

**Estudio del estado taxonómico de los
endemismos macaronésicos del género
Hypogymnia (*Lecanorales*, *Ascomycota*)**



Autora: Ana Martí Lloret

**Tutores: Cristina González Montelongo e
Israel Pérez Vargas**

Trabajo Fin de Máster

Máster en Biodiversidad Terrestre y Conservación en Islas

Curso 2022/23

Índice

Resumen	2
Abstract.....	3
Introducción.....	4
Objetivos.....	14
Metodología.....	15
Análisis morfométrico	15
Cromatografía en capa fina.....	18
Análisis genético	18
Resultados y discusión	22
Caracterización morfológica	22
Caracterización química	29
Análisis filogenético	32
Conclusiones.....	34
Referencias	35
Anexo A. Listado de las muestras de <i>Hypogymnia madeirensis</i> e <i>Hypogymnia tavaresii</i> analizadas en el estudio.	46
Anexo B. Secuencias de <i>Hypogymnia</i> obtenidas de Genbank y utilizadas para el análisis genético.....	50

Resumen

El género de líquenes *Hypogymnia* presenta dos endemismos para la Macaronesia: *H. tavaresii* e *H. madeirensis*, cuya presencia se encuentra ligada a los bosques de laurisilva de estos archipiélagos. Debido a su distribución restringida y al grado de amenaza de su hábitat, dichas especies han sido consideradas como candidatas a entrar en la Lista Roja de Líquenes de España y Portugal y se procede a su revisión. Ambas especies son morfológicamente muy similares y los límites entre ambas no están claros. Hasta el momento, la principal forma de diferenciarlas es a través de su composición química, siendo la presencia del ácido fisodálico el compuesto que tradicionalmente se ha empleado para distinguirlos. Se ha demostrado que la composición química de algunas especies del género *Hypogymnia* puede variar en función de condiciones climáticas, geográficas o incluso dependiendo de las características físico/químicas de las cortezas de sus hospedadores. A ello se suma el hecho de que dentro del género hay descritas especies que presentan varios quimiotipos. Los estudios moleculares en el género son escasos y ninguno se ha centrado en estos taxones. Con el objetivo de dilucidar la identidad de ambas especies y comprobar si se trata de taxones diferentes o meros quimiotipos de una misma especie se realiza el presente estudio desde un enfoque integrativo, empleando técnicas morfológicas, químicas y filogenéticas. Los resultados obtenidos no apoyan la independencia de estos dos taxones por lo que se propone considerarlas quimiotipos de la misma especie y su sinonimización. Siguiendo el principio de preferencia que dicta el código internacional de nomenclatura para algas, hongos y plantas (Código de Shenzhen) el nombre que prevalecería sería *Hypogymnia madeirensis*.

Palabras clave: *Hypogymnia madeirensis*, *Hypogymnia tavaresii*, líquenes, Macaronesia, taxonomía integrativa.

Abstract

The lichen genus *Hypogymna* includes two endemics for Macaronesia: *H. tavaresii* and *H. madeirensis*, whose distribution is restricted to the laurel forests of these archipelagos. Due to their restricted geographical range and the degree of threat to their habitat, these species have been considered as candidates for inclusion in the Red List of Lichens of Spain and Portugal, and a review is underway. Both species are morphologically very similar, and the boundaries between them are not clear. So far, the main way to differentiate them is through their chemical composition, with the presence of physodic acid being the compound traditionally used to distinguish them. It has been demonstrated that the chemical composition of some species in the *Hypogymnia* genus can vary depending on climatic and geographic conditions or even depending on the physical/chemical features of their host tree bark. Additionally, there are described species within the genus that present various chemotypes. Molecular studies in the genus are scarce, and none have focused on these taxa. In order to elucidate the identity of both species and determine whether they are different taxa or just chemotypes of the same species, the present study is conducted using an integrative approach, employing morphological, chemical, and phylogenetic techniques. The results obtained do not support the independence of these two taxa, so it is proposed to consider them as chemotypes of the same species and their synonymization. Following the principle of priority dictated by the International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants (Shenzhen Code), the prevailing name would be *Hypogymnia madeirensis*.

Keywords: *Hypogymnia madeirensis*, *Hypogymnia tavaresii*, integrative taxonomy, lichens, Macaronesia.

Introducción

La región biogeográfica macaronésica abarca los archipiélagos de Azores, Madeira, Salvajes, Canarias y Cabo Verde, localizados en la parte oriental del Atlántico Norte, y una zona del litoral noroccidental africano (Figura 1) (Santaolalla Fragero, 1997; Castanho *et al.*, 2021). Todos estos conjuntos de islas son de origen volcánico y oceánico.



Figura 1. Localización de la región macaronésica. Fuente: Castanho *et al.* (2021).

La flora y vegetación de la Macaronesia comparten un origen común que data del Mioceno, época en la que las diásporas de los diferentes taxones migraron desde los territorios continentales e insulares adyacentes, es decir, África, Europa y las islas atlánticas macaronésicas más antiguas, hasta las islas actuales (Rivas-Martínez, 2009). Los archipiélagos que presentan mayor similitud en su flora y vegetación son Canarias y Madeira que, junto con Azores, forman la llamada Laurimacaronesia (Kunkel, 1993).

Actualmente, el concepto Macaronesia está en discusión. Según Rivas-Martínez (2009), no es posible definir una región común debido a las condiciones bioclimáticas, florísticas y vegetacionales actuales y que han existido durante milenios. Así, existe una variable afinidad biótica entre los archipiélagos, que es más clara en el medio terrestre que en el marino (Fernández-Palacios, 2019).

Las islas Canarias son el archipiélago macaronésico situado a menor distancia del continente más próximo, siendo 94 km los que separan la isla más cercana al continente

(Fuerteventura) de la costa africana. Está formado por ocho islas (El Hierro, La Palma, La Gomera, Tenerife, Gran Canaria, Fuerteventura, Lanzarote y La Graciosa), cinco islotes (Montaña Clara, Alegranza, Roque del Este, Roque del Oeste y Lobos) y siete roques (los de Salmor, Fasnía, Bonanza, Garachico, Anaga, Gando y el Farallón de Sardina). En su conjunto tiene una superficie de 7492 km² y una población aproximada de 2 millones de habitantes, concentrados especialmente en las islas capitalinas (Tenerife y Gran Canaria) (ISTAC, 2023).

La Región Macaronésica se caracteriza por sus elevados índices de biodiversidad y endemismo en una gran variedad de organismos (Juan *et al.*, 2000). En este sentido, Canarias cuenta con 16 124 especies descritas, de las cuales 4354 son endémicas (~ 27%). Dentro de estas últimas, el 16% son endemismos de una sola isla y el 11%, endemismos pluriinsulares (Gobierno de Canarias, 2023). Debido a esta elevada diversidad biológica y su alto grado de amenaza, Canarias pertenece al punto caliente o *hotspot* de biodiversidad de la Cuenca del Mediterráneo. Concretamente en el archipiélago hay catalogadas 101 especies en peligro crítico (47 plantas y 57 animales) y 141 en peligro (72 plantas y 69 animales) (IUCN, 2023).

En cuanto a la diversidad liquénica del archipiélago, según las últimas revisiones, en Canarias hay citadas aproximadamente 1800 especies de líquenes (incluyendo hongos liquenícolas) de las que en torno al 4% de las especies serían endémicas (Pérez-Vargas *et al.*, ined).

Los líquenes son, por definición, organismos simbióticos formados normalmente por un hongo (el micobionte) y uno o más organismos fotosintéticos (el fotobionte), que puede ser un alga verde o una cianobacteria (Nash III, 2008; Honegger, 2008; Sanders y Masumoto, 2021). Aunque la naturaleza dual de la mayoría de los líquenes está ampliamente reconocida existen algunas especies en las que en esta simbiosis participan tres (líquenes tripartitos) o más socios (Nash III, 2008). Recientemente, se ha descubierto la presencia de otras especies fúngicas que podrían estar ligadas a la simbiosis (Spribille *et al.*, 2016). Además, se han hallado numerosas comunidades bacterianas que parecen jugar un papel clave en la simbiosis (Grimm *et al.*, 2021). Es por ello que algunos autores (Lücking *et al.*, 2021) han propuesto una nueva definición de “liquen” identificándolo como un microecosistema estable y autosuficiente de organismos que conviven alrededor de un micobionte primario y un fotobionte primario (y, en ocasiones, secundario).

Tradicionalmente se ha creído que los líquenes eran organismos con amplios rangos de distribución, no siendo común la existencia de especies endémicas si los comparamos con otros grupos de organismos sésiles como las plantas vasculares (Galloway, 2008). Esto se debe fundamentalmente al pequeño tamaño de sus diásporas, ya sean estas asexuales o sexuales, que son transportadas fácilmente a grandes distancias por las corrientes de los vientos (Werth *et al.*, 2006; Damialis *et al.*, 2007; Scheidegger y Werth, 2009; Golan y Pringle, 2017). En contraposición, Frahm (2007) afirma que las *criptógamas*, entre las que se encuentran los líquenes, pueden estar altamente restringidas por factores como la competición, la preferencia por hábitats especializados y la incapacidad para acceder y/o sobrevivir a las corrientes atmosféricas. El uso de técnicas moleculares ha revelado en los últimos años que el patrón de endemidad en este tipo de organismos es más común de lo que se pensaba (Serusiaux *et al.*, 2011; Moncada *et al.*, 2014; Lücking *et al.*, 2014; Pérez-Vargas y Pérez Ortega; 2014; Simon *et al.*, 2018, Garrido-Benavent *et al.*, 2023; Lücking *et al.*, 2023). Además, ciertas regiones como algunos archipiélagos insulares (entre los que se encuentra Macaronesia) parecen tener tasas de endemidad más elevadas que otras áreas (Nash III, 2008). En nuestras islas, la mayor riqueza y diversidad de líquenes aparece en el monteverde (Pérez-Vargas *et al.*, 2017), uno de los hábitats naturales citados en el anexo I de la Directiva de Hábitats y que cuenta con una superficie de 7052,6 Ha (Gobierno de Canarias, s.f.).

El término monteverde incluye la laurisilva y el fayal-brezal. La laurisilva es la comunidad más rica de Canarias y constituye un relictos de la flora que pobló los márgenes del mar de Tetis, precursor del Mediterráneo, durante el Terciario (66-2,6 Ma) (Fernández-Palacios y Martín-Esquivel, 2001). Se le considera la representación del mundo tropical en las islas Canarias (Fernández-Palacios *et al.*, 2017).

El monteverde se sitúa en las laderas orientadas a barlovento en las islas de La Palma, El Hierro, La Gomera, Tenerife y Gran Canaria, a altitudes comprendidas entre los 600 y los 1400 m s.n.m. (Santolalla Fragero, 1997). La precipitación horizontal puede triplicar la precipitación vertical debido a la influencia de las nieblas del alisio (Marzol-Jaén, 2013).

El monteverde ha sufrido un retroceso muy acusado desde el asentamiento de poblaciones humanas en las islas Canarias, estimándose que actualmente solo se conserva el 12% de su extensión original (del Arco *et al.*, 2006; 2010). Los aborígenes canarios, a través del uso del fuego y al introducir y asilvestrar ganado, tuvieron un efecto importante sobre los territorios dominados por este bosque, y a partir de la conquista castellana se produce una

desaparición progresiva de la laurisilva (Fernández-Palacios *et al.*, 2017). Sin embargo, hoy en día en muchos lugares se puede observar una regeneración espontánea de este bosque, debido fundamentalmente al cambio en el modelo de desarrollo económico (de agrícola a turismo de masas), que tuvo lugar a partir de los años setenta del siglo pasado, y a la aplicación de políticas de protección activa del medio natural (Fernández-Palacios *et al.*, 2004; 2010).

La familia *Parmeliaceae* es la más numerosa dentro no sólo del orden *Lecanorales* (Miadlikowska *et al.*, 2006), sino de todos los hongos liquenizados. Los estudios moleculares de Crespo *et al.*, (2007) dividen la familia en seis clados (Parmelioide, Alectorioide, Psiloparmelioide, Cetrarioide, Hypogymnioide y Letharioide). El clado Hypogymnioide lo conforman los géneros *Arctoparmelia*, *Brodoa*, *Hypogymnia* y *Pseudevernia*, todos ellos monofiléticos (Divakar *et al.*, 2019). De ellos *Hypogymnia* es el género más diverso. Los caracteres morfológicos son importantes dentro de estos clados, cuya única característica morfológica común es la presencia de una médula laxa o hueca (Crespo *et al.*, 2007). La filogenia refleja un patrón biogeográfico estadísticamente significativo, donde los taxones endémicos a escala continental tienden, mayoritariamente a ocurrir dentro de un mismo grupo filogenético (Miadlikowska *et al.*, 2011).

Hypogymnia (Nyl.) Nyl. es un género de líquenes que cuenta con aproximadamente un centenar de especies a nivel mundial (Miadlikowska *et al.*, 2011; Nimis, 2022). Aparece en todos los continentes, a excepción de la Antártida, y se desarrolla en áreas desde templadas hasta subpolares, alcanzando su mayor diversidad en climas oceánicos y suboceánicos del Hemisferio Norte (Miadlikowska *et al.*, 2011; Elvebakk, 2011; Nimis, 2022).

El estudio de los líquenes actualmente incluidos en este género fue muy temprano, existiendo trabajos en Europa de mediados del siglo XVIII (McFarlin, 1991). En los años 60 dos influyentes liquenólogos, Poelt y Hale, empezaron a considerar *Hypogymnia* como un género separado de *Parmelia*, tal y como Nylander había propuesto a finales del siglo XIX (McFarlin, 1991).

En cuanto a sus características generales, estos líquenes se caracterizan por presentar talos foliáceos de color gris verdoso a gris parduzco (Brodo *et al.*, 2001). Están formados por lóbulos hinchados y huecos que por su cara inferior son de color negro y en muy pocas

especies aparecen rizinas (Calatayud y Sanz, 2000; Wei *et al.*, 2015). Sus fotobiontes son algas verdes del género *Trebouxia* (Brodo *et al.*, 2001). Presentan apotecios lecanorinos, con ascos que contienen ocho esporas simples, hialinas y de forma elipsoide a subesférica (Nimis, 2022). Las sustancias liquénicas que se encuentran comúnmente en las especies de *Hypogymnia* son dépsidos (atranorina y cloroatranorina) y depsidonas del B-orcinol (ácidos fisódico, isofisódico, fisodálico, protocetrárico, 3-hidroxifisódico, 2-O-metilfisódico, vitatólico, alectorónico y apinático), dos categorías principales de sustancias liquénicas (Elix, 1979; Wei y Wei, 2005; Elvebakk, 2011; McCune *et al.*, 2011; Goward *et al.*, 2012; Rodríguez-Pérez *et al.*, 2016; McCune y Conway, 2022). Otras sustancias no tan comunes en las especies de este género son los ácidos alectorónico, úsnico, barbático, norbarbático, olivetórico, virénsico, escuamático, diffractaico, elatínico e hipotamnólico y el 1'-metilhipotamnolato (McCune y Wang, 2014).

Se han llevado a cabo diversas revisiones del género *Hypogymnia* en regiones diferentes, como en Australasia (Elix, 1979), Groenlandia (Steen-Hansen y McCune, 2010), Chile (Elvebakk, 2011), Himalaya (McCune *et al.*, 2012) o el suroeste de China (McCune y Wang, 2014), sin embargo, no existe ninguna revisión en Macaronesia ni en Europa.

En Macaronesia, las especies de *Hypogymnia* están restringidas a los archipiélagos de Madeira y Canarias, de forma que las últimas listas de especies de Azores y Cabo Verde no citan ninguna especie de este género (Hafellner, 1999; Hafellner, 2002; Sánchez-Pinto y Rodríguez, 2005; Hafellner, 2005; Hafellner, 2008).

En el archipiélago de Madeira aparecen cuatro especies, con una distribución restringida a la isla de Madeira (Carvalho *et al.*, 2008). Estas son:

- *Hypogymnia madeirensis* (Tav.) D. Hawksw.
- *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl.
- *Hypogymnia tubulosa* (Schaer.) Hav.
- *Hypogymnia vittata* (Ach.) Parrique.

Por su parte, en Canarias hay citadas seis especies del género *Hypogymnia*, distribuidas por las islas occidentales (Tenerife, La Gomera, La Palma y El Hierro) y Gran Canaria:

- *Hypogymnia laminisorediata* D. Hawks. & Poelt.
- *Hypogymnia madeirensis* (Tav.) D. Hawksw.
- *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl.

- *Hypogymnia tavaresii* D. Hawksw. & P. James.
- *Hypogymnia tubulosa* (Schaer.) Hav.
- *Hypogymnia vittata* (Ach.) Parrique.

Tabla 1. Especies de líquenes del género *Hypogymnia* presentes en Canarias. H: El Hierro, P: La Palma, G: La Gomera, T: Tenerife, C: Gran Canaria. Fuente: Gobierno de Canarias (2023).

Especie	Islas
<i>Hypogymnia laminisorediata</i>	P, G
<i>Hypogymnia madeirensis</i>	G
<i>Hypogymnia physodes</i>	H, P, G, T
<i>Hypogymnia tavaresii</i>	H, P, G, T
<i>Hypogymnia tubulosa</i>	H, P, G, T, C
<i>Hypogymnia vittata</i>	P, G, T

De ellas, *Hypogymnia madeirensis* e *Hypogymnia tavaresii* son endemismos macaronésicos (Tavares, 1952; Hawksworth, 1973). *H. madeirensis* está citada para Madeira y La Gomera (Figura 2) e *H. tavaresii*, para El Hierro, La Palma, La Gomera y Tenerife (Figura 3) (Gobierno de Canarias, 2023).

Aunque la actual crisis de biodiversidad provocada por el hombre no pueda ser calificada aún de extinción masiva en términos de porcentaje de especies extinguidas, los índices actuales de pérdida de biodiversidad se sitúan dentro del rango de las cinco grandes extinciones masivas del Fanerozoico (Rull, 2022).

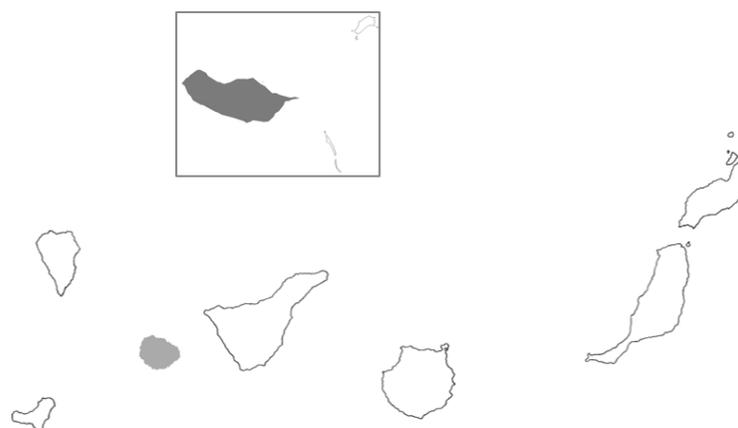




Figura 2. Distribución de *Hypogymnia madeirensis* en Canarias y Madeira (arriba) y fotografía de la especie (abajo). Las islas señaladas en gris son aquellas en las que se distribuye la especie.



Figura 3. Distribución de *Hypogymnia tavaresii* en Canarias (arriba) y fotografía de la especie (abajo). Las islas señaladas en gris son aquellas en las que se encuentra la especie.

El reconocimiento de los taxones, sus descripciones y las claves para su determinación son esenciales para, en primer lugar, distinguir la existencia de un grupo de seres vivos y, después, llevar a cabo acciones para su conservación (Iriando, 2000). Toda la conservación se basa en la taxonomía, de forma que no se pueden conservar aquellos organismos que no se conocen o no se pueden identificar y ninguna acción de conservación puede proteger especies que no han sido descritas (Mace, 2004; Morrison *et al.*, 2009; Raposo *et al.*, 2017; Vogel Ely *et al.*, 2017). La taxonomía proporciona elementos importantes para la cuantificación y evaluación de la biodiversidad en la toma de decisiones de conservación (Iriando, 2000), de tal manera que la relación entre ambas es muy clara. Así, la preocupación sobre el estado de conservación de un taxón puede motivar que se lleven a cabo estudios sistemáticos sobre él (Funk *et al.*, 2002). A su vez, un conocimiento más amplio sobre la sistemática de los organismos puede proporcionar información relevante para la conservación y gestión de la biodiversidad (Funk *et al.*, 2002). Esta relación cobra especial relevancia en la época actual, en la que uno de los mayores problemas a los que se enfrentan los seres humanos es la crisis de la biodiversidad (Dubois, 2003). De esta manera, los intentos por comprender las consecuencias de los cambios ambientales y la degradación se ven comprometidos ante la incapacidad de reconocer y describir los diferentes componentes que interactúan en los ecosistemas (Mace, 2004).

Ante esta problemática surge un nuevo concepto de taxonomía, la denominada taxonomía integrativa. El objetivo de esta ciencia es delimitar las unidades de la biodiversidad desde múltiples perspectivas complementarias, como son la filogeografía, la morfología comparada, la genética de poblaciones o la ecología, entre otras (Dayrat, 2005). El aporte de la taxonomía integrativa será llenar el vacío de la taxonomía tradicional, utilizando otros enfoques y análisis (Martínez-López, 2015). No significa que vaya a reemplazar la taxonomía tradicional; lo que se propone es que se aúnen y coordinen los hallazgos de distintas disciplinas, que llevará al mejor conocimiento científico de las especies y de la biodiversidad (Schlick-Steiner *et al.*, 2010).

Entre los distintos retos a los que se debe enfrentar la taxonomía hoy en día están la ausencia de criterios universales para asignar rangos taxonómicos, como especie o subespecie, o para establecer límites entre los diferentes taxones (Morrison *et al.*, 2009). Según estos autores, la inestabilidad de esta ciencia radica, principalmente, en el carácter subjetivo de la clasificación y circunscripción, la mejora continua en el conocimiento de

las relaciones filogenéticas, la mayor comprensión del flujo de genes y el reconocimiento de errores nomenclaturales llevados a cabo en el pasado. Diversos autores abogan por los conceptos de Unidad Evolutiva Significativa (ESU, del inglés *Evolutionarily Significant Unit*) y Unidad de Gestión (MU, del inglés *Management Unit*) como unidades básicas para la gestión de la biodiversidad (Iriondo, 2000; Hey *et al.*, 2003). Estos fueron desarrollados para priorizar las especies en los esfuerzos de conservación, debido a la limitación de recursos y a que la taxonomía actual puede no reflejar de manera adecuada la diversidad genética subyacente (Moritz, 1994). Sin embargo, estos conceptos han sido también criticados, fundamentalmente por su vaguedad al no existir una definición universal de ellos (Iriondo, 2000).

Garnett y Christidis (2017) defienden que la IUBS (*International Union of Biological Sciences*) debería restringir la libertad de la acción taxonómica, creando límites para las especies (y otras unidades taxonómicas) que se puedan aplicar consistentemente a través de las diferentes formas de vida. Se basan en que la comunidad científica ha fracasado a la hora de gobernar la taxonomía y esto constituye una amenaza para la efectividad de los esfuerzos globales para frenar la pérdida de biodiversidad. En contraposición, otros autores argumentan que un mejor entendimiento del mundo natural siempre impactará positivamente en las políticas de conservación (Raposo *et al.*, 2017). De esta forma, errores de identificación pueden generar malentendidos al elegir áreas prioritarias para la conservación o pueden dañar especies en alto riesgo de extinción para beneficiar a aquellas en categorías de menor preocupación (Vogel Ely *et al.*, 2017). La ausencia de un paradigma taxonómico sólido basado en la ciencia afectaría a los esfuerzos de conservación, lo que podría generar impactos devastadores e irreversibles en la biodiversidad (Thomson *et al.*, 2018).

La nueva taxonomía tiende a impactar de forma positiva en los esfuerzos de conservación. De forma general, aquellas poblaciones valiosas para los humanos, ya sea por su carisma, belleza o valor económico, son protegidas independientemente de su rango taxonómico (Morrison *et al.*, 2009). De esta manera, los efectos positivos y negativos del cambio taxonómico en los esfuerzos de conservación podrían equilibrarse entre sí.

Los hongos rara vez se han considerado dentro de la biología de la conservación, hecho que está cambiando a medida que esta disciplina modifica su enfoque de problemas de especies individuales hacia una estrategia basada en los ecosistemas, en los que los hongos cumplen funciones esenciales (Heilman-Clausen *et al.*, 2014). Así, en los últimos

años se comienza a hablar de la denominada micología de la conservación, una ciencia multidisciplinar que se apoya en innovaciones e iniciativas recientes en la forma en la que se consideran y estudian estos organismos (May *et al.*, 2018).

Los hongos en general, y los líquenes en particular, comparten amenazas con el resto de la biodiversidad, como son la degradación, sobreexplotación, pérdida y fragmentación de sus hábitats naturales, especies invasoras, el cambio climático y la contaminación atmosférica, la cual les afecta en mayor medida al tratarse de organismos poiquilohídricos (Scheidegger y Werth, 2009; Heilman-Clausen *et al.*, 2014). En el caso concreto de los líquenes, una amenaza importante es la pérdida o modificación del sustrato sobre el que se desarrollan. Así los líquenes epífitos dependen de los árboles huésped (forófitos) sobre los que se asientan y su pérdida o modificación supone cambios importantes en las comunidades liquénicas (Allen *et al.*, 2019; González-Montelongo y Pérez-Vargas, 2019; 2021).

En el último siglo se ha documentado una disminución en la abundancia y diversidad de los líquenes alrededor del mundo. Sin embargo, estos organismos están, en general, infrarrepresentados en las medidas de conservación en comparación con otros grupos fundamentalmente debido a que la atención en la conservación está directamente relacionada con la apelación pública (Allen *et al.*, 2019). Una aproximación ecosistémica de la conservación no suele ser efectiva en el caso de los líquenes, debido principalmente a que estos presentan requerimientos especiales de hábitat y a que no suelen considerarse cuando se diseñan las reservas (Scheidegger y Werth, 2009).

La biología de la conservación en líquenes sólo resultará exitosa si se consideran las especies como parte de una comunidad que es el resultado de interacciones complejas entre las condiciones ambientales, la calidad ambiental y el manejo antrópico (Scheidegger y Werth, 2009).

Objetivos

Las especies *Hypogymnia tavaresii* e *Hypogymnia madeirensis* son endemismos macaronésicos cuya distribución se restringe a los bosques de laurisilva de alguno de estos archipiélagos. Ambas especies han sido consideradas como candidatas a entrar en la Lista Roja de Líquenes de España y Portugal que en la actualidad está elaborando la Sociedad Española de Lichenología (Pérez-Vargas, *com. pers*). Ambas especies son morfológicamente muy similares y los límites entre ambas no están claros. Hasta el momento, la principal forma de diferenciarlas es a través de su composición química. No existen estudios moleculares que hayan estudiado la identidad de ambos taxones. Se ha demostrado que la composición química de algunas especies del género *Hypogymnia* puede variar en función de condiciones climáticas, geográficas o incluso dependiendo de las características físico/químicas de las cortezas de sus hospedadores (McCune *et al.*, 2011; Latkowska *et al.*, 2019). Además, dentro del género hay descritas especies que presentan varios quimiotipos (Elvebakk, 2011; McCune y Wang, 2014). Por todo ello, el objetivo principal de este trabajo es dilucidar la identidad de ambas especies y comprobar si se trata de dos taxones diferentes o meros quimiotipos de una misma especie. El estudio se realizará con un enfoque integrativo (Pante *et al.*, 2015), utilizando técnicas morfológicas, químicas y filogenéticas. Se sentarán así las bases sobre las que seguir trabajando en la conservación del género *Hypogymnia* en la región Macaronésica.

Metodología

Muestras estudiadas

Para la realización de este estudio se revisó todo el material de *Hypogymnia tavaresii* e *H. madeirensis* existente en el Herbario TFC-Lich. de la Universidad de La Laguna. Además, se realizaron muestreos en diversas localidades de Tenerife y en la isla de El Hierro, La Palma y Madeira. En el proceso de identificación se han empleado claves generales (Brodo *et al.*, 2001) así como algunas centradas en nuestro territorio, como Sicilia (2007) y Schumm (2008).

Los datos relativos a las muestras analizadas se recogen en el **Anexo A**.

Análisis morfométrico

Se han seguido las técnicas habituales en liquenología. En primer lugar, se ha procedido a la observación de caracteres macroscópicos de interés para lo cual se ha utilizado un estereomicroscopio Leica EZ4. Para el estudio de las características físico-químicas de interés taxonómico se han empleado los reactivos usuales en liquenología: K (solución al 10% de hidróxido de potasio – KOH – en agua), C (hipoclorito sódico, lejía comercial sin diluir), KC (combinación de los dos anteriores) y PD (solución saturada de cristales de parafenilendiamina disueltos en etanol).

Las medidas de las lacinias y los apotecios (Figura 4) se realizaron bajo lupa empleando papel milimetrado. Para las lacinias se midió el largo, el ancho de la base y el ancho máximo y para los apotecios, el diámetro máximo, el diámetro mínimo y la altura. Para cada muestra se midieron cinco lacinias y todos los apotecios presentes.

Posteriormente se estudiaron las estructuras microscópicas. Para ello se realizaron cortes a mano alzada de las lacinias, apotecios y de los picnidioforos de las diferentes muestras que fueron montadas en agua. Se procedió a la medida del ancho del córtex y del ancho total de las lacinias (Figura 5), el largo y ancho de los ascos y el largo y ancho de las esporas (Figura 6). Además, se tomaron medidas del largo y el ancho de los picnidios (Figura 7). Las medidas fueron llevadas a cabo con los objetivos de 40×, para las de las lacinias, y de 100× para el resto, empleando aceite de inmersión y con la ayuda de un ocular micrométrico OSM. Las medidas de las esporas se realizaron siempre que estas estuvieran fuera de los ascos. En cada muestra se midieron tres lacinias, cinco ascos, veinticinco esporas y veinticinco picnidios.

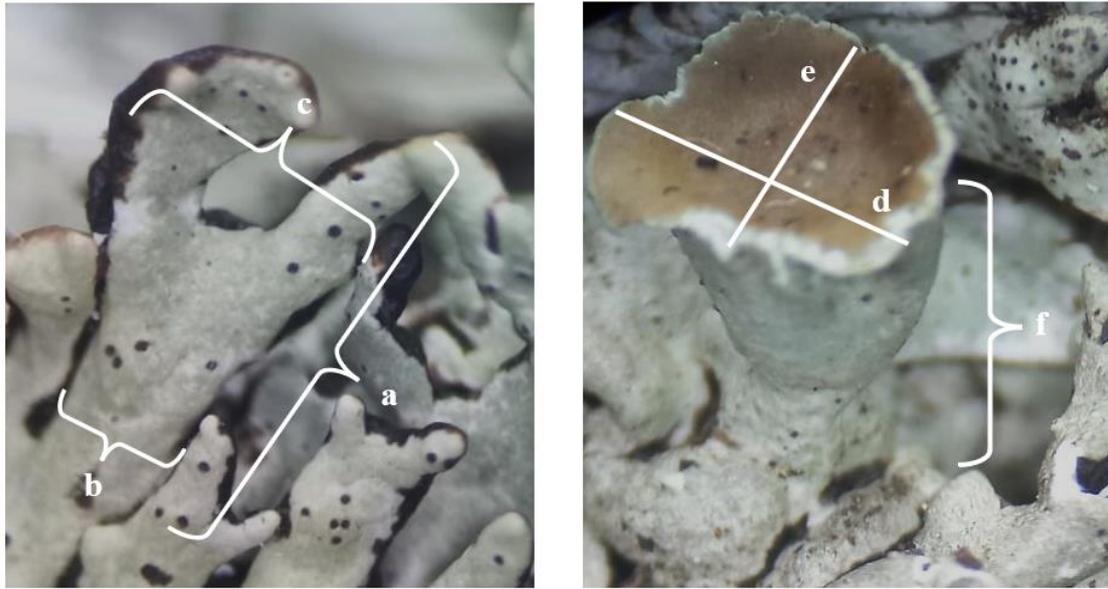


Figura 4. Esquema de las medidas tomadas para las lacinias (izquierda) y apotecios (derecha) de las muestras. a: largo total de la lacinia, b: ancho de la base de la lacinia, c: ancho máximo de la lacinia, d: diámetro máximo del apotecio, e: diámetro mínimo del apotecio, f: altura del apotecio.

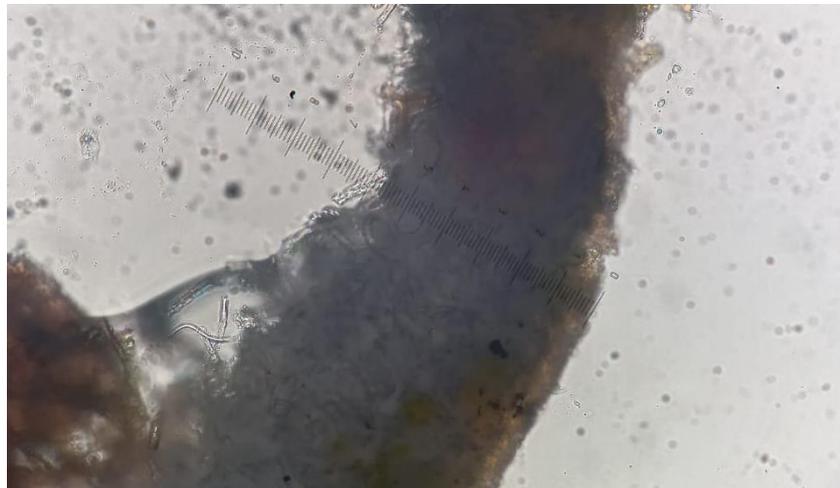


Figura 5. Vista al microscopio (40×) de corte de lacinia de *Hypogymnia madeirensis*. Se aprecia el córtex (pardo) y parte de la médula (gris).

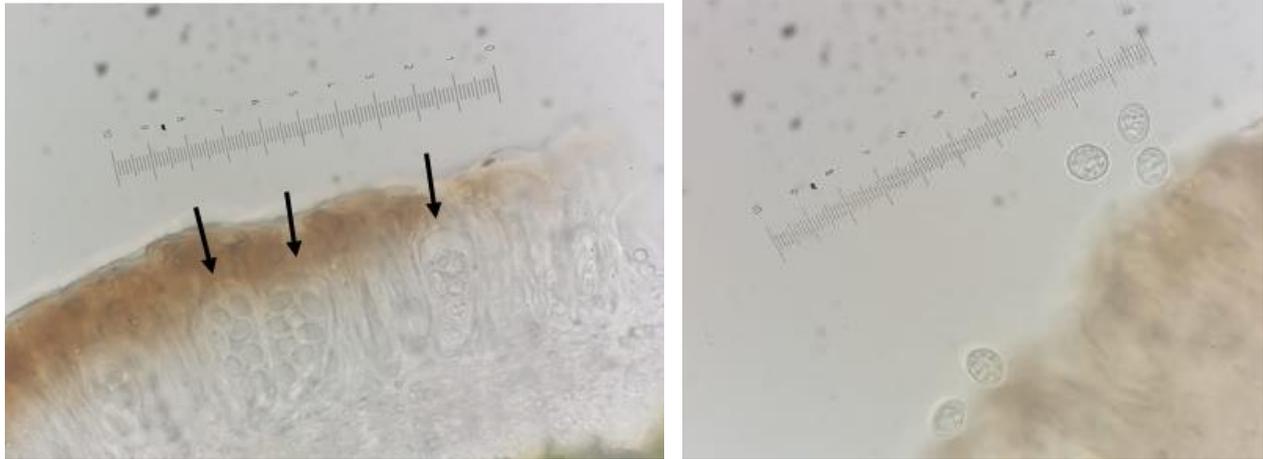


Figura 6. Vista al microscopio (100×) de un corte de apotecio de *Hypogymnia madeirensis* (izquierda) y esporas libres (derecha). Las flechas señalan varios ascos con esporas en su interior.

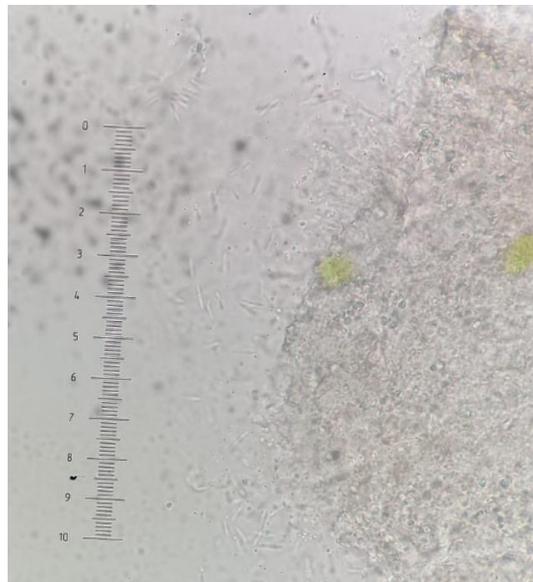


Figura 7. Vista al microscopio (100×) de un corte de picnidióforo de *Hypogymnia madeirensis*. Se observan los picnidios.

A partir de los datos obtenidos del análisis morfométrico, macro y microscópico, se ha realizado un diagrama de cajas y bigotes para cada uno de los caracteres estudiados, comparando los dos taxones (*H. madeirensis* e *H. tavaresii*), además, se ha llevado a cabo un PCA general, utilizando todas las variables analizadas. Para ello se ha utilizado el programa Past4.03 y Microsoft® Excel® para Microsoft 365 MSO (versión 2306).

Cromatografía en capa fina

Se han realizado cromatografías en capa fina (TLC) para comprobar la composición química de las muestras estudiadas. Para ello se ha seguido la metodología clásica (Culberson, 1972; Elix y Ernst-Russell, 1993; Orange *et al.*, 2001) y se han empleado los solventes A (tolueno/dioxano/ácido acético) y C (tolueno/ácido acético) (Orange *et al.*, 2001). Para la interpretación de los resultados se ha seguido a Colberson y Kristinsson (1970), Orange *et al.* (2001) y Elix (2018).

Análisis genético

Para el análisis genético se seleccionaron quince muestras de *Hypogymnia* previamente identificadas como *H. madeirensis* o *H. tavaresii* (Tabla 2) intentando cubrir la máxima variabilidad morfológica y geográfica. De cada una de las muestras se separa un pequeño fragmento (aprox. 1 cm²) de la zona apical donde no haya muestra de hongos liquenícolas ni algas epífitas. Dichos fragmentos se sumergen en acetona durante un mínimo de dos horas, para extraer los metabolitos secundarios (Divakar *et al.*, 2016). De esta manera se consigue, por una parte, eliminar sustancias que puedan interferir en el proceso de PCR y por otra se puede utilizar dicho extracto para hacer los análisis por cromatografía en capa fina. Las muestras de líquenes se dejan secar a temperatura ambiente para evaporar la acetona un mínimo de 6 h.

Las fases posteriores de extracción y purificación de ADN, Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), purificación directa del amplicón, reacción de secuenciación y electroforesis capilar fueron realizados en el Servicio de Genómica de los Servicios Generales de Apoyo a la Investigación (SEGAI) de la Universidad de la Laguna. Los responsables del servicio permitieron estar presente y colaborar en el trabajo de laboratorio.

Extracción de ADN, PCR y Secuenciación

Los viales que contienen las muestras seleccionadas se introdujeron en nitrógeno líquido (Figura 8A). Posteriormente con la ayuda de una mano de mortero se rompieron y homogeneizaron los tejidos. El ADN genómico fue extraído empleando E.Z.N.A.® Plant DNA Kit y purificado utilizando el E.Z.N.A.® Tissue DNA Purification Kit, ambos de Omega Bio-Tek, siguiendo las instrucciones del fabricante. La muestra resultante de este proceso se utiliza para la PCR.

Tabla 2. Muestras de *H. tavaresii* e *H. madeirensis* empleadas para el análisis genético.

Código	Especie	Isla	TFC-Lich
G14	<i>H. tavaresii</i>	La Gomera	17 136
G16	<i>H. madeirensis</i>	La Gomera	17 138
G17	<i>H. madeirensis</i>	La Gomera	17 139
H10	<i>H. tavaresii</i>	El Hierro	17 149
H11	<i>H. tavaresii</i>	El Hierro	17 150
H14	<i>H. tavaresii</i>	El Hierro	17 153
M1	<i>H. madeirensis</i>	Madeira	17 111
M4	<i>H. madeirensis</i>	Madeira	17 114
M6	<i>H. madeirensis</i>	Madeira	17116
M7	<i>H. madeirensis</i>	Madeira	17117
P1	<i>H. tavaresii</i>	La Palma	17 157
P5	<i>H. tavaresii</i>	La Palma	17 161
P7	<i>H. madeirensis</i>	La Palma	17 163
T1	<i>H. tavaresii</i>	Tenerife	17 118
T8	<i>H. tavaresii</i>	Tenerife	17 125

Hemos amplificado el marcador ITS (*Internal Transcribed Spacer*, incluyendo ITS1, 5.8S e ITS2) ya que es la región que se ha considerado como código de barras para el reino Fungi (Schoch *et al.*, 2012), usando los *primers* ITS1 e ITS4 (White *et al.*, 1990). La reacción de PCR fue llevada a cabo en un volumen total de 25 μ l, conteniendo 1 μ L de ADN molde, 2,5 μ L de solución tampón, 2,5 μ L de trifosfatos desoxinucleótidos trifosfatos (dNTP's), 1,5 μ L de cada primer utilizado (ITS1 e ITS4), 16,85 μ L de agua miliQ y 0,15 μ L de VWR Taq DNA Polymerase.

Se utilizó el termociclador iCycler BioRad (Figura 8B). El programa de amplificación consistió en una desnaturalización inicial a 95 °C durante 3 min 30 s, 35 ciclos de 95 °C durante 30 s, 53 °C durante 30 s y 72 °C durante 1 min, con una extensión final de 72 °C durante 10 min. Con la finalidad de comprobar si la PCR ha sido exitosa, y antes de realizar la secuenciación, se llevó a cabo una electroforesis en gel de agarosa (Agarose ITM VWR) (Figura 8C) y se observó la existencia de banda en un transiluminador.

Purificación directa del amplicón y reacción de secuenciación

Para la purificación del amplicón resultante de la PCR se utiliza el kit “ExoSAP-IT™ Express PCR Product Cleanup” de AppliedBiosystems (Figura 8D). La reacción de secuenciación se lleva a cabo en 3500 Genetic Analyzer Applied Biosystems (Figura 8E).

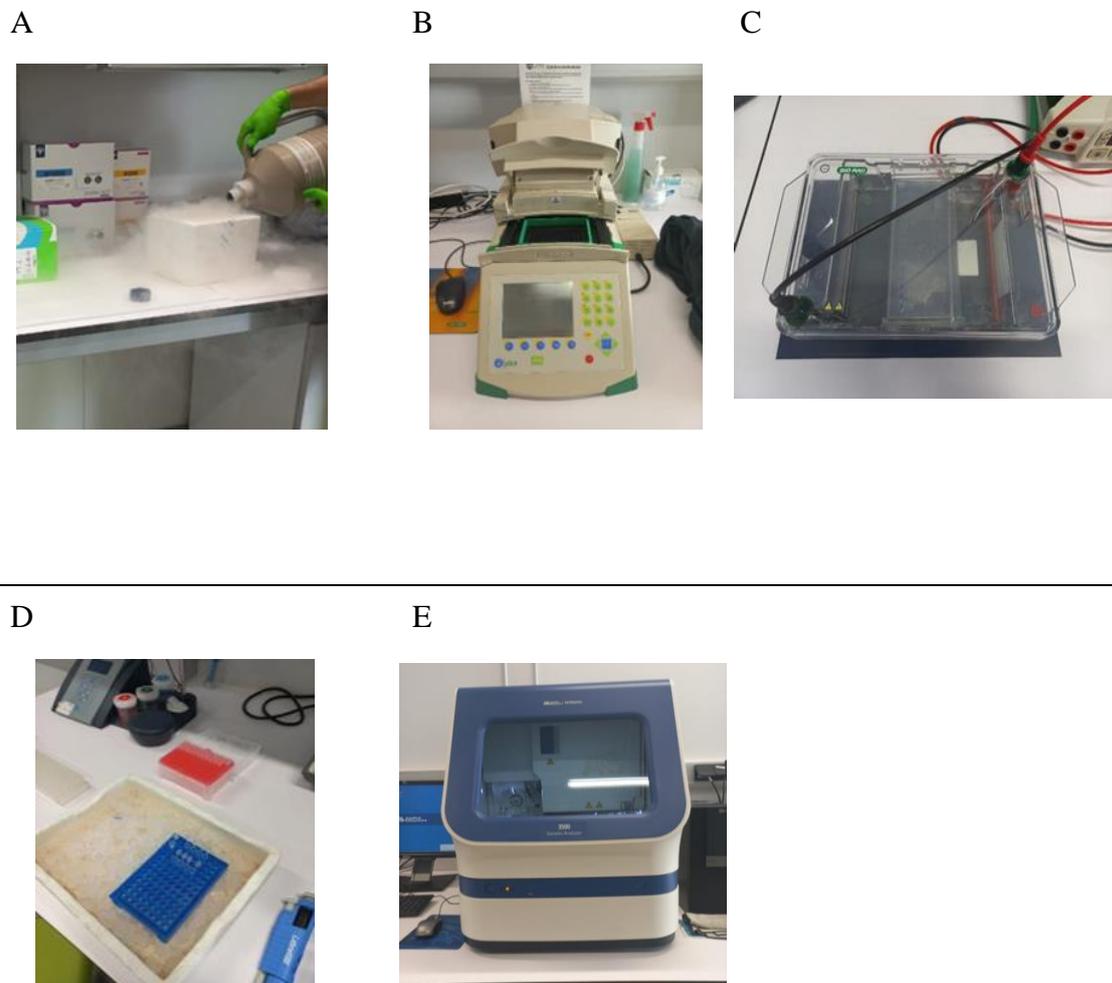


Figura 8. Equipos empleados en el análisis genético. A: baño de nitrógeno líquido, B: termociclador iCycler BioRad, C: baño de hielo del producto de PCR, D: Gel de electroforesis capilar, E: secuenciador 3500 Genetic Analyzer.

Además de las nuevas secuencias generadas, hemos descargado de GenBank las secuencias de las especies que han resultado ser filogenéticamente más próximas a *Hypogymnia tavaresii* e *H. madeirensis* (Miadlikowska et al., 2011; Divakar et al., 2019; McCune y Conway 2022) (**Anexo B**): *H. farinacea* Zopf, *H. fujisanensis* (Asahina) Kurok., *H. lugubris* (Pers.) Krog, *H. physodes* (L.) Nyl., *H. subfarinacea* X.L. Wei & J.C.

Wei, *H. tubulosa* (Schaer.) Hav. e *H. wilfiana* Goward, T. Sprib. & Ahti. Además, hemos descargado las secuencias disponibles de nuestras especies objetivo que estuvieran almacenadas en GenBank. Las secuencias obtenidas junto con las descargadas se han alineado empleando MAFFT (Multiple Alignment using Fast Fourier Transform) v.7.490 tal y como se encuentra implementado en el programa Geneious Prime v.2023.1.1 (Katoh *et al.*, 2002; Katoh y Standley, 2013). descargadas se han alineado empleando MAFFT (Multiple Alignment using Fast Fourier Transform) v.7.490 tal y como se encuentra implementado en el programa Geneious Prime v.2023.1.1 (Katoh *et al.*, 2002; Katoh y Standley, 2013). Se ha seleccionado una matriz de puntuación 200PAM / k = 2, un valor de offset de 0,123, una penalización por hueco abierto de 1,53 con un algoritmo automático. Se ha empleado el programa GBlocks 0.91b para eliminar posiciones ambiguas en el alineamiento empleando ajustes relajados (Talavera y Castresana, 2007). Para inferir las relaciones filogenéticas se utilizó un enfoque de máxima verosimilitud (ML) y bayesiano. El árbol de ML fue calculado utilizando RAxML (Randomized Axelerated Maximum Likelihood) 8.2.11 (Stamatakis, 2014). Para el árbol RAxML se utiliza el modelo de sustitución nucleotídica GTR GAMMA I con 10 000 pseudorréplicas para evaluar el soporte de los nodos. El análisis de inferencia bayesiana se realizó con el método de Markov Chain Monte Carlo en MrBayes 3.2.6 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001; Ronquist y Huelsenbeck, 2003). Partiendo de un árbol aleatorio se llevaron 4x10⁶ y se tomaron muestras cada 1000 generaciones, ejecutándose cuatro cadenas de Markov de forma simultánea. El primer 25% de los datos fue eliminado como burn-in. Los árboles restantes de las dos ejecuciones se agruparon y se utilizaron para generar un árbol consenso y para calcular las probabilidades posteriores (PP) con la finalidad de estimar el soporte de los clados. Los clados que recibieron un apoyo de bootstrap $\geq 70\%$ (ML) y 0.95 (B) son considerados fuertemente apoyados. El árbol filogenético fue dibujado utilizando el programa FigTree 1.4.2. (Rambaut, 2009).

Resultados y discusión

Tras la revisión de los especímenes del género *Hypogymnia* depositados en el Herbario TFC-Lich. de la Universidad de La Laguna y de las campañas de muestreo recientes se han identificado 34 muestras de *Hypogymnia madeirensis* y 45 de *Hypogymnia tavaresii*, cuya distribución por islas se recoge en la Tabla 3.

Tabla 3. Distribución por islas de las muestras estudiadas.

Nº de muestras	<i>Hypogymnia madeirensis</i>	<i>Hypogymnia tavaresii</i>
Madeira	16	0
Tenerife	0	18
La Palma	1	6
La Gomera	13	3
El Hierro	4	18
TOTAL	34	45

La especie *Hypogymnia madeirensis* en Canarias estaba citada únicamente para la isla de La Gomera (Gobierno de Canarias, 2023). En este estudio ha sido encontrada también en las islas de La Palma y El Hierro, con lo que serían novedades corológicas para esas dos islas (**Anexo A**).

Caracterización morfológica

Para la caracterización morfológica se han tenido en cuenta 14 caracteres: largo, ancho de la base y ancho máximo de las lacinias, diámetro máximo, diámetro mínimo y altura de los apotecios, ancho del córtex, ancho de las lacinias medido a microscopio, ancho y largo de los ascos, ancho y largo de las esporas sexuales (ascosporas) y ancho y largo de los picnidios, obteniendo los valores mostrados en la Tabla 4.

Con el fin de buscar nuevos caracteres morfológicos que sustenten la separación de los dos taxones, se ha ampliado el número de caracteres a analizar respecto a la descripción original de *H. tavaresii* (Hawksworth, 1973) (Tabla 5). Se han medido tres nuevos caracteres morfológicos no tenidos en cuenta hasta el momento: largo de las lacinias, ancho del córtex y ancho de las lacinias medido a microscopio. Hawksworth (1973) realizó una sola medida para el ancho de las lacinias y midió sólo uno de los diámetros de los apotecios. En el presente estudio se realizaron dos medidas para el ancho de las lacinias (ancho de la base y ancho máximo) y dos medidas para los apotecios (diámetro máximo y diámetro mínimo). El elevado número de medidas y ejemplares analizados ha permitido ampliar los rangos de los valores de los caracteres medidos con respecto a la

descripción de Hawksworth (1973), a excepción del ancho de los picnidios, ya que nuestras medidas coinciden con valores descritos por el autor.

Tabla 4. Valores de los caracteres morfológicos estudiados en las muestras de *Hypogymnia madeirensis* e *H. tavaresii*. Se recogen los valores mínimos, medios y máximos de cada carácter.

Carácter morfológico	<i>Hypogymnia madeirensis</i>	<i>Hypogymnia tavaresii</i>
Largo lacinias	(2) - 5,5 - (11) mm	(3) - 6,2 - (13,5) mm
Ancho base lacinias	(0,5) - 1,3 - (3) mm	(0,5) - 1,3 - (3) mm
Ancho máximo lacinias	(1) - 3,8 - (9,5) mm	(1) - 3,9 - (9) mm
Diámetro máximo apotecios	(1,5) - 4,6 - (12) mm	(1,5) - 4,2 - (11) mm
Diámetro mínimo apotecios	(1,5) - 4,0 - (11) mm	(1,5) - 3,9 - (11) mm
Altura apotecios	(1,5) - 4,3 - (10) mm	(1,5) - 4,2 - (10) mm
Ancho córtex lacinias	(7,5) - 13,2 - (17,5) μm	(7,5) - 12,7 - (17,5) μm
Ancho lacinias (microscopio)	(61) - 121,9 - (175) μm	(95) - 130,8 - (170) μm
Largo ascos	(24,2) - 33,7 - (44,2) μm	(22,1) - 31,9 - (45,3) μm
Ancho ascos	(10,5) - 15,6 - (21,1) μm	(10,5) - 15,5 - (28,4) μm
Largo esporas	(6,3) - 9,2 - (15,8) μm	(6,3) - 9,0 - (11,6) μm
Ancho esporas	(5,0) - 7,2 - (9,5) μm	(4,2) - 7,0 - (10,5) μm
Largo picnidios	(3,2) - 5,3 - (8,4) μm	(3,2) - 5,0 - (8,4) μm
Ancho picnidios	1,1 μm	1,1 μm

Tabla 5. Comparación de los valores de la descripción original de *Hypogymnia tavaresii* de algunos de los caracteres estudiados. Fuente: Hawksworth (1973).

Carácter	Descripción original	Presente estudio
Largo lacinias	-	(3) - 6,2 - (13,5) mm
Ancho lacinias	1-3 mm	Ancho base: (0,5) - 1,3 - (3) mm Ancho máximo: (1-) 3,9 (-9) mm
Diámetro apotecios	2-6 mm	Diámetro máximo: (1,5) - 4,2 - (11) mm Diámetro mínimo: (1,5) - 3,9 - (11) mm
Altura apotecios	2-5 mm	(1,5) - 4,2 - (10) mm
Ancho córtex	-	(7,5) - 12,7 - (17,5) μ m
Ancho lacinias (microscopio)	-	(95) - 130,8 - (170) μ m
Largo ascos	25-35 μ m	(22,1) - 31,9 - (45,3) μ m
Ancho ascos	15-20 μ m	(10,5) - 15,5 - (28,4) μ m
Largo esporas	5-7 μ m	(6,3) - 9,0 - (11,6) μ m
Ancho esporas	3,5-4,5 μ m	(4,2) - 7,0 - (10,5) μ m
Largo picnidios	2,5-5 μ m	(3,2) - 5,0 - (8,4) μ m
Ancho picnidios	1-2 μ m	1,1 μ m

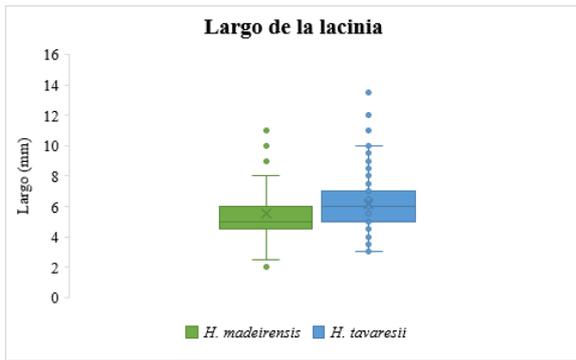
Con la misma finalidad mencionada anteriormente se han realizado medidas de *H. madeirensis* de caracteres no tenidos en cuenta hasta el presente: el largo, ancho de la base y ancho máximo de las lacinias, la altura de los apotecios y el ancho de las lacinias medido a microscopio (Tabla 6). La descripción original de este taxón (Tavares, 1952) da una sola medida para el ancho de los apotecios y en el presente estudio se han realizado dos (diámetro máximo y diámetro mínimo). También se ha ampliado el rango de los valores de los caracteres medidos con respecto a los dados por Tavares (1952), excepto para el ancho de los picnidios, donde se ha obtenido un valor mayor.

Tabla 6. Comparación de los valores de la descripción original y de la actual de *Hypogymnia madeirensis* de algunos de los caracteres estudiados. Fuente: Tavares (1952).

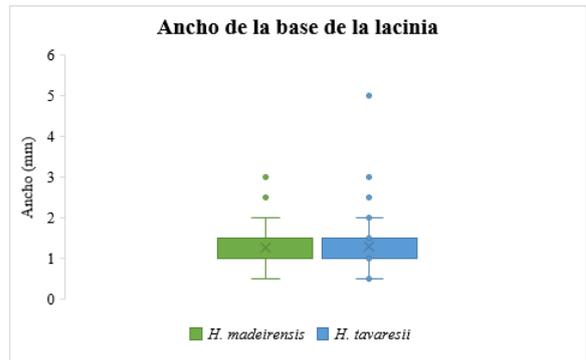
Carácter	Descripción original	Presente estudio
Largo lacinias	-	(2) - 5,5 - (11) mm
Ancho lacinias	-	Ancho base: (0,5) - 1,3 - (3) mm Ancho máximo: (1) - 3,8 - (9,5) mm
Ancho apotecios	8 mm	Diámetro máximo: (1,5) - 4,6 - (12) mm Diámetro mínimo: (1,5) - 4,0 - (11) mm
Altura apotecios	4 mm	(1,5) - 4,3 - (10) mm
Ancho córtex superior	10-18 μm	(7,5) - 13,2 - (17,5) μm
Ancho lacinias (microscopio)	-	(61) - 121,9 - (175) μm
Largo ascos	40-45 μm	(24,2) - 33,7 - (44,2) μm
Ancho ascos	10-12 μm	(10,5) - 15,6 - (21,1) μm
Largo esporas	7-9 μm	(6,3) - 9,2 - (15,8) μm
Ancho esporas	5-8 μm	(5,0) - 7,2 - (9,5) μm
Largo picnidios	5-6 μm	(3,2) - 5,3 - (8,4) μm
Ancho picnidios	0,8 μm	1,1 μm

Con la finalidad de analizar las posibles diferencias en los caracteres morfológicos estudiados, hemos realizado diagramas de cajas y bigotes para cada uno de los caracteres morfológicos en las dos especies. No existen diferencias para ninguno de los caracteres analizados, por lo que no es posible distinguir ambas especies en base a su morfología (Figura 9). En la descripción original de *H. tavaresii* se indica, como diferencia, que *H. madeirensis* presenta un talo más pequeño y unos lóbulos más estrechos (Hawksworth, 1973), aunque no indican el rango de medidas definitorio. En este trabajo se ha comprobado que no existe tal diferencia y que, por tanto, no son caracteres que permitan distinguir las especies.

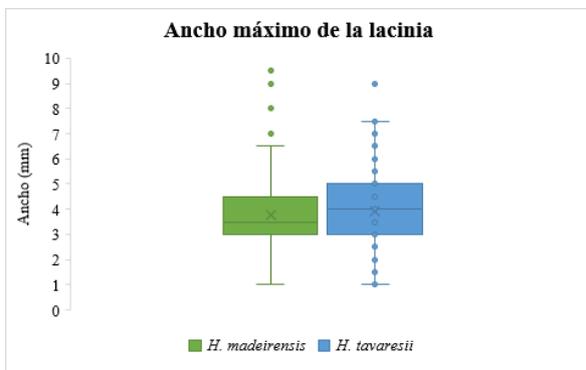
A



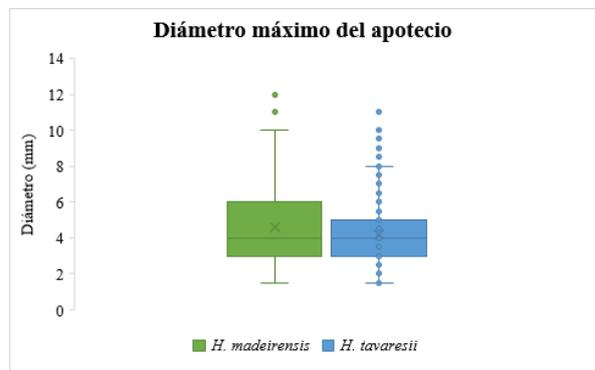
B



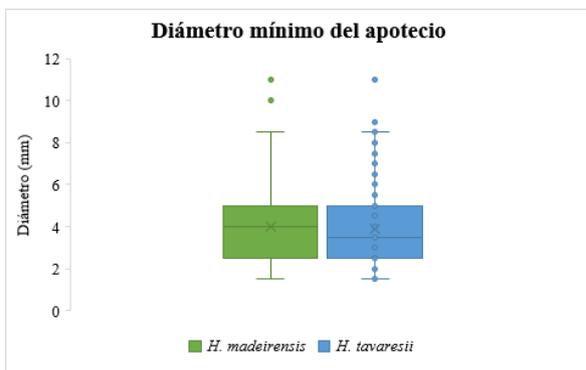
C



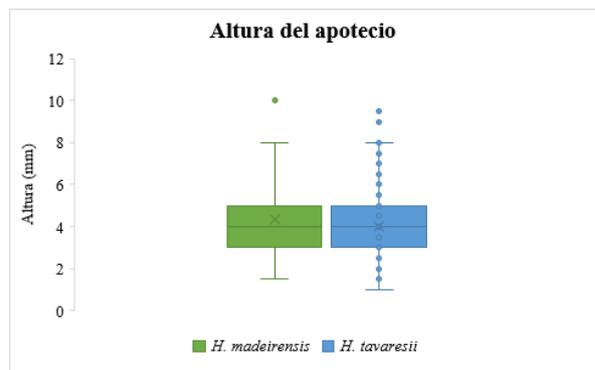
D



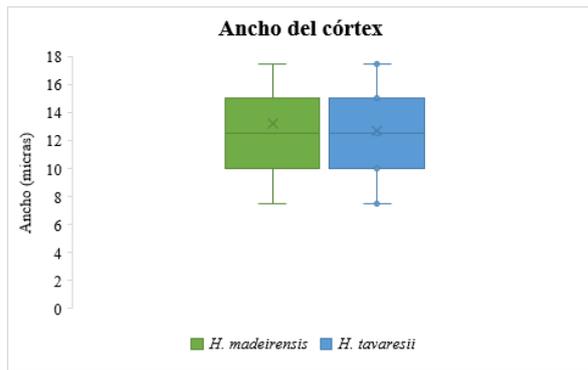
E



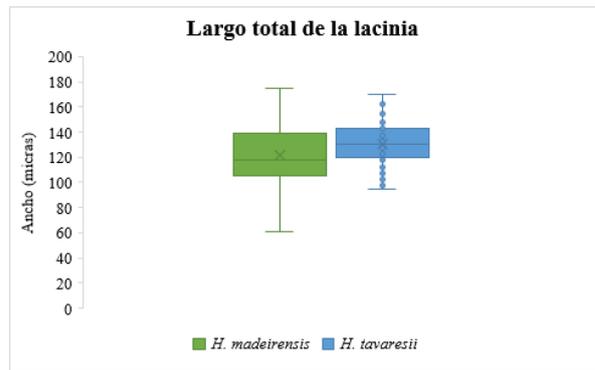
F



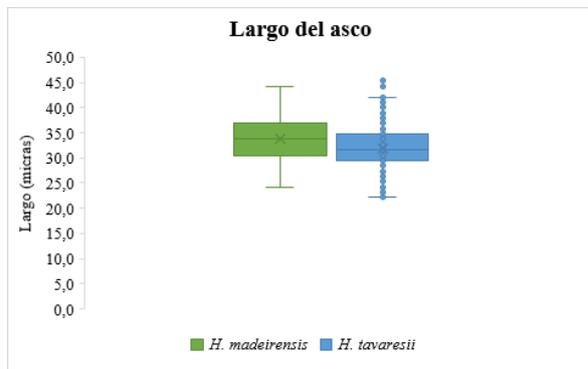
G



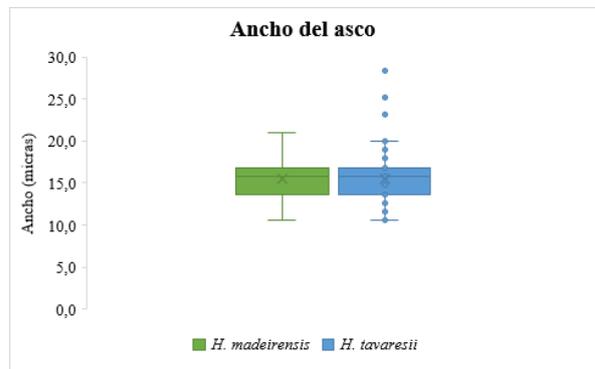
H



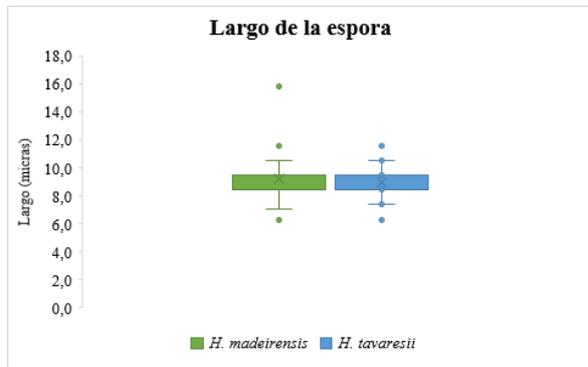
I



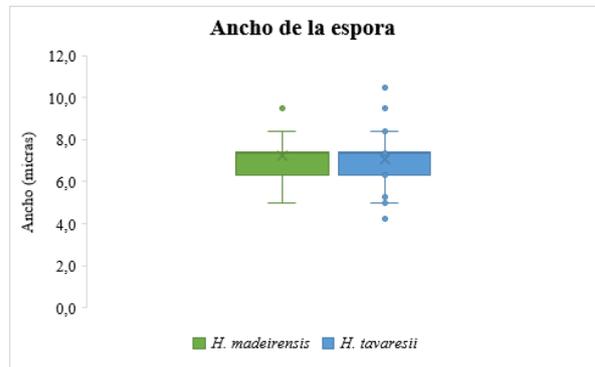
J



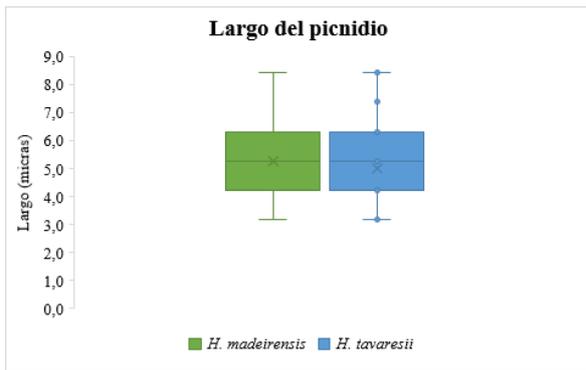
K



L



M



N

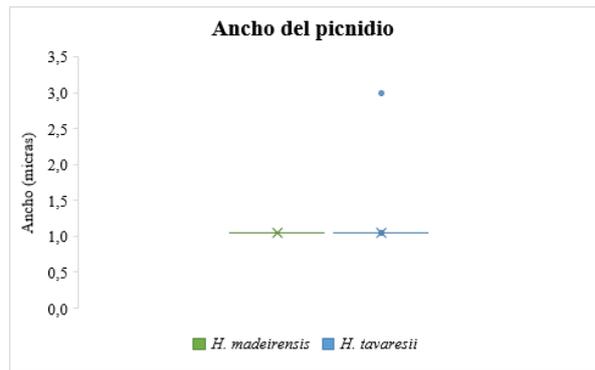


Figura 9. Diagramas de cajas y bigotes para cada uno de los caracteres analizados en las dos especies, *H. madeirensis* y *H. tavaresii*.

Por último, y para estudiar los posibles caracteres que establezcan las diferencias entre los dos taxones analizados, se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA). El primer componente principal explica el 34,5% de la varianza y el segundo, el 22,0%. El primer componente principal parece estar relacionado con el ancho de las lacinias, pero hemos visto que esta medida no permite clasificar ambas especies en dos grupos diferentes. En el gráfico de dispersión (Figura 10) se observa un solapamiento entre las muestras pertenecientes a *H. tavaresii* e *H. madeirensis*. Ninguno de los caracteres morfológicos estudiados permite realizar una distinción significativa de las especies.

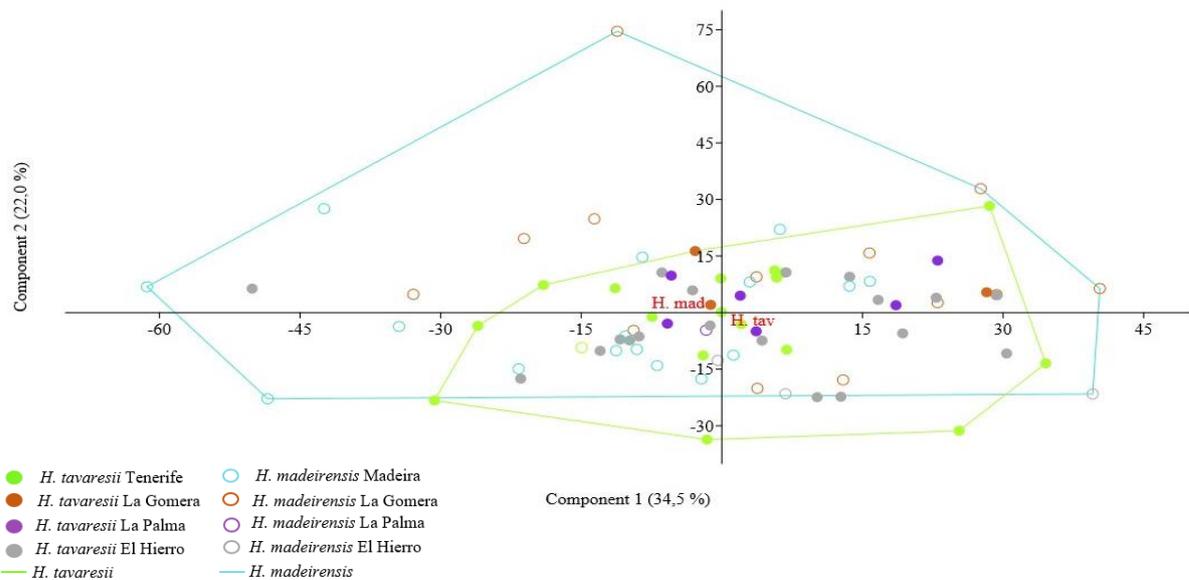


Figura 10. Gráfico de dispersión PCA.

Caracterización química

En cuanto a la quimiotaxonomía, se realizaron los test químicos de K, C, KC, PD y UV en el córtex y en la médula (Tabla 7). La única diferencia que se observa entre *H. tavaresii* e *H. madeirensis* es la reacción frente a PD, positivo para la primera y negativo para la última.

En la descripción de *H. madeirensis*, aunque Schumm (2008) se indica que la médula da un resultado KC-, en este trabajo se ha obtenido un resultado KC+ rosa, al igual que en las muestras de *H. tavaresii*. Esta coloración se debe a la presencia de ácido fisódico (Elix, 2018).

Tabla 7. Resultados de los test químicos realizados en las muestras de *Hypogymnia madeirensis* e *H. tavaresii*.

	Prueba química	<i>Hypogymnia madeirensis</i>	<i>Hypogymnia tavaresii</i>
Córtex	K	+ amarillo	+ amarillo
	C	-	-
	KC	-	-
	PD	-	-
	UV	-	-
Médula	K	-	-
	C	-	-
	KC	+ rosa	+ rosa
	PD	-	+ amarillo-naranja
	UV	+ blanco	+ blanco

Estudios previos sobre la composición química de *Hypogymnia tavaresii* indican la existencia de atranorina (incluyendo cloratranorina), ácido fisódico, 2'-O-metil-fisodona (o ácido 2'-O-metil-fisódico) y ácido fisodálico (Hawksworth, 1973; Rodríguez-Pérez *et al.*, 2016). En las cromatografías en capa fina realizadas se ha podido comprobar la presencia de dichas sustancias (Figura 11a y 11b).

El ácido fisodálico es el compuesto químico que tradicionalmente se ha empleado para diferenciar ambas especies (presente en *H. tavaresii* y ausente en *H. madeirensis*), siendo el responsable del resultado del test químico PD (PD+ en *H. tavaresii* y PD- en *H. madeirensis*).

Existen pocos estudios que hablen específicamente acerca de la composición química de *Hypogymnia madeirensis* pero la bibliografía indica la presencia de atranorina, ácido fisódico y oxifisódico (Schumm, 2008). Estas sustancias han sido comprobadas en las cromatografías realizadas. Cabe destacar, sin embargo, que en todas las muestras de esta especie procedentes de Madeira se observa la existencia de una sustancia con clase 4 en el solvente A y clase 5 en el C que, tras el revelado (sulfúrico más calor), toma un color anaranjado. Podría tratarse del ácido alectorónico, presente en otras especies del género *Hypogymnia* (McCune y Wang, 2014). Esta sustancia no ha sido identificada previamente y no figura en la bibliografía. Se necesitan pruebas más eficientes (cromatografía líquida de alta eficiencia HPLC) para confirmar la naturaleza de este metabolito. Se trataría en cualquier caso, de un nuevo quimiotipo no descrito con anterioridad.

En todas las muestras de este análisis se observa la presencia de ácido fisódico, el cual es el responsable de la reacción UV+ blanco en la médula de ambas especies (Elix, 2018).

Todas las muestras analizadas, tanto de *H. tavaresii* como de *H. madeirensis*, contienen atranorina (responsable de la reacción K+ amarillo del córtex). Este compuesto, químicamente un dépsido del β -orcinol, es muy común no sólo en las especies de este género, sino que se trata de uno de los metabolitos secundarios más ampliamente distribuidos dentro de los líquenes (Studzińska-Sroka *et al.*, 2017). Existen varias hipótesis sobre su función en el talo liquénico: ayudar a aumentar la capacidad de las algas para utilizar la luz de longitudes de ondas más pequeñas permitiendo así el máximo aprovechamiento de las bajas intensidades lumínicas (Rao y Lebranc, 1965); funcionar como un aleloquímico controlando la división celular algal y regulando así el equilibrio

entre los fotobiontes (Backor *et al.*, 2013) o proteger al talo liquénico de la excesiva irradiación ultravioleta (Nash III, 2008).

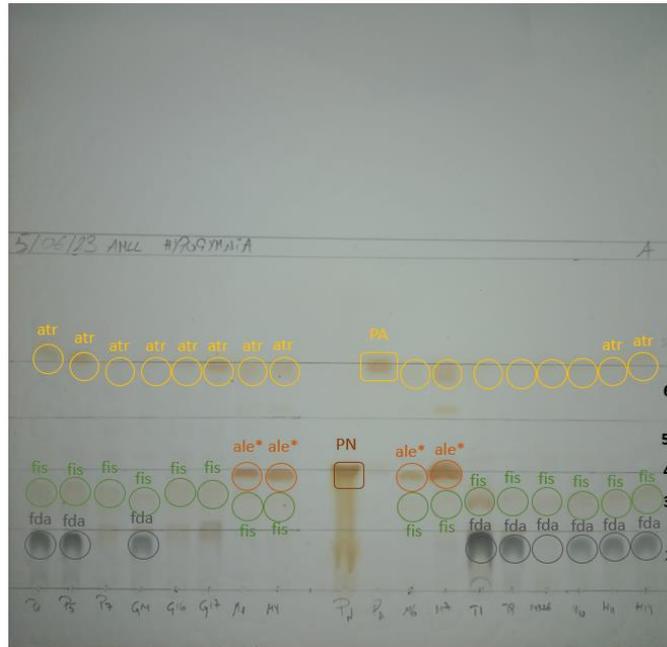


Figura 11a. Resultado de la cromatografía en capa fina en el solvente A. PA: patrón atranorina, PN: patrón norestíctico, atr: atranorina, fda: ácido fisodálico; fis: ácido fisódico, ale*: probablemente ácido alectorónico (por confirmar).

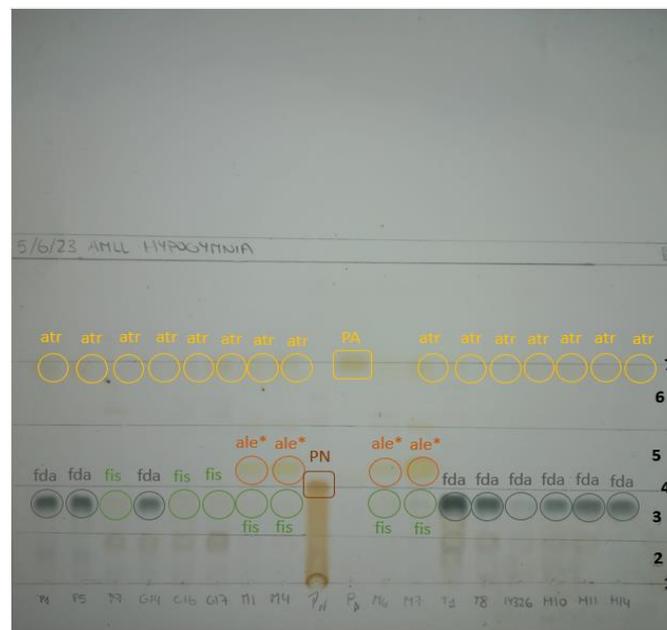


Figura 11b. Resultado de la cromatografía en capa fina en el solvente C. PA: patrón atranorina, PN: patrón norestíctico, atr: atranorina, fda: ácido fisodálico; fis: ácido fisódico, ale*: probablemente ácido alectorónico (por confirmar).

La existencia de especies con diferente composición química o quimiotipos es relativamente frecuente dentro del género *Hypogymnia*. La especie *Hypogymnia antarctica* (Bitter) Dodge, tiene dos quimiotipos, uno que contiene los ácidos fisodálico y protocetrárico y otro que carece de ambas sustancias (Elvebakk, 2011). Lo mismo ocurre con *H. tubulosa*, que presenta un quimiotipo PD+ y otro PD-, es decir, uno que contiene los ácidos fisodálico y protocetrárico y otro en el que están ausentes (McCune y Wang, 2014). *Hypogymnia imshaugii* Krog tiene seis quimiotipos distintos, uno con los ácido difractaico, fisódico y fisodálico, otro con los ácidos difractaico y fisodálico, un tercero con ácido fisódico, 3-hidroxifisódico y fisodálico, otro con ácido fisódico y fisódico y 3-hidroxifisódico, un quinto con los ácidos fisódico y fisodálico y otro que solo presenta ácido fisódico (McCune *et al.*, 2011). Por tanto, no es infrecuente la existencia de especies con variaciones químicas dentro del género. En algunas especies de *Hypogymnia* se ha descrito una relación entre estas variaciones químicas y factores medioambientales (McCune *et al.*, 2011) o incluso relacionados con el forófito (Latkowska *et al.*, 2019).

Análisis filogenético

Se han generado 15 secuencias nuevas, 8 de *Hypogymnia tavaresii* y 7 de *H. madeirensis*, siendo la primera vez que se ha conseguido amplificar la región ITS de *H. tavaresii*.

El análisis filogenético molecular, tanto por el método de máxima verosimilitud (ML) como por la inferencia bayesiana (B), arrojó la misma topología. Se muestra, por tanto, el árbol consenso de ML y se añaden los apoyos de probabilidad posterior en los clados (Figura 12). Sobre la filogenia más completa publicada hasta el momento (Divakar *et al.*, 2019) se ha reconstruido el clado B1 donde se sitúan las especies objeto de estudio; se han tenido en cuenta además los clados hermanos B2 (*H. physodes*) y algunos representantes del clado B3 (*H. lugubris* e *H. subphysodes*). Dichos clados coinciden con los obtenidos por McCune *et al.* (2022). Los grupos externos fueron seleccionados de acuerdo con Divakar *et al.* (2019) y McCune *et al.* (2022). Las especies del clado principal se recuperan como monofiléticas con fuertes soportes en ambos análisis (bootstraps ≥ 70 y PP ≥ 0.95 , a excepción del par *Hypogymnia tavaresii*/*Hypogymnia madeirensis*). En este sentido ninguna de las dos especies forma grupos monofiléticos sino que se agrupan en un clado altamente apoyado (bootstrap 80.1 y pp 0.96) con especímenes de ambas especies mezclados. Dentro de este gran grupo se resuelve algún pequeño subclado con apoyo (Figura 12), pero igualmente presenta individuos de ambas especies mezclados.

Conclusiones

1. Se ha llevado a cabo la revisión de las especies *Hypogymnia madeirensis* e *Hypogymnia tavaresii* en la Región Macaronésica desde un enfoque integrado, empleando técnicas morfológicas, químicas y moleculares.
2. Se han ampliado el número de caracteres morfológicos analizados con respecto a sus descripciones originales. Los análisis realizados revelan el solapamiento de todos ellos, no pudiendo diferenciar ambas especies en base a la morfología, ni siquiera utilizando los caracteres de las descripciones originales.
3. Los análisis cromatográficos confirman las diferencias en cuanto a la composición química recogidas en la bibliografía. Se ha revelado la existencia de una sustancia no descrita hasta el momento para los ejemplares de *H. madeirensis* del archipiélago de Madeira, que ha sido identificada provisionalmente como el ácido alectorónico.
4. Los análisis filogenéticos por máxima versosimilitud y bayesianos no soportan la independencia de ambos taxones, apareciendo ambas especies mezcladas en un clado con alto soporte.
5. Debido a la inexistencia de caracteres morfológicos y moleculares que permitan distinguir ambas especies se propone su sinonimización, considerando las diferencias en cuanto a la composición en metabolitos secundarios meros quimiotipos.
6. De acuerdo con el Código Internacional de Nomenclatura para algas, hongos y plantas (Código de Shenzhen), y el principio de prioridad, el nombre correcto de un taxón es el más antiguo válidamente publicado dentro de una misma categoría taxonómica, en este caso *Hypogymnia madeirensis* (Tav.) D. Hawksw.

Referencias

- Allen, J.L., Troy McMullin, R., Tripp, E.A. y Lendermer, J.C. (2019). Lichen conservation in North America: a review of current practices and research in Canada and the United States. *Biodiversity and Conservation* 28: 3103–3138.
- Backor, M., Bojanova-Ivanova, V., Laatsch, H. y Lokajova, V. (2013). Allelopathic effects of lichen secondary metabolites on lichen photobiont *Trebouxia erici*. *Allelopathy Journal* 31 (1): 189–198.
- Brodo, I.M., Duran Sharnoff, S. y Sharnoff, S. (2001). *Lichens of North America*. Yale University. New Heaven. 828 pp.
- Calatayud, V. y Sanz, M.J. (2000). *Guía de líquenes epífitos*. Ministerio de Medio Ambiente. Secretaría General de Medio Ambiente. Valencia. 185 pp.
- Carvalho, P., Figueira, R. y Jones, M.P. (2008). List of lichens and lichenicolous fungi (Fungi). In: Borges, P.A.V., Abreu, C., Aguiar, A.M.F., Carvalho, P., Jardim, R., Melo, I., Oliveira, P., Sérgio, C., Serrano, A.R.M. y Vieira, P. (eds.). *A list of the terrestrial fungi, flora and fauna of Madeira and Selvagens archipelagos*. pp. 105–122, Direcção Regional do Ambiente da Madeira and Universidade dos Açores, Funchal and Angra do Heroísmo.
- Castanho, R.A., Naranjo-Gomez, J.M., Vulevic, A. y Couto, G. (2021). The Land-Use Change Dynamics Based on the CORINE Data in the Period 1990–2018 in the European Archipelagos of the Macaronesia Region: Azores, Canary Islands, and Madeira. *ISPRS Int. J. Geo-Inf.* 10 (5): 42 pp.
- Colberson, C.F. y Kristinsson, H. (1970). A standardized method for the identification of lichen products. *Journal of Chromatography* 4471: 85–93.
- Crespo, A., Thorsten Lumbsch, H., Mattson, J-E., Blanco, O., Divakar, P.K., Articus, K., Wiklund, E., Bawingan, P.A. y Wedin, M. (2007). Testing morphology-based hypotheses of phylogenetic relationships in Parmeliaceae (Ascomycota) using three ribosomal markers and the nuclear RPB1 gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 812–824.
- Damialis, A., Kaimakamis, E., Konoglou, M., Akritidis, I., Trail-Hoffmann, C. y Gioulekas, D. (2017). Estimating the abundance of airborne pollen and fungal

- spores at variable elevations using an aircraft: how high can they fly? *Scientific Reports* 7: 44535. 11 pp.
- Dayrat, B. (2005). Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society* 85: 407–415.
- Del Arco, M.J. (ed.) (2006). *Mapa de Vegetación de Canarias*. GRAFCAN. Santa Cruz de Tenerife. 550 pp.
- Del Arco, M.J., González-González, R., Garzón-Machado, V. y Pizarro-Hernández, B. (2010). Actual and potential natural vegetation on the Canary Islands and its conservation status. *Biodiversity and Conservation* 19 (11): 3089–3140.
- Divakar, P.K., Leavitt, S.D., Molina, M.C., Del-Prado, R., Thorsten Lumbsch, H. y Crespo, A. (2016). A DNA barcoding approach for identification of hidden diversity in Parmeliaceae (Ascomycota): *Parmelia* sensu stricto as a case study. *Botanical Journal of the Linnean Society* 180: 21–29.
- Divakar, P.K., Wei, X-L, McCune, B., Cubas, P., Boluda, C.G., Leavitt, S.D., Crespo, A., Tchabanenko, S. y Thorsten Lumbsch, H. (2019). Parallel Miocene dispersal events explain the cosmopolitan distribution of the Hypogymnioid lichens. *Journal of Biogeography* 00: 1–11.
- Dubois, A. (2003). The relationships between taxonomy and conservation biology in the century of extinctions. *C. R. Biologies* 326: S9–S21.
- Elix, J.A. (1979). A Taxonomic Revision of the Lichen Genus *Hypogymnia* in Australasia. *Brunonia* 2: 175–245.
- Elix, J.A. (2018). *A Catalogue of Standardized Chromatographic Data and Biosynthetic Relationships for Lichen Substances*. 4th Ed. Publicado por el autor. Canberra. 323 pp.
- Elix, J.A y Ernst-Russell, K.D. (1993). *A Catalogue of Standardized Thin Layer Chromatographic Data and Biosynthetic Relationships for Lichen Substances*, 2nd Ed. Australian National University. Canberra.
- Elvebakk, A. (2011). A review of the genus *Hypogymnia* (Parmeliaceae) in Chile. *The Bryologist* 114 (2): 379–388.

- Fernández-Palacios, J.M., Arévalo, J.R., Balguerías, E., Barone, R., Delgado, J.D., De Nascimento, L., Ellias, R.B., Fernández-Lugo, S., Méndez, J., Naranjo Cigala, A., Menezes De Sequeira, M. y Otto, R. (2017). *La Laurisilva. Canarias, Madeira y Azores*. Macaronesia Editorial. Santa Cruz de Tenerife. 417 pp.
- Fernández-Palacios, J.M., Arévalo, J.R., Delgado, J.D. y Otto, R. (2004). *Canarias. Ecología, Medio Ambiente y Desarrollo*. Centro de La Cultura Popular Canaria. 171 pp.
- Fernández-Palacios, J.M., De Nascimento, L., Otto, R., Delgado, J.D., García-Del-Rey, E., Arévalo, J.R. y Whittaker, R.J. (2010). A reconstruction of Palaeo-Macaronesia, with particular reference to the long-term biogeography of the Atlantic island laurel forests. *Journal of Biogeography* 38 (2): 226–246.
- Fernández-Palacios, J.M y Martín-Esquivel, J.L. (Coord.) (2001). *Naturaleza de las Islas Canarias. Ecología y Conservación*. Turquesa Ediciones. Santa Cruz de Tenerife. 256 pp.
- Fernández-Palacios, J.M. (2019). *Origen y contenido de la Macaronesia*. Universidad de La Laguna. Recuperado de <https://www.ull.es/portal/cienciaull/origen-y-contenido-de-la-macaronesia/> [08/02/2023].
- Frahm, J.-P. (2007). Diversity, dispersal and biogeography of bryophytes (mosses). *Biodiversity and Conservation* 17 (2): 43–50.
- Funk, V.A., Sakai, A.K. y Richardson, K. (2002). Biodiversity: The Interface Between Systematics and Conservation. *Systematic Biology* 51 (2): 235–237.
- Galloway, D. J. (2008). *Flora of New Zealand: Lichens*. Manaaki Whenua Press. Nueva Zelanda. 662 pp.
- Garnett, S.T. y Christidis, L. (2017). Taxonomy anarchy hampers conservation. *Nature* 546: 25–27.
- Garrido-Benavent, I., De los Ríos, A., Núñez-Zapata, J., Ortiz-Álvarez, R., Schultz, M. y Pérez-Ortega, S. (2023). Ocean crossers: a tale of disjunctions and speciation in the dwarf-fruticose *Lichina* (lichenized *Ascomycota*). *Molecular phylogenetics and Evolutions* 185: 107829. 13 pp.

- Gobierno de Canarias (2023). Banco de Datos de Biodiversidad de Canarias (<https://www.biodiversidadcanarias.es/biota/>) [06/07/2023].
- Gobierno de Canarias (s.f.). *Hábitat y especies canarios de interés prioritario*. Recuperado de <https://www.gobiernodecanarias.org/medioambiente/> [18/05/2023].
- Golan, J.J. y Pringle, A. (2017). Long-Distance Dispersal of Fungi. *Microbiology Spectrum* 5 (4). 24 pp.
- González-Montelongo, C. y Pérez-Vargas, I. (2019). Looking for a home: Exploring the potential of epiphytic lichens to colonize tree plantations in a Macaronesian laurel forest. *Forest Ecology and Management* 453 (1): 117541.13 pp.
- González-Montelongo, C. y Pérez-Vargas, I. (2021). Is an invasive alien tree able to sustain a similar lichen diversity as the native forest? The case of the sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) and the laurel forest in Macaronesia *Forest Ecology and Management* 488: 119009. 12 pp.
- Goward, T., Spribille, T., Ahti, T., Hampton-Miller, C.J. (2012). Four new sorediate species in the *Hypogymnia austerodes* group (lichens) from northwestern North America, with notes on thallus morphology. *The Bryologist* 115 (1): 84–100.
- Grimm, M., Grube, M., Schiefelbein, U., Zühlke, D., Bernhardt, J. y Riedel, K. (2021). The lichens' microbiota, still a mystery? *Frontiers in Microbiology* 12: 714.
- Hafellner, J. (1999). Additions and corrections to the checklist and bibliography of lichens and lichenicolous fungi of insular Laurimacaronesia. I. *Fritschiana* 17: 1–26.
- Hafellner, J. (2002). Additions and corrections to the checklist and bibliography of lichens and lichenicolous fungi of insular Laurimacaronesia. II. *Fritschiana* 36: 1–10.
- Hafellner, J. (2005). Additions and corrections to the checklist and bibliography of lichens and lichenicolous fungi of insular Laurimacaronesia. III. *Fritschiana* 50: 1–13.

- Hafellner, J. (2008). Additions and corrections to the checklist and bibliography of lichens and lichenicolous fungi of insular Laurimacaronesia. IV. *Fritschiana* 64: 1–28.
- Hawksworth, D.L. (1973). Two new species of *Hypogymnia* (Nyl.) Nyl. *Lichenologist* 5: 452–456.
- Heilmann-Clausen, J., Barron, E.S., Boddy, L., Dahlberg, A., Griffith, G.W., Nordén, J., Ovaskainen, O., Perini, C., Senn-Irlet, B. y Halme, P. (2014). A fungal perspective on conservation biology. *Conservation Biology* 29 (1): 61–68.
- Hey, J., Waples, R.S., Arnold, M.L., Butlin, R.K. y Harrison, R.G. (2003). Understanding and confronting species uncertainty in biology and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 18 (11): 597–603.
- Honegger, R. (2008). Mycobionts. pp. 27–39. In: Nash III, T.H. (ed.) *Lichen Biology*. 2nd Ed. Cambridge University Press. 468 pp.
- Huelsenbeck, J.P. y Ronquist, F. (2001). MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17 (8): 754–755.
- Iriondo, J.M. (2009). Taxonomía y conservación: dos aproximaciones a un mismo dilema. *Portugaliae Acta Biologica* 19: 1–7.
- ISTAC (2023). *Demografía*. Recuperado de <http://www.gobiernodecanarias.org/istac/> [28/06/23].
- IUCN (2023). *Estado de la Biodiversidad en España 2023. Informe de Canarias*. 22 pp.
- Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K. y Miyata, T. (2002). MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research* 30 (4): 3059–3066.
- Katoh, K. y Standley, D.M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30 (4): 772–780.
- Kunkel, G. (1993). *Die Kanarischen Inseln und ihre Pflanzenwelt*. 3. Ed. Gustav Fischer. Stuttgart. 184 pp. ISBN: 3437303112.

- Latkowska, E., Białczyk, J., Węgrzyn, M. y Erychleb, U. (2019). Host species affects the phenolic compounds content in *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. thalli. *Allelopathy Journal* 47 (2): 221–232.
- Lücking, R., Álvaro-Alba, W.R., Moncada, B., Marín-Cachala, N.L., Sua Tunjano, S. y Cárdenas-López, D. (2023). Lichens from the Colombian Amazon: 666 taxa including 28 new species and 157 new country records document an extraordinary diversity. *Bryologist* 126: 242-303.
- Lücking, R., Dal-Forno, M., Sikaroodi, M., Gillevet, P. M., Bungartz, F., Moncada, B., Yáñez-Ayabaca, A., Chaves, J. L., Coca, L. F. y Lawrey, J. D. (2014) A single macrolichen constitutes hundreds of unrecognized species. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111: 11091–11096.
- Lücking, R., Leavitt, S.D. y Hawksworth, D.L. (2021). Species in lichen-forming fungi: balancing between conceptual and practical considerations, and between phenotype and phylogenomics. *Fungal Diversity* 109: 99–154.
- Mace, G.M. (2004). The role of taxonomy in species conservation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 359: 711–719.
- Martínez-López, O.G. (2015). La taxonomía integral y su importancia para la conservación. *Ciencia y Conservación* 6: 54–64.
- Marzol-Jaén, V.M. (2013). La frecuencia y evolución del mar de nubes durante el verano en las cumbres de Tenerife y en los Valles de La Orotava y Güímar. In: Santamarta-Cerezal, J.C. (ed.). *Avances en la investigación de los recursos hídricos en islas y terrenos volcánicos. Reunión científica nacional sobre el estudio de los recursos hídricos en islas volcánicas*. pp. 223–238. Universidad de La Laguna. Tenerife. 272 pp.
- May, T.W., Cooper, J.A., Dahlberg, A., Furci, G., Minter, D.W., Mueller, G.M., Pouliot, A. y Yang, Z. (2018). Recognition of the discipline of conservation mycology. *Conservation Biology* 33 (3): 733–736.
- McCune, B. y Conway, S. (2022). Two new species, *Hypogymnia tuckerae* and *H. discopruina* (Parmeliaceae), from North America and China. *The Bryologist* 125 (3): 408–419.

- McCune, B., Schoch, C., Root, H.T., Kageyama, S.A. y Miadlikowska, J. (2011). Geographic, climatic, and chemical differentiation in the *Hypogymnia imshaugii* species complex (Lecanoromycetes, Parmeliaceae) in North America. *The Bryologist* 114 (3): 526–544.
- McCune, B. y Wang, L.S. (2014). The lichen genus *Hypogymnia* in southwest China. *Mycosphere* 5 (1): 27–76.
- McCune, B., Divakar, P.K. y Upreti, D.K. (2012). *Hypogymnia* in the Himalayas of India and Nepal. *The lichenologist* 44 (5): 595-609.
- McFarlin, M. (1991). *A Morphological and Chemical Study of the Lichen Genus Hypogymnia in North America North of Mexico*. Honors Project. Illinois Wesleyan University. 57 pp.
- Miadlikowska, J., Kauff, F., Hofstetter, V., Fraker, E., Grube, M., Hafellner, J., Reeb, V., Hodkinson, B.P., Kukwa, M., Lücking, R., Hestmark, G., García-Otalora, M., Rauhut, A., Büdel, B., Scheidegger, C., Timdal, E., Stenroos, S., Brodo, I., Perlmutter, G.B., Ertz, D., Diederich, P., Lendemer, J.C., May, P., Schoch, C.L., Arnold, A.E., Gueida, C., Tripp, E., Yahr, R., Robertson, C. y Lutzoni, F. (2006). New insights into classification and evolution of the Lecanoromycetes (Pezizomycotina, Ascomycota) from phylogenetic analyses of three ribosomal RNA- and two protein-coding genes. *Mycologia* 98 (6): 1088–1103.
- Miadlikowska, J., Schoch, C.L., Kageyama, S.A., Molnar, K., Lutzoni, F. y McCune, B. (2011). *Hypogymnia* phylogeny, including *Cavernularia*, reveals biogeographic structure. *The Bryologist* 114 (2): 392–400.
- Moncada, B., Reidy, B. y Lücking, R. (2014). A phylogenetic revision of Hawaiian *Pseudocyphellaria* sensu lato (lichenized Ascomycota: Lobariaceae) reveals eight new species and a high degree of inferred endemism. *Bryologist* 117: 119-160.
- Moritz, C. (1994). Defining ‘Evolutionarily Significant Units’ for conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 9: 373–375.
- Morrison III, W.R., Lohr, J.L., Dunchen, P., Wilches, R., Trujillo, D., Mair, M. y Renner, S.S. (2009). The impact of taxonomic change on conservation: Does it kill, can it save, or is it just irrelevant? *Biological conservation* 142: 3201–3206.

- Nash III, T.H. (2008). *Lichen Biology*. 2nd Ed. Cambridge University Press. 468 pp.
- Nimis, P.L. (2022). *Key to the lichens of Italy – 11) Hypogymnia (with Allantoparmelia, Brodoa and Menegazzia)*. ITALIC 7.0, The Information System on Italian Lichens. Recuperado de <https://italic.units.it/> [21/01/2023].
- Orange, A., James, P.W. y White, F.J. (2001). *Microchemical methods for the identification of lichens*. British Lichen Society. 101 pp.
- Pante, E., Puillandre, N., Viricel, A., Arnaud-Haond, S., Aurelle, D., Castelin, M., Chenuil, A., Destombe, C., Forcioli, D., Valero, M., Viard, F., Samadi, S. (2015). *Molecular Ecology* 24 (3): 525–544.
- Pérez-Vargas, I., González-Montelongo, C. y Hernández-Padrón, C. (2017). *Los líquenes*. In: Fernández-Palacios, J.M., Arévalo, J.R., Balguerías, E., Barone, R., Delgado, J.D., De Nacimiento, L., Ellias, R.B., Fernández-Lugo, S., Méndez, J., Naranjo Cigala, A., Menezes De Sequeira, M. y Otto, R. (2017). *La Laurisilva. Canarias, Madeira y Azores*. pp. 171–173. Macaronesia Editorial. Santa Cruz de Tenerife. 417 pp.
- Pérez-Vargas, I. y Pérez-Ortega, S. (2014). A new endemic *Ramalina* species from the Canary Islands (Ascomycota, Lecanorales). *Phytotaxa* 159: 269-278.
- Raposo, M.A., Stopiglia, R., Renzo R. Brito, G., Bockmann, F.A., Kirwan, G.M., Gayon, J. y Dubois, A. (2017). What really hampers taxonomy and conservation? A riposte to Garnett and Christidis (2017). *Zootaxa* 4317 (1): 179–184.
- Rao, D. N. y Lebranc, F. (1965). A Possible Role of Atranorin in the Lichen Thallus. *The Bryologist* 68 (3): 284–289.
- Rivas-Martínez, S. (2009). Ensayo geobotánico global sobre la Macaronesia. In: Beltrán-Tejera, E., Afonso-Carrillo, J., García-Gallo, A. y Rodríguez-Delgado, O. (eds.): *Homenaje al Profesor Dr. Wolfredo Wildpret de la Torre*. Instituto de Estudios Canarios. La Laguna (Tenerife. Islas Canarias). Monografía LXXVIII. pp. 255–296.
- Rodríguez-Pérez, E.M., Toledo-Marante, F.J., Caballero-Hernández, J., Bermejo-Barrera, J. y Estevez-Rosas, F.J. (2016). Actividad Antioxidante de los

- Polifenoles de *Hypogymnia tavaresii* D. Hawksw. & P. James. *Química Nova* 39 (4): 456–461.
- Ronquist, F. y Huelsenbeck, J.P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19 (12): 1572–1574.
- Rull, V. (2022). Biodiversity crisis or sixth mass extinction? Does the current anthropogenic biodiversity crisis really qualify as a mass extinction? *EMBO Reports* 23: e54193.
- Santaolalla Fragero, F. (1997). *Canarias. Guía de Ecosistemas y Espacios Naturales Protegidos*. Editorial Rueda, S.L., Madrid. 105 pp.
- Sánchez-Pinto, L. y Rodríguez, S. (2005). Lichenes. In: Arechavaleta, M., Zurita, N., Marrero, M.C. y Martín, J.L. (eds.). *Lista preliminar de especies silvestres de Cabo Verde (hongos, plantas y animales terrestres)*. pp: 27–33. Consejería de Medio Ambiente y Ordenación Territorial, Gobierno de Canarias. 155 pp.
- Sanders, W.B. y Masumoto, H. (2021) Lichen algae: the photosynthetic partners in lichen symbioses. *The Lichenologist* 53: 347–393.
- Scheidegger, C. y Werth, S. (2009). Conservation strategies for lichens: insights from population biology. *Fungal Biology Reviews* 23: 55–56.
- Schlick-Steiner, B.C., Steiner, F.M., Seifert, B., Stauffer, C., Christian E. y Crozier, R.H. (2010). Integrative taxonomy: a multisource approach to exploring biodiversity. *Annual Review of Entomology* 55: 421–438.
- Schoch, C.L., Seifert, K.A. Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J.L., Levesque, A., Chen, W. y Fungal Barcoding Consortium (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for *Fungi*. *PNAS* 109 (16): 6241–6246.
- Schumm, F. (2008). *Flechten Madeiras, der Kanaren und Azoren*. Süssen. 294 pp.
- Sérusiaux, E., A, Villareal A., J.C., Wheeler, T. y Goffinet, B. (2011) Recent origin, active speciation and dispersal for the lichen genus *Nephroma* (Peltigerales) in Macaronesia. *Journal of Biogeography* 38: 1138–1151.

- Sicilia, D.C. (2007). *Los líquenes del Parque Nacional de Garajonay: su aplicación al estudio de la contaminación ambiental*. Universidad de La Laguna. La Laguna. Tesis doctoral. Trabajo no publicado. 353 pp.
- Simon, A., Goffinet, B., Magain, N. y Sérusiaux, E. (2018) High diversity, high insular endemism and recent origin in the lichen genus *Sticta* (lichenized Ascomycota, Peltigerales) in Madagascar and the Mascarenes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 122: 15–28.
- Spribile, T., Tuovinen, V., Resl, P., Vanderpool, D., Wolinski, H., Aime, M.C., Schneider, K., Stabentheiner, E., Toome-Heller, M., Thor, G., Mayrhofer, H., Johannesson, H. y McCutcheon, J.P. (2016). Basidiomycete yeasts in the cortex of ascomycete macrolichens. *Science* 353 (6298): 488–492.
- Stamatakis, A. (2014) RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30 (9): 1312–1313.
- Steen-Hansen, E. y McCune, B. (2010). The lichen genus *Hypogymnia* in Greenland. *Folia Cryptog. Estonica* 47: 13–20.
- Studzińska-Sroka, El., Galanty, A. y Bylka, W. (2017). Atranorin – An Interesting Lichen Secondary Metabolite. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* 17: 1633–1645.
- Talavera, G. y Castresana, J. (2007). Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. *Systematic Biology* 56 (4): 564–577.
- Thomson, S.A., Pyle, R.L., Ahyong, S.T., Alonso-Zarazaga, M., Ammirati, J., Araya, J.F. *et al.* (2018). Taxonomy based on science is necessary for global conservation. *PLOS Biology* 16 (3). 12 pp.
- Turland, N.J. (ed.) (2018). Código Internacional de Nomenclatura para algas, hongos y plantas (Código de Shenzhen). Stiftung Herbarium Greuter (Fundación Herbario Greuter). Berlín, Alemania. 322 pp.
- Vogel Ely, C., de Loreto Bordignon, S.A., Trevisan, R. y Iob Boldrini, I. (2017). Implications of poor taxonomy in conservation. *Journal for Nature Conservation* 36: 10–13.

- Wei, X-L, Chen, K., Lumbsch, H.T. y Wei, J-C. (2015). Rhizines occasionally occur in the genus *Hypogymnia* (Parmeliaceae, Ascomycota). *The Lichenologist* 47 (1): 69–75.
- Wei, X. y Wei, J. (2015). Two new species of *Hypogymnia* (*Lecanorales*, Ascomycota) with pruinose lobe tips from China. *Mycotaxon* 94: 155–158.
- Wei, X., McCune, B., Lumbsch, H.T., Li, H., Leavitt, S., Yamamoto, Y., Tchabanenko, S. y Wei, J. (2016). Limitations of Species Delimitation Based on Phylogenetic Analyses: A Case Study in the *Hypogymnia hypotrypa* Group (Parmeliaceae, Ascomycota). *PLoS ONE* 11 (11). 20 pp.
- Werth, S., Wagner, H.H., Holderegger, R., Kalwij, J.M. y Scheidegger, C. (2006). Effect of disturbances on the genetic diversity of an old-forest associated lichen. *Molecular Ecology* 15: 911–921.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. y Taylor, J.W. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In*: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. y White, T.J. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. pp. 315–322, Academic Press, Inc, Nueva York.

Anexo A. Listado de las muestras de *Hypogymnia madeirensis* e *Hypogymnia tavaresii* analizadas en el estudio.

***Hypogymnia madeirensis* (Tav.) D. Hawksw.**

- M1:** Portugal, Madeira, Ribeiro Frio – Levada, I. Pérez-Vargas, 01-2023. TFC-Lich. 17111.
- M2:** Portugal, Madeira, Ribeiro Frio – Levada, I. Pérez-Vargas, 01-2023. TFC-Lich. 17112.
- M3:** Portugal, Madeira, Ribeiro Frio – Levada, I. Pérez-Vargas, 01-2023. TFC-Lich. 17113.
- M4:** Portugal, Madeira, Ribeiro Frio – Levada, I. Pérez-Vargas, 01-2023. TFC-Lich. 17114.
- M5:** Portugal, Madeira, Porto Moniz, Lagoa do Fanal, 01-2023, I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17115.
- M6:** Portugal, Madeira, Porto Moniz, Lagoa do Fanal, 01-2023, I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17116.
- M7:** Portugal, Madeira, Porto Moniz, Lagoa do Fanal, 01-2023, I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17117.
- M8:** Portugal, Madeira, de Queimadas a Caldeirao Verde, 07-2011. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 10814a.
- M9:** Portugal, Madeira, de Queimadas a Caldeirao Verde, 07-2011. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 10824b.
- M10:** Portugal, Madeira, de Queimadas a Caldeirao Verde, 07-2011. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 10825a.
- M11:** Portugal, Madeira, de Queimadas a Caldeirao Verde, 07-2011. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 1 830a.
- M12:** Portugal, Madeira, de Queimadas a Caldeirao Verde, 07-2011. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 10832b.
- M13:** Portugal, Madeira, de Queimadas a Caldeirao Verde, 07-2011. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 14819.
- M14:** Portugal, Madeira, de Queimadas a Caldeirao Verde, 07-2011. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 14822.
- M15:** Portugal, Madeira, de Queimadas a Caldeirao Verde, 07-2011. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 14823a.
- M16:** Portugal, Madeira, de Queimadas a Caldeirao Verde, 07-2011. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 14 824a.
- G1:** España, islas Canarias, La Gomera, Laguna Grande, 02-2018. I. Pérez-Vargas. TFC-Lich. 17 126.
- G3:** España, islas Canarias, La Gomera, Laguna Grande, 02-2018. I. Pérez-Vargas. TFC-Lich. 17 127.
- G5:** España, islas Canarias, La Gomera, Laguna Grande, 02-2018. I. Pérez-Vargas. TFC-Lich. 17 128.
- G6:** España, islas Canarias, La Gomera, Laguna Grande, 02-2018. I. Pérez-Vargas. TFC-Lich. 17 129.
- G7:** España, islas Canarias, La Gomera, Laguna Grande, 02-2018. I. Pérez-Vargas. TFC-Lich. 17 130.
- G9:** España, islas Canarias, La Gomera, recorrido Pajarito-Mirador Tajaque, N 28° 06' 22" N, W 17° 14' 17", 02-2018. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 131.

- G11:** España, islas Canarias, La Gomera, recorrido Pajarito-Mirador Tajaque, N 28° 06' 22" N, W 17° 14' 17", 02-2018. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 133.
- G12:** España, islas Canarias, La Gomera, recorrido Pajarito-Mirador Tajaque, N 28° 06' 22" N, W 17° 14' 17", 02-2018. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 134.
- G13:** España, islas Canarias, La Gomera, recorrido Pajarito-Mirador Tajaque, N 28° 06' 22" N, W 17° 14' 17", 02-2018. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 135.
- G15:** España, islas Canarias, La Gomera, recorrido Pajarito-Mirador Tajaque, N 28° 06' 22" N, W 17° 14' 17", 02-2018. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 137.
- G16:** España, islas Canarias, La Gomera, recorrido Pajarito-Mirador Tajaque, N 28° 06' 22" N, W 17° 14' 17", 02-2018. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 138.
- G17:** España, islas Canarias, La Gomera, recorrido Pajarito-Mirador Tajaque, N 28° 06' 22" N, W 17° 14' 17", 02-2018. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 139.
- H4:** España, islas Canarias, El Hierro, ruta circular La Llanía, N 27° 44' 11", W 17° 59' 27", 300 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 143.
- H9:** España, islas Canarias, El Hierro, hacia Cruz de Los Reyes, 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 148.
- H10:** España, islas Canarias, El Hierro, hacia Cruz de Los Reyes, 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 149.
- H14:** España, islas Canarias, El Hierro, hacia Cruz de Los Reyes, 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 150.
- P7:** España, islas Canarias, La Palma, sendero de Los Puertos, N 28° 40' 40", W 17° 48' 01", 1100 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 163.

***Hypogymnia tavaresii* D. Hawksw. & P. James**

- T1:** España, Islas Canarias, Tenerife, El Bailadero, carretera dirección El Pijaral, N 28° 33' 02", W 16° 11' 23", 750 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 118.
- T2:** España, Islas Canarias, Tenerife, El Bailadero, carretera dirección El Pijaral, N 28° 33' 02", W 16° 11' 23", 750 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 119.
- T3:** España, Islas Canarias, Tenerife, El Bailadero, carretera dirección El Pijaral, N 28° 33' 02", W 16° 11' 23", 750 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 120.
- T4:** España, Islas Canarias, Tenerife, El Bailadero, carretera dirección El Pijaral, N 28° 33' 02", W 16° 11' 23", 750 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 121.
- T5:** España, Islas Canarias, Tenerife, El Bailadero, carretera dirección El Pijaral, N 28° 33' 02", W 16° 11' 23", 750 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 122.
- T6:** España, Islas Canarias, Tenerife, El Bailadero, carretera dirección El Pijaral, N 28° 33' 02", W 16° 11' 23", 750 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 123.
- T7:** España, Islas Canarias, Tenerife, El Bailadero, carretera dirección El Pijaral, N 28° 33' 02", W 16° 11' 23", 750 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 124.
- T8:** España, Islas Canarias, Tenerife, camino de Abicore, N 28° 32' 32", W 16° 13' 24", 880 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 125.
- T9:** España, Islas Canarias, Tenerife, Anaga, Cueva del Guanche, 02-2014, I. Pérez-Vargas y C. González-Montelongo, TFC-Lich. 14 242c.
- T10:** España, Islas Canarias, Tenerife, Los Realejos, Chanajiga, 03-2014, C. González-Montelongo, TFC-Lich. 14 326.
- T11:** España, Islas Canarias, Tenerife, Anaga, Vueltas de Taganana, 04-1982, E. Beltrán, TFC-Lich. 590.
- T12:** España, Islas Canarias, Tenerife, Anaga, Chinobre, 03-1977, M.C. León-Arencibia y J.R. Acebes Ginovés, TFC-Lich. 264.
- T13:** España, Islas Canarias, Tenerife, Anaga, Vueltas de Taganana, 1983, M.C. León-Arencibia y M. Gil, TFC-Lich. 940.

- T14:** España, Islas Canarias, Tenerife, Anaga, Carretera Cruz del Carmen, 10-1989, C. Hernández-Padrón y P.L. Pérez de Paz, TFC-Lich. 1872.
- T15:** España, Islas Canarias, Tenerife, Anaga, Vueltas de Taganana, 03-1978, P.L. Pérez de Paz, TFC-Lich 48.
- T16:** España, Islas Canarias, Tenerife, Anaga, Carretera Cruz del Carmen, 1995, J.M. González, TFC-Lich. 2313.
- T17:** España, Islas Canarias, Tenerife, Cruz del Carmen, 01-2001, C. Hernández-Padrón y D. Sicilia-Martín. TFC-Lich. 2530.
- T18:** España, Islas Canarias, Tenerife, Anaga, Cruz del Carmen, 09-1998. C. Hernández-Padrón y P.L. Pérez de Paz, TFC-Lich. 2332.
- G10:** España, islas Canarias, La Gomera, recorrido Pajarito-Mirador Tajaque, N 28° 06' 22" N, W 17° 14' 17", 02-2018. I. Pérez-Vargas. TFC-Lich. 17 132.
- G14:** España, islas Canarias, La Gomera, recorrido Pajarito-Mirador Tajaque, N 28° 06' 22" N, W 17° 14' 17", 02-2018 I. Pérez-Vargas. TFC-Lich. 17 136.
- G18:** España, Islas Canarias, La Gomera, Agando, La Zarcita, 11-1987, P.L. Pérez de Paz, C. Hernández-Padrón y M. Gil González, TFC-Lich. 248.
- G19:** España, Islas Canarias, La Gomera, Epina, 11-1987, C. Hernández-Padrón, P.L. Pérez de Paz, y M. Gil González, TFC-Lich. 1825.
- H1:** España, islas Canarias, El Hierro, ruta circular La Llanía, N 27° 44' 11", W 17° 59' 27", 300 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 140.
- H2:** España, islas Canarias, El Hierro, ruta circular La Llanía, N 27° 44' 11", W 17° 59' 27", 300 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 141.
- H3:** España, islas Canarias, El Hierro, ruta circular La Llanía, N 27° 44' 11", W 17° 59' 27", 300 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 142.
- H5:** España, islas Canarias, El Hierro, ruta circular La Llanía, N 27° 44' 11", W 17° 59' 27", 300 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 144.
- H6:** España, islas Canarias, El Hierro, ruta circular La Llanía, N 27° 44' 11", W 17° 59' 27", 300 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 145.
- H7:** España, islas Canarias, El Hierro, ruta circular La Llanía, N 27° 44' 11", W 17° 59' 27", 300 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 146.
- H8:** España, islas Canarias, El Hierro, ruta circular La Llanía, N 27° 44' 11", W 17° 59' 27", 300 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 147.
- H9:** España, islas Canarias, El Hierro, hacia Cruz de Los Reyes, 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 148.
- H10:** España, islas Canarias, El Hierro, hacia Cruz de Los Reyes, 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 149.
- H11:** España, islas Canarias, El Hierro, hacia Cruz de Los Reyes, 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 150.
- H12:** España, islas Canarias, El Hierro, hacia Cruz de Los Reyes, 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 151.
- H13:** España, islas Canarias, El Hierro, hacia Cruz de Los Reyes, 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 152.
- H14:** España, islas Canarias, El Hierro, hacia Cruz de Los Reyes, 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 153.
- H15:** España, islas Canarias, El Hierro, hacia Mirador El Paso, 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 154.
- H16:** España, islas Canarias, El Hierro, hacia Mirador El Paso, 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 155.
- H17:** España, islas Canarias, El Hierro, hacia Mirador El Paso, 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17 156.

H18: España, Islas Canarias, El Hierro, Frontera, 1977, C. Hernández-Padrón y P.L. Pérez de Paz, TFC-Lich. 853.

H19: España, Islas Canarias, El Hierro, Apartacaminos, 03-1977, I. La Serna Ramos, TFC-Lich 342.

P1: España, islas Canarias, La Palma, sendero de Los Puertos, N 28° 40' 40", W 17° 48' 01", 1100 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17157.

P2: España, islas Canarias, La Palma, sendero de Los Puertos, N 28° 40' 40", W 17° 48' 01", 1100 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17158.

P3: España, islas Canarias, La Palma, sendero de Los Puertos, N 28° 40' 40", W 17° 48' 01", 1100 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17159.

P4: España, islas Canarias, La Palma, sendero de Los Puertos, N 28° 40' 40", W 17° 48' 01", 1100 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17160.

P5: España, islas Canarias, La Palma, sendero de Los Puertos, N 28° 40' 40", W 17° 48' 01", 1100 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17161.

P6: España, islas Canarias, La Palma, sendero de Los Puertos, N 28° 40' 40", W 17° 48' 01", 1100 m s.n.m., 09-2022. I. Pérez-Vargas, TFC-Lich. 17162.

Anexo B. Secuencias de *Hypogymnia* obtenidas de Genbank y utilizadas para el análisis genético.

Código secuencia	Especie
AF141368	<i>H. physodes</i>
MG692836	<i>H. physodes</i>
MG692827	<i>H. lugubris</i>
MG692828	<i>H. lugubris</i>
KY859520	<i>H. subfarinacea</i>
MG692845	<i>H. subfarinacea</i>
MG692823	<i>H. farinacea</i>
MK811676	<i>H. farinacea</i>
ON511166	<i>H. tubulosa</i>
MG692851	<i>H. tubulosa</i>
MG692832	<i>H. madeirensis</i>
MG692833	<i>H. madeirensis</i>
MG692834	<i>H. madeirensis</i>
HQ725079	<i>H. fujisanensis</i>
MG692825	<i>H. fujisanensis</i>
MG692858	<i>H. wilfiana</i>
ON511173	<i>H. wilfiana</i>
AY340873	<i>Brodoa intestiniiformis</i>
AY451768	<i>Pseudovernia furfuracea</i>