



UNIVERSIDAD DE CHILE -FACULTAD DE CIENCIAS -ESCUELA DE PREGRADO

Macro-líquenes del Parque Natural Karukinka



Seminario de Título
entregado a la
Universidad de Chile
en cumplimiento parcial de los requisitos
para optar al título de
Biólogo con mención en Medio Ambiente

Marcela Aravena Romero

Directora del Seminario de Título: Dra. Julieta Orlando

Co-Directora del Seminario de Título: Dra. Margarita Carú

Agosto 2014
Santiago-Chile



INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por la Srta. Marcela Aravena Romero.

“Macro-líquenes del Parque Natural Karukinka”

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Biólogo con mención en Medio Ambiente.

Dra. Julieta Orlando
Directora Seminario de Título

Dra. Margarita Carú
Co-Directora Seminario de Título



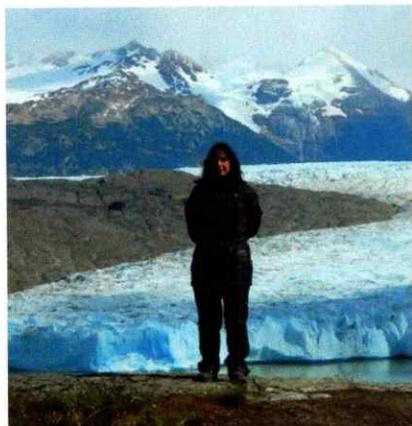
Comisión de Evaluación

Dr. Patricio Moreno
Presidente Comisión

Dra. Alejandra González
Evaluador

Santiago de Chile, 2014

BIOGRAFÍA



Mi nombre es Marcela Alejandra Aravena Romero, nacida y criada en la gloriosa población Juan Antonio Ríos, en la comuna de Independencia, Santiago.

Mis estudios de básica los realicé en el Colegio María Teresa Cancino en Recoleta, mi enseñanza media en el Colegio Saint Rose School de Santiago, donde encontré grandes profesores y amigos. Durante este período descubrí que las cosas que se disfrutan, son las

que más esfuerzo nos han costado lograr.

En el año 1998, ingresé a la Universidad de Chile, a la carrera de Bioquímica. En donde realicé mi primera etapa de formación. Luego de realizar un profundo análisis, decidí continuar estudiando una segunda Carrera, Biología con mención en Medio Ambiente en la Facultad de Ciencias, mientras en paralelo continuaba con mi memoria de Título de Bioquímica, que finalicé el 2008. Durante este período, conocí a gente increíble y puedo asegurar que fue el mejor período que pasé en la Universidad, donde encontré mi verdadera vocación.

Mi seminario de título de Biología con mención en Medio Ambiente, al igual que el de Bioquímica, lo desarrollé en el laboratorio de Ecología microbiana, con las profesoras Margarita Carú y Julieta Orlando. A partir de este trabajo, descubrí a misteriosos habitantes de los bosques, los líquenes, ahora ya no puedo pasar por al lado de un árbol sin mirar con atención, para ver qué maravilla nueva es posible encontrar.

"Ser culto es el único modo de ser libre"

José Martí

AGRADECIMIENTOS

No hay plazo que no llegue ni deuda que no se pague, pues bien es hora de agradecer a quienes me ayudaron e incentivaron a terminar de una vez por todas esta tarea.

A mi viejita y a Julio, quienes me dieron los últimos impulsos, gracias por el ánimo. A mi abuelo que se alegra con cada nuevo logro que realizo. A mis tíos Carmen y Manuel, que siempre han estado cuando los he necesitado. A los que ya no están, a mi abuelita y al padre Manuel, gracias por todo.

A las Dras. Julieta Orlando y Margarita Carú por darme la oportunidad de realizar mi memoria de título en su laboratorio.

A Catalina Zúñiga y José Luis Parraguez por su valioso trabajo en terreno y a Felipe Farías por su colaboración en el desarrollo experimental, sin ellos habría sido imposible la realización de este trabajo.

A la WCS-Chile por permitir realizar esta investigación en las dependencias del Parque Natural Karukinka y a FONDECYT (proyecto 11100381) por el financiamiento entregado a esta investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	IX
RESUMEN.....	X
ABSTRACT.....	XI
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. ¿QUÉ ES UN LÍQUEN?.....	2
1.2. MORFOLOGÍA COMO HERRAMIENTA EN LA IDENTIFICACIÓN DE LÍQUENES	5
1.2.1. Microlíquenes.....	6
1.2.2. Macrolíquenes.....	7
1.3. HERRAMIENTAS MOLECULARES EN LA IDENTIFICACIÓN DE LÍQUENES	9
1.4. GUÍAS DE CAMPO COMO HERRAMIENTA DE CONSERVACIÓN	11
1.5. PLANTEAMIENTO.....	12
1.6. OBJETIVOS	12
1.6.1. Objetivo General.....	12
1.6.2. Objetivos Específicos	12
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
2.1. SITIO DE RECOLECCIÓN DE LÍQUENES: PARQUE NATURAL KARUKINKA	13
2.1.1. Historia del Parque	13
2.1.2. Características del Parque	14
2.1.3. Ecosistemas del Parque.....	15
2.1.4. Recolección de muestras	17
2.2. IDENTIFICACIÓN A PARTIR DE LA MORFOLOGÍA.....	17
2.3. IDENTIFICACIÓN A TRAVÉS DE HERRAMIENTAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	18
2.3.1. Extracción y cuantificación del DNA.....	18
2.3.2. Amplificación del gen del rRNA 18S (rRNA 18S).....	18
2.3.3. Amplificación de la región ribosomal intergénica (ITS).....	19
2.3.4. Secuenciación de Amplicones y análisis de las secuencias.....	21
2.4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	21
3. RESULTADOS.....	22
3.1. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE LÍQUENES	22
3.2. IDENTIFICACIÓN DE ESTRUCTURAS MORFOLÓGICAS CON VALOR TAXONÓMICO	23
3.2.1. Estructuras de reproducción sexual	23
3.2.1.1. Peritecios.....	24
3.2.1.2. Apotecios.....	24
3.2.2. Estructuras de reproducción asexual	26
3.2.2.1. Soredios.....	26
3.2.2.2. Isidios.....	27
3.2.3. Otras estructuras de valor taxonómico.....	27
3.2.3.1. Cefalodios.....	28

3.2.3.2.	Pseudocifelas	28
3.2.3.3.	Rizinas	28
3.2.3.4.	Venas.....	29
3.3.	IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE LÍQUENES DEL PARQUE KARUKINKA	30
3.3.1.	<i>Características generales de los géneros identificados</i>	31
3.3.1.1.	<i>Calicium</i> Pers. (1794)	31
3.3.1.2.	<i>Cladonia</i> P. Browne (1756).....	32
3.3.1.3.	<i>Lobaria</i> (Schreb.) Hoffm. (1796)	34
3.3.1.4.	<i>Menegazzia</i> A. Massal. (1854)	35
3.3.1.5.	<i>Nephroma</i> Ach. (1809).....	36
3.3.1.6.	<i>Ochrolechia</i> A. Massal (1852).....	37
3.3.1.7.	<i>Parmelia</i> Ach. (1803)	38
3.3.1.8.	<i>Parmotrema</i> A. Massal (1860)	39
3.3.1.9.	<i>Peltigera</i> Willd. (1787).....	40
3.3.1.10.	<i>Platismatia</i> W.L. Culb. & C.F. Culb. (1968).....	41
3.3.1.11.	<i>Pseudocyphellaria</i> Vainio (1890)	42
3.3.1.12.	<i>Psoroma</i> Ach. Ex Michaux (1803)	44
3.3.1.13.	<i>Tuckermannopsis</i> Gyeln. (1933).....	45
3.3.1.14.	<i>Usnea</i> Dill. ex Adans. (1763)	46
3.3.1.15.	<i>Xanthoparmelia</i> (Vain.) Hale (1974)	47
3.3.1.16.	<i>Xanthoria</i> (Fr.) Th. Fr. (1860).....	47
3.4.	IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE LÍQUENES DEL PARQUE KARUKINKA	48
4.	DISCUSIÓN	53
4.1.	EVALUACIÓN DE LAS HERRAMIENTAS UTILIZADAS EN LA IDENTIFICACIÓN DE LÍQUENES.....	53
4.2.	REPRESENTANTES DE MACROLÍQUENES EN EL PARQUE NATURAL KARUKINKA.....	57
4.3.	PROYECCIONES DEL ESTUDIO DE DIVERSIDAD DE LÍQUENES	58
5.	BIBLIOGRAFÍA	60
	ANEXO	67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Partidores utilizados en la amplificación del rDNA18S.....	18
Tabla 2. Partidores utilizados en la amplificación del ITS.	20
Tabla A1. Fotografías de cada una de las muestras de líquenes del parque Natural Karukinka (Anexo)	73
Tabla A2. Identificación taxonómica de líquenes del Parque Natural Karukinka en base a características morfológicas y a los marcadores moleculares rDNA 18S e ITS (Anexo).....	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Organización del DNA ribosomal eucarionte.....	10
Figura 2. Mapa del Parque Natural Karukinka (WCS).....	14
Figura 3. Distribución de los líquenes recolectados en el Parque Natural Karukinka. .	22
Figura 4. Esquemas y fotografías de estructuras de reproducción sexual.....	25
Figura 5. Esquemas y fotografías de estructuras de reproducción asexual.....	27
Figura 6. Esquemas y fotografías ilustrando estructuras apendiculares.....	29
Figura 7. Líquenes del Parque Natural Karukinka identificados morfológicamente.	30
Figura 8. Representantes del género <i>Calicium</i>	32
Figura 9. Representantes del género <i>Cladonia</i>	33
Figura 10. Representantes del género <i>Lobaria</i>	34
Figura 11. Representante del género <i>Menegazzia</i>	35
Figura 12. Representantes del género <i>Nephroma</i>	37
Figura 13. Representantes del género <i>Ochrolechia</i>	38
Figura 14. Representantes del género <i>Parmelia</i>	39
Figura 15. Representante del género <i>Parmotrema</i>	40
Figura 16. Representantes del género <i>Peltigera</i>	41
Figura 17. Representantes del género <i>Platismatia</i>	42
Figura 18. Representantes del género <i>Pseudocyphellaria</i>	43
Figura 19. Representantes del género <i>Psoroma</i>	44
Figura 20. Representante del género <i>Tuckermannopsis</i>	45
Figura 21. Representantes del género <i>Usnea</i>	46
Figura 22. Representantes del género <i>Xanthoparmelia</i>	47
Figura 23. Representantes del género <i>Xanthoria</i>	48
Figura 24. DNA extraído de líquenes del Parque Natural Karukinka.	49
Figura 25. Amplicones del marcador molecular rDNA18S e ITS	50
Figura 26. Coincidencias entre las diferentes herramientas usadas en la identificación de líquenes del Parque Natural Karukinka.....	51
Figura 27. Coincidencias entre las diferentes herramientas usadas en la identificación de líquenes del Parque Natural Karukinka a nivel de género.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS

BLAST: basic local alignment search tool

DNA: ácido desoxiribonucleico

dNTPs: desoxiribonucleótidos trifosfato

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

Ha: hectáreas

ITS: espaciadores transcritos internos ITS1 e ITS2 junto con el gen del rRNA 5,8S

NCBI: national center for biotechnology information

ONG: organización no gubernamental

pb: pares de bases

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

rDNA 18S: gen que codifica la subunidad pequeña del RNA ribosomal eucarionte

RNA: ácido ribonucleico

WCS: Wildlife Conservation Society

RESUMEN

En el Parque Natural Karukinka, Isla Grande de Tierra del Fuego, se encuentra un importante número de macro-líquenes, que cumplen una importante función ecosistémica, aunque su diversidad es escasamente conocida. Por lo anterior, en este trabajo se propuso identificar los principales macro-líquenes presentes en este ecosistema basándose en características morfológicas y en el uso de marcadores moleculares.

Como resultado de la identificación morfológica se reconocieron miembros de los géneros *Calicium*, *Cladonia*, *Lobaria*, *Menegazzia*, *Nephroma*, *Ochrolechia*, *Parmelia*, *Parmotrema*, *Peltigera*, *Platismatia*, *Pseudocyphellaria*, *Psoroma*, *Tuckermannopsis*, *Usnea*, *Xanthoparmelia* y *Xanthoria*. El uso de marcadores moleculares permitió verificar la identidad de un 50% de los líquenes identificados previamente mediante herramientas morfológicas, en el caso del análisis de secuencias del marcador molecular rDNA 18S y de un 70% en el caso del marcador molecular ITS. No obstante, a pesar de las limitantes, el advenimiento de las herramientas moleculares ha facilitado la identificación y el conocimiento de la diversidad de estos organismos.

Adicionalmente, la información obtenida a través de este trabajo puede servir como instrumento para reforzar la conciencia sobre la importancia de la biodiversidad líquénica del bosque nativo y proporciona material para incorporar nuevas ofertas productivas en relación a la observación de especies, constituyendo una alternativa complementaria al uso no consuntivo de la flora y la fauna.

ABSTRACT

In Karukinka Natural Park, Isla Grande de Tierra del Fuego, a significant number of macro-lichens are present, of which their ecosystem function is recognized although their diversity is poorly understood. This study aimed to identify the main macro-lichens present in this ecosystem based on morphological characteristics and the use of molecular markers.

As a result of the morphological identification, members of the genera *Calicium*, *Cladonia*, *Lobaria*, *Menegazzia*, *Nephroma*, *Ochrolechia*, *Parmelia*, *Parmotrema*, *Peltigera*, *Platismatia*, *Pseudocyphellaria*, *Psoroma*, *Tuckermannopsis*, *Usnea*, *Xanthoparmelia* and *Xanthoria* were recognized. Using molecular markers, the identity of 50% of the lichens identified by morphological tools were verified by sequence analyses of the 18S rDNA molecular marker and 70% in the case of the ITS molecular marker. However, in spite of the limitations, the advent of molecular tools has facilitated the identification and knowledge of the diversity of these organisms.

In addition, the acquired information in this work could serve as a tool to strengthen the awareness about the importance of lichens biodiversity in the native forest and provides material to incorporate new productive offers in relation to the observation of species, constituting a complementary alternative to the non-consumptive use of flora and fauna.

1. INTRODUCCIÓN

Los líquenes tienen una gran influencia en la dinámica ecológica por su importante participación en el flujo de energía y nutrientes en los ecosistemas, particularmente en los bosques de coníferas, desiertos, dunas, tierras áridas, semiáridas, rocas que se encuentran en sistemas marítimos, ambientes de alturas y selvas tropicales. Estos simbioses aportan de manera importante con su biomasa a los ecosistemas, incluso se estima que el 10,8% de los ecosistemas terrestres están dominados por líquenes (Larson, 1987), siendo particularmente abundantes en algunos estratos, como en la hojarasca de los bosques boreales o en las cortezas de los árboles en los bosques templados lluviosos (Seaward, 2008).

En Chile, las especies de líquenes descritas sobrepasan las 1.074, de las cuales sólo 58 han sido clasificadas en alguna categoría de conservación (Quillot y col, 1998; MMA, 2011). En Tierra del Fuego se ha informado la presencia de 358 especies pertenecientes a 116 géneros (MSU Herbarium, 2012), de las cuales 220 especies pertenecientes a 88 géneros han sido reportadas en Karukinka (Arroyo y col, 1995), muchas de ellas asociadas a bosques de *Nothofagus* (Caldiz & Brunet, 2006), lo que demuestra la alta representatividad de la "biota líquenica" patagónica que se encuentra en el parque y la importancia del mismo en la conservación de estos organismos.

Cabe destacar que los líquenes presentan una mayor diversidad y abundancia en bosques naturales, esto se debe a que muchos de ellos utilizan como sustrato la corteza de los bosques maduros y la madera muerta (Martínez y col, 2011; Rudolphi & Gustafsson, 2011). Estos organismos presentan una fuerte vulnerabilidad frente a los efectos de borde derivados de la fragmentación del bosque, debido su ineficiente dispersión o la gran cantidad de restricciones micro-climáticas que afectan su

desarrollo (Rudolphi & Gustafsson, 2011). Además, muchos de los líquenes endémicos en los bosques templados del Hemisferio Sur están asociados con especies de *Nothofagus* o *Araucaria* y otras gimnospermas, presentando una evolución estrechamente relacionada con sus principales forófitos (Forestal Trillium Ltda., 1997), haciéndolos más susceptibles, al estado en el cual se encuentre el bosque en donde se desarrollan. Si a lo anteriormente mencionado, se suma la escasa información existente en relación a la pérdida de diversidad genética, cambios en la abundancia y modificaciones en su hábitat (Martínez y col, 2011), se comprende la importancia de realizar la identificación de estos organismos utilizando herramientas que permitan colocar estos conocimientos a disposición la comunidad.

1.1 ¿Qué es un líquen?

Considerando la etimología, líquen es una palabra de origen griego, cuyo significado es "musgo de árbol", sin embargo esta sencilla definición incorpora un concepto mucho más complejo, que individualiza a una asociación de dos o más organismos que coexisten formando un sistema simbiótico, el cual incluye una serie de particularidades (Coutiño & Montañez, 2000). Según la definición de Hawksworth (1989), los líquenes son asociaciones simbióticas estables entre un componente fúngico, que recibe el nombre de "micobionte", y al menos un componente fotoautotrófico (fotobionte). El micobionte es un hongo heterótrofo y su par fotosintético puede ser un alga (ficobionte), una cianobacteria (cianobionte), o ambos (asociación tripartita) (Nash, 2008). Estas asociaciones forman una nueva entidad con características morfológicas y fisiológicas definidas principalmente por el micobionte (Seymour y col, 2005). La interacción es generalmente considerada mutualista, ya que la adecuación biológica de ambos simbioses aumenta (Honegger, 1991), aunque también se ha considerado que

sería un tipo de parasitismo controlado (Ahmadjian, 1993; Sanders, 2001). En los líquenes, el hongo proporciona a su fotobionte un microambiente que le asegura una protección adecuada. El fotobionte por su parte, aporta a la simbiosis con fotosintatos, derivados de la fotosíntesis y, si se trata de una cianobacteria, aporta además con los productos derivados de la fijación de nitrógeno (Barreno & Rico, 1984; Barreno & Pérez-Ortega, 2003). En general, los líquenes presentan una elevada concentración de metabolitos, que pueden almacenar en el talo, incluso algunos de ellos con actividad antimicrobiana, los cuales les permiten resistir una invasión bacteriana o fúngica (Toledo y col, 2004). Además, algunas de estas sustancias pueden formar complejos con cationes, permitiéndole a estos simbioses disponer de nutrientes minerales inaccesibles para otros organismos (Bermúdez de Castro y col, 1990).

Entre los atributos que caracterizan a estos simbioses se encuentran su longevidad, su capacidad de tolerar ciclos de deshidratación e hidratación, de tolerar ambientes extremos con baja disponibilidad de nutrientes y fluctuaciones de temperatura (Seymour y col, 2005); estas capacidades les permiten sobrevivir casi sobre cualquier sustrato, ya sea sobre la corteza de los árboles (cortícolas), sobre las rocas (saxícolas o rupícolas), sobre el suelo (terrícolas), sobre tejidos de animales muertos (zoobióticos), entre otros (Coutiño & Montañez, 2000).

El micobionte y el fotobionte, como parte de un sistema simbiótico, establecen diferentes relaciones fisiológicas. El hongo protege al fotobionte contra la desecación y la radiación solar, con pigmentos que encuentran en los tejidos corticales, permitiendo que el fotobionte esté expuesto a una óptima intensidad lumínica; ya que aunque la mayoría de los líquenes son fotófilos, es necesaria la protección del aparato fotosintético del fotobionte. Por este motivo, cuando se presenta una iluminación excesiva, se produce la desecación del talo para evitar efectos nocivos en el fotobionte.

Además, el hongo proporciona al fotobionte el CO₂ proveniente de su respiración, retiene en los tejidos agua y minerales absorbidos a través de sus paredes, extrae minerales del sustrato, facilita la competencia por el espacio, regula las poblaciones de fotobiontes y la longevidad de las células fúngicas liquenizadas (Chaparro & Aguirre, 2002). En tanto, el fotobionte por su parte sintetiza compuestos orgánicos, los cuales son utilizados por el micobionte para su supervivencia almacenándolos en forma de manitol, compuesto que no es utilizable por el fotobionte. Cuando el fotobionte es una cianobacteria excreta glucosa, la cual puede ser utilizada por el micobionte. Además suministra el nitrógeno fijado al consorcio, en forma de NH₄⁺, para la síntesis de aminoácidos y otros compuestos nitrogenados (Chaparro & Aguirre, 2002). Cuando el fotobionte es un alga verde, el producto carbonado transferido es principalmente ribitol, mientras que el nitrógeno combinado se obtiene a partir de urea, de nitratos o aminoácidos, presentes en el sustrato (Chaparro & Aguirre, 2002).

Los talos liquénicos presentan una gran originalidad morfológica, adaptativa, con innovaciones simbio-específicas, de modos de vida y reproducción, incluso pueden interpretarse como microsistemas dentro de la biósfera, ya que aceleran la meteorización del sustrato y ponen en circulación muchos iones y diversas sustancias. Asimismo, en algunos ecosistemas son un importante aporte a la fijación de nitrógeno atmosférico (Barreno & Pérez-Ortega, 2003), como es el caso de los géneros, *Pseudocyphellaria*, *Psoroma*, *Lobaria*, *Nephroma* y *Peltigera*, que se encuentran en simbiosis con cianobacterias, que tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, cualidad que es muy relevante para el ingreso de este nutriente especialmente en los ecosistemas oligotróficos. Además, participan en la meteorización de las rocas, favoreciendo la instalación de briófitas y plantas vasculares; sirviendo de alimento, como elementos de nidificación y de camuflaje para algunos animales; y son capaces

de entregar albergue y alimento a una gran cantidad de microorganismos (Illana-Esteban, 2009).

Por otra parte, los líquenes también sirven de alimento humano en distintas partes del mundo, donde han sido consumidos especialmente en época de escasez. No obstante, la mayor dificultad para el consumo humano, es la digestión de sus complejos de polisacáridos, sobre todo cuando se consumen líquenes de manera ocasional. Los líquenes también se utilizan como fuente de fibras, colorantes, medicinas y venenos. De manera más reciente, se han utilizado en la fabricación de perfumes, nuevos antibióticos, e incluso en decoración (Illana-Esteban, 2009). La producción de metabolitos secundarios, que exhiben una importante actividad antimicrobiana, antiviral, antioxidante, analgésica, citotóxica, fungicida, herbicida, también favorece su uso con objetivos medicinales. Por ejemplo, líquenes del género *Cladonia*, se han utilizado para el tratamiento de enfermedades como la artritis, fiebre, ictericia entre otros; al igual que líquenes del género *Usnea*, el cual se ha utilizado como agente antibacteriano (Narayan y Biswas, 2011).

Estos eficientes colonizadores, en particular los macrolíquenes que se encuentran en el Parque Natural Karukinka, serán abordados en este trabajo ya que allí es posible encontrar una gran diversidad de estos sistemas simbióticos (Arroyo y col, 1995).

1.2 Morfología como herramienta en la identificación de líquenes

Aun cuando la interacción simbiótica entre el micobionte y el(los) fotobionte(s) se logra a través de un proceso de simbiogénesis (Khakhina & Margulis, 1993), que da como resultado un talo liquénico, que es una entidad única u holobionte (Margulis & Barreno, 2003), los líquenes *per se* no son considerados un grupo taxonómico. Su clasificación

se basa exclusivamente en el componente fúngico; por ello, en clasificaciones taxonómicas modernas, los líquenes son tratados como “hongos formadores de líquenes” (HFL) (Gargas y col, 1995; Honegger, 1996; Tehler, 1996). Así, del total de hongos conocidos, aproximadamente un 20% corresponde a hongos que forman líquenes, de los cuales la mayoría pertenece al grupo de los ascomicetes (Kirk y col, 2008). Dada su diversa procedencia filogenética, los hongos liquenizados presentan diferentes formas de desarrollo y morfología del talo, características que sirven como herramientas en su proceso de identificación, existiendo variadas clasificaciones de biotipos o formas de crecimiento.

Los líquenes en forma general se pueden catalogar en dos grandes grupos. Los micro-líquenes, que corresponden a más del 50% de los hongos formadores de líquenes, que son conocidos como líquenes crustosos y se caracterizan por presentar estructuras vegetativas simples. El segundo grupo, conocidos como macro-líquenes, corresponde aproximadamente al 45% de los hongos formadores de líquenes, los cuales expresan un fenotipo morfológico y anatómico diferente a su estado aposimbótico (sin presencia del fotobionte), presentando estructuras con mayor diferenciación. Estos últimos pueden clasificarse en escumulosos, foliáceos y fruticulosos (Honegger, 1993).

1.2.1 Micro-líquenes

a) Crustosos: Se caracterizan por presentar una unión íntima con el sustrato (Chaparro & Aguirre, 2002), por lo que no pueden ser removidos sin ser destruidos (Nash, 2008). Esta unión se realiza a través de las hifas de la médula o las del hipotalo, ya que no poseen córtex inferior, y carecen de verdadero córtex superior. De esta forma, las hifas del hongo se extienden sobre el sustrato, con un fino micelio que

engloba todo el fotobionte. Este biotipo puede crecer y engrosarse llegando a ocupar grandes superficies (Barreno & Rico, 1984). Los líquenes crustosos pueden clasificarse en: i) *Indeterminados*, no presentan límites definidos y se confunden con el sustrato; ii) *Determinados*, poseen bordes definidos destacando sobre el sustrato; y iii) *Figurados*, poseen el talo radialmente lobulado, donde los lóbulos marginados están laxamente ligados al sustrato (Chaparro & Aguirre, 2002).

1.2.2 Macro-líquenes

a) Escuamulosos: Son similares a los líquenes crustosos, pero representan un paso hacia los biotipos foliáceos, tienen forma de escamas o ampollas y tienden a separarse del sustrato por márgenes, no poseen un auténtico córtex inferior pero pueden desarrollar algunas estructuras apendiculares ya que están unidos por este punto al sustrato (Barreno & Rico, 1984).

b) Foliáceos: Este biotipo corresponde a talos lobulados con forma laminar (Barreno & Rico, 1984; Chaparro & Aguirre, 2002), que sólo están parcialmente unidos al sustrato, presentan principalmente una estructura heterómera con una organización dorsiventral, donde se distingue una parte superior e inferior. Gracias a su forma de desarrollo pueden ocupar grandes superficies (Barreno & Rico, 1984; Chaparro & Aguirre, 2002). Los líquenes foliáceos pueden clasificarse en dos tipos: i) *Laciniados*, caracterizados por ser lobulados y tener una gran variabilidad de tamaños, los lóbulos están ordenados radialmente o sobrepuestos como tejas; en algunos géneros los lóbulos pueden parecer inflados y tener en la parte central una cavidad medular; la superficie generalmente está cubierta por rizinas, cilios o pelos; y ii) *Umbilicados*, el talo tiene forma circular y puede estar conformado por un solo lóbulo o ser multilobulado; están adheridos al sustrato a través de un ombligo, que se origina en la superficie inferior, y

está conformado por un grupo de hifas compactas ordenadas en forma paralela al fotobionte (Nash, 2008).

c) Fruticulosos: Incluye líquenes cuyos talos tienen forma de pequeños arbustos con ramificaciones o lóbulos, que se estrechan y alargan. Su unión al sustrato es a través de una superficie mínima, ya sea mediante un disco de fijación o hapterios. Los lóbulos o ramificaciones se caracterizan por sobresalir del sustrato y pueden ser erectos o colgantes y se denominan lacinias, las cuales pueden ser cilíndricas o aplastadas y su organización es generalmente radial, sin embargo ocasionalmente presentan una simetría dorso-ventral (Barreno & Rico, 1984). Las lacinias de algunos talos fruticulosos pueden presentar cierta rigidez, debido a que en algunos líquenes las hifas del córtex funcionan como tejido de soporte, formando dos capas a modo de tubo lateral, mientras que el interior está constituido por una médula algodonosa. Este tipo de estructuras proporcionan una gran resistencia lateral y cierta verticalidad. La parte vertical del talo fruticuloso se denomina podocio (ramificado) o escifo (forma de trompeta) (Barreno & Rico, 1984).

Los biotipos descritos anteriormente, son sólo una de las formas de individualización inicial de los líquenes, ya que existen numerosas estructuras particulares que presentan estos organismos y las cuales poseen una función fisiológica particular y sirven como aproximación en el proceso de reconocimiento de individuos. Dado que mucha de la información existente referente a estos simbioses se encuentra dispersa, se hace necesaria la búsqueda de material a través de una revisión bibliográfica, particularmente en lo que respecta a la morfología, para proceder en su identificación.

1.3 Herramientas moleculares en la identificación de líquenes

Con el advenimiento de las técnicas de biología molecular, se ha sumado una poderosa herramienta en los procesos de identificación de organismos, incluyendo la de los hongos liquenizados. Los estudios realizados a nivel molecular han permitido abordar su reconstrucción filogenética, resolver problemas taxonómicos, de identificación individual, ecológicos y biogeográficos (Crespo y col, 1999).

Entre los marcadores más utilizados, se encuentran los genes que codifican para los RNAs ribosomales (también denominados como rDNA), los cuales comprenden regiones codificantes y las regiones espaciadoras intergénicas (Schoch y col, 2012). Se han realizado estudios sobre la biodiversidad líquénica usando los genes que codifican para la subunidad mayor (LSU) o la subunidad menor (SSU) del RNA ribosomal. Estos genes forman parte de un clúster repetido en tándem, que contiene en la región espaciadora el gen que codifica para el rRNA 5.8S (Figura 1). En esta región genética, se observan diferentes niveles de variación de secuencias. La subunidad pequeña del gen del RNA ribosomal es altamente conservada y constituye un marcador resolutivo a nivel de familias (Horton & Bruns, 2001). En cambio, el gen que codifica para la subunidad mayor del RNA ribosomal posee una mayor variabilidad y permite discriminar secuencias a nivel de género (Hopple & Vilgalys, 1999). Por otra parte, las regiones espaciadoras transcritas internas (regiones ITS1 e ITS2, Figura 1) muestran la mayor variación, en secuencia y tamaño, para este clúster génico (Bruns, 2001). Las secuencias de todas estas regiones pueden utilizarse como marcadores moleculares para la identificación de taxa a través de la búsqueda de homología en la base de datos del NCBI mediante la herramienta BLAST (Altschul y col, 1997).

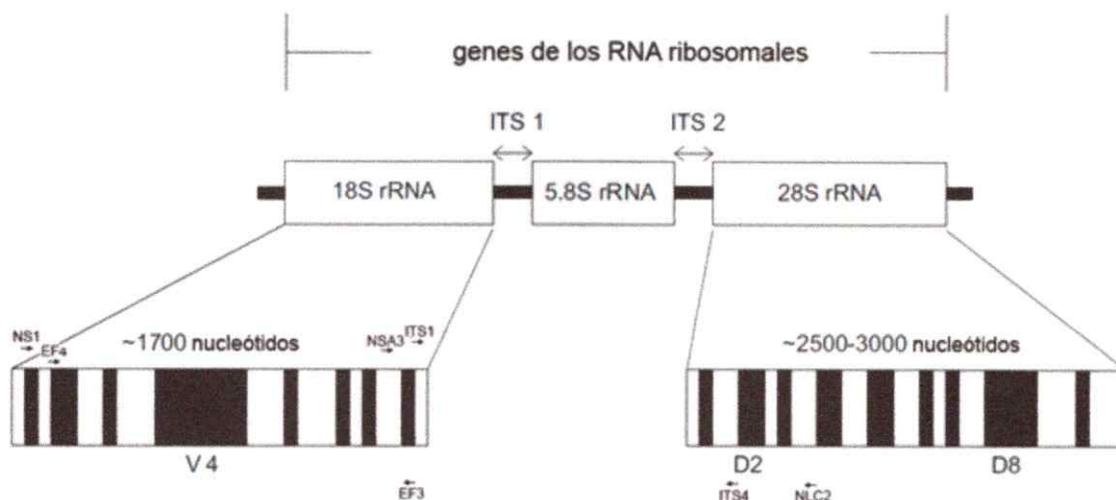


Figura 1. Organización del DNA ribosomal eucarionte. Se indica la posición de los partidores utilizados para amplificar el DNA fúngico codificante para la subunidad pequeña (18S) del RNA ribosomal y la región espaciadora transcrita interna (ITS1 - rRNA 5.8S - ITS2): NS1, ITS1, ITS4 (White y col, 1990); EF3, EF4 (Smit y col, 1999); NSA3, NLC2 (Martin & Rygielwicz, 2005). V4 y D2-D8 regiones más variables dentro del rRNA 18S y del rRNA 28S, respectivamente (Modificado de Mitchell y Zuccaro, 2006).

Entre las ventajas que se encuentran en estos genes para ser utilizados como marcadores moleculares se encuentran (Crespo y col, 1999):

1. Es un clúster repetido en tándem en cada célula, lo que facilita el proceso de amplificación, considerando que la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un proceso competitivo, una elevada presencia de segmentos blancos favorece su localización por parte de los partidores.
2. Cada unidad repetida consiste de genes con regiones codificantes conservadas y regiones inter-génicas con secuencias con mayor variabilidad, las cuales se usan para inferir un gran espectro de relaciones filogenéticas.

3. El clúster ribosomal es el más estudiado para los análisis de biodiversidad de la mayoría de las especies, por lo que se encuentra un gran número de secuencias disponibles en las bases de datos.

1.4 Guías de campo como herramienta de conservación

La generación de una guía de campo, como producto de la información bibliográfica sistemáticamente recopilada, junto con el análisis genético, representa un valor agregado, y un valioso ejemplo de cómo la utilización de información de estudios científicos puede realizar un importante aporte a la educación ambiental, dando a conocer la riqueza biológica y difundiendo la importancia de conservar la biodiversidad. Cabe destacar en este ámbito, la iniciativa desarrollada a partir del año 2002 por el equipo científico de la Fundación Omora (Rozzi y col, 2003), en los ecosistemas de tundra y bosque de la Reserva de la Biósfera Cabo de Hornos (Isla Navarino), donde han puesto énfasis en un nuevo concepto de ecoturismo que pone su atención en la micro-diversidad, es decir, sobre sistemas biológicos o micro-comunidades que generalmente pasan desapercibidas para el común de la gente y que han denominado "Eco-turismo con lupa" (Rozzi y col, 2003),

Dado el grado de deterioro de un gran número de ambientes naturales, se hace necesario generar actividades al interior del bosque nativo que sirvan como instrumento para generar conciencia sobre la importancia de la biodiversidad del bosque de manera holística, proporcionando además nuevas ofertas productivas que incorporen la observación de especies, como una alternativa viable para el uso no consuntivo de la flora y la fauna.

1.5 Planteamiento

El Parque Natural Karukinka posee uno de los bosques templados más australes de Chile, en donde los macrolíquenes son componentes diversos y abundantes. Esta diversa biota líquénica, podrá ser identificada a través de sus características morfológicas y genéticas, con la finalidad de sistematizar la información obtenida y plasmarla en una guía de campo que permita caracterizarlos con fines didácticos, turísticos y de investigación.

1.6 Objetivos

1.6.1 Objetivo General

Identificar y caracterizar macro-líquenes en el Parque Natural Karukinka, basándose en criterios morfológicos y moleculares, con el fin de organizar la información en una guía de campo.

1.6.2 Objetivos Específicos

1. Identificar macro-líquenes recolectados en el Parque Natural Karukinka mediante caracteres morfológicos.
2. Contrastar la identificación de los líquenes mediante el uso de marcadores moleculares.
3. Generar un catálogo de los principales géneros de líquenes encontrados en el Parque.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Sitio de recolección de líquenes: Parque Natural Karukinka

2.1.1 Historia del Parque

El Parque Natural Karukinka (Figura 2), se encuentra emplazado en los terrenos del fallido proyecto de explotación forestal "Río Cóndor", que iba a ser llevado a cabo por la Corporación Forestal Trillium. El objetivo del proyecto original era la explotación de *Nothofagus spp.* en las 258.000 ha adquiridas en Isla Grande de Tierra del Fuego. Este proyecto generó grandes controversias en la sociedad civil y luego de un proceso de tramitación legal, la forestal anunció su suspensión debido a problemas económicos. En 2002 la Entidad Financiera Goldman Sachs adquirió los pagarés de la deuda, los cuales incluían una cantidad importante de estos terrenos. Finalmente, en 2004, el banco donó los terrenos a la ONG norteamericana Wildlife Conservation Society (WCS) con la finalidad de proteger los ecosistemas de bosques subantárticos del sur y turberas. Posteriormente, este parque sería denominado por la WCS como Karukinka, que en lengua Selk'nam significa "Nuestra Tierra" (Saavedra, 2006; Menegoz, 2010).





Figura 2. Mapa del Parque Natural Karukinka (WCS). Se señala en el círculo rojo la Localidad de Vicuña.

2.1.2 Características del Parque

Los bosques templados australes albergan organismos únicos y diversos, que producto de las condiciones geográficas han evolucionado aislados de otras áreas forestales del continente (Arroyo y col, 1995). Dentro de esta inusual diversidad, se encuentran especies endémicas y un importante número de musgos y líquenes. Entre los ecosistemas que presenta el Parque Natural Karukinka, es posible encontrar remanentes de bosques primarios de lenga, mixtos de lenga-coigüe, turberas, entre otros (Arroyo y col, 1995; Saavedra, 2006). El clima es moderado y se clasifica como templado frío y húmedo, no obstante Karukinka está localizado en la zona más seca

de la provincia fitogeográfica subantártica, donde las precipitaciones se distribuyen a lo largo de todo el año y están influenciadas por la cercanía con el mar y la cordillera patagónica occidental, presentándose en forma de nieve durante el invierno (Arroyo y col, 1995; Saavedra, 2006; Menegoz, 2010). Las temperaturas medias anuales se encuentran entre 3°C y 6°C, variando desde 0°C en invierno hasta ocasionales 26°C en verano (Arroyo y col, 1995). Existen fuertes vientos suroeste y oeste, cuyas velocidades pueden alcanzar los 230 km/h, generando erosión y desecación de los suelos (Menegoz, 2010). El drenaje es pobre y los contenidos de nutrientes disminuyen desde la capa orgánica hasta la mineral (Arroyo y col, 1995).

El parque es atravesado por varios cordones montañosos, pertenecientes a la Cordillera de los Andes (900-1000 m.s.n.m), los cuales enmarcan un paisaje que ha sido modelado por la acción de glaciares (Arroyo y col, 1995; Menegoz, 2010). Los principales sistemas hidrogeológicos son Río Grande, que llega al Atlántico en el lado Argentino, y Río Cóndor, que desemboca en el canal Whiteside. Además, Karukinka presenta una importante zona costera y varios lagos, incluso uno de los límites se encuentra en la costa este de Lago Blanco (Arroyo y col, 1995; Menegoz, 2010).

2.1.3 Ecosistemas del Parque

En Karukinka es posible encontrar representadas las siguientes regiones bióticas: Estepa patagónica, Bosque magallánico deciduo, Bosque magallánico perennifolio, Tundra magallánica y Desierto andino (Pisano, 1977).

El bosque subantártico corresponde al 60% de la superficie del parque, los humedales cubren el parque en un porcentaje mayor al 30%, en tanto que un 5% correspondería a la región Alto Andina. Se estima que existirían en el parque alrededor de 37 tipos de hábitat distintos (Forestal Trillium Ltda., 1997).

Dada la elevada superficie que cubre el bosque subantártico en Karukinka, es importante decir que, el 80% de él está conformado por Bosque decíduo (*Nothofagus pumilio* y *Nothofagus antarctica*), Bosque siempreverde y decíduo mezclado (*Nothofagus pumilio* con *Nothofagus betuloides*), Bosque siempreverde puro (*Nothofagus betuloides*) y Bosque siempreverde mezclado (*Nothofagus betuloides*, *Drimys winteri*, *Maytenus magellanica*) (Forestal Trillium Ltda., 1997).

Las turberas son otro ecosistema importante en Karukinka, por su participación en la regulación de los ciclos hidrogeológicos, que mantienen el bosque y secuestran grandes cantidades de CO₂ (Valdés, 2012).

La zona andina se encuentra sobre el límite arbóreo en la Cordillera de los Andes y es el ecosistema, que presenta la mayor riqueza de especies vegetales y la mayor tasa de endemismo del Parque. La vegetación está conformada por gramíneas, sub-arbustos de baja altura y plantas rastreras, que se han adaptado a las condiciones adversas (WCS-Chile, 2007). Localizada principalmente en la costa, la zona de matorrales corresponde principalmente a formaciones vegetacionales degradadas (WCS-Chile, 2007).

En el caso del ecosistema tipo estepa, éste se desarrolla en la zona de mayor exposición a los vientos, con escasa disponibilidad de agua y bajas temperaturas, y está conformado por extensos pastizales y matorrales achaparrados (WCS-Chile, 2007).

Los bosques de *Nothofagus* y en particular los bosques del Parque Natural Karukinka albergan una gran cantidad de macro-líquenes cuya diversidad y función ecosistémica es escasamente conocida (Guzmán y col, 1990; Galloway, 2008). Este trabajo propone identificar los principales macro-líquenes presentes en este

ecosistema, basado en sus características morfológicas y en el uso de marcadores moleculares específicos.

2.1.4 Recolección de muestras

La recolección de las muestras de líquenes se realizó en la localidad de Vicuña, en el Parque Natural Karukinka, Tierra del Fuego, Región de Magallanes (Figura 2). La mayoría de las muestras de líquenes pertenecen al bosque subantártico, constituido principalmente por especies de *Nothofagus betuloides* y *Nothofagus pumilio*, en el cual se encontró la mayor diversidad de líquenes del Parque. Además, se encontraron algunas muestras de líquenes en turberas.

Se recolectó al menos un representante de los líquenes fruticulosos y foliosos más abundantes. Una vez reconocido un individuo, se fotografió (Tabla A1, Anexo), geo-referenció (Tabla A1, Anexo) y se extrajo un fragmento del talo liquénico (~5 cm²) que fue almacenado en una bolsa de papel rotulada para evitar su deterioro (Hale y col, 1979). Las muestras se almacenaron en un lugar seco y a temperatura ambiente hasta su utilización.

2.2 Identificación a partir de la morfología

La identificación morfológica a nivel de género se realizó sobre la base de material fotográfico de los líquenes obtenido antes de su recolección y con el material recolectado. Para ello se utilizaron las estructuras de relevancia taxonómica que presentan estos organismos. Las observaciones realizadas se contrastaron con la información recopilada, considerando las claves taxonómicas y material gráfico disponible en la bibliografía (e.g. Goward y col, 1994; Goward, 1999; Barreno & Pérez-Ortega, 2003) (Clave consenso de identificación en Anexo).

2.3 Identificación a través de herramientas de biología molecular

2.3.1 Extracción y cuantificación del DNA

La extracción del DNA se realizó a partir el talo liquénico recolectado, el cual se limpió y lavó exhaustivamente con agua destilada estéril. El DNA se obtuvo a partir de 250 mg de tejido liquénico, empleando el kit de extracción "Ultraclean Soil DNA" (MoBio laboratorios, Inc.). El DNA se resuspendió en 50 μ l de buffer TE (Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8,0) y se guardó a -20°C hasta su posterior análisis.

La concentración y calidad del DNA se determinó por electroforesis en geles de agarosa al 0,8% (p/v) en buffer TAE 1X (Tris-acetato 40 mM, EDTA 1 mM, pH 8,0) y se visualizó por tinción con GelRed™ (Biotium) comparándolo con cantidades conocidas del marcador de peso molecular λ HindIII (Gibco BRL®).

2.3.2 Amplificación del gen del rRNA 18S (rDNA18S)

La amplificación del marcador molecular rDNA18S, se realizó a partir de las muestras de talo liquénico, para lo cual se realizó un PCR semi-anidado (un partidore es diferente en el segundo PCR) dividiendo la amplificación del DNA en 2 fases y utilizando partidores universales para el gen que codifica para la subunidad 18S del RNA ribosomal (Tabla 1).

Tabla 1. Partidores utilizados en la amplificación del rDNA18S.

PCR	Partidores	Secuencia (5'-3')	Referencia
1	NS1	GTAGTCATATGCTTGTCTC	White y col, 1990
	EF3	GTTTGAACCAGTAAATCTCCT	Smit y col, 1999
2	EF4	GGAAGGGRTGTATTTATTAG	Smit y col, 1999
	EF3	GTTTGAACCAGTAAATCTCCT	

La primera mezcla de reacción contenía GoTaq® Green Master Mix (GoTaq® DNA Polimerasa en 1X Green GoTaq® Reaction Buffer (pH 8,5), 200 µM de cada dNTP y 1,5 mM MgCl₂) (Promega) y los partidores NS1 y EF3 cada uno a una concentración de 0,3 µM (Tabla 1). Posteriormente, utilizando como templado 1 µl del producto de la primera amplificación, se realizó la segunda amplificación con los partidores EF4 y EF3 (Tabla 1) en las mismas condiciones descritas para el primer PCR.

El programa de amplificación para la primera reacción consistió en un ciclo térmico de desnaturalización inicial a 94°C por 3 min, luego 40 ciclos de desnaturalización a 94°C por 1 min, hibridación a 48°C por 1 min y extensión a 72°C por 3 min, terminando con una extensión final a 72°C por 10 min. En el segundo PCR el programa de amplificación consistió en desnaturalización inicial a 94°C por 5 min, luego 25 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30 s, hibridación a 47°C por 45 s y una extensión a 72°C por 3 min, terminando con una extensión final a 72°C por 10 min.

Los productos de amplificación se cuantificaron por electroforesis en geles de agarosa al 1,2% (p/v) en buffer TAE 1X teñidos con GelRed™, el tamaño de los amplicones se determinó con el estándar de tamaño molecular 100 bp DNA Ladder (Gibco BRL).

2.3.3 Amplificación de la región ribosomal intergénica (ITS)

La amplificación del marcador molecular ITS, desde el DNA líquénico, se realizó usando un PCR anidado (ambos partidores son diferentes en el segundo PCR) dividiendo la amplificación del DNA en 2 fases, utilizando partidores universales para la región intergénica del RNA ribosomal (Tabla 2).

Tabla 2. Partidores utilizados en la amplificación del ITS.

PCR	Partidores	Secuencia (5'-3')	Referencia
1	NSA3	AAACTCTGTCGTGCTGGGGATA	Martin & Rygiewicz, 2005
	NLC2	GAGCTGCATTCCCAAACAACCTC	
2	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	White y col, 1990
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	

La primera mezcla de reacción contenía GoTaq® Green Master Mix (GoTaq® DNA Polimerasa en 1X Green GoTaq® Reaction Buffer (pH 8,5), 200 µM de cada dNTP y 1,5 mM MgCl₂) (Promega) y los partidores NSA3 y NLC2 a una concentración de 0,4 µM cada uno (Tabla 2). Posteriormente, a partir del producto de la primera amplificación, se utilizó 1 µl como templado para la segunda amplificación con los partidores ITS1 e ITS4 (Tabla 2) en las mismas condiciones descritas para el primer PCR.

El programa de amplificación para la primera reacción consistió en un ciclo térmico de desnaturalización inicial a 95°C por 10 min, luego 35 ciclos de desnaturalización a 95°C por 30 s, hibridación a 60°C por 40 s y una extensión a 72°C por 40 s, terminando con una extensión final a 72°C por 5 min. Para el segundo PCR, el programa de amplificación consistió en desnaturalización inicial a 94°C por 3 min, luego 38 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30 s, hibridación a 55°C por 30 s y una extensión a 72°C por 3 min, terminando con una extensión final a 72°C por 20 min. Los productos de amplificación se cuantificaron por electroforesis en geles de agarosa como se indicó en el punto 2.3.2.

2.3.4 Secuenciación de los amplicones y análisis de las secuencias

Los amplicones obtenidos a partir de cada muestra de líquen, se purificaron usando el kit UltraClean® PCR Clean-Up (MoBio Lab. Inc.) y se secuenciaron en un sentido con el partidor forward correspondiente utilizando un Analizador Genético 3730 (Applied Biosystems; Macrogen Inc.).

Las secuencias obtenidas se editaron manualmente y la identidad de las muestras se evaluó utilizando el programa BLASTN (Altschul y col, 1997) por comparación con las secuencias disponibles en la base de datos del GenBank más relacionados a las secuencias obtenidas en este estudio.

2.4 Revisión Bibliográfica

La descripción de las muestras de líquenes se complementó realizando una revisión bibliográfica, basada en información proveniente de publicaciones científicas, bases de datos y catálogos de líquenes. La información recopilada para cada uno de los géneros de líquenes encontrados se organizó en las siguientes secciones: clasificación taxonómica, sinonimia, nombre común, distribución, hábitat, fotobionte y una breve descripción de las características distintivas del género.

3. RESULTADOS

3.1. Recolección de muestras de líquenes

La recolección de muestras comprendió al menos un representante de los líquenes más abundantes en dos tipos de ambientes (bosque y turbera), llegando a completar un total de 50 individuos, de los cuales 45 estaban asociados a un bosque de *Nothofagus spp.* y 5 a una turbera de *Sphagnum sp.* Los datos de georreferenciación de las muestras se utilizaron para generar un mapa de distribución de las mismas (Figura 3).

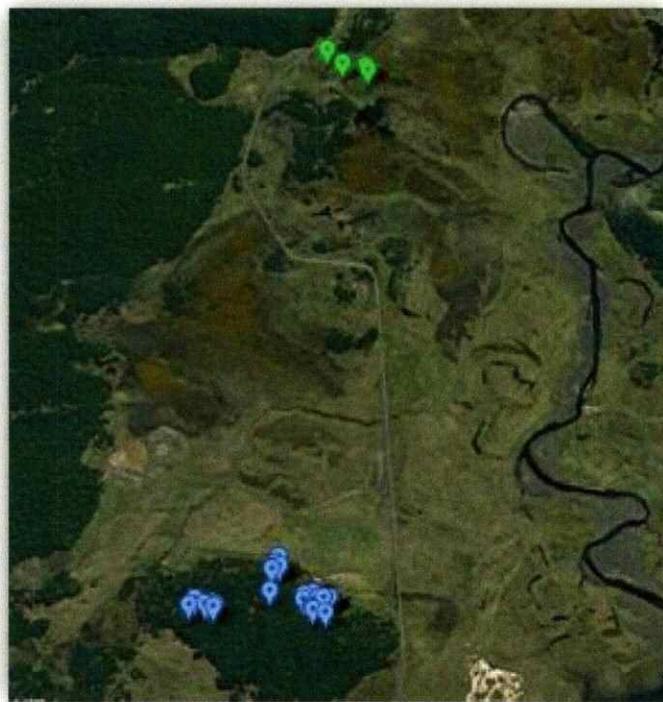


Figura 3. Imágen satelital, en la cual se señala la distribución de los 50 líquenes recolectados en el Parque Natural Karukinka. En **azul** muestras asociadas al bosque de *Nothofagus spp.* y en **verde** las asociadas a turbera.

3.2. Identificación de estructuras morfológicas con valor taxonómico

Existen diferentes caracteres morfológicos que permiten la identificación de los hongos liquenizados, entre ellos se encuentran las estructuras reproductivas sexuales y asexuales, las cuales son una de las herramientas más valiosas en la identificación morfológica de estos organismos (Seymour y col, 2005). En el caso de la reproducción sexual, el micobionte produce esporas, las que luego de germinar deben restablecer la simbiosis con un fotobionte de vida libre compatible (transmisión horizontal); sin embargo, muchos líquenes se reproducen asexualmente mediante la producción de propágulos vegetativos que incluyen ambos componentes, permitiendo así la transmisión vertical de los simbiontes (Coutiño & Montañez, 2000).

3.2.1. Estructuras de reproducción sexual

La reproducción sexual se presenta como una característica común en hongos liquenizados, sobre todo en aquellos que se desarrollan en ambientes extremos (Seymour y col, 2005), representando incluso en muchas especies de líquenes el único medio de dispersión (Murtagh y col, 2000). Lo anterior, podría deberse a que el número de esporas sexuales es mayor que el número de esporas encontradas en las diásporas vegetativas (Seymour y col, 2005).

La gran mayoría de los hongos formadores de líquenes son ascomicetes, los cuales pueden reproducirse sexualmente y dispersarse, a través de estructuras especializadas llamadas **ascosporas**. Las ascosporas son efectivas para dispersarse a largas distancias, pero en muy pocos líquenes el fotobionte está incluido en el cuerpo fructífero del micobionte (Seymour y col, 2005). Por lo tanto, una vez germinadas las esporas fúngicas, deben encontrar un fotobionte compatible y reiniciar el proceso de liquenización (Nash, 2008).

Los cuerpos fructíferos del micobionte son denominados **ascomas**, en su interior se encuentra el **himenio**, que es una estructura compuesta por tejido fértil que dará origen a las esporas, y por hifas estériles especializadas o **paráfisis** que están unidas a la base y se disponen anticlinalmente entre los ascos conformando el **hamatecio** (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

El tipo de ascoma y su forma de desarrollo están entre los caracteres más utilizados para distinguir taxa dentro de los ascomicetes, junto con esto también es importante considerar la morfología de las ascosporas, que es un carácter que permite distinguir géneros y familias en muchos grupos de hongos incluidos los líquenes (Printzen, 2010). Entre los principales tipos de ascomas se encuentran los **peritecios** y los **apotecios**.

3.2.1.1. Peritecios

Los peritecios son un tipo de ascoma relativamente globoso, cuello alargado y estrecho, con una base redondeada y más ancha, que se comunica al exterior por una estructura conocida como ostíolo. Los peritecios suele encontrarse inmersos en el talo (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

3.2.1.2. Apotecios

Los apotecios (Figura 4) son un tipo de ascoma que presentan una estructura abierta en forma de copa o disco, con tejido fértil o himenio expuesto hacia el exterior (Barreno & Pérez-Ortega, 2003). Los principales tipos de apotecios son:

Lecanorino: margen talino, es decir, su estructura incluye los fotobiontes y es concoloro con el mismo.

Lecidino: margen negro, carbonoso, formado sólo por hifas del micobionte.

Biatorino: se observa que el margen es propio, o sea, constituido por el micobionte, pero tiene colores claros que se distinguen del resto del talo.

Zeorino: se observa un margen biatorino rodeado por otro margen externo talino, de modo que semeja un apotecio lecanorino.

Histeriotecio o Lirela: son cuerpos fructíferos alargados, con margen carbonoso, que se abren por una hendidura.

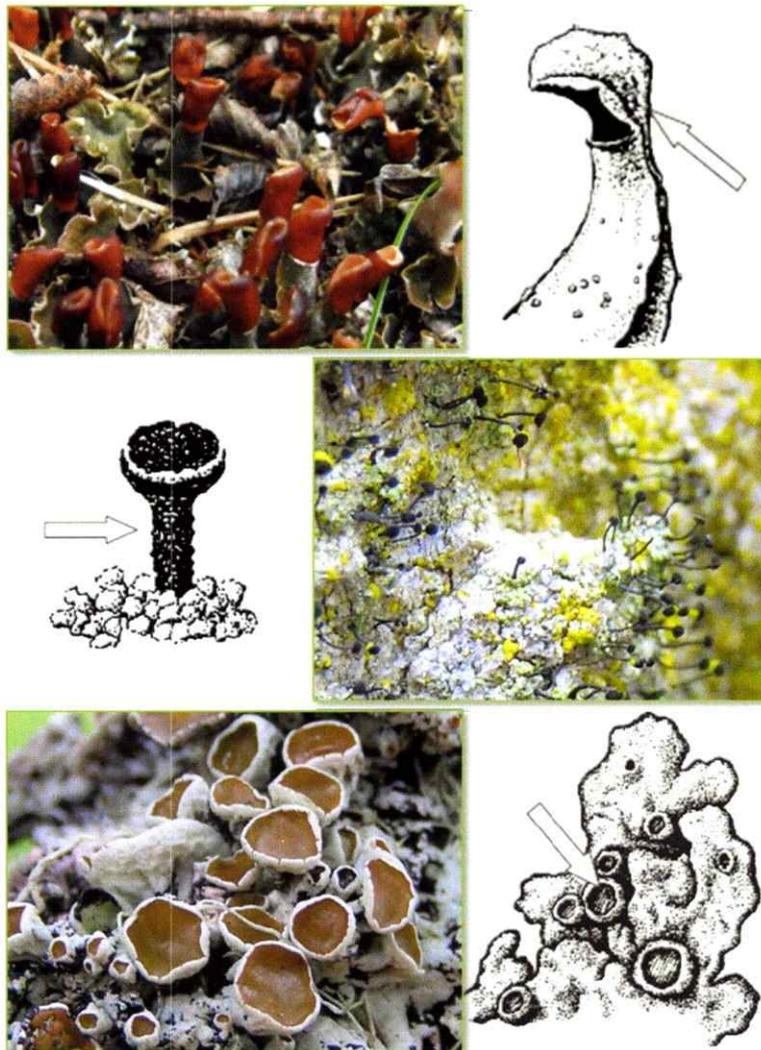


Figura 4. Esquemas y fotografías de estructuras de reproducción sexual: apotecios. (Esquemas tomados de Goward y col, 1994; Goward, 1999).

3.2.2. Estructuras de reproducción asexual

El micobionte puede formar estructuras en su fase de reproducción anamorfa (o asexual), como es el caso de los **conidiomas**. Estas estructuras corresponden a cuerpos fructíferos asexuales, en los cuales a partir de un tipo especial de hifa que se conoce como conidióforo, se forman los conidios (Büdel & Scheidegger, 2008). De éstos los más comunes son los **picnidios**, que tienen forma de receptáculo o globo (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

No obstante, la reproducción asexual puede ser llevada a cabo a través de la fragmentación del talo, donde cualquier porción es capaz de dar origen a un nuevo individuo, siempre y cuando se encuentren presentes ambos simbiosomas (Barreno & Rico, 1984), o también por formación de diásporas vegetativas, siendo las más comunes los **soredios** y los **isidios** (Figura 5) (Barreno & Pérez-Ortega, 2003). En ambos casos, una vez maduras, las diásporas se dispersan por medio del agua, viento, insectos y aves, y posteriormente se desarrollan en otros sitios (Barreno & Rico, 1984; Coutiño & Montañez, 2000). Los propágulos vegetativos tienen la ventaja de que ambos simbiosomas se dispersan simultáneamente (Seymour y col, 2005).

3.2.2.1. Soredios

Los soredios (Figura 5) son producto de la asociación de algunas células del fotobionte, las cuales se encuentran fuertemente envueltas con hifas y carentes de corteza, cuyo tamaño varía entre 25 a 100 μm de diámetro, presentándose agrupadas en masas más grandes con apariencia granular llamadas **soralios** (Coutiño & Montañez, 2000).

3.2.2.2. Isidios

Los isidios (Figura 5) se originan en las capas internas del talo y emergen a través de los poros o rupturas en la corteza (Coutiño & Montañez, 2000). Se trata de pequeñas extensiones cilíndricas del talo, con una morfología variada que surgen a partir del córtex, más o menos oscurecidos y que están conformados por hifas y por células del fotobionte. Se diferencian de los soredios en que siempre están corticados y no se agrupan en estructuras específicas (Barreno & Rico, 1984).

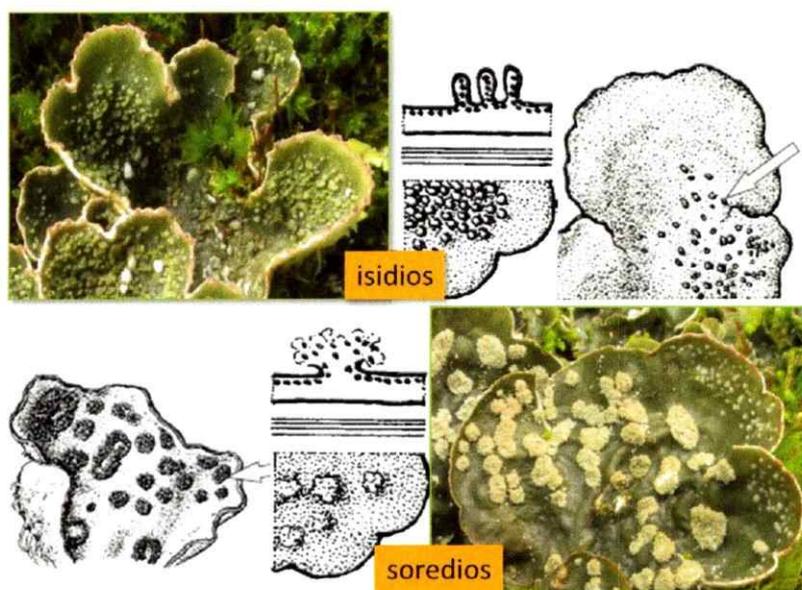


Figura 5. Esquemas y fotografías de estructuras de reproducción asexual: isidios y soredios. (Esquemas tomados de Goward y col, 1994).

3.2.3. Otras estructuras de valor taxonómico

Además de las estructuras reproductivas, existen diversas estructuras apendiculares útiles en la identificación de líquenes. Entre ellas, las más usadas en este trabajo para diferenciar los géneros encontrados fueron: **cefalodios**, **pseudocifelas**, **rizinas** y **venas** (Figura 6).

3.2.3.1. Cefalodios

Los cefalodios (Figura 6) son estructuras que albergan a las cianobacterias en las simbiosis tripartitas, pueden situarse en la médula, en las caras superiores o inferiores del talo o incluso al interior del talo (Barreno & Rico, 1984; Barreno & Pérez-Ortega, 2003). La morfología de los cefalodios es característica de una especie y por lo general difiere del talo principal (Büdel & Scheidegger, 2008).

En los ciano-líquenes, la importancia de la fijación de nitrógeno molecular se refleja en las adaptaciones morfológicas y fisiológicas de las cianobacterias asociadas con el hongo liquenizado, las que incluyen un aumento en el número de heterocistos. Tanto los heterocistos como los cefalodios son estructuras especializadas en las que ocurre la fijación de nitrógeno para proteger a la nitrogenasa de concentraciones elevadas de oxígeno (Kneip y col, 2007) (Figura 6).

3.2.3.2. Pseudocifelas

Las pseudocifelas (Figura 6) consisten en una irrupción en el córtex (Barreno & Rico, 1984) y se manifiestan como poros o líneas más o menos claras (Barreno & Pérez-Ortega, 2003). A través de estos poros sobresalen hifas medulares que permiten el contacto con la atmósfera. Van desde formas redondeadas hasta angulosas o muy irregulares y son variables en tamaño. Pueden originarse tanto en la cara superior como inferior del talo en donde puede interrumpir la capa gonidial (Barreno & Rico, 1984).

3.2.3.3. Rizinas

Las rizinas (Figura 6) son los órganos apendiculares de sujeción más comunes. Corresponden a un grupo de hifas compactadas simples o ramificadas, que surgen

desde la cara inferior de los talos, sobre todo en líquenes foliáceos (Barreno & Pérez-Ortega, 2003). También existen estructuras conocidas como cordones rizinales, los cuales se diferencian de las rizinas por su mayor tamaño y crecimiento apical, surgiendo por lo general en la cara inferior de los líquenes escumulosos (Barreno & Rico, 1984).

3.2.3.4. Venas

Las venas (Figura 6), son engrosamientos parciales de la médula de ciertos talos foliáceos, semejantes a la nervadura de las hojas que se encuentran en las plantas superiores. De ellas surgen las rizinas y contribuyen a fortalecer los lóbulos para que se eleven sobre el sustrato (Barreno & Rico, 1984).



Figura 6. Esquemas y fotografías ilustrando estructuras apendiculares de valor taxonómico. (Esquemas tomados de Goward y col, 1994).

3.3. Identificación morfológica de líquenes del Parque Karukinka

Durante el proceso de identificación morfológica fue posible distinguir 16 géneros de hongos liquenizados (Figura 7), y aunque el objetivo no era determinar la abundancia liquénica, es importante destacar la gran prevalencia del género *Pseudocyphellaria* (11/50), seguido por los géneros *Cladonia* (6/50), *Nephroma* y *Peltigera* (5/50); *Ochrolechia* (4/50); *Parmelia* y *Usnea* (3/50); *Calicium*, *Platismatia*, *Psoroma* y *Xanthoria* (2/50). Finalmente, 5 géneros estuvieron representados por sólo un individuo (*Lobaria*, *Menegazzia*, *Parmotrema*, *Tuckermannopsis* y *Xanthoparmelia*).

Si se compara la representación de los géneros encontrados en cada uno de los sectores, podemos decir que en el bosque fueron encontrados los 16 géneros que fue posible identificar en este trabajo, mientras que sólo 4 se encontraron en turbera (*Cladonia*, *Nephroma*, *Pseudocyphellaria* y *Xanthoria*).

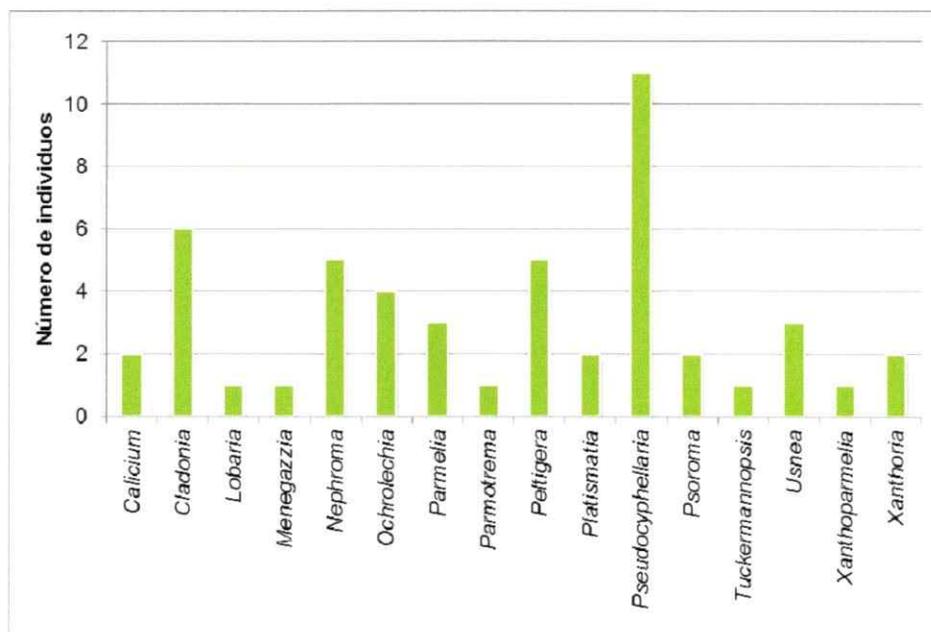


Figura 7. Géneros de líquenes del Parque Natural Karukinka identificados morfológicamente.

3.3.1. Características generales de los géneros identificados

A continuación se presentan características generales de cada uno de los géneros de líquenes identificados (en orden alfabético). Entre ellas se incluye la *Clasificación taxonómica* a nivel de *Phylum*, Clase, Orden y Familia (GBIF, 2012). Posteriormente se indica la sinonimia en la que se incluyen los diferentes nombres científicos que se han usado para un mismo taxón (Mycobank, 2012). Debido a la escasez de nombres vernaculares para estos organismos en español, en caso de no existir se tradujeron de los nombres comunes del inglés (GBIF, 2012). La distribución está basada en las descripciones de cada género a nivel mundial, mientras que el hábitat se refiere a las preferencias medio ambientales de cada uno de ellos. En lo referido al *Fotobionte* se indica si éste corresponde a un alga, una cianobacteria o ambos. Finalmente, se realizó una breve descripción morfológica, con apoyo de la bibliografía, que permitiría la identificación de los representantes de cada género. Se incluyen además fotografías representativas de cada género, con una escala en forma de barra en el lateral izquierdo que representa 1 cm.

3.3.1.1. *Calicium* Pers. (1794)

Clasificación: Ascomycota; Lecanoromycetes; Teloschistales; Caliciaceae.

Sinonimia: *Arongyllum* Link 1809; *Caliciella* Vainio 1927; *Caliciomyces* Thomas ex Ciferri & Tomaselli 1953; *Calycium* DeCandolle 1805; *Descematia* Nieuwland 1916; *Phacotrum* Gray 1821; *Sphaerocephalum* Weber ex Wiggers 1780; *Stenocybella* Vainio 1927; *Strongyllum* Ditmar 1809; *Vainionia* Räsänen 1943.

Nombre común: "líquen clavo" (Spike lichen).

Distribución: muy extendido en latitudes boreales y tropicales (Goward, 1999).

Hábitat: crecen en cortezas secas, madera, rara vez sobre rocas (Goward, 1999).

Fotobionte: algas verdes del género *Trebouxia* (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

Descripción: género con talos crustáceos, granulados, verrugosos, con colores que van desde los grises hasta amarillos pálidos o verdes oscuros. Los apotecios presentan forma de copa, constituidos por hifas irregularmente entremezcladas más o menos carbonizadas. Los ascos tienen formas que van desde cilíndricos hasta más o menos claviformes, las esporas son bi-celulares con paredes gruesas de color marrón oscuro y ornamentadas, las cuales forman una masa negra al desprenderse (Barreno & Pérez-Ortega, 2003) (Figura 8).



Figura 8. Representantes del género *Calicium*.

3.3.1.2. *Cladonia* P. Browne (1756)

Clasificación: Ascomycota; Lecanoromycetes; Lecanorales; Cladoniaceae.

Sinonimia: *Biscladinomyces* Ciferri & Tomaselli 1953; *Biseucladinomyces* Ciferri & Tomaselli 1953; *Biseucladoniomyces* Ciferri & Tomaselli 1953; *Cenomyce* Acharius 1809; *Cenomyces* Acharius 1809; *Cladinomyces* Ciferri & Tomaselli 1953; *Cladonia* Adanson 1763; *Eucladoniomyces* Ciferri & Tomaselli 1953; *Helopodium* Acharius ex Michaux 1803; *Phyllocarpos* Poiret 1813.

Nombre común: “liquen fosforito”.

Distribución: cosmopolita (Chaves y col, 2009).

Hábitat: crecen en cortezas musgosas, madera en descomposición y humus (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

Fotobionte: algas verdes similares a *Trebouxia* (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

Descripción: género con talos compuestos. El talo primario es escuamuloso y puede estar muy adherido al sustrato o ser ascendente y erecto, desde redondeados hasta alargados, con márgenes continuos o relativamente recortados; algunas veces sorediados. La cara superior generalmente es corticada y la cara inferior no tiene rizinas ni córtex. El talo secundario es fruticuloso, erecto, constituido por podecios huecos (talos secundarios de origen apotecial), que crecen sobre los márgenes o en la cara superior del talo primario, con formas que van desde romas afiladas o en forma de copas, simples o repetidamente ramificados. Apotecios de tipo biatorinos convexos; los ascos son de forma claviforme, relativamente alargados, con 8 esporas simples, incoloras; desde fusiformes hasta ovaladas (Barreno & Pérez-Ortega, 2003) (Figura 9).



Figura 9. Representantes del género *Cladonia*.



3.3.1.3. *Lobaria* (Schreb.) Hoffm. (1796)

Clasificación: Ascomycota; Lecanoromycetes, Peltigerales; Lobariaceae.

Nombre común: “liquen pulmón” (Lungwort lichen).

Sinonimia: *Pulmonaria* Hoffm. 1789; Lichen sect. *Lobaria* Schreb. 1791; *Stictomyces* E.A. Thomas ex Cif. & Tomas. 1953.

Distribución: cosmopolita (Goward y col, 1994).

Hábitat: cortezas de árboles y arbustos o sobre rocas musgosas; muy sensibles a alteraciones humanas (Goward y col, 1994).

Fotobionte: clorofíceas o cianofíceas (Chaves y col, 2009).

Descripción: talo folioso, verde a gris; lóbulos medianos a grandes, superficie inferior con tomento pardo formando venas; soralios e isidios a veces presentes, apotecios lecanorinos, con disco anaranjado a pardo. Ascosporas septadas, hialinas (Chaves y col, 2009) (Figura 10).



Figura 10. Representantes del género *Lobaria*.

Nombre común: "liquen fosforito".

Distribución: cosmopolita (Chaves y col, 2009).

Hábitat: crecen en cortezas musgosas, madera en descomposición y humus (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

Fotobionte: algas verdes similares a *Trebouxia* (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

Descripción: género con talos compuestos. El talo primario es escuamuloso y puede estar muy adherido al sustrato o ser ascendente y erecto, desde redondeados hasta alargados, con márgenes continuos o relativamente recortados; algunas veces sorediados. La cara superior generalmente es corticada y la cara inferior no tiene rizinas ni córtex. El talo secundario es fruticuloso, erecto, constituido por podocios huecos (talos secundarios de origen apotecial), que crecen sobre los márgenes o en la cara superior del talo primario, con formas que van desde romas afiladas o en forma de copas, simples o repetidamente ramificados. Apotecios de tipo biatorinos convexos; los ascos son de forma claviforme, relativamente alargados, con 8 esporas simples, incoloras; desde fusiformes hasta ovaladas (Barreno & Pérez-Ortega, 2003) (Figura 9).



Figura 9. Representantes del género *Cladonia*.

3.3.1.4. *Menegazzia* A. Massal. (1854)

Clasificación: Ascomycota; Lecanoromycetes, Lecanorales; Parmeliaceae.

Nombre común: "liquen flauta de árbol" (Tree-flutes lichen).

Sinonimia: ND.

Distribución: con mayor frecuencia en latitudes templadas, particularmente en el Hemisferio Sur (Goward y col, 1994). Están representados en las regiones más australes de Chile, Argentina e Islas del Atlántico Sur (Bjerke y col, 2003).

Hábitat: crece en bosques de hojas caducas (Goward y col, 1994).

Fotobionte: algas clorofíceas (Chaves y col, 2009).

Descripción: talos foliosos pequeños, que presentan formas que van desde rosetas a irregulares, para favorecer la dispersión. Con lóbulos inflados y huecos. Su superficie superior generalmente presenta perforaciones, con o sin soledios, isidios o máculas; la superficie inferior está más o menos unida al sustrato. El apotecio es del tipo lecanorino. Las ascas son simples con formas elipsoidales, de paredes delgadas y presentan de 2 a 8 esporas (James & Galloway, 1992) (Figura 11).



Figura 11. Representante del género *Menegazzia*.

3.3.1.5. *Nephroma* Ach. (1809)

Clasificación: Ascomycota; Lecanoromycetes; Peltigerales; Nephromataceae.

Sinonimia: *Dermatodea* Ventenat 1799; *Nephromiomyces* Thomas ex Ciferri & Tomaselli 1953; *Nephromium* Nylander 1860; *Omatinephroma* Gyelnik 1934.

Nombre común: "liquen pata de gato" (Paw lichen).

Distribución: se desarrolla en zonas oceánicas, boreales, montañosas o templadas (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

Hábitat: crece sobre cortezas, rara vez sobre rocas ácidas (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

Fotobionte: algas verdes del género *Cocomyxa* y cianobacterias del género *Nostoc* (asociación tripartita) (Louwhoff, 2009a).

Descripción: talo folioso, con una gran variedad de lóbulos y con ambas superficies corticadas. Los lóbulos inicialmente están aplastados contra el sustrato y posteriormente levantan sus vértices y se extienden hacia el exterior (Louwhoff, 2009a). La cara inferior es de colores marrones o amarillo verdoso; sin ricinas y sin pseudocifelas (Barreno & Pérez-Ortega, 2003). Usualmente presenta cefalodios internos con cianobacterias cerca de la superficie interior o externamente en la superficie superior, con o sin isidios y soledios (Louwhoff, 2009a). Los apotecios son del tipo lecanorinos de color marrón, rojizo pálido u oscuro. Los ascos tienen 8 esporas (Louwhoff, 2009a) (Figura 12).



Figura 12. Representantes del género *Nephroma*.

3.3.1.6. *Ochrolechia* A. Massal (1852)

Clasificación: Ascomycota; Lecanoromycetes; Pertusariales; Ochrolechiaceae.

Sinonimia: *Korkir* Adanson 1763.

Nombre común: “liquen ojos de cangrejo” (Crab eyes lichen).

Distribución: cosmopolita (Chaves y col, 2009).

Hábitat: crecen en sustratos ácidos y en rocas (Barreno & Pérez-Ortega, 2003), en sitios abiertos o semiabiertos, en donde exista vegetación secundaria, a orillas de senderos y bosques primarios perturbados (Chaves y col, 2009).

Fotobionte: algas verdes clorocoides (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

Descripción: talos crustáceos, gruesos, lisos, verrugosos o fisurados; de formas variables e irregulares; claros, blancos, grises, cremas. Sin córtex superior o poco diferenciado. Apotecios lecanorinos con discos de gran diámetro, con colores rosados, amarillos o naranjas. Ascosporas de paredes gruesas, con 2 a 8 esporas grandes, simples, de pared gruesa (Barreno & Pérez-Ortega, 2003) (Figura 13).

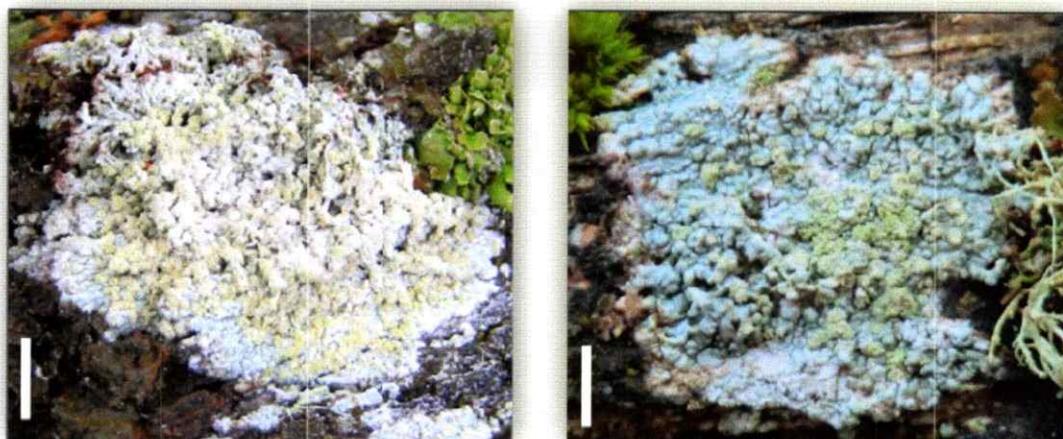


Figura 13. Representantes del género *Ochrolechia*.

3.3.1.7. *Parmelia* Ach. (1803)

Clasificación: Ascomycota; Lecanoromycetes; Lecanorales; Parmeliaceae.

Sinonimia: *Aspidelia* Stirton 1900; *Parmeliomyces* Thomas ex Ciferri & Tomas. 1953.

Nombre común: “lique escudo” (Shield lichen).

Distribución: cosmopolita, más frecuente en zonas boreales, ártico-alpinas o templadas (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

Hábitat: crecen en cortezas, maderas en descomposición, rocas, con formas de vida epífitas y saxícolas (Barreno y Pérez-Ortega, 2003).

Fotobionte: alga verde del género *Trebouxia* (Barreno y Pérez-Ortega, 2003).

Descripción: talo foliáceo, estratificado, con lacinias adheridas al sustrato por la cara inferior hasta cerca del margen, pero fácilmente separables cuando están húmedas. Superficie inferior uniforme, sin manchas, fibrosa. La cara superior generalmente es de color uniforme, con abundantes pseudocifelas que asemejan una red que se extiende por todo el talo (Barreno & Pérez-Ortega, 2003). Apotecios con disco color marrón, con

ascos de forma claviforme (Barreno & Pérez-Ortega, 2003) y esporas pequeñas, simples, hialinas, ovals, elípticas, dispuestas de 8 esporas en cada asco (Figura 14).

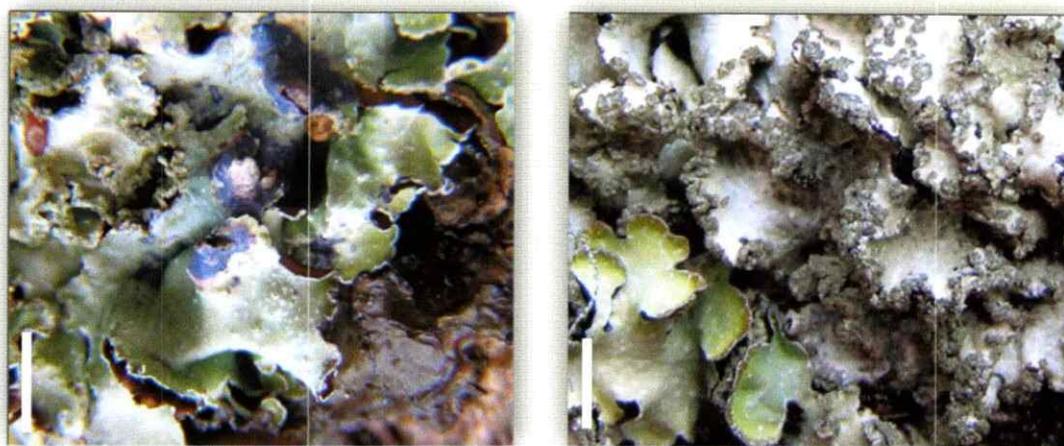


Figura 14. Representantes del género *Parmelia*.

3.3.1.8. *Parmotrema* A. Massal (1860)

Clasificación: Ascomycota; Lecanoromycetes; Lecanorales; Parmeliaceae.

Sinonimia: ND.

Nombre común: "Liquen alfombra dispersa" (Scatter-rug lichen).

Distribución: se encuentra en climas templados y tropicales (Goward y col, 1994).

Hábitat: generalmente crece en árboles y rara vez sobre rocas (Goward y col, 1994).

Fotobionte: alga verde (Goward y col, 1994).

Descripción: talos foliosos estratificados de tamaño medio, corticados en sus caras superior e inferior, pueden o no presentar soledios o isidios, con cilios espaciados, lóbulos parcialmente erectos. La superficie superior de color blanquecino a gris pálido. La superficie inferior se encuentra ennegrecida y presenta numerosas rizinas simples, con excepción del área marginal (Goward y col, 1994) (Figura 15).



Figura 15. Representante del género *Parmotrema*.

3.3.1.9. *Peltigera* Willd. (1787)

Clasificación: Ascomycota; Lecanoromycetes; Peltigerales; Peltigeraceae.

Sinonimia: *Antilyssa* Haller ex M. Choisy 1929; *Byrsalis* Necker ex Krempelhuber 1869; *Chloropeltis* Clements 1909, *Peltidea* Ach. 1803; *Peltideomyces* E.A. Thomas 1939; *Placodion* Adanson 1763.

Nombre común: "Liquen pellejo" (Pelt lichen).

Distribución: cosmopolita (O'Brien y col, 2009).

Hábitat: crecen generalmente en lugares húmedos, principalmente en lugares sombreados, en el suelo del bosque o junto a las carreteras. En su mayoría terrícolas, muscícolas, saxícolas o raramente cortícolas, de crecimiento rápido y con frecuencia se desarrollan en ecosistemas que han presentado perturbaciones (Louwhoff, 2009b).

Fotobionte: pueden formar dos tipos de asociaciones simbióticas según la especie. Bipartita con una cianobacteria (*Nostoc*) o un alga verde, o tripartita con un alga verde (*Coccomyxa*) como fotobionte principal distribuido por todo el talo y una cianobacteria (*Nostoc*) en estructuras externas (O'Brien y col, 2009).

Descripción: talos foliáceos, lobulados en forma de rosetas, con crecimiento irregular, llegando a cubrir grandes extensiones (Barreno & Pérez-Ortega, 2003; Louwhoff, 2009b). Los lóbulos pueden ser alargados, discretos, contiguos o solapados, con márgenes enteros o con incisiones (Barreno & Pérez-Ortega, 2003). La superficie superior es lisa, intacta o agrietada, con agujeros en forma de ampolla, de colores mates o brillantes. Los isidios o soledios están presentes o ausentes (Louwhoff, 2009b). En la cara inferior se pueden apreciar venas más o menos oscuras y rizinas ramificadas. Pueden desarrollar cefalodios externos, tanto en la cara superior como inferior. Los apotecios tienen discos marrones, castaños, o casi negros, redondeados u ovalados, planos o convexos (Barreno & Pérez-Ortega, 2003). Las ascosporas tienen una forma elipsoidal (Louwhoff, 2009b) (Figura 16).



Figura 16. Representantes del género *Peltigera*.

3.3.1.10. *Platismatia* W.L. Culb. & C.F. Culb. (1968)

Clasificación: Ascomycota; Lecanoromycetes; Lecanorales; Parmeliaceae.

Sinonimia: ND.

Nombre común: "Liquen andrajoso" (Ragged lichen).

Distribución: principalmente en climas templados (Goward y col, 1994).

Hábitat: crecen en árboles y arbustos, ocasionalmente sobre maderas, rara vez sobre rocas (Goward y col, 1994).

Fotobionte: algas verdes tipo *Trebouxia* (Barreno & Pérez-Ortega, 2003),

Descripción: talos foliosos estratificados de tamaño medio a grande (Goward y col, 1994), lóbulos radiales más o menos adheridos al sustrato, con márgenes ascendentes, ondulados o rizados. La cara superior de color gris, la cara inferior de color marrón claro hasta casi negro, con manchas irregulares cerca de los bordes, con pocas rizinas. Isidios y soledios marginales. Los apotecios son poco comunes, del tipo lecanorinos, marginales o submarginales (Barreno & Pérez-Ortega, 2003); las esporas son incoloras y son 8 por cada asco (Goward y col, 1994) (Figura 17).



Figura 17. Representantes del género *Platismatia*.

3.3.1.11. *Pseudocyphellaria* Vainio (1890)

Clasificación: Ascomycota; Lecanoromycetes; Peltigerales; Lobariaceae.

Sinonimia: *Cyanisticta* Gyelnik 1931; *Diphaeosticta* Clements 1909; *Diphanosticta* Clements 1909; *Merostictina* Clements 1909; *Parmostictina* Nylander 1875;

Phaeosticta Trevisan 1869; *Phanosticta* Clements 1909; *Podostictina* Clements 1909; *Saccardoia* Trevisan 1869; *Stictina* Nylander 1860.

Nombre común: "Liquen vientre moteado" (Specklebelly lichen).

Distribución: cosmopolita (Galloway y col, 2001), principalmente en las zonas australes de Argentina y Chile (Moncada & Forero, 2006)

Hábitat: crece en ramas, cortezas, suelo y roca. Presentes en bosques, matorrales, áreas de endemismo de *Nothofagus* y variadas gimnospermas (Galloway y col, 2001).

Fotobionte: fotobionte principal algas chlorófitas; cianobacterias, generalmente *Nostoc*, en cefalodios (asociación tripartita) (Moncada & Forero, 2006).

Descripción: talos foliáceos grandes, en forma de roseta irregularmente lacinado (Galloway y col, 2001). Superficie superior lisa, corrugada, o con vellos; con cefalodios, isidios, pseudocifelas, soledios o máculas (Galloway y col, 2001). La superficie ventral es acanalada y va del blanco al marrón oscuro. Los apotecios son del tipo lecanorinos, estriados, más o menos estrellados (Galloway y col, 2001). Las ascosporas son fusiformes y tienen hasta 2 septos, presentándose incoloras en etapas de inmadurez y coloreadas una vez maduras (Moncada & Forero, 2006) (Figura 18).



Figura 18. Representantes del género *Pseudocyphellaria*.

3.3.1.12. *Psoroma* Ach. Ex Michaux (1803)

Clasificación: Ascomycota: Lecanoromycetes; Peltigerales; Pannariaceae.

Sinonimia: *Phloeopannaria* Zahlbruckner 1941; *Psoromatomyces* Cif. & Tomas. 1953.

Nombre común: "Liquen cuenco" (Bowl Lichen).

Distribución: clima templado, principalmente del Hemisferio Sur (Goward y col, 1994).

Hábitat: crece sobre musgos u otros restos vegetales (Goward y col, 1994).

Fotobionte: alga del género *Myrmecia* como fotobionte principal, cefalodios con cianobacterias del género *Nostoc* (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

Descripción: talo celuloso, continuo, formado por escamillas aisladas o agrupadas. Las escamas pueden ser pequeñas, redondeadas, con margen festonado granuloso (Barreno & Pérez-Ortega, 2003). Se caracteriza por presentar una estructura estratificada tanto en la parte superior como inferior, sin soledios ni isidios, y con cefalodios externos (Goward y col, 1994). Los apotecios son de tipo lecanorinos (Barreno & Pérez-Ortega, 2003). Las esporas son de formas simples, elipsoidales o esféricas, sin color y 8 por asca (Goward y col, 1994) (Figura 19).



Figura 19. Representantes del género *Psoroma*.

3.3.1.13. *Tuckermannopsis* Gyeln. (1933)

Clasificación: Ascomycota: Lecanoromycetes; Lecanorales; Parmeliaceae.

Sinonimia: *Tuckermanopsis* Gyelnik 1933.

Nombre común: "Liquen tuquermanopsis" (*Tuckermannopsis* lichen).

Distribución: cosmopolita (Kirk y col, 2008).

Hábitat: crece sobre leños y cortezas ácidas, rara vez saxícola (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

Fotobionte: algas del género *Trebouxia* (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

Descripción: talos foliáceos, lobulados, de tamaño mediano; de colores castaño, marrón oliváceo o verdoso. Los lóbulos son ascendentes y rizados en el margen, es posible encontrar pseudocifelas y algunas rizinas en la cara inferior y cilios en los márgenes. Los apotecios son de tipo lecanorinos, con margen talino muy visible, brillante, que aparece en los extremos marginales de los lóbulos, se desarrollan en la cara inferior y luego quedan expuestos cuando los lóbulos se retuercen. Las esporas son de forma esférica (Barreno y Pérez-Ortega, 2003) (Figura 20).



Figura 20. Representante del género *Tuckermannopsis*.

3.3.1.14. *Usnea* Dill. ex Adans. (1763)

Clasificación: Ascomycota; Lecanoromycetes; Lecanorales; Parmeliaceae.

Sinonimia: *Eumitria* Stirton 1881; *Neuropogon* Nees & Flotow 1835; *Usneomyces* Thomas ex Ciferri & Tomaselli 1953.

Nombre común: "Liquen barba de viejo".

Distribución: cosmopolita (Goward, 1999).

Hábitat: en corteza o madera, pueden crecer en rocas (Goward, 1999; Articus, 2004).

Fotobiontes: algas del género *Trebouxia* (Goward, 1999; Articus, 2004)

Descripción: su morfología es extremadamente variable, con ecotipos de la misma especie muy diferentes (Articus, 2004); fruticulosos, estratificados, en manojos o con forma de cabellos; con ramas semi-erectas o colgantes. El córtex es de color amarillo verdoso, con pseudocifelas apicales. Son flexibles, sólidos, van desde poco a densamente ramificados, las ramas frecuentemente se dividen en principal y secundarias; soredios y/o isidios pueden estar presentes o ausentes; el apotecio del tipo lecanorino, produce esporas unicelulares, de forma elipsoide, incoloras, 8 esporas por asca (Goward, 1999; Articus, 2004) (Figura 21).



Figura 21. Representantes del género *Usnea*.

3.3.1.15. *Xanthoparmelia* (Vain.) Hale (1974)

Clasificación: Ascomycota; Lecanoromycetes; Lecanorales; Parmeliaceae.

Sinonimia: *Parmelia* sect. *Xanthoparmelia* Vain 1890.

Nombre común: “Liquen rana de roca” (Frogrock Lichen).

Distribución: cosmopolita (Goward y col, 1999).

Hábitat: crece en roca, suelo y madera (Goward y col, 1999).

Fotobiontes: clorófitas (Chaves y col, 2009).

Descripción: folioso, verde amarillento; lóbulos pequeños a medianos, apretados, semierectos; superficie inferior con rizinas abundantes, isidios frecuentes; apotecios con disco marrón (Chaves y col, 2009) (Figura 22).



Figura 22. Representantes del género *Xanthoparmelia*.

3.3.1.16. *Xanthoria* (Fr.) Th. Fr. (1860)

Clasificación: Ascomycota; Lecanoromycetes; Teloschistales; Teloschistaceae.

Sinonimia: *Blasteniospora* Trevisan 1853; *Parmocarpus* Trevisan 1861; *Placodium* Weber ex F. Wiggers 1780; *Xanthoriomyces* E. Thomas ex Ciferri & Tomaselli 1953.

Nombre común: “Liquen muro naranja” (Orange wall lichen).

Distribución: principalmente en climas templados (Goward y col, 1994).

Hábitat: crece sobre rocas básicas, cortezas y ocasionalmente huesos (Goward y col, 1994). Generalmente se desarrollan en hábitats con influencia antrópica (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

Fotobionte: algas verdes del género *Trebouxia* (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

Descripción: talos pequeños, foliáceos, lobulados (Goward y col, 1994); de color amarillo, naranja o rojo; adheridos al sustrato o parcialmente ascendentes, con lóbulos bien desarrollados. Su cara inferior es pálida, lisa, con rizinas. Los apotecios son de tipo lecanorinos, laminares y redondeados o irregulares; esporas incoloras y 8 por asca (Barreno & Pérez-Ortega, 2003) (Figura 23).



Figura 23. Representantes del género *Xanthoria*.

3.4. Identificación molecular de líquenes del Parque Karukinka

Cada una de las muestras identificadas sobre la base de caracteres morfológicos se analizó mediante análisis de secuencias utilizando los marcadores moleculares mencionados previamente en Materiales y Métodos. El DNA genómico se obtuvo a

partir de tejido de cada uno de los talos liquénicos recolectados. La calidad del DNA genómico extraído se verificó por electroforesis en geles de agarosa (Figura 24).



Figura 24. Electroforesis en gel de agarosa al 0,8% del DNA extraído de las muestras de líquenes del Parque Natural Karukinka. El primer carril contiene el marcador de tamaño molecular λ -HindIII (M), los siguientes carriles el DNA genómico de los líquenes L1 a L18.

Posteriormente, a partir del DNA genómico se amplificaron los marcadores moleculares rDNA 18S e ITS para cada una de las muestras. La amplificación de los marcadores se verificó mediante electroforesis en geles de agarosa. El tamaño esperado para los amplicones de cada marcador fue aproximadamente 1800 pb para el rDNA18S y 400-600 pb para el ITS (Figura 25).

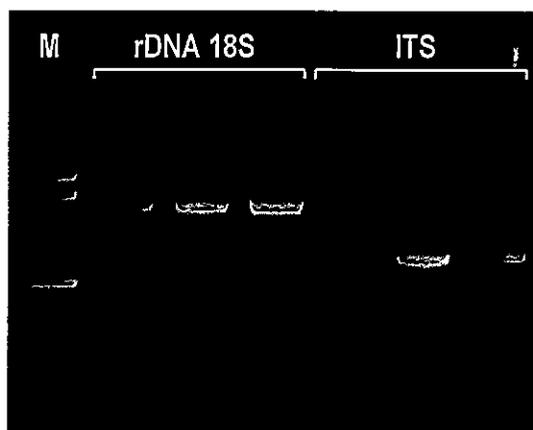


Figura 25. Electroforesis en gel de agarosa al 1,2% de los amplicones del marcador molecular rDNA18S (carriles 2, 3 y 4) y del marcador molecular ITS (carriles 5, 6 y 7). El primer carril contiene el marcador de tamaño molecular 100 bp (M). El DNA amplificado corresponde a los líquenes L1 a L3.

Los amplicones resultantes de ambos marcadores se secuenciaron en un sentido y las secuencias obtenidas se analizaron mediante la herramienta bioinformática BLAST-N, para compararlas con las existentes en la base de datos del NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Una vez realizado el análisis de secuencias (Tabla A2, Anexo), se evaluó la coincidencia de los resultados obtenidos a partir de los marcadores moleculares rDNA 18S e ITS, con la identificación morfológica, siendo esta última utilizada como un valor referencial de 100%.

En la Figura 26 se puede observar que mediante el análisis del marcador molecular rDNA 18S se verificó la identidad de un 50% de los líquenes identificados a nivel de género mediante sus características morfológicas; mientras que en el caso del marcador molecular ITS, la confirmación alcanzó un total de 70%. Al comparar las tres herramientas de identificación utilizadas, se confirmó la identidad a nivel de género de un 46% de los líquenes analizados.

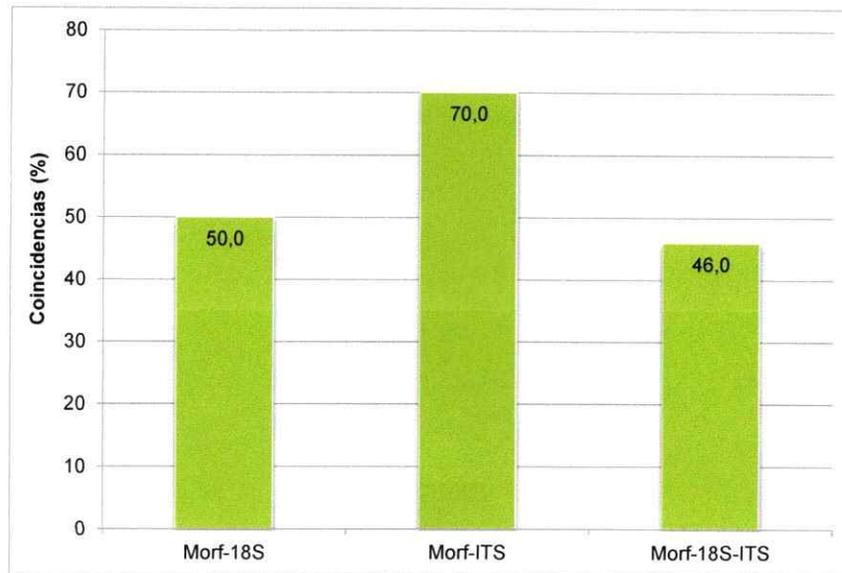


Figura 26. Coincidencias entre las diferentes herramientas usadas en la identificación de líquenes del Parque Natural Karukinka. **Morf:** identificación morfológica; **18S:** identificación molecular con secuencias del rDNA 18S; **ITS:** identificación molecular con secuencias de la región ribosomal intergénica.

Al realizar el análisis por género, la correspondencia entre la morfología y el marcador rDNA 18S es de un 100% para los géneros *Peltigera* (5/5) y *Ochrolechia* (4/4), disminuye a un 80% en el caso de *Nephroma* (4/5), a un 73% en el caso de *Pseudocyphellaria* (8/11), 67% para *Parmelia* (2/3), 50% para *Xanthoria* (1/2) y sólo un 17% para *Cladonia* (1/6). Los demás géneros no pudieron identificarse por el uso de este marcador (Figura 27).

Cuando se compara la identificación morfológica y la identificación molecular con el marcador ITS, las coincidencias alcanzan un 100% en el caso de *Peltigera* (5/5), *Calicium* (2/2), *Platismatia* (2/2) y *Tuckermannopsis* (1/1). Las coincidencias disminuyen a un 82% para *Pseudocyphellaria* (9/11), a un 80% en el caso de *Nephroma* (4/5), a un 75% para *Ochrolechia* (3/4), a un 67% para *Cladonia* (4/6),

Parmelia (2/3) y *Usnea* (2/3), y a un 50% en el caso de *Xanthoria* (1/2). Los demás géneros no pudieron identificarse con este marcador (Figura 27).

Los géneros que se identificaron coincidentemente con las tres herramientas fueron *Peltigera* (100%, 5/5), *Nephroma* (80%, 4/5), *Ochrolechia* (75%, 3/4), *Pseudocyphellaria* (73%, 8/11), *Parmelia* (67%, 2/3) y *Xanthoria* (50%, 1/2).

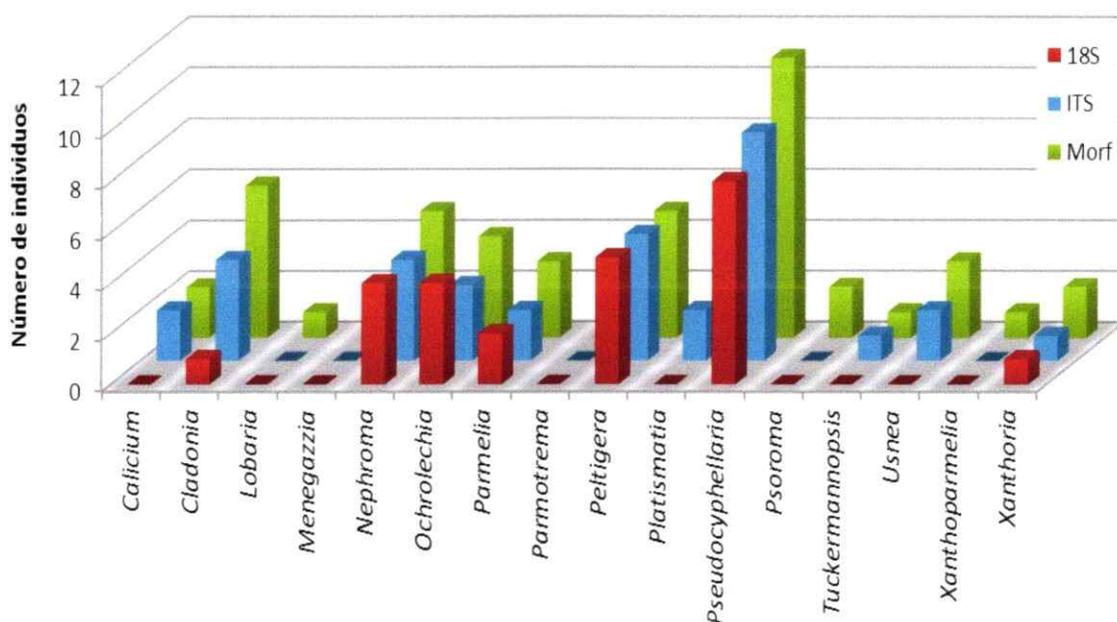


Figura 27. Coincidencias entre las diferentes herramientas usadas en la identificación de líquenes del Parque Natural Karukinka a nivel de género. Morf: identificación morfológica; 18S: identificación molecular con secuencias del rDNA 18S; ITS: identificación molecular con secuencias de la región ribosomal intergénica.

4. DISCUSIÓN



4.1. Evaluación de las herramientas utilizadas en la identificación de líquenes

Al realizar un análisis exhaustivo, en función de las herramientas utilizadas en el proceso de identificación morfológica de los individuos recolectados, hay que considerar que la convergencia o divergencia de caracteres generan dificultades en el proceso de individualización de estos organismos (Crespo & Pérez-Ortega, 2009). Esta situación se deriva de la variabilidad morfológica dentro de una misma especie, la cual puede verse influenciada por el hábitat o la interacción simbiótica de ambos simbiosomas (Grube & Hawksworth, 2007).

En este sentido, la aplicación de herramientas moleculares en la identificación de hongos formadores de líquenes se ha convertido en una poderosa herramienta de análisis (Anderson y col, 2003). No obstante, se hace necesario el uso de más de un marcador molecular, con la finalidad de hacer más robusto el análisis. Por ejemplo, la subunidad ribosomal pequeña rDNA 18S, permite una identificación a nivel de género o familia, debido a la relativa baja variación de estos genes entre las especies que se encuentran fuertemente relacionadas (Hugenholtz & Pace, 1996). Este gen es un buen marcador molecular, debido a la existencia de un gran número de secuencias de referencia en las bases de datos, particularmente de Ascomycota y Basidiomycota (Schüßler y col, 2010), grupos a los cuales pertenecen la mayor parte de los hongos liquenizados. Por su parte, las regiones no codificantes del rDNA, como es el caso de los ITS, están sometidos a una rápida evolución, lo que genera una alta variabilidad entre especies fuertemente relacionadas (Anderson & Cairney, 2004), por lo que estas regiones proveen una mayor resolución taxonómica (Anderson y col, 2003; Lord y col, 2003). Los ITS son secuencias blanco muy utilizadas en muestras ambientales y

facilitan el análisis por estar presentes en un número promedio superior a 250 copias por célula, sobre todo cuando existen pequeñas cantidades de DNA molde (Vilgalys & González, 1990). Además, se encuentran más de 100.000 secuencias ITS en las bases de datos, las que permiten poder realizar la identificación de estos micobiontes (Nilsson y col, 2009).

Algunos autores, han señalado que el uso de herramientas moleculares para la identificación de DNA de los hongos formadores de líquenes, presenta dificultades debido a diferentes factores. Entre ellos se encuentra la metodología de extracción de DNA, la cual puede influir en los análisis posteriores debido a variables como calidad y pureza de éste (Anderson & Cairney, 2004), ya que este tipo de muestras presentan una gran abundancia de inhibidores enzimáticos, como polisacáridos y compuestos fenólicos, lo cuales podrían afectar la eficiencia de la amplificación por PCR (Tebbe & Vahjen, 1993; Cubero y col, 1999; Martin-Laurent y col, 2001). No obstante, en este trabajo se logró purificar DNA amplificable por PCR de todas las muestras analizadas. Asimismo, existen otras limitaciones características de este tipo de métodos, entre las cuales se encuentran posibles contaminaciones asociadas a excesos de partidores, dNTPs, dímeros y otro tipo de artefactos que pudieran participar en la formación de estructuras secundarias en las hebras de DNA. Además, la presencia de DNA contaminante, sobre todo considerando que los líquenes son muestras de tipo ambiental y existen otros hongos, además del micobionte principal, que establecen distintos tipos de interacciones con el liquen en estudio (Hawksworth, 1989; Lawrey y col, 2007; Arnold y col, 2009; U'Ren y col, 2010; Bathes y col, 2012), los cuales pueden alterar los resultados. Incluso se han reportado en la literatura limitaciones asociadas al grado de especificidad de los partidores en relación a los organismos de interés (Hagn y col, 2003; Anderson & Cairney, 2004).

Actualmente, los avances en los procedimientos de purificación del DNA desde muestras complejas, permiten obtener material de mejor calidad. Además, el incremento en las bases de datos de secuencias de hongos liquenizados, permite diseñar partidores más específicos para este tipo de organismos. Sin embargo, la mayor dificultad se encuentra en la etapa de análisis de las secuencias, ya que para la identificación se utiliza la información existente en bases de datos, las cuales pueden poseer secuencias asociadas a un organismo mal identificado morfológicamente. Por otra parte, también hay líquenes que están escasamente representados en las bases de datos, por lo tanto, la secuencia en estudio aparecerá asociada a un organismo menos relacionado. Esto, sumado a la capacidad propia de la herramienta de generar gaps en las secuencias durante las comparaciones (Altschul, 1997), podría llevar a provocar identificaciones erróneas. Algo similar estaría ocurriendo con la herramienta de alineamiento Clustal X, ya que al realizar el alineamiento de las secuencias, el programa puede presentar dificultades en distinguir entre una buena y mala alineación de las regiones de forma rápida y fiable, por lo que algunos segmentos de las secuencias deben ser eliminados para poder realizar el análisis adecuado (Thompson y col, 1997).

No obstante, a pesar de las limitantes, el uso de estas herramientas moleculares ha generado un gran impacto en la identificación y clasificación de organismos (Crespo & Pérez-Ortega, 2009), ya que están basadas no sólo en la comparación de las secuencias con aquellas más relacionadas, sino que también se puede realizar análisis filogenéticos que permiten respaldar y corroborar la taxonomía clásica basada en caracteres fenotípicos (Hawksworth & Rossman, 1997; Grube & Hawksworth, 2007).

A partir de la identificación inicial utilizando características morfológicas, se pudo observar que mediante el análisis del marcador molecular rDNA 18S se verificó la identidad de un 50% de los líquenes identificados a nivel de género; mientras que en el caso del marcador molecular ITS, la confirmación alcanzó un total de 70%.

Los resultados de la identificación mediante herramientas morfológicas y moleculares, fueron coincidentes para la mayoría de las muestras asociadas con los géneros *Nephroma*, *Pseudociphellaria*, *Ochrolechia*, *Parmelia*, *Peltigera* y *Xanthoria*, lo que podría asociarse a la existencia, en las bases de datos, de un mayor número de secuencias asociadas a estos géneros. No obstante, en el caso de *Calicium*, *Tuckermannopsis*, *Usnea*, *Cladonia* y *Platismatia*, la identificación morfológica coincidió solamente con la identificación mediante el marcador ITS; esto puede ser atribuible a que éste es un marcador que presenta una alta tasa de variabilidad, permitiendo diferenciar de mejor manera entre los distintos géneros. En el caso de las muestras asociadas durante la identificación morfológica a los géneros *Xanthoparmelia*, *Menegazzia*, *Parmotrema*, *Lobaría* y *Psoroma*, éstas no tuvieron coincidencia con la información que fue entregada por ambos marcadores moleculares, lo que puede deberse a una inadecuada representación de las secuencias de estos géneros en la base de datos disponibles.

Como se mencionó anteriormente, los líquenes se consideran uno de los grupos de organismos que presentan importantes dificultades para el reconocimiento taxonómico (Grube & Kroken, 2000; Crespo & Pérez-Ortega, 2009), existiendo las denominadas especies *crípticas* (Lumbsch & Leavitt, 2011), las cuales no poseen características morfológicas diferenciadoras que permitan su identificación y asignación taxonómica, y las *especies pares*, las cuales presentan diferentes formas de reproducción a pesar de que en reconstrucciones filogenéticas se encuentra que

pertenecen a un mismo linaje. Posiblemente debido en parte a estas dificultades, en muchas partes del mundo han sido poco estudiados. En el sur de Chile, aunque ciertos grupos han sido específicamente estudiados (e.g. Jorgensen, 2004; Stenroos & Ahti, 1990; Adler & Calvelo, 2002; Elvebakk & Morberg, 2002; Bjerke y col, 2003; Passo & Calvelo, 2011), muchos grupos son poco conocidos, probablemente por los pocos expertos existentes en el país. En otros grupos "sub-estudiados", tales como insectos o la meiofauna del suelo, una aproximación de "barcoding", o código de barras, ha sido exitosamente aplicada como un primer paso para determinar la diversidad de un sitio (e.g. Markmann & Tautz, 2005; Janzen y col, 2005; Smith y col, 2005; Rach y col, 2008; Ferri y col, 2009). En el caso de los líquenes, también se ha reportado la aplicación exitosa del "barcoding" en una aproximación florística (Kelly y col, 2011), utilizando como marcador molecular el ITS, el código de barras estándar de hongos en general, incluyendo lo hongos formadores de líquenes (Schoch y col, 2012).

Sin embargo, dadas las limitantes antes mencionadas en cuanto a las herramientas moleculares, la identificación morfológica no debería ser descartada como una herramienta válida durante el proceso de identificación; más aún considerando la necesidad de contar con estos antecedentes en el trabajo de campo.

4.2. Representantes de Macrolíquenes en el Parque Natural Karukinka

La diversidad líquénica documentada en el Parque Karukinka en investigaciones previas, indica que en los bosques de *Nothofagus pumilio* y *Nothofagus betuloides*, hay una predominancia de géneros de hongos liquenizados como *Menegazzia*, *Pseudocyphellaria* y *Psoroma* (Forestal Trillium Ltda., 1997). Esto concuerda con lo encontrado en este trabajo, en donde 11 de los 50 morfotipos recolectados fueron atribuibles al género *Pseudocyphellaria*, 2 al género *Psoroma* y 1 al género

Menegazzia. Además, se identificaron los géneros *Calicium*, *Cladonia*, *Lobaria*, *Nephroma*, *Ochrolechia*, *Parmelia*, *Parmotrema*, *Peltigera*, *Platismatia*, *Tuckermannopsis*, *Usnea*, *Xanthoparmelia* y *Xanthoria*.

Al comparar la representatividad de géneros encontrados en los 2 sitios de recolección, es importante destacar que fue posible diferenciar un número mayor de macrolíquenes en los bosques maduros de *Nothofagus sp.*, donde fue posible distinguir 45 morfotipos de hongos liquenizados, al contrario de lo ocurrido en las turberas, en los cuales solo fue posible individualizar 5 morfotipos de macrolíquenes. Esto confirma la importancia de la conservación de la integridad de los bosque nativos, los cuales que permiten el desarrollo de una gran variedad de estos simbioses.

4.3. Proyecciones del estudio de diversidad de líquenes

Los principales esfuerzos conservacionistas de las especies liquénicas deberían estar enfocados en la mantención de la calidad, conectividad y tamaño del hábitat, incluyendo los cambios de uso del paisaje que se relacionan directamente con la pérdida y degradación del mismo, lo cual sería una importante causa de la declinación de la diversidad de líquenes (Scheidegger & Werth, 2009).

La realización de una guía de campo como producto de este estudio, cobra relevancia ya que representa un aporte a la difusión de estos sistemas simbióticos a nivel general, y sirve también como base para aquellos profesionales que sin tener necesariamente la especialización en el área, puedan utilizar la información otorgada.

Esta información, podría además ser utilizada en actividades de ecoturismo, sector de la economía nacional vinculada con la biodiversidad y el paisaje que ha ido en aumento en los últimos años en Chile (SERNATUR, 2010). Esta industria turística en áreas verdes, tiene un componente de educación ambiental y como tal se propone

como una herramienta para la conservación y uso sustentable de los bosques, a la vez que permitiría generar ingresos y beneficios económicos para las comunidades que viven en la región.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Adler M, Calvelo S (2002) Parmeliaceae species (lichenized Ascomycetes) from Tierra del Fuego (southern South America) and their world distribution patterns. In: Thell A, Feuerer T (eds). Biodiversity and Ecology Proceedings of the Fourth Meeting of Latin American Lichenologists. GLAL-4. Mitteilungen aus dem Institut für Allgemeine Botanik, Hamburg 30-32: 9-24.
- Ahmadjian, V. 1993. The Lichen Symbiosis. John Wiley & Sons, NY.
- Altschul, S.F., Madden, T.L., Schäffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller W., y Lipman, D.J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25: 3389-3402.
- Anderson, I.C. Campbell, C.D, y Prosser, J.I. 2003. Potential bias of fungal 18S rDNA and internal transcribed spacer polymerase chain reaction primers for estimating fungal biodiversity in soil. *Environmental Microbiology* 5: 36-47.
- Anderson, I.C., y Cairney, J.W.G. 2004. Diversity and ecology of soil fungal communities: increased understanding through the application of molecular techniques. *Environmental Microbiology* 6: 769-779.
- Arroyo M.T.K., Donoso, C., Murúa, R., Pisano, E., Serey, I.A., Schlatter, R.P., Murúa, R., y Armesto J. 1995. Resumen del Informe de la Comisión Científica Independiente: Recomendaciones ecológicas para el proyecto forestal Río Cóndor. *Ambiente y Desarrollo X*: 75-63.
- Articus, K. 2004. Phylogenetic Studies in *Usnea* (Parmeliaceae) an allied genera. *Acta Universitatis Upsaliensis. Comprehensive summaries of Uppsala dissertations from the Faculty of Science and Tecnology* 931. pp. 120. Uppsala.
- Barreno, E. y Pérez-Ortega, S. 2003. Líquenes de la reserva natural integral de Muniellos, Asturias. pp 595. *En: Consejería de Medio Ambiente, Ordenación Territorial e Infraestructura del Principado de Asturias (Eds.).* Krk Ediciones, Asturias.
- Barreno, E. y Rico, V.J. 1984. Sobre la biología de los líquenes I. Anatomía, morfología y estructuras vegetativas. *Anales de Biología* 161-195.
- Bates, S.T., Cropsey, G.W.G., Caporaso, J.G., Knight, R., y Fierer, N. 2011. Bacterial communities associated with the lichen symbiosis. *Applied and Environmental Microbiology* 77: 1309-1314.
- Bellemain, E., Carlsen, T., Brochmann, C., Coissac, E., Taberlet, P., y Kausrud, H. 2010. ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in silico approach reveals potential PCR biases. *BMC Microbiology* 10: 189.
- Bermúdez de Castro, F., Müller, A., y Schmitz, M.F. 1990. Líquenes fijadores de nitrógeno atmosférico. *Ecología* 4: 131-141.

- Bjerke, A., Elvebakk, A., y Quilhot, W. 2003. Distribution and habitat ecology of the sorediate species of *Menegazzia* (Parmeliaceae, lichenized Ascomycota) in Chile. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 76: 79-98.
- Bruns, T.D. 2001. ITS reality. *Inoculum* 52: 2-3.
- Büdel, B., y Scheidegger, C. 2008. Thallus morphology and anatomy. *In*: Nash, T.H. (ed), *Lichen biology*. pp 40-68. Cambridge University Press, Cambridge.
- Caldiz, M.S., y Brunet, J. 2006. Litterfall of epiphytic macrolichens in *Nothofagus* forests of northern Patagonia, Argentina: relation to stand age and precipitation. *Austral Ecology* 31: 301-309.
- Chaparro, M. y Aguirre, J. 2002. *Hongos Liquenizados*. pp. 220. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Bogotá.
- Chaves, J.L., Lücking, R., Sipman, H., y Umaña, L. 2009. Géneros de líquenes tropicales: con énfasis en taxones Neotropicales. *In* BIO (web: <http://www.inbio.ac.cr/papers/liquenes/>).
- Coutiño, B. y Montañez, A.L. 2000. Los Líquenes. *Ciencias* 59: 64-65.
- Crespo, A., Blanco, O., Cubero, O.F., Molina M.C. y Cubas P. 1999. Técnicas y métodos para la iniciación en el estudio de la evolución con aplicaciones especiales para el análisis de hongos liquenizados. *Botanica Complutensis* 23: 13-51.
- Crespo, A., y Pérez-Ortega, S. 2009. Cryptic species and species pairs in lichens: A discussion on the relationship between molecular phylogenies and morphological characters. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 66S1: 71-81.
- Cubero, O.F., Crespo, A., Fatehi, J., y Bridge P.D. 1999. DNA Extraction and PCR amplification method suitable for fresh, herbarium stored and lichenized fungi. *Plant Systematics and Evolution* 216: 243-249.
- Elvebakk, A. y Morberg, R. 2002. Foliose and placodioid species of the lichen family Physciaceae in southernmost Chile. *Lichenologist* 34:311-320.
- Ferri, E., Barbuto, M., Bain, O., Galimberti, A., Uni, S., Guerrero, R., Ferté, H., Bandi C, Martin C, Casiraghi M (2009) Integrated taxonomy: traditional approach and DNA barcoding for the identification of filarioid worms and related parasites (Nematoda). *Front Zool* 6:1
- Forestal Trillium Ltda. 1997. Proyecto Forestal Río Cóndor. Estudio de Impacto Ambiental. Dames & Moore.
- Galloway, D. 1992b. Studies in *Pseudocyphellaria* (lichens) III. The South American species. *Bibliotheca Lichenologica* 46: 1-275.
- Galloway, D. 1994. Studies on the lichen genus *Sticta* (Schreb.) Ach.: I. Southern South American species. *Lichenologist* 26: 223-282.

- Galloway, D. 2008. Godley Review Austral lichenology: 1690–2008. *New Zealand Journal of Botany* 46: 433-521.
- Galloway, D.J., Kantvilas, G., y Elix, J.A. 2001. *Pseudocyphellaria*. *Fl. Australia* 58A: 47-77.
- Gargas, A., DePriest, P.T., Grube, M. y Tehler, A. 1995. Multiple origins of lichen symbioses in fungi suggested by SSU rDNA phylogeny. *Science* 268: 1492-1495.
- GBIF. 2012. Global diversity information facility. (web:<http://www.gbif.org>).
- Goward, T. 1999. The lichens of British Columbia. Part 3-Fructicose Species. Research Program Ministry of Forest. Crown Publications Victoria.
- Goward, T., MaCune, B., y Meidinger, D. 1994. The lichens of British Columbia. Part 1-Foliose and Squamulose Species. Research Program Ministry of Forest. Crown Publications Victoria.
- Grube, M., y Hawksworth, D.L. 2007. Trouble with lichen: the re-evaluation and re-interpretation of thallus form and fruit body types in the molecular era. *Mycological Research* 111: 1116-1132.
- Grube, M. y Kroken, S. 2000. Molecular approaches and the concept of species and species complexes in lichenized fungi. *Mycol. Res.* 104:1284-1294.
- Guzmán, G., Quilhot W, y Galloway D. 1990. Decomposition of species of *Pseudocyphellaria* and *Sticta* in a southern Chile forest. *Lichenologist* 22: 325-331.
- Hagn, A., Pritsch, K., Ludwig, W., Schloter, M. 2003. Theoretical and practical approaches to evaluate suitable primer sets for the analysis of soil fungal communities. *Acta Biotechnologica* 23: 373-381.
- Hale, M., Barrick, J., Cawley, E. y Jaques, W. 1979. How to know the lichens. McGraw-Hill 2nd edition.
- Hawksworth, D.L. 1989. Interacciones hongo-alga en simbiosis líquénicas y líquenoides. *Anales Jard. Bot. Madrid.* 46: 235-247.
- Hawksworth, D.L., y Rossman, A.Y. 1997. Where are all the undescribed fungi?. *Phytopathology* 87: 888-891.
- Honegger R. 1996. Mycobionts. *In: Lichen biology.* Nash T.H. (ed). Cambridge University Press, Cambridge.
- Honegger, R. 1991. Functional aspects of the lichen symbiosis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42: 553-578.
- Honegger, R. 1993. Tansley Review No. 60. Developmental biology of lichens. *New Phytologist* 125: 659-677.
- Hopple, J.S., y Vilgalys, R. 1999. Phylogenetic relationships in the mushroom genus *Coprinus* and dark-spored allies based on sequence data from the nuclear

- gene coding for the large ribosomal subunit RNA: divergent domains, outgroups and monophyly. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 13: 1-19.
- Horton, T.R., y Bruns, T.D. 2001. The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Molecular Ecology* 10: 1855-1871.
- Hugenholtz, P., y Pace, N.R. 1996. Identifying microbial diversity in the natural environment: a molecular phylogenetic approach. *Trends in Biotechnology* 14: 190-197.
- Illana-Esteban, C. 2009. Lichens used in traditional medicine. *Bol. Soc.Micol. Madrid* 36: 163-174.
- James, P.W., y Galloway D.J. 1992. *Menegazzia*. *Flora of Australia* 54: 213-246.
- Janzen, D.H., Hajibabaei, M., Burns, J.M., Hallwachs, W., Remigio, E. y Hebert, P.D.N. (2005) Wedding biodiversity inventory of a large and complex Lepidoptera fauna with DNA barcoding. *Phil Trans R Soc B* 360:1835-1845.
- Jorgensen. P.M. 2004. Further contributions to the Pannariaceae (lichenized Ascomycetes) of the Southern Hemisphere. In: Döbbeler P, Rambold G (eds), *Contributions to Lichenology. Festschrift in Honour of Hannes Hertel. Bibliotheca Lichenologica*, J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger, Berlin, Stuttgart, pp 229-253.
- Kelly, L.J., Hollingsworth, P.M., Coppins, B.J., Ellis, C.J., Harrold, P., Tosh, J. y Yahr, R. 2011. DNA barcoding of lichenized fungi demonstrates high identification success in a floristic context. *New Phytol* 191:288-300.
- Khakhina, L.N., y Margulis L. 1993. *Concepts of symbiogenesis: History of symbiosis as an evolutionary mechanism*. Yale University Press, New Haven, USA.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W. y Stalpers, J.A. 2008. *Dictionary of the Fungi*. 10th ed. Wallingford, UK: CABI. pp. 709.
- Kneip, C., Lockhart, P., Voss, C, y Maier, U.G. 2007. Nitrogen fixation in eukaryotes- new models for symbiosis. *BMC Evolutionary Biology* 7: 55.
- Larson, D. W. 1987. The absorption and release of water by lichens. *Bibliotheca Lichenologica* 25: 351-360.
- Lawrey, J.D. 1984. *Biology of Lichenized Fungi*. Praeger, New York.
- Lawrey, J.D., Binder, M., Diederich, P., Molina, M.C., Sikaroodi M., y Ertz D. 2007. Phylogenetic diversity of lichen-associated homobasidiomycetes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 778-789.
- Lord, N.S., Kaplan, C.W., Shank, P., Kitts, C.L., y Elrod, S.L. 2002. Assessment of fungal diversity using terminal restriction fragment (TRF) pattern analysis: comparison of 18S and ITS ribosomal regions. *FEMS Microbiology and Ecology* 42: 327-337.

- Louwhoff, S.H.J.J. 2009a. Nephromataceae, Fl. Australia 57: 423-427.
- Louwhoff, S.H.J.J. 2009b. Peltigeraceae, Fl. Australia 57: 428-446.
- Lumbsch, H.T., y Leavitt, S.D. 2011. Goodbye morphology? A paradigm shift in the delimitation of species in lichenized fungi. *Fungal Diversity* 55: 9-72.
- Margulis, L., y Barreno, E. 2003. Looking at lichens. *Bioscience* 53: 776-778.
- Markmann, M. y Tautz, D. 2005. Reverse taxonomy: an approach towards determining the diversity of meiobenthic organisms based on ribosomal RNA signature sequences. *Phil Trans R Soc B* 360:1917-1924
- Martin, K.J., y Rygiewicz, P.T. 2005. Fungal-specific PCR primers developed for analysis of the ITS region of environmental DNA extracts. *BMC Microbiology* 5: 28.
- Martínez, I., Belinchón, R., Otárola, M.G., Aragón, G., Prieto, M., y Escudero, A. 2011. Efectos de la fragmentación de los bosques sobre los líquenes epífitos en la Región Mediterránea. *Ecosistemas* 20: 54-67.
- Martin-Laurent, F., Philippot, L., Hallet, S., Chaussod, R., Germon, J.C., Soulas, G., y Catroux, G. 2001. DNA extraction from soils: old bias for new microbial diversity analysis methods. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 2354-2359.
- Menegoz, K. 2010. Conocimiento, uso y valoración de la flora vascular de Tierra del Fuego, el ejemplo de Karukinka. Memoria de Título. Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal y École d'Ingénieurs de Purpan.
- Mitchell, J., y Zuccaro, A. 2006. Sequences, the environment and fungi. *Mycologist* 20: 62-74.
- MMA. 2011. Biodiversidad. *En: Informe del Estado del Medio Ambiente*. Ministerio del Medio Ambiente. pp. 245-318.
- Moncada, B., y Forero, E. 2006. El género *Pseudocyphellaria* Vain. (Lobariaceae - Ascomycetes liquenizados) en Colombia. *Caldasia* 28: 197-215.
- MSU Herbarium. 2012. Documenting Diversity. Michigan State University. (<http://herbarium.msu.edu/>).
- Mycobank. 2012. Fungal databases nomenclature and species banks International Mycobiological Association. (web: <http://www.mycobank.org>).
- Narayan, S., y Blswas M. 2011. Evaluation of antibacterial activity of some lichen from Ravangla, Sikkim, India. *Int J Pharm. Bio. Sci.* 2: B23-B28.
- Nash, T.H. 2008. Introduction. *In: Nash, T.H (ed), Lichen biology*. pp. 1-8. Cambridge University Press, Cambridge.

- Nilsson, R., Ryberg, M., Abarenkov, K., Sjökvist, E., y Kristiansson, E. 2009. The ITS region as a target for characterization of fungal communities using emerging sequencing technologies. *FEMS Microbiology Letters* 296: 97-101.
- Passo, A. y Calvelo, S. 2011. *Pannaria byssoidea* (Pannariaceae), a new squamulose species from Southern South America. *The Bryologist* 114:756-763.
- Pisano, E. 1977. Fitogeografía de Fuego - Patagonia chilena I - Comunidades vegetales entre las latitudes 52° y 56°S. *Anales del Instituto de la Patagonia*. 8: 121-250.
- Printzen, C. 2010. Lichen systematics: The role of morphological and molecular data to reconstruct phylogenetic relationships. *Progress in Botany* 71: 233-275.
- Quilhot, W., Pereira, I., Guzmán, G., Rodríguez, R., y Serey, I. 1998. Categorías de conservación de líquenes nativos de Chile. *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural* 47: 9-22.
- Rach, J., DeSalle, R., Sarkar, I.N., Schierwater, B. y Hadrys, H. 2008 Character-based DNA barcoding allows discrimination of genera, species and populations in Odonata. *Proc R Soc B* 275:237-247.
- Rozzi, R., Draguicevic, J.M., Arango, X., Sherriffs, M., Ippi, S., Anderson, C., Acevedo M., McGehee, S., Plana, J., Cortés, E., y Massardo F. 2005. Desde la ciencia hacia la conservación: el programa de educación y ética ambiental del Parque Etnobotánico Omora. *Ambiente y Desarrollo XXI*: 20-29.
- Rozzi, R., Massardo, F., Silander, J., Anderson, C., Dollenz, O., y Marin, A. 2003. El Parque Etnobotánico Omora: una alianza público-privada para la conservación biocultural en el confín del mundo. *Ambiente y Desarrollo XIX*: 43-55.
- Rudolphi, J., y Gustafsson L. 2011. Forests regenerating after clear-cutting function as habitat for bryophyte and lichen species of conservation concern. *PLoS ONE* 6: e18639.
- Saavedra, B. 2006. Karukinka, nuevo modelo para la conservación de biodiversidad. *Ambiente y Desarrollo* 22: 21-27.
- Sanders, W.B. 2001. Lichens: The interface between mycology and plant morphology. *BioScience*. 51:1025-1036.
- Scheidegger, C., y Werth, S. 2009. Conservation strategies for lichens: insights from population biology. *Fungal Biology Reviews* 23: 55-66.
- Schoch, C.L., Seifert, K.A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J.L., Levesque, C.A., y Chen, W. 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *PNAS*. 109: 6241-6246.
- Seaward, M.R.D. 2008. Environmental role of lichens. *In*: Lichen biology. Nash T.H. (ed). pp. 274-295. Cambridge University Press, Cambridge.

- SERNATUR (Servicio Nacional de Turismo). 2010. Turismo, Informe Anual 2009. Santiago de Chile. pp.112.
- Seymour, F.A., Crittenden, P.D y Dyer, P.D. 2005. Sex in the extremes: lichen-forming fungi. *Mycologist* 19: 51-58.
- Smit, E., Leeflang, P., Glandorf, B., van Elsas, J.D., y Wernars, K. 1999. Analysis of fungal diversity in the wheat rhizosphere by sequencing of cloned PCR-amplified genes encoding 18S rRNA and temperature gradient gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 2614-2621.
- Smith MA, Fisher BL, Hebert P.D.N.2005. DNA barcoding for effective biodiversity assessment of a hyperdiverse arthropod group: the ants of Madagascar. *Phil Trans R Soc B* 360:1825-1834.
- Stenroos S, Ahti, T. 1990. The lichen family Cladoniaceae in Tierra del Fuego: problematic or otherwise noteworthy taxa. *Ann Bot Fenn* 27:317-327
- Tebbe, C.C., y Vahjen, W. 1993. Interference of humic acids and DNA extracted directly from soil in detection and transformation of recombinant DNA from bacteria and a yeast. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 2657-2665.
- Tehler, A. 1996. Systematics, phylogeny and classification. *In: Lichen biology*. Nash TH (ed). Cambridge University Press, Cambridge.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., y Higgins, D.G. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 24: 4876-4882.
- Toledo, F., García A., León F. y Bermejo, J. 2004. Ecología química en hongos y líquenes. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias* 28: 509-528.
- U'Ren, J., Lutzoni, F., Miadlikowska, J., y Arnold, A.E. 2010. Community analysis reveals close affinities between endophytic and endolichenic fungi in mosses and lichens. *Microbial Ecology* 60: 340-353.
- Valdés A. 2012. Estimación del contenido y balance de carbono en un bosque de *Nothofagus pumilio* y una turbera de *Sphagnum magellanicum* en Tierra del Fuego, Chile. Seminario de Título de Biólogo mención Medio Ambiente. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile.
- Vilgalys, R., y González, D. 1990. Organization of ribosomal DNA in the Basidiomycete *Thanatephorus praticola*. *Current Genetics* 18: 277-280.
- WCS-CHILE. 2007. Valor ecológico del Parque Natural Karukinka, Ecosistemas. <[en línea]> <http://www.karukinkanatural.cl/valor-ecologico.htm>.
- White, T.J., Bruns, T.D., Lee, S., y Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal DNA genes for phylogenetics. pp 315-322. *In: M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J. (Eds), PCR protocols: A guide to methods and applications*. Academic Press, New York.

ANEXO

Clave Taxonómica



1 Talos crustosos, con íntima unión al sustrato a través de las hifas de la cara inferior (Chaparro & Aguirre, 2002), no poseen córtex inferior y carecen de verdadero córtex superior. Se extienden sobre el sustrato, con un fino micelio que engloba todo el fotobionte. Este biotipo puede crecer y engrosarse llegando a ocupar grandes

superficies.....**Líquenes crustosos**

1A Crecen en cortezas secas, madera, rara vez sobre rocas..... **1A1**

1B Crecen en sustratos ácidos y en rocas (Barreno & Pérez-Ortega, 2003), en sitios abiertos o semiabiertos, en donde exista vegetación secundaria, a orillas de senderos y bosques primarios perturbados..... **1B1**

1A1 Granulosos, verrugosos, con colores que van desde los grises hasta amarillos pálidos o verdes oscuros, apotecios tipo mazedios presentan forma de copa y constituidos por hifas irregularmente entremezcladas más o menos carbonizadas (Barreno & Pérez-Ortega, 2003); ascos con formas que van desde cilíndricos hasta más o menos claviformes, esporas de color marrón oscuro y ornamentadas, las cuales forman una masa negra al desprenderse (Barreno & Pérez-Ortega, 2003)..... **Calicium**

1B1 Gruesos, lisos, verrugosos o fisurados, en general de formas muy variables e irregulares; de colores claros, blancos, grises, cremas; sin córtex superior o en caso de estar presente está poco diferenciado; apotecios lecanorinos con discos que pueden

alcanzar un gran diámetro, con colores rosados, amarillos o naranjas (Barreno & Pérez-Ortega, 2003); los ascos son de paredes muy gruesas, presentando esporas grandes, simples, con una pared gruesa pero no ornamentada (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).....**Ochrolechia**



2 Talos escuamulosos, similares a los líquenes crustosos, con forma de escamas o ampollas y tienden a separarse del sustrato por márgenes, no poseen un auténtico córtex inferior pero pueden desarrollar algunas estructuras apendiculares ya que están unidas por este punto al sustrato (Barreno & Rico, 1984).....**Líquenes escuamulosos**

2A Con margen festonado granuloso (Barreno & Pérez-Ortega, 2003); se caracteriza por presentar una estructura estratificada tanto en la parte superior como inferior, sin soredios ni isidios, y con cefalodios externos (Goward y col, 1994); apotecios de tipo lecanorinos (Barreno & Pérez-Ortega, 2003); esporas de formas simples y sin color (Goward y col, 1994).....**Psoroma**



3 Talos foliosos con forma laminar que sólo están parcialmente unidos al sustrato, con una organización dorsiventral donde se distingue una parte superior e inferior; gracias a su forma de desarrollo pueden ocupar grandes superficies (Barreno & Rico, 1984; Chaparro & Aguirre, 2002).....**Líquenes foliosos**

- 3A** Crecen en bosques, madera, corteza, o materia orgánica en descomposición.....**3B, 3C, 3D, 3E**
- 3B** Lóbulos de tamaño pequeño.....**3B1, 3B2, 3B3**
- 3B1** Forma de rosetas; superficie superior con perforaciones, con o sin soledios, isidios o máculas; la superficie inferior está más o menos unida al sustrato ascas simples con formas elipsoidales, de paredes delgadas (James & Galloway, 1992).....***Menegazzia***
- 3B2** Color amarillo, naranja o rojo; adheridos al sustrato o parcialmente ascendentes, con lóbulos bien desarrollados; su cara inferior es pálida, lisa, con rizinas; apotecios, laminares y redondeados o irregulares; esporas incoloras (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).....***Xanthoria***
- 3B3** Talos de color verde amarillento; lóbulos semierectos; superficie inferior con rizinas abundantes, isidios frecuentes; apotecios lecanorinos con disco marrón (Chaves y col, 2009)..... ***Xanthoparmelia***
- 3C** Lóbulos de tamaño medio.....**3C1, 3C2**
- 3C1** Corticados en sus caras superior e inferior, pueden o no presentar soledios o isidios, con cilios espaciados, lóbulos parcialmente erectos; superficie superior de color blanquecino a gris pálido; superficie inferior ennegrecida y presenta numerosas rizinas simples, con excepción del área marginal (Goward y col, 1994).....***Parmotrema***
- 3C2** De colores castaño, marrón oliváceo o verdoso; lóbulos ascendentes y rizados en el margen, es posible encontrar pseudocifelas y algunas rizinas en la cara inferior y cilios en los márgenes; apotecios de tipo lecanorinos, con margen talino muy visible, brillante, que aparece en los extremos marginales de los lóbulos, se desarrollan en la cara inferior y luego quedan expuestos cuando los lóbulos se retuercen (Barreno y Pérez-Ortega, 2003).....***Tuckermannopsis***
- 3D** Lóbulos de tamaño medio a grande.....**3D1, 3D2, 3D3**

3D1 Márgenes ascendentes, ondulados o rizados; cara superior de color gris, cara inferior de color marrón claro hasta casi negro, con manchas irregulares cerca de los bordes, con pocas rizinas; isidios y soledios marginales; apotecios poco comunes, del tipo lecanorinos, marginales o submarginales (Barreno & Pérez-Ortega, 2003); esporas incoloras (Goward y col, 1994).....**Platismatia**

3D2 En forma de roseta irregularmente lacinado (Galloway y col, 2001); superficie superior lisa, corrugada, o con vellos; con cefalodios, isidios, pseudocifelas, soledios o máculas (Galloway y col, 2001); superficie ventral acanalada, blanca a marrón oscuro; apotecios del tipo lecanorino, estriados, más o menos estrellados (Galloway y col, 2001); ascosporas fusiformes y coloreadas una vez maduras (Moncada & Forero, 2006)..... **Pseudocyphellaria**

3D3 Talo de color verde a gris; superficie inferior con tomento pardo formando venas; soralios e isidios a veces presentes, apotecios lecanorinos, con disco anaranjado a pardo; ascosporas septadas, hialinas (Chaves y col, 2009).....**Lobaria**

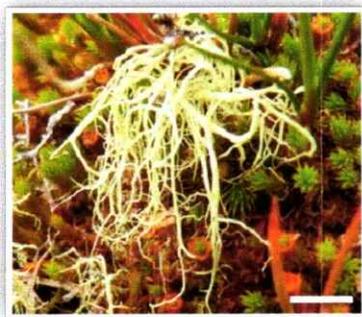
3E Lóbulos de tamaño variado.....**3E1, 3E2, 3E3**

3E1 Cara inferior marrón o amarillo verdoso; sin ricinas y sin pseudocifelas (Barreno & Pérez-Ortega, 2003); usualmente presenta cefalodios internos cerca de la superficie interior o externamente en la superficie superior, con o sin isidios y soledios (Louwhoff, 2009a); apotecios del tipo lecanorinos de color marrón, rojizo pálido u oscuro (Louwhoff, 2009a).....**Nephroma**

3E2 Talo estratificado, con lacinias adheridas al sustrato por la cara inferior hasta cerca del margen, pero fácilmente separables cuando están húmedas; superficie inferior uniforme, sin manchas, fibrosa; cara superior generalmente de color uniforme, con abundantes pseudocifelas que asemejan una red que se extiende por todo el talo (Barreno & Pérez-Ortega, 2003); apotecios con disco color marrón, con ascos de forma claviforme y esporas pequeñas, hialinas, ovales o elípticas (Barreno & Pérez-Ortega, 2003)**Parmelia**

3E3 Forma de rosetas; lóbulos alargados, discretos, contiguos o solapados; con márgenes enteros o con incisiones (Barreno & Pérez-Ortega, 2003); superficie superior

lisa, intacta o agrietada, con agujeros en forma de ampolla, de colores mates o brillantes; isidios o soledios presentes o ausentes (Louwhoff, 2009b); en la cara inferior se pueden apreciar venas más o menos oscuras y rizinas ramificadas; cefalodios externos, tanto en la cara superior como inferior; apotecios como discos marrones, castaños, o casi negros, redondeados u ovalados, planos o convexos (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).....***Peltigera***



4 Talos fruticulosos, con forma de pequeños arbustos ramificados o lóbulos, que se estrechan y alargan. Unidos escasamente a través de una superficie mínima, ya sea mediante un disco de fijación o hapterios. Los lóbulos o ramificaciones se caracterizan por sobresalir del sustrato y pueden ser erectos o colgantes y se denominan lacinias, las cuales pueden ser cilíndricas o aplastadas y su

organización es generalmente radial, sin embargo ocasionalmente presentan una simetría dorso-ventral (Barreno & Rico, 1984).....**Líquenes fruticulosos**

4A En corteza de árboles o en rocas (Goward, 1999; Articus, 2004).....**4B**

4B Estratificados, en manojos o con forma de cabellos; con ramas semi-erectas o colgantes; color amarillo verdoso, con pseudocifelas apicales; soledios y/o isidios presentes o ausentes; apotecio tipo lecanorino; esporas unicelulares, de forma elipsoide, incoloras (Goward, 1999; Articus, 2004).....***Usnea***



5 Talos compuestos, uno primario escuamuloso muy adherido al sustrato o ascendente y erecto, desde redondeado hasta alargado, con márgenes continuos o relativamente recortados, algunas veces sorediados, la cara superior generalmente corticada y la cara inferior sin rizinas ni córtex; el talo secundario fruticuloso, erecto, constituido por podocios sobre los márgenes o en la cara superior

del talo primario, con formas que van desde romas afiladas o en forma de copas, simples o repetidamente ramificados (Barreno & Pérez-Ortega, 2003)..... **Líquenes compuestos**

5A Crecen en cortezas musgosas, madera en descomposición y humus (Barreno & Pérez-Ortega, 2003)..... **5B**

5B Los apotecios son de tipo biatorinos convexos; los ascos son de forma claviforme, relativamente alargados, esporas simples, incoloras y con formas que van desde fusiformes hasta ovaladas (Barreno & Pérez-Ortega, 2003)..... **Cladonia**

Tabla A1: Fotografías de cada una de las muestras de líquenes del Parque Natural Karukinka. Muestras L1 a L45 asociadas a bosque de *Nothofagus* sp.; muestras L46 a L50 asociadas a turberas.



Continuación Tabla A1.



Tabla A2: Identificación taxonómica de líquenes del Parque Natural Karukinka en base a características morfológicas y a los marcadores moleculares rDNA 18S e ITS. Para los análisis de secuencia se muestran los valores de cobertura e identidad obtenidos mediante la herramienta Blast-n al comparar las secuencias obtenidas para cada líquen con aquellas de la base de datos del ncbi. ND: no determinado; nt: nucleótidos.

Muestra	Morfología	18S	ITS
L1 Latitud: ND Longitud: ND Altitud: ND	<i>Nephroma</i> División: Ascomycota Clase: Lecanoromycetes Orden: Peltigerales	<i>Nephroma resupinatum</i> Cobertura (%): 98 (1046 nt) Identidad (%): 97 N° acceso: AY424264.1	<i>Nephroma antarcticum</i> Cobertura (%): 99 (300 nt) Identidad (%): 99 N° acceso: DQ320563.1
L2 Latitud: ND Longitud: ND Altitud: ND	<i>Pseudocyphellaria</i> División: Ascomycota Clase: Lecanoromycetes Orden: Peltigerales	<i>Pseudocyphellaria perpetua</i> Cobertura (%): 99 (498 nt) Identidad (%): 98 N° acceso: AY424252.1	<i>Pseudocyphellaria</i> sp. Cobertura (%): 99 (498 nt) Identidad (%): 99 N° acceso: EU558719.1
L3 Latitud: 54° 08,3709' Longitud: 68° 42,2869' Altitud: 160,5 m	<i>Nephroma</i> División: Ascomycota Clase: Lecanoromycetes Orden: Peltigerales	<i>Nephroma resupinatum</i> Cobertura (%): 99 (1052 nt) Identidad (%): 98 N° acceso: AY424264.1	<i>Nephroma antarcticum</i> Cobertura (%): 100 (419 nt) Identidad (%): 99 N° acceso: EU718104.1
L4 Latitud: ND Longitud: ND Altitud: ND	<i>Pseudocyphellaria</i> División: Ascomycota Clase: Lecanoromycetes Orden: Peltigerales	<i>Pseudocyphellaria freycinetii</i> Cobertura (%): 99 (1065 nt) Identidad (%): 98 N° acceso: EU360886.1	<i>Pseudocyphellaria endochrysea</i> Cobertura (%): 100 (373 nt) Identidad (%): 95 N° acceso: EU558707.1
L5 Latitud: ND Longitud: ND Altitud: ND	<i>Nephroma</i> División: Ascomycota Clase: Lecanoromycetes Orden: Peltigerales	<i>Nephroma resupinatum</i> Cobertura (%): 99 (717 nt) Identidad (%): 96 N° acceso: AY424264.1	<i>Nephroma antarcticum</i> Cobertura (%): 100 (427 nt) Identidad (%): 99 N° acceso: DQ320563.1
L6 Latitud: ND Longitud: ND Altitud: ND	<i>Pseudocyphellaria</i> División: Ascomycota Clase: Lecanoromycetes Orden: Peltigerales	<i>Pseudocyphellaria perpetua</i> Cobertura (%): 100 (1031 nt) Identidad (%): 98 N° acceso: AY424252.1	<i>Pseudocyphellaria crocata</i> Cobertura (%): 100 (499 nt) Identidad (%): 99 N° acceso: EU558704.1
L7 Latitud: ND Longitud: ND Altitud: ND	<i>Calicium</i> División: Ascomycota Clase: Lecanoromycetes Orden: Lecanorales	<i>Caloplaca demissa</i> Cobertura (%): 100 (997 nt) Identidad (%): 92 N° acceso: AF515609.1	<i>Calicium viride</i> Cobertura (%): 100 (498 nt) Identidad (%): 100 N° acceso: DQ812142.1
L8 Latitud: 54° 08,3682' Longitud: 68° 42,2923' Altitud: 159,2 m	<i>Xanthoparmelia</i> División: Ascomycota Clase: Lecanoromycetes Orden: Lecanorales	<i>Fibulobasidium murhardtense</i> Cobertura (%): 99 (958 nt) Identidad (%): 91 N° acceso: GU327540.1	<i>Fibulobasidium murhardtense</i> Cobertura (%): 98 (388 nt) Identidad (%): 85 N° acceso: GU327540.1
L9 Latitud: 54° 08,3682' Longitud: 68° 42,2868' Altitud: 158,9 m	<i>Menegazzia</i> División: Ascomycota Clase: Lecanoromycetes Orden: Lecanorales	<i>Teberdinia hygrophila</i> Cobertura (%): 99 (892 nt) Identidad (%): 90 N° acceso: AY129282.1	<i>Gyroporus aff. cyanescens</i> Cobertura (%): 96 (158 nt) Identidad (%): 84 N° acceso: EU718104.1
L10 Latitud: 54° 08,3685' Longitud: 68° 42,2869' Altitud: 159,7 m	<i>Pseudocyphellaria</i> División: Ascomycota Clase: Lecanoromycetes Orden: Peltigerales	<i>Collophora capensis</i> Cobertura (%): 99 (944 nt) Identidad (%): 96 N° acceso: GQ154631.1	<i>Parmelia sulcata</i> Cobertura (%): 100 (432 nt) Identidad (%): 79 N° acceso: FR799253.1
L11 Latitud: 54° 08,3667' Longitud: 68° 42,2860' Altitud: 158,8 m	<i>Parmotrema</i> División: Ascomycota Clase: Lecanoromycetes Orden: Lecanorales	<i>Pseudocyphellaria crocata</i> Cobertura (%): 98 (1004 nt) Identidad (%): 97 N° acceso: AY424253.1	<i>Pseudocyphellaria coriifolia</i> Cobertura (%): 99 (497 nt) Identidad (%): 100 N° acceso: EU558709.1
L12 Latitud: 54° 08,3712' Longitud: 68° 42,2851' Altitud: 159,8 m	<i>Pseudocyphellaria</i> División: Ascomycota Clase: Lecanoromycetes Orden: Peltigerales	<i>Pseudocyphellaria perpetua</i> Cobertura (%): 99 (986 nt) Identidad (%): 99 N° acceso: AY424252.1	<i>Pseudocyphellaria</i> sp. Cobertura (%): 99 (496 nt) Identidad (%): 99 N° acceso: EU558719.1
L13 Latitud: 54° 08,3723' Longitud: 68° 42,2867' Altitud: 164,7 m	<i>Pseudocyphellaria</i> División: Ascomycota Clase: Lecanoromycetes Orden: Peltigerales	<i>Pseudocyphellaria crocata</i> Cobertura (%): 99 (1078 nt) Identidad (%): 98 N° acceso: AY424253.1	<i>Pseudocyphellaria coriifolia</i> Cobertura (%): 99 (498 nt) Identidad (%): 99 N° acceso: EU558707.1
L14 Latitud: 54° 08,3692' Longitud: 68° 42,2875' Altitud: 162,1 m	<i>Ochrolechia</i> División: Ascomycota Clase: Lecanoromycetes Orden: Pertusariales	<i>Ochrolechia</i> sp. Cobertura (%): 99 (1026 nt) Identidad (%): 97 N° acceso: DQ986732.1	<i>Ochrolechia balcanica</i> Cobertura (%): 99 (518 nt) Identidad (%): 86 N° acceso: AF329172.1

Continuación Tabla A2.

L15	<i>Platismatia</i>	<i>Chalara sessilis</i>	<i>Platismatia glauca</i>
Latitud: 54° 08,3699'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (638 nt)	Cobertura (%): 100 (501 nt)
Longitud: 68° 42,2924'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 96	Identidad (%): 94
Altitud: 164,4 m	Orden: Lecanorales	N° acceso: FJ176292.1	N° acceso: AF097894.1
L16	<i>Parmelia</i>	<i>Parmelia saxatilis</i>	<i>Parmelia cunninghamii</i>
Latitud: 54° 08,3710'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99	Cobertura (%): 99 (451 nt)
Longitud: 68° 42,2847'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 98	Identidad (%): 99
Altitud: 165,0 m	Orden: Lecanorales	N° acceso: AF117985.1	N° acceso: GU994572.1
L17	<i>Parmelia</i>	<i>Parmelia saxatilis</i>	<i>Parmelia cunninghamii</i>
Latitud: 54° 08,3723'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (1032 nt)	Cobertura (%): 100 (450 nt)
Longitud: 68° 42,2871'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 98	Identidad (%): 99
Altitud: 161,0 m	Orden: Lecanorales	N° acceso: AF117985.1	N° acceso: GU994572.1
L18	<i>Tuckermannopsis</i>	ND	<i>Tuckermannopsis chlorophylla</i>
Latitud: 54° 08,3725'	División: Ascomycota	Cobertura (%): ND	Cobertura (%): 100 (500 nt)
Longitud: 68° 42,2825'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): ND	Identidad (%): 92,9859719438878
Altitud: 173,6 m	Orden: Lecanorales	N° acceso: ND	N° acceso: EF373572.1
L19	<i>Usnea</i>	<i>Scorias spongiosa</i>	ND
Latitud: 54° 08,3728'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (895 nt)	Cobertura (%): ND
Longitud: 68° 42,2955'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 85	Identidad (%): ND
Altitud: 163,2 m	Orden: Lecanorales	N° acceso: GU214696.1	N° acceso: ND
L20	<i>Ochrolechia</i>	<i>Ochrolechia szatalaensis</i>	<i>Ochrolechia andogyna</i>
Latitud: 54° 08,3729'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (1049 nt)	Cobertura (%): 100 (326 nt)
Longitud: 68° 42,2974'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 96	Identidad (%): 95
Altitud: 157,0 m	Orden: Pertusariales	N° acceso: AF274108.1	N° acceso: JN943616.1
L21	<i>Ochrolechia</i>	<i>Ochrolechia szatalaensis</i>	ND
Latitud: 54° 08,3711'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (740 nt)	Cobertura (%): ND
Longitud: 68° 42,2922'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 88	Identidad (%): ND
Altitud: 143,0 m	Orden: Pertusariales	N° acceso: AF274108.1	N° acceso: ND
L22	<i>Usnea</i>	ND	<i>Usnea subantarctica</i>
Latitud: 54° 08,3695'	División: Ascomycota	Cobertura (%): ND	Cobertura (%): 100 (527 nt)
Longitud: 68° 42,2878'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): ND	Identidad (%): 95
Altitud: 161,0 m	Orden: Lecanorales	N° acceso: ND	N° acceso: EF179806.1
L23	<i>Cladonia</i>	<i>Hyaloscypha daedaleae</i>	<i>Cladonia ustulata</i>
Latitud: 54° 08,3953'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (881 nt)	Cobertura (%): 99 (532 nt)
Longitud: 68° 42,2939'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 77	Identidad (%): 99
Altitud: 160,4 m	Orden: Lecanorales	N° acceso: AY789414.1	N° acceso: AF453699.1
L24	<i>Cladonia</i>	<i>Cenococcum geophilum</i>	<i>Cladonia ustulata</i>
Latitud: 54° 08,3887'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (782 nt)	Cobertura (%): 99 (531 nt)
Longitud: 68° 42,3292'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 89	Identidad (%): 99
Altitud: 166,9 m	Orden: Lecanorales	N° acceso: JN860133.1	N° acceso: AF453699.1
L25	<i>Cladonia</i>	<i>Trapeliopsis flexuosa</i>	<i>Cladonia ustulata</i>
Latitud: 54° 08,3857'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (895 nt)	Cobertura (%): 99 (532 nt)
Longitud: 68° 42,3311'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 92	Identidad (%): 99
Altitud: 166,2 m	Orden: Lecanorales	N° acceso: DQ986709.1	N° acceso: AF453699.1
L26	<i>Usnea</i>	<i>Hyaloscypha vitreola</i>	<i>Usnea aff. igniaria</i>
Latitud: 54° 08,3907'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (775 nt)	Cobertura (%): 100 (527 nt)
Longitud: 68° 42,3272'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 97	Identidad (%): 96
Altitud: 164,5 m	Orden: Lecanorales	N° acceso: EU940080.1	N° acceso: DQ219307.1
L27	<i>Calicium</i>	<i>Caloplaca demissa</i>	<i>Calicium viride</i>
Latitud: 54° 08,3716'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (935 nt)	Cobertura (%): 99 (500 nt)
Longitud: 68° 42,3107'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 92	Identidad (%): 100
Altitud: 136,3 m	Orden: Lecanorales	N° acceso: AF515609.1	N° acceso: DQ812142.1
L28	<i>Lobaria</i>	<i>Pseudocyphellaria freycinetii</i>	<i>Pseudocyphellaria endochrysea</i>
Latitud: 54° 08,3193'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (1035 nt)	Cobertura (%): 100 (269 nt)
Longitud: 68° 42,4238'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 96	Identidad (%): 100
Altitud: 145,3 m	Orden: Peltigerales	N° acceso: EU360886.1	N° acceso: EU558725.1
L29	<i>Pseudocyphellaria</i>	<i>Pseudocyphellaria freycinetii</i>	<i>Pseudocyphellaria hirsuta</i>
Latitud: 54° 08,3104'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 100 (1037 nt)	Cobertura (%): 100 (300 nt)
Longitud: 68° 42,4161'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 98	Identidad (%): 99
Altitud: 174,6 m	Orden: Peltigerales	N° acceso: EU360886.1	N° acceso: EU558711.1
L30	<i>Psoroma</i>	<i>Pannaria conoplea</i>	<i>Pseudocyphellaria hirsuta</i>
Latitud: 54° 08,3238'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (449 nt)	Cobertura (%): 100 (300 nt)
Longitud: 68° 42,4136'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 99	Identidad (%): 97
Altitud: 162,0 m	Orden: Peltigerales	N° acceso: AY424260.1	N° acceso: EU558710.1

Continuación Tabla A2.

L31	Psoroma	Psilolechia lucida	ND
Latitud: 54° 08,3233'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (762 nt)	Cobertura (%): ND
Longitud: 68° 42,4150'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 93	Identidad (%): ND
Altitud: 162,3 m	Orden: Peltigerales	N° acceso: AF455132.1	N° acceso: ND
L32	Pseudocyphellaria	Pseudocyphellaria perpetua	Pseudocyphellaria coriifolia
Latitud: 54° 08,3266'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (1036 nt)	Cobertura (%): 99 (500 nt)
Longitud: 68° 42,4368'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 99	Identidad (%): 99
Altitud: 152,6 m	Orden: Peltigerales	N° acceso: AY424252.1	N° acceso: EU558707.1
L33	Nephroma	Nephroma resupinatum	Nephroma antarcticum
Latitud: 54° 08,3290'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (982 nt)	Cobertura (%): 100 (450 nt)
Longitud: 68° 42,4340'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 98	Identidad (%): 99
Altitud: 162,7 m	Orden: Peltigerales	N° acceso: AY424264.1	N° acceso: DQ320563.1
L34	Xanthoria	Melanelixia fuliginosa	Phaeophyscia ciliata
Latitud: 54° 08,3614'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (1024 nt)	Cobertura (%): 99 (401 nt)
Longitud: 68° 42,4409'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 96	Identidad (%): 82
Altitud: 188,1 m	Orden: Teloschistales	N° acceso: DQ983485.1	N° acceso: AY498674.1
L35	Parmelia	Parmelia saxatilis	ND
Latitud: 54° 08,3736'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (717 nt)	Cobertura (%): ND
Longitud: 68° 42,6380'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 99	Identidad (%): ND
Altitud: 132,2 m	Orden: Lecanorales	N° acceso: AF117985.1	N° acceso: ND
L36	Platismatia	Hyaloscypha vitreola	Platismatia glauca
Latitud: 54° 08,3807'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 98 (946 nt)	Cobertura (%): 99 (500 nt)
Longitud: 68° 42,6049'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 96	Identidad (%): 99
Altitud: 191,3 m	Orden: Lecanorales	N° acceso: EU940080.1	N° acceso: AF097894.1
L37	Cladonia	Cladonia sulphurina	Platismatia glauca
Latitud: 54° 08,3796'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (983 nt)	Cobertura (%): 100 (443 nt)
Longitud: 68° 42,6067'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 99	Identidad (%): 96
Altitud: 190,1 m	Orden: Lecanorales	N° acceso: AF241544.1	N° acceso: AF451755.1
L38	Ochrolechia	Ochrolechia szatalaensis	Ochrolechia androgyna
Latitud: 54° 08,3682'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 98 (975 nt)	Cobertura (%): 100 (351 nt)
Longitud: 68° 42,3493'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 98	Identidad (%): 93
Altitud: 159,5 m	Orden: Pertusariales	N° acceso: AF274108.1	N° acceso: JN943616.1
L39	Pseudocyphellaria	Sticta limbata	Didymella appanata
Latitud: 54° 08,3646'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 98 (975 nt)	Cobertura (%): 100 (346 nt)
Longitud: 68° 42,3281'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 98	Identidad (%): 93
Altitud: 154,5 m	Orden: Peltigerales	N° acceso: AY424254.1	N° acceso: GU237726.1
L40	Pseudocyphellaria	Sticta limbata	Pseudocyphellaria hirsuta
Latitud: 54° 08,3754'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 100 (1009 nt)	Cobertura (%): 100 (350 nt)
Longitud: 68° 42,3530'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 99	Identidad (%): 97
Altitud: 155,3 m	Orden: Peltigerales	N° acceso: AY424250.1	N° acceso: EU558711.1
L41	Peltigera	Peltigera degenii	Peltigera fuscopraetextata
Latitud: 54° 08,3806'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 100 (846 nt)	Cobertura (%): 99 (504 nt)
Longitud: 68° 42,6122'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 100	Identidad (%): 87
Altitud: 186,6 m	Orden: Peltigerales	N° acceso: AY424238.1	N° acceso: FJ708901.1
L42	Peltigera	Peltigera degenii	Peltigera fuscopraetextata
Latitud: 54° 08,3855'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 100 (846 nt)	Cobertura (%): 99 (504 nt)
Longitud: 68° 42,5907'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 100	Identidad (%): 89
Altitud: 197,2 m	Orden: Peltigerales	N° acceso: AY424238.1	N° acceso: FJ708901.1
L43	Peltigera	Peltigera laciniata	Peltigera ponojensis
Latitud: 54° 08,3831'	División: 54° 08,3831'	Cobertura (%): 100 (846 nt)	Cobertura (%): 100 (529 nt)
Longitud: 68° 42,5846'	Clase: 68° 42,5846'	Identidad (%): 100	Identidad (%): 97
Altitud: 185,1 m	Orden: 185,1 m	N° acceso: AY424242.1	N° acceso: AY257883.1
L44	Peltigera	Peltigera extenuata	Peltigera didactyla
Latitud: 54° 08,3827'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 100 (847 nt)	Cobertura (%): 100 (568 nt)
Longitud: 68° 42,6527'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 99	Identidad (%): 100
Altitud: 194,9 m	Orden: Peltigerales	N° acceso: AY424240.1	N° acceso: AY257940.1
L45	Peltigera	Peltigera extenuata	Peltigera didactyla
Latitud: 54° 08,3785'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 100 (846 nt)	Cobertura (%): 99 (568 nt)
Longitud: 68° 42,5918'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 100	Identidad (%): 100
Altitud: 183,0 m	Orden: Peltigerales	N° acceso: AY424240.1	N° acceso: AY257940.1

Continuación Tabla A2.

L46	Xanthoria	Xanthoria borealis	Xanthoria candelaria
Latitud: 54° 07,5511'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (453 nt)	Cobertura (%): 100 (500 nt)
Longitud: 68° 42,2490'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 79	Identidad (%): 92
Altitud: 141,9 m	Orden: Teloschistales	N° acceso: AJ535292.1	N° acceso: AJ320138.1
L47	Cladonia	Hyaloscypha vitreola	Xanthoria polycarpa
Latitud: 54° 07,5623'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (910 nt)	Cobertura (%): 98 (209 nt)
Longitud: 68° 42,1832'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 98	Identidad (%): 84
Altitud: 142,8 m	Orden: Lecanorales	N° acceso: EU940080.1	N° acceso: FR799310.1
L48	Cladonia	Fibulobasidium murrhardtense	Cladonia ustulata
Latitud: 54° 07,5556'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (915 nt)	Cobertura (%): 99 (536 nt)
Longitud: 68° 42,1867'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 95	Identidad (%): 99
Altitud: 142,3 m	Orden: Lecanorales	N° acceso: GU327540.1	N° acceso: AF453699.1
L49	Pseudocyphellaria	Pseudocyphellaria crocata	Pseudocyphellaria coriifolia
Latitud: 54° 07,5552'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 100 (1064 nt)	Cobertura (%): 99 (443 nt)
Longitud: 68° 42,1844'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 98	Identidad (%): 99
Altitud: 140,0 m	Orden: Peltigerales	N° acceso: AY424253.1	N° acceso: EU558709.1
L50	Nephroma	Pseudocyphellaria freycinetii	Pseudocyphellaria freycinetii
Latitud: 54° 07,5306'	División: Ascomycota	Cobertura (%): 99 (1047 nt)	Cobertura (%): 99 (450 nt)
Longitud: 68° 42,2898'	Clase: Lecanoromycetes	Identidad (%): 99	Identidad (%): 100
Altitud: 140,8 m	Orden: Peltigerales	N° acceso: EU360886.1	N° acceso: EU558717.1