic Flora of Southeastern Australia. II. Phaeophyta. Adelaide: South Australian Government Printing Division.
214. Wooster, W., Gilmartin, M. 1961. The Perú-Chile undercurrent. *Marine Environmental Research* 19: 97-122.

215. Wright, S. 1969. The Theory of gene frequencies. In: Evolution and the genetics of populations. Vol. 2. University of Chicago. Press. Estados Unidos.
216. Wyrski, K. 1967. Circulation and water masses in the Eastern Equatorial Pacific Ocean. Int. J. Oceanography and Limnology Vol.1. 2:117-147.
217. Yoon, H.S., Boo, S.M. 1999. Phylogeny of Alariaceae (Phaeophyta) with special reference to *Undaria* based on sequences of the RuBisCO spacer region. Hydrobiologia 398/399: 47-55.
218. Yoon, H.S., Lee, J.Y., Boo, S.M., Bhattacharya, D. 2001. Phylogeny of Alariaceae, Laminariaceae, and Lessoniaceae (Phaeophyceae) based on plastid-encoded RuBisCO spacer and nuclear-encoded ITS sequence comparisons. Molecular Phylogenetics and Evolution 21: 231-243.
219. Zavala, J. 2011. Macroalgas pardas y su uso sostenible. Ministerio del Ambiente MINAM, Instituto del Mar del Perú IMARPE. Dirección General de diversidad Biológica – MINAM. Dirección de Investigaciones de Recursos Demersales y del Litoral. 16 p.
220. Zimmerman, R.C., Kremer, J.N. 1986. In situ growth and chemical composition of the giant kelp *Macrocystis pyrifera*: response to temporal change in ambient nutrient availability. Marine Ecology Progress Series 27: 277-285
221. Zuccarello, G.C., West, J.A. 2002. Phylogeography of the *Bostrychia calliptera*/*B. pinnata* complex (Rhodomelaceae, Rhodophyta) and divergence rates based on nuclear, mitochondrial and plastid DNA markers. Phycologia 41: 49–60.
222. Zuccarello G.C., Lokhorst G.M. 2005. Molecular phylogeny of the genus *Tribonema* (Xanthophyceae) using rbcL gene sequence data: monophyly of morphologically simple algal species. Phycologia 44: 384-392.

IX. ANEXOS

ANEXO 1. Ubicación geográfica de las localidades de muestreo. Escala 1:2'500.000



Fuente: Elaborado por Ubillus 2013 y modificado por E. Salavarría.

ANEXO 2. Localidades de muestreo ubicadas en la zona costera centro - sur del Perú



Fuente: Modificado de *Google Earth*. Escala 854 Km.

ANEXO 3. Sitios de muestreo



(a) *Macrocystis pyrifera*. Isla San Lorenzo. Departamento de Callao. (b) Praderas naturales de *Macrocystis integrifolia*. Pan de Azúcar. Bahía Independencia. Departamento de Ica. (c) Praderas cultivadas de *Macrocystis pyrifera*. Concesión Peruvian Seaweeds PSW. S.A. San Juan de Marcona. Departamento de Ica (d) Praderas naturales de *Macrocystis integrifolia*. Punta San Juanito. Departamento de Ica (Fotos: E. Salavarría).

ANEXO 4. Códigos y localidades muestreadas

Códigos de marcadores		Especies	Localidad	Sitio	atp8 (N)	COI (N)
atp8	COI					
Mp l_atp8	Mp l_Gaz2R	<i>M. piryfera</i>	Callao	Isla San Lorenzo	8	2
Mp v_atp8	Mp v_Gaz2R	<i>M. piryfera</i>	Bahía Independencia	isla La vieja	12	3
Mi r_atp8	Mi r_Gaz2R	<i>M. integrifolia</i>	Bahía Independencia	Isla Santa Rosita	5	1
Mi z_atp8		<i>M. integrifolia</i>	Bahía Independencia	Isla Pan de Azúcar	8	0
Mp p_atp8	Mp p_Gaz2R	<i>M. piryfera</i>	San Juan de Marcona	Bahía San Nicolás (PSW)	7	1
Mp b_atp8	Mp b_Gaz2R	<i>M. piryfera</i>	San Juan de Marcona	Los Bancos	5	3
Mi s_atp8	Mi s_Gaz2R	<i>M. integrifolia</i>	San Juan de Marcona	Punta San Juanito	8	5
Mi c_atp8		<i>M. integrifolia</i>	Ocoña (Arequipa)	Isla Caleta del Inca	4	0
Total					57	15

N= individuos

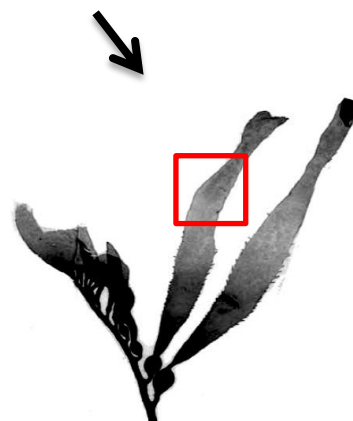
ANEXO 5. Rizoides (a) *Macrocystis pyrifera* (b) *M. integrifolia*. Aerocistos y frondas de (c) *Macrocystis pyrifera* (d) *M. integrifolia*.



ANEXO 6. Protocolo de muestreo para *Macrocystis*

MUESTRAS DE *MACROCYSTIS* (Fuente: Macaya, 2010c).

Obtener al menos de 35-40 trozos de 2 cm² aproximadamente, correspondientes a frondas de la zona apical (idealmente la primera o segunda lamina después del meristema apical).



Cada uno de los trozos debe pertenecer a individuos diferentes (es decir algas de diferentes tamaños, tomadas a distintas profundidades, etc.), obtenidos al azar y en distintos sectores de la pradera (centro, bordes, etc).

Tratar de abarcar un área de muestreo de aproximadamente 200 metros o más, en caso de praderas pequeñas muestrear individuos de los extremos, avanzando luego hacia el centro del bosque.

Los individuos deben estar limpios, sin epifitos o epibiontes sobre las frondas como por ejemplo: otras algas filamentosas, briozoos, etc.

Tomar nota de:

- Nombre del sitio de muestreo
- En caso de tener GPS, obtener las coordenadas.
- Características del sitio, Ej.: expuesto, protegido o alguna otra descripción importante (al lado del nombre de emisario por Ej.).
- Características del alga, Ej.: hojas anchas, delgadas, discos tipo pyriferia o tipo integrifolia, láminas con o sin rugosidades).



Colocar las muestras en sílica gel. Sí se colocan en bolsas individuales, la cantidad de sílica es aproximadamente una cucharada de te. (Ver figura lado derecho). En caso de colocar las muestras todas juntas en una bolsa grande, favor de colocarlas en papel absorbente o toallas especiales, para evitar las mezclas de distintos trozos de algas

ANEXO 7. Método de extracción CTAB (Bromuro de Cetil Trimetil Amonio) adaptado por Zuccarello y Lokhorst, 2005

- 3% (m/V) CTAB
- 1.4 M NaCl
- 20 mM EDTA pH 8.0
- 100 mM Tris-HCl pH 8,0
- 1% PVP

6 g CTAB 56 ml Na Cl: 5M 8 ml EDTA: 0.5 M ph 8.0 20 ml Tris- HCl: 1 M pH 8.0 2 g PVP	}	200 mL H ₂ O
--	---	-------------------------

Disolver por 20 min. A 50°C

NaCl: 5M

73,05 g NaCl
200 mL H₂O

EDTA: 0,5M

93,06 g EDTA } pH 8.0
500 ml H₂O } (8-9 NaOH pellet)

Tris -HCl: 1M

40,37 g Tris } pH 8.0
333 ml H₂O }

24:1 = Cloroformo: Alcohol isoamilico

100% Isopropanol

70% Etanol

Buffer TE 0.1X: 10m M Tris-HCl pH 8.0; 0,1 mM EDTA pH 8.0

5 mL Tris-HCl 1M 0,1 mL EDTA 0,5 M	}	500 mL H ₂ O
---------------------------------------	---	-------------------------

ANEXO 8. Lecturas de las absorbancias en las muestras de ADN en el espectrofotómetro Nanodrop (ND1000) a 230, 260 y 280 nm.

Zona	Localidad	Muestra	Códigos	[Cx]	260/280	260/230
Callao	Isla San Lorenzo	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp1l_Atp8	129.42	2.05	1.75
	Isla San Lorenzo	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp2l_Atp8	98.76	2.07	1.86
	Isla San Lorenzo	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp3l_Atp8	202.15	1.98	1.91
	Isla San Lorenzo	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp4l_Atp8	82.29	2.03	1.67
	Isla San Lorenzo	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp5l_Atp8	165.71	2.03	1.74
	Isla San Lorenzo	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp6l_Atp8	84.68	2.04	1.7
	Isla San Lorenzo	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp7l_Atp8	55.71	1.99	1.77
	Isla San Lorenzo	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp8l_Atp8	56.69	1.94	1.7
	Isla San Lorenzo	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp9l_Atp8	60.56	2.06	2.00
	Isla San Lorenzo	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp10l_Atp8	103.71	2.08	1.78
Bahía Independencia	Isla la Vieja	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp1v_Atp8	36.45	1.81	2.05
	Isla la Vieja	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp2v_Atp8	63.35	1.94	1.83
	Isla la Vieja	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp3v_Atp8	76.87	1.94	1.73
	Isla la Vieja	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp4v_Atp8	63.42	1.92	1.93
	Isla la Vieja	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp5v_Atp8	99.07	2.01	1.95
	Isla la Vieja	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp6v_Atp8	63.07	1.84	1.98
	Isla la Vieja	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp7v_Atp8	275.38	1.92	1.72
	Isla la Vieja	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp8v_Atp8	67.3	1.92	1.77
	Isla la Vieja	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp9v_Atp8	52.97	1.77	2.15
	Isla la Vieja	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp10v_Atp8	50.1	1.84	1.78
	Isla Santa Rosita	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi1r_Atp8	147.81	2.1	1.96
	Isla Santa Rosita	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi2r_Atp8	92.24	2.15	1.76
	Isla Santa Rosita	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi3r_Atp8	56.49	2.15	1.64
	Isla Santa Rosita	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi4r_Atp8	67.69	2.14	1.88
	Isla Santa Rosita	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi5r_Atp8	71.96	2.1	1.4
	Isla Santa Rosita	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi6r_Atp8	39.01	2.1	1.53
	Isla Santa Rosita	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi7r_Atp8	84.16	1.86	1.25
	Isla Santa Rosita	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi8r_Atp8	192.33	2	1.78
	Isla Santa Rosita	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi9r_Atp8	43.15	2.11	1.7
	Isla Santa Rosita	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi10r_Atp8	42.03	1.99	1.38
	Pan de azúcar	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi1z_Atp8	115.42	2.1	1.96
	Pan de azúcar	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi2z_Atp8	42.78	2.24	1.68
	Pan de azúcar	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi3z_Atp8	30.35	2.08	1.58
	Pan de azúcar	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi4z_Atp8	51.88	2.05	1.68
	Pan de azúcar	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi5z_Atp8	42.17	2.07	1.61
	Pan de azúcar	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi6z_Atp8	100.87	2.11	1.79
	Pan de azúcar	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi7z_Atp8	79.61	2.15	1.64
	Pan de azúcar	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi8z_Atp8	136.21	2.07	1.81
	Pan de azúcar	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi9z_Atp8	108.54	2.05	1.59
	Pan de azúcar	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi10z_Atp8	115.13	2.06	1.78

Continuación...

San Juan de Marcona	Bahia San Nicolas	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp1p_Atp8	75.17	2.05	1.62	
	Bahia San Nicolas	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp2p_Atp8	65.96	2.13	1.68	
	Bahia San Nicolas	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp3p_Atp8	85.98	2.11	1.59	
	Bahia San Nicolas	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp4p_Atp8	81.9	2.15	1.59	
	Bahia San Nicolas	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp5p_Atp8	60.37	2.08	1.49	
	Bahia San Nicolas	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp6p_Atp8	102.15	1.93	1.77	
	Bahia San Nicolas	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp7p_Atp8	69.55	2.1	1.47	
	Bahia San Nicolas	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp8p_Atp8	45.11	1.95	1.23	
	Bahia San Nicolas	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp9p_Atp8	103.93	2.11	1.79	
	Bahia San Nicolas	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp10p_Atp8	68.59	1.96	2.00	
	Los Bancos	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp1b_Atp8	91.43	2.11	1.53	
	Los Bancos	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp2b_Atp8	338.35	2.02	1.79	
	Los Bancos	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp3b_Atp8	109.56	2.12	1.77	
	Los Bancos	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp4b_Atp8	125.04	2.04	1.75	
	Los Bancos	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp5b_Atp8	144.28	2	1.7	
	Los Bancos	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp6b_Atp8	116.82	2.08	1.68	
	Los Bancos	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp7b_Atp8	25.03	1.98	1.8	
	Los Bancos	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp8b_Atp8	30.38	2.09	1.49	
	Los Bancos	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp9b_Atp8	125.52	2.1	1.71	
	Los Bancos	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Mp10b_Atp8	32.2	2.03	1.44	
	Punta San Juanito	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi1s_Atp8	70.74	2.07	1.75	
	Punta San Juanito	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi2s_Atp8	213.29	2.13	1.88	
	Punta San Juanito	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi3s_Atp8	91.32	1.97	2.12	
	Punta San Juanito	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi4s_Atp8	188.79	2.03	1.72	
	Punta San Juanito	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi5s_Atp8	94.7	2.19	1.84	
	Punta San Juanito	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi6s_Atp8	113.16	2.15	1.69	
	Punta San Juanito	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi7s_Atp8	33.3	2.04	1.36	
	Punta San Juanito	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi8s_Atp8	111.17	2.07	1.43	
	Punta San Juanito	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi9s_Atp8	90.64	2.04	1.84	
	Punta San Juanito	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi10s_Atp8	142.46	2.01	1.9	
	La Planchada	Caleta del Inca	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi1c_Atp8	376.9	2.06	1.73
		Caleta del Inca	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi2c_Atp8	105.54	2.16	1.74
		Caleta del Inca	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi3c_Atp8	29.14	2.05	1.65
Caleta del Inca		<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi4c_Atp8	22.07	2.17	1.61	
Caleta del Inca		<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi5c_Atp8	181.03	2.05	1.21	
Caleta del Inca		<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi6c_Atp8	72.83	2.12	2.00	
Caleta del Inca		<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi7c_Atp8	58.53	2.21	1.84	
Caleta del Inca		<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi8c_Atp8	80.46	2.04	1.66	
Caleta del Inca		<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi9c_Atp8	108.77	2.17	1.99	
Caleta del Inca		<i>Macrocystis integrifolia</i>	Mi10c_Atp8	76.46	2.04	1.68	

ANEXO 9. Descripción del *Master Mix* empleado en la reacción de PCR para la Amplificación del ADN

*	1X	1 ADN	1X	35X	1,5 ADN	1X	25X	2 ADN	1X	15X	2,5 ADN	1X	7X
Buffer	1.3	Buffer	1.25	43.75	Buffer	1.25	31.25	Buffer	1.25	18.75	Buffer	1.25	8.75
BSA	0.3	BSA	0.25	8.75	BSA	0.25	6.25	BSA	0.25	3.75	BSA	0.25	1.75
dNTP's	0.3	dNTP's	0.25	8.75	dNTP's	0.25	6.25	dNTP's	0.25	3.75	dNTP's	0.25	1.75
Primer 1	0.6	Primer 1	0.625	21.875	Primer 1	0.625	15.625	Primer 1	0.625	9.375	Primer 1	0.625	4.375
Primer 2	0.6	Primer 2	0.625	21.875	Primer 2	0.625	15.625	Primer 2	0.625	9.375	Primer 2	0.625	4.375
Taq	0.3	Taq	0.25	8.75	Taq	0.25	6.25	Taq	0.25	3.75	Taq	0.25	1.75
DNA	1	DNA	1	35	DNA	1.5	37.5	DNA	2	30	DNA	2.5	17.5
Agua PCR	7.9	Agua PCR	7.875	275.625	Agua PCR	7.375	184.375	Agua PCR	6.875	103.125	Agua PCR	6.375	44.625
Mg	0.4	Mg	0.375	13.125	Mg	0.375	9.375	Mg	0.375	5.625	Mg	0.375	2.625

ADN	U	3 ADN	1X	5X	3,5 ADN	1X	6X	4 ADN	1X	4X	ADN	PCR
4	2	Buffer	1.25	6.25	Buffer	1.25	7.5	Buffer	1.25	5	4	1°
3.5	4	BSA	0.25	1.25	BSA	0.25	1.5	BSA	0.25	1	3.5	2°
3	3	dNTP's	0.25	1.25	dNTP's	0.25	1.5	dNTP's	0.25	1	3	3°
2.5	5	Primer 1	0.625	3.125	Primer 1	0.625	3.75	Primer 1	0.625	2.5	2.5	3°
2	12	Primer 2	0.625	3.125	Primer 2	0.625	3.75	Primer 2	0.625	2.5	2	4°
1.5	22	Taq	0.25	1.25	Taq	0.25	1.5	Taq	0.25	1	1.5	4°
1	32	DNA	3	15	DNA	3.5	21	DNA	4	16	1	4°
	80	Agua PCR	5.875	29.375	Agua PCR	6.375	38.25	Agua PCR	4.875	19.5		
		Mg	0.375	1.875	Mg	0.375	2.25	Mg	0.375	1.5		

ANEXO 10. Secuencias con el marcador atp8- S de *Macrocystis spp.* comparadas con secuencias registradas en el *GenBank*

Individuo	Mejor Hit en Blast N	Familia	Gen	Número de accesión	Valor E	% de identidad
Mi2s_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	HQ336483.1	5.00E-60	100
Mi5s_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	HQ336480.1	1.00E-61	100
Mi6s_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	4.00E-66	100
Mi8s_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	2.00E-64	100
Mi1r_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	HQ336480.1	1.00E-60	100
Mp1b_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	HQ336480.1	6.00E-59	99
Mp1l_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	HQ336480.1	3.00E-56	99
Mp1v_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	4.00E-66	100
Mp2l_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	8.00E-63	100
Mp3b_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	1.00E-61	99
Mp3l_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	HQ336480.1	2.00E-53	100
Mp4v_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	HQ336480.1	9.00E-57	100
Mp6b_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	HQ336480.1	6.00E-59	100
Mp6v_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	2.00E-64	100
Mp7p_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	HQ336483.1	1.00E-61	100
Mp2b_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	HQ336480.1	2.00E-58	100
Mp8v_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	8.00E-63	100
Mp4b_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	HQ336480.1	4.00E-60	100
Mp5b_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	4.00E-61	100
Mp6p_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	3.00E-57	99
Mp10v_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	HQ336480.1	6.00E-59	100
Mi1c_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	3.00E-119	99
Mp1p_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	7.00E-111	99
Mi1s_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	7.00E-121	99

Mp3p_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	9.00E-115	99
Mi3r_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	2.00E-117	98
Mp3v_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	1.00E-122	99
Mp4l_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	2.00E-120	99
Mp4p_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	8.00E-110	99
Mi4s_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	3.00E-120	99
Mi4c_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	1.00E-103	99
Mp5l_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	5.00E-122	99
Mp5v_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	1.00E-122	99
Mp6l_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	3.00E-119	99
Mp5p_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	5.00E-117	99
Mi4r_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	8.00E-110	99
Mp7l_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	1.00E-122	99
Mi7s_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	7.00E-121	99
Mp7v_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	1.00E-122	99
Mi2c_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	8.00E-110	99
Mi5r_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	2.00E-122	99
Mp9v_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	1.00E-122	99
Mp8l_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	3.00E-119	99
Mi3s_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	2.00E-105	99
Mp11v_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	1.00E-122	99
Mi1z_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	4.00E-108	99
Mi2z_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	2.00E-122	99
Mi3z_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	4.00E-103	99
Mi4z_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	2.00E-101	99
Mi6z_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	4.00E-118	99
Mi7z_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	9.00E-115	99
Mi8z_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	1.00E-92	98
Mi5z_atp8	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	atp8	DQ841619.1	1.00E-112	99

Continuación:

	Secuencias	Mp4b_atp	Mp3v_atp	Mp3l_atp	Mp2l_atp	Mp2b_atp	Mp1v_atp	Mi5r_atp	Mp1b_atp	Mp3b_atp	Mp6p_atp
1	Mi6s_atp8										
2	Mi6z_atp8										
3	Mi5s_atp8										
4	Mi7s_atp8										
5	Mi8s_atp8										
6	Mp10v_atp8										
7	Mp11v_atp8										
8	Mp12v_atp8										
9	Mp1l_atp8										
10	Mp8v_atp8										
11	Mp9v_atp8										
12	Mp7v_atp8										
13	Mp7l_atp8										
14	Mp6v_atp8										
15	Mp6l_atp8										
16	Mp6b_atp8										
17	Mp5v_atp8										
18	Mp5l_atp8										
19	Mp5b_atp8										
20	Mp4v_atp8										
21	Mp4l_atp8										
22	Mp4b_atp8										
23	Mp3v_atp8	0.000									
24	Mp3l_atp8	0.000	0.000								
25	Mp2l_atp8	0.000	0.000	0.000							
26	Mp2b_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000						
27	Mp1v_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000					
28	Mi5r_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000				
29	Mp1b_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008				
30	Mp3b_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000			
31	Mp6p_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000		
32	Mi4s_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008	0.008	0.008	
33	Mi2z_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008	0.008	0.008	
34	Mi1s_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008	0.008	0.008	
35	Mi1r_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008	0.008	0.008	
36	Mp7p_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
37	Mp8l_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
38	Mp5p_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
39	Mp4p_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
40	Mp3p_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
41	Mp2p_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
42	Mp1p_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
43	Mi8z_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
44	Mi7z_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
45	Mi5z_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
46	Mi4z_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
47	Mi4r_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
48	Mi4c_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
49	Mi3z_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
50	Mi3s_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
51	Mi3r_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
52	Mi3c_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
53	Mi1c_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
54	Mi1z_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
55	Mi2c_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
56	Mi2r_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016
57	Mi2s_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.016	0.016	0.016

Continuación:

	Secuencias	Mi4s_atp8	Mi2z_atp8	Mi1s_atp8	Mi1r_atp8	Mp7p_atp8	Mp8l_atp8	Mp5p_atp8	Mp4p_atp8	Mp3p_atp8	Mp2p_atp8	Mp1p_atp8
1	Mi6s_atp8											
2	Mi6z_atp8											
3	Mi5s_atp8											
4	Mi7s_atp8											
5	Mi8s_atp8											
6	Mp10v_atp8											
7	Mp11v_atp8											
8	Mp12v_atp8											
9	Mp1l_atp8											
10	Mp8v_atp8											
11	Mp9v_atp8											
12	Mp7v_atp8											
13	Mp7l_atp8											
14	Mp6v_atp8											
15	Mp6l_atp8											
16	Mp6b_atp8											
17	Mp5v_atp8											
18	Mp5l_atp8											
19	Mp5b_atp8											
20	Mp4v_atp8											
21	Mp4l_atp8											
22	Mp4b_atp8											
23	Mp3v_atp8											
24	Mp3l_atp8											
25	Mp2l_atp8											
26	Mp2b_atp8											
27	Mp1v_atp8											
28	Mi5r_atp8											
29	Mp1b_atp8											
30	Mp3b_atp8											
31	Mp6p_atp8											
32	Mi4s_atp8											
33	Mi2z_atp8	0.000										
34	Mi1s_atp8	0.000	0.000									
35	Mi1r_atp8	0.000	0.000	0.000								
36	Mp7p_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008							
37	Mp8l_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000						
38	Mp5p_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000					
39	Mp4p_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000				
40	Mp3p_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000			
41	Mp2p_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		
42	Mp1p_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
43	Mi8z_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
44	Mi7z_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
45	Mi5z_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
46	Mi4z_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
47	Mi4r_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
48	Mi4c_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
49	Mi3z_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
50	Mi3s_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
51	Mi3r_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
52	Mi3c_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
53	Mi1c_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
54	Mi1z_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
55	Mi2c_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
56	Mi2r_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
57	Mi2s_atp8	0.008	0.008	0.008	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Continuación:

Secuencias	Mi8z_atp	Mi7z_atp	Mi5z_atp	Mi4z_atp	Mi4r_atp	Mi4c_atp	Mi3z_atp	Mi3s_atp	Mi3r_atp	Mi3c_atp	Mi1c_atp	Mi1z_atp	Mi2c_atp	Mi2r_atp
1 Mi6s_atp8														
2 Mi6z_atp8														
3 Mi5s_atp8														
4 Mi7s_atp8														
5 Mi8s_atp8														
6 Mp10v_atp8														
7 Mp11v_atp8														
8 Mp12v_atp8														
9 Mp1l_atp8														
10 Mp8v_atp8														
11 Mp9v_atp8														
12 Mp7v_atp8														
13 Mp7l_atp8														
14 Mp6v_atp8														
15 Mp6l_atp8														
16 Mp6b_atp8														
17 Mp5v_atp8														
18 Mp5l_atp8														
19 Mp5b_atp8														
20 Mp4v_atp8														
21 Mp4l_atp8														
22 Mp4b_atp8														
23 Mp3v_atp8														
24 Mp3l_atp8														
25 Mp2l_atp8														
26 Mp2b_atp8														
27 Mp1v_atp8														
28 Mi5r_atp8														
29 Mp1b_atp8														
30 Mp3b_atp8														
31 Mp6p_atp8														
32 Mi4s_atp8														
33 Mi2z_atp8														
34 Mi1s_atp8														
35 Mi1r_atp8														
36 Mp7p_atp8														
37 Mp8l_atp8														
38 Mp5p_atp8														
39 Mp4p_atp8														
40 Mp3p_atp8														
41 Mp2p_atp8														
42 Mp1p_atp8														
43 Mi8z_atp8														
44 Mi7z_atp8	0.000													
45 Mi5z_atp8	0.000	0.000												
46 Mi4z_atp8	0.000	0.000	0.000											
47 Mi4r_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000										
48 Mi4c_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000									
49 Mi3z_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000								
50 Mi3s_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000							
51 Mi3r_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000						
52 Mi3c_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000					
53 Mi1c_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000				
54 Mi1z_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000			
55 Mi2c_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		
56 Mi2r_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
57 Mi2s_atp8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

ANEXO 12. Secuencias con el marcador mitocondrial COI de *Macrocystis spp.* comparadas con secuencias reportadas en el *GenBank*

Individuo	Mejor Hit en Blast N	Familia	Gen	Número de accesión	Valor E	% de identidad
Mi2s_Gaz2R	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Laminariaceae	COI I	FJ409173.1	0.00	99
Mp1b_Gaz2R	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	COI I	HM153260.1	0.00	99
Mp1v_Gaz2R	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Laminariaceae	COI I	FJ409173.1	0.00	99
Mi1s_Gaz2R	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Laminariaceae	COI I	FJ409173.1	0.00	99
Mp2b_Gaz2R	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Laminariaceae	COI I	FJ409173.1	0.00	99
Mp2l_Gaz2R	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Laminariaceae	COI I	FJ409173.1	0.00	99
Mp1l_Gaz2R	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Laminariaceae	COI I	FJ409173.1	0.00	99
Mi4s_Gaz2R	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Laminariaceae	COI I	FJ409173.1	0.00	99
Mi5s_Gaz2R	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Laminariaceae	COI I	FJ409173.1	0.00	99
Mp1p_Gaz2R	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	COI I	HM153257.1	0.00	100
Mi3s_Gaz2R	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Laminariaceae	COI I	FJ409173.1	0.00	99
Mp2v_Gaz2R	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Laminariaceae	COI I	FJ409173.1	0.00	99
Mp3b_Gaz2R	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Laminariaceae	COI I	FJ409173.1	0.00	99
Mp3v_Gaz2R	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Laminariaceae	COI I	HM153260.1	0.00	99
Mi1r_Gaz2R	<i>Macrocystis integrifolia</i>	Laminariaceae	COI I	FJ409173.1	0.00	99