

Universidad de Chile
Facultad de Ciencias

Relación entre distribución y posición filogenética en las especies del género *Tropaeolum*, sección *Chilensia*

Tesis entregada a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al
grado de Magíster en Ciencias Biológicas con mención en Ecología y Biología Evolutiva

por

Claudia Cecilia Hernández Pellicer

Enero 2003

Directora de tesis: Doctora Mary T. Kalin Arroyo Codirector de tesis: Doctor Mark
HersHKovitz

INFORME DE APROBACIÓN .	1
..	3
Agradecimientos .	5
Resumen .	7
Summary . .	9
Introducción General .	11
Capítulo I. <i>Ámbito de distribución del género Tropaeolum</i> . .	15
Introducción .	15
Objetivo .	16
Métodos .	17
Distribución de las especies de <i>Tropaeolum</i> .	17
Análisis del ámbito de distribución . .	19
Relación entre distribución geográfica y abundancia local .	20
Comparación entre criterios de rareza .	21
Análisis gráfico de rareza . .	21
Resultados . .	22
Distribución del género <i>Tropaeolum</i> en Chile .	22
Análisis del ámbito de distribución . .	23
Discusión . .	42
Dificultades taxonómicas .	42
Rareza . .	43
Capítulo II. <i>Filogenia molecular de Tropaeolum</i> .	47
Introducción .	47
Objetivos específicos .	48
Métodos .	48
Muestreos . .	48
Trabajo de laboratorio . .	48

Análisis y selección de secuencias . .	51
Reconstrucción filogenética . .	51
Resultados . .	57
Análisis moleculares . .	57
Reconstrucción filogenética . .	58
Discusión . .	70
Capítulo III. Relación entre el ámbito de distribución (rareza) y la posición filogenética en el género <i>Tropaeolum</i> .	73
Introducción .	73
Objetivos específicos .	73
Métodos .	74
Filogenia, grado de relictualidad e integración con los resultados de rareza y distribución geográfica de los taxa de <i>Tropaeolum</i> estudiados . .	74
Análisis de correlación .	75
Resultados . .	75
Filogenia, grado de relictualidad e integración con los resultados de rareza y distribución geográfica de los taxa de <i>Tropaeolum</i> estudiados . .	75
Análisis de correlación .	78
Discusión . .	80
Discusión General .	83
CONCLUSIONES . .	85
Literatura Citada . .	87
Anexos . .	91
Anexo 1: Distribución geográfica descrita en Sparre & Andersson (1991) y análisis de los registros dudosos de las especies del género <i>Tropaeolum</i> revisados en mapas cuadriculados de distribución por taxón. . .	91
1. <i>Tropaeolum speciosum</i> .	91
2. <i>Tropaeolum ciliatum</i> .	92
3. <i>Tropaeolum looseri</i> .	92
4. <i>Tropaeolum incisum</i> .	92
5. <i>Tropaeolum myriophyllum</i> .	92

6. <i>Tropaeolum leptophyllum</i> .	94
7. <i>Tropaeolum polyphyllum</i> .	94
8. <i>Tropaeolum jilesii</i> . .	94
9. <i>Tropaeolum sessilifolium</i> . .	94
10. <i>Tropaeolum beuthii</i> .	95
11. <i>Tropaeolum hookerianum</i> .	95
12. <i>Tropaeolum brachyceras</i> . .	95
13. <i>Tropaeolum x tenuirostre</i> . .	96
Anexo 2: Imágenes de <i>Tropaeolum myriophyllum</i> .	96
Anexo 3: Protocolos utilizados en el proceso de obtención de ADN para los análisis moleculares . .	103
1. Preparación Gel de Agarosa .	103
2. Buffer TBE . .	104
3. Protocolo de Electroforesis .	104
4. Extracción de DNA .	105
5. Amplificación de DNA (Reacción de PCR) .	105
5. Purificación de DNA (Precipitación del Producto de PCR) .	106
7. Preparación para secuenciar DNA .	107
Anexo 4: Especies chilenas del género <i>Tropaeolum</i> .	108

INFORME DE APROBACIÓN

TESIS DE MAGISTER

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la tesis de magíster presentada por la candidata

CLAUDIA CECILIA HERNÁNDEZ PELLICER

ha sido aprobada por la Comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas con mención en Ecología y Biología Evolutiva, en el Examen de Defensa de Tesis rendido el día 4 de noviembre de 2002

Directora de Tesis:

Dra. Mary Kalin Arroyo

Codirector de Tesis:

Dr. Mark Hershkovitz

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Juan Armesto Zamudio

Dr. Alberto Veloso

Dedico esta tesis a mis padres, quienes me mostraron la luz de la naturaleza y a mi Toño que me acompañó con amor y esperanza en cada paso de éste trabajo...

Agradecimientos

El número de personas a las cuales quiero agradecer este trabajo es prácticamente infinito, y seguramente me quedará más de alguien en el tintero. Comenzaré agradeciéndole a mi Toño, quien con su amor, paciencia y compañía me ayudó en cada una de las etapas de esta tesis, entre otras muchas cosas, acompañándome a cada una de las salidas a terreno necesarias para encontrar cada una de las especies, sin su ayuda no hubiera podido encontrarlas... Y continúo agradeciéndoles a mis padres y hermanos que siempre me apoyaron a seguir estudiando por más difícil que fuera.

Esta tesis no hubiera sido posible sin la ayuda y el apoyo de todos mis compañeros y amigos, Felipe, Rodrigo Villa y Paola por estar conmigo en ese largo verano 2002, a Leo por acompañarme a terreno y por su apoyo y amistad. A Paulina por sus recomendaciones aclaratorias en la estadística, entre otras cosas. A Ana María Humaña que siempre ha estado por ahí ayudándome; a Carmen Castor, Bárbara Saavedra, Cristian Torrealba, Fernanda, Denise, Iván y Claudia Papic. A la Claudia Cecchi y Jompoma por sus valiosos comentarios meses previos a terminar. A Janito por encontrar una especie difícil en una instancia que no puedo mencionar aquí. A la Pancha, Martín, Nely y Andrea por darme ánimos y por hacerme creer que sí era posible terminar. A la Wally por sus aportes “anglo”, a la Ceci Smith por los kilos de referencias... al Daniel Varela y a Alejandra González por llevarme al río Limarí. Al Eric, que a pesar de la distancia, siempre ha estado apoyándome y ayudándome ...

Quiero agradecer especialmente a Pablo Becerra quien me ayudó a parir el primer capítulo, y a Pato Pliscoff que me enseñó las primeras lecciones de SIG, sin las cuales no habrían mapas en esta tesis, a Lohen y su familia, que cada vez que fue necesario me recibieron con los brazos abiertos. Al Maestro, quien me ha apoyado en los momentos más difíciles y me ha dado el trabajo que ha permitido financiarme durante todo este tiempo.

En cada una de las etapas de esta larga tesis hubo personalidades importantes que contribuyeron al buen término del trabajo; don Otto Zöllner, quien me abrió las puertas de su casa y permitió que revisara cada una de las más de 100 muestras de *Tropaeolum* de su herbario personal; en Paposó don Guido Gutiérrez, quien me llevó por las hermosas lomas costeras, hasta encontrar la especie que se distribuye más al norte; a Gina Arancio y don Max Quezada, los grandes de los herbarios de la Universidad de la Serena y de Concepción. También quiero agradecer a Carlos Medina por sus revisiones y enriquecedoras discusiones sobre historia natural. A Francisco Squeo, Sebastián Teillier, Andrés Moreira, Gloria Rojas. La ayuda de los funcionarios de CONAF fue importante a la hora de colectar en las áreas protegidas, a Carla Delporte del herbario de la facultad de Química y Farmacia y a María Teresa Serra del Departamento de Silvicultura de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de Chile, quienes me permitieron revisar las colecciones de sus respectivos herbarios para la construcción de la base de datos de *Tropaeolum*.

Agradezco también a Carlos Baeza, Pepa, Marcos y Beto, de la Universidad de Concepción, con quienes fui a terreno. También a Calixto Domínguez y Cristian Zavaleta por su valiosa ayuda en el trabajo de laboratorio.

Quiero agradecer también a mis tutores quienes me guiaron durante el desarrollo de la tesis. Especialmente quiero agradecer a Mark Hershkovitz que me enseñó los detalles íntimos de las técnicas moleculares y me guió paso a paso en cada una de las etapas de los capítulos moleculares con mucha paciencia y dedicación.

Finalmente agradezco a quienes financiaron este trabajo: Fondecyt 1980705, 1000909, 1000364; Núcleo Milenio P99-103-F ICM; Beca PG/18/00, Universidad de Chile y Fundación Mellon.

Resumen

Para establecer si existen restricciones históricas para ocupar un determinado hábitat y considerar este aspecto cuando se definen prioridades de conservación, se caracterizó la rareza y si existe alguna relación entre esta condición y la posición filogenética, dentro del género *Tropaeolum*. La rareza representa la condición de un organismo, que por una combinación de factores está restringido, en número de individuos o en área de distribución.

El género *Tropaeolum* (Tropaeolaceae) endémico de Sudamérica, está representado en Chile por 18 especies, distribuidas principalmente en la zona mediterránea de Chile. Se caracterizó la rareza considerando distribución y abundancia y se consideran especies raras a *T. hookerianum* ssp. *pilosum*, *T. jilesii*, *T. beuthii*, *T. looseri* y *T. hookerianum* ssp. *austropurpureum*.

Se construyó una filogenia molecular usando secuencias ITS (ADN), con el objetivo de corroborar si existe alguna relación entre rareza y posición filogenética. Los resultados muestran que considerando ambas variables de rareza en conjunto, existiría una tendencia a que la condición de rareza estaría asociada a especies relictuales más que a especies derivadas. Al considerar ambas variables de rareza por separado, existiría una tendencia a que la condición de rareza geográfica estaría asociada a especies derivadas y la condición de rareza en cuanto a abundancia estaría asociada a especies intermedias a relictuales.

Summary

In order to establish if historical restrictions exist for occupying a specific habitat and to consider this aspect when defining priorities for conservation, I characterized the rarity and if there is a relationship between this condition and the filogenetic position for the genus *Tropaeolum*. Rarity represents the condition of an organism, that as a result of a combination of factors, it is restricted in number of individuals o in distribution area.

The genus *Tropaeolum* (Tropaeolaceae) endemic to South America, is represented by 18 species in Chile that are mainly distributed in the Mediterranean zone of Chile. I characterized the rarity cconsidering distribution and abundance, and I considered as rare species *T. hookerianum* ssp. *pilosum*, *T. jilesii*, *T. beuthii*, *T. looseri* and *T. hookerianum* ssp. *austropurpureum*.

I constructed a molecular phylogeny using ITS (ADN) sequences, with the purpose of corroborating if there is a relation between rarity and filogenetic position. Results show that considering both rarity variables together, the rarity condition tends to be associated to relict species more than derived species. Considering both rarity variables separately, the geographic rarity tends to be associated to derived species and the abundance rarity tends to be associated to intermediate and relict species.

Introducción General

Introducción General

Las plantas que tienen patrones de distribución geográfica restringidos o localizados han atraído el interés de los botánicos y biólogos evolutivos por mucho tiempo (Stebbins, 1980). Las denominadas especies “raras”, *sensu lato*, han sido el foco de estudios de biología de la conservación y han motivado el interés y la preocupación entre los científicos, debido a su importancia para la biodiversidad a escala regional y mundial.

La rareza representa la condición de una clase de organismos, que por una combinación de factores históricos, ecológicos y/o físicos se encuentran comparativamente restringidos, en términos de su área de distribución o número de individuos, a un nivel que es demostrablemente menor que la mayoría de los otros organismos de entidades taxonómicas comparables (Kunin & Gaston 1997).

Alteraciones drásticas en el entorno de una especie rara podría destruir los hábitat que permiten su persistencia y por ende llevar a su extinción. La rareza ha sido reconocida como un predictor de la vulnerabilidad y un precursor de la extinción (Goerck, 1997).

La rareza de especies, como atributo de la distribución geográfica o ecológica de una especie, puede expresarse de distintas maneras, Stebbins (1942) describe tres formas de rareza: (1) especies que en gran parte de su rango geográfico son poco numerosas en una escala geográfica amplia, o se encuentran en pequeñas poblaciones aisladas entre sí, (2) localización extrema, en la cual los individuos de una especie, están presentes sólo

en unas pocas localidades ampliamente separadas unas de otras, aunque sean localmente abundantes y (3) endemismo extremo, donde los individuos de una especie están representados en una o dos localidades solamente, y en cada localidad pueden estar representados por numerosos individuos. En este mismo sentido, Fiedler (1995) reconoce especies ampliamente distribuidas que no son abundantes localmente, especies que tienen una distribución geográfica restringida pero que son localmente abundantes y aquellas especies que tienen una distribución geográfica restringida y no son abundantes localmente.

Otras definiciones de la rareza han sido propuestas por Kruckeberg & Rabinowitz (1985), quienes consideran especies raras a aquellas que ocupan sólo una pequeña fracción de una región florística o geográfica. Asimismo, Gaston (1994) define especies raras como aquella especie que se caracteriza por baja abundancia local y/o rango geográfico pequeño.

Tanto factores ecológicos como históricos han sido implicados como causantes de la condición de rareza. De acuerdo a Goerck (1997), los patrones de rareza son generalmente explicados por varios factores, como la historia evolutiva, la distribución espacial y la estructura genética de cada taxón. Además, postula que estos patrones pueden ser afectados por factores antropogénicos. Factores edáficos y climáticos se sugieren como importantes en el entendimiento de la rareza en plantas vasculares. Estudios realizados en la flora de Finlandia han demostrado que la mayoría de los taxa amenazados, parecen ubicarse en sitios cercanos a los límites de sus áreas de distribución climáticamente determinadas, donde las condiciones edáficas se vuelven cada vez más importantes (Lahti *et al.*, 1991).

No existe acuerdo sobre los caracteres ecológicos que son propios de las especies raras (Gaston 1994). Estudios de caracteres de historia de vida y demográficos no han revelado diferencias consistentes entre los factores que determinan la abundancia poblacional local y el tamaño del área de distribución de especies raras y de las especies más comunes (Gaston 1994; Bevill & Louda, 1999). Se ha observado que muchas especies raras están restringidas a un solo tipo de hábitat y las abundancias locales y tamaño del área de distribución de una especie tienden a aumentar a medida que aumenta el número de hábitats que dicha especie puede ocupar (Gaston 1994). Respecto a los factores evolutivos, parece existir una tendencia a que las especies de plantas raras sean autocompatibles (Kunin & Shmida 1997) o asexuales (Kunin & Gaston 1993), condición que favorece la especiación en parches de hábitat aislados a través de la mantención de pequeñas poblaciones con baja probabilidad de extinción. Sin embargo, se ha encontrado congéneres restringidos y amplios en distribución que no difieren significativamente con respecto a los niveles de autocompatibilidad y sistemas reproductivos (Karron, 1987a). Por ejemplo, las especies de *Astragalus* de distribución restringida presentan algunos niveles de autocompatibilidad y especies de amplia distribución fueron tanto autocompatibles como autoincompatibles (Karron, 1989). Además, existen ejemplos de especies consideradas raras, como *Aster furcatus*, que son autoincompatibles (Les *et al.*, 1991).

Por otra parte, existe una tendencia en las especies raras para tener baja inversión de recursos en reproducción y baja capacidad de dispersión (Kunin & Gaston, 1993), o

para utilizar recursos poco comunes y/o especialización en pocos recursos (Gaston & Kunin, 1997).

En general, las especies raras tienden a mostrar valores más extremos en sus características florales que las plantas comunes con los mismos sistemas de reproducción; esta tendencia fue encontrada en la familia Brassicaceae, donde se encontró que las plantas tuvieron flores inusualmente grandes y profundas cuando fueron incompatibles entre si, e inusualmente pequeñas y poco profundas cuando fueron compatibles (Kunin & Shmida 1997).

Un factor frecuentemente relevante en el origen de la condición de rareza podría tener relación con la homogeneidad genética. Esto supone que las especies comunes son genéticamente diversas mientras las especies raras contendrían baja variabilidad genética (Gaston & Kunin, 1997), lo anterior reduciría la capacidad de las especies raras para competir exitosamente en distintos hábitats con otras especies (Stebbins 1942). Las especies restringidas geográficamente exhiben significativamente más bajos niveles de polimorfismo genético que taxa de amplia distribución (Karron, 1987b). En estudios realizados en *Aster furcatus*, la diversidad genética total fue extremadamente baja (Les *et al.*, 1991). Sin embargo, Rabinowitz *et al.* (1984) demostró que las especies raras no presentan desventajas por interacciones de competencia con sus vecinos comunes.

En otro ámbito de explicaciones, encontramos los aspectos biogeográficos e históricos que pudieran afectar las distribuciones actuales de las especies. Podemos encontrar dos tipos de situaciones, especies relictas y especies recientes.

Las especies relictas, desde una perspectiva filogenética, representan taxa altamente divergentes de sus parientes cercanos. Probablemente esta divergencia es producto de un evento de diversificación que tuvo lugar, antes de la diversificación de la mayoría de sus parientes cercanos existentes. Desde una perspectiva biogeográfica, representan vestigios de organismos antiguos que estuvieron más ampliamente distribuidos en el pasado, su estatus relictual actual sería el resultado de la creciente restricción a un hábitat especializado (Kruckeberg & Rabinowitz 1985).

Los grandes cambios climáticos y vegetacionales que pueden haber afectado a un área geográfica durante el pasado, pueden tener efectos a escala local, alterando los hábitats que las especies ocupan. Esto puede restringir las capacidades de expansión de especies que no son lo suficientemente plásticas o que no poseen un resguardo genético que les permita adaptarse a las nuevas circunstancias.

La rareza puede estar relacionada a la relictualidad, si las especies se volvieron progresivamente restringidas debido a cambios ecológicos adversos que ocurrieron después del origen de estas especies.

Por otra parte, los taxa que han evolucionado recientemente, son entidades que hace poco tiempo se han separado de sus taxa parentales, y por lo tanto no han aumentado sus tamaños poblaciones y expandido sus rangos, por falta de tiempo. Es decir, son especies que no tienen un alto grado de divergencia con respecto a sus parientes cercanos, y son presumiblemente producto de un evento de diversificación que ocurrió más recientemente, que la diversificación de sus parientes cercanos existentes.

La rareza de las especies, puede estar relacionada a una divergencia reciente, si es que el tiempo transcurrido desde este evento, ha sido insuficiente para que las especies alcancen su máxima distribución potencial, en relación con las condiciones ecológicas actuales.

Una forma de averiguar si las especies raras representan una mezcla de especies relictas y otras recientemente evolucionadas, sería determinar si la rareza tiene relación con la posición filogenética en un taxón. Este acercamiento ha sido poco explorado en los estudios de la rareza.

En un árbol filogenético, es de esperar que aquellas especies raras, cuya condición de rareza se deba a un evento de especiación reciente, se ubiquen en posiciones terminales de un árbol filogenético. Por otra parte, las especies raras correspondientes a taxa antiguos en vías de extinción, como consecuencia de grandes cambios climáticos y geomorfológicos, los que habrían causado la disminución de sus abundancias locales y/o rangos de distribución. Se ubicarán en una posición basal en el árbol o posición de diversificación relativamente más temprana.

Para explorar estas posibilidades es necesario analizar si existe alguna correlación entre la posición filogenética de las especies de un grupo taxonómico y su condición de rareza.

Considerando los antecedentes expuestos, en esta tesis se propone explorar la relación entre la condición de rareza y la posición filogenética de las especies del género *Tropaeolum* sección *Chilensia* (*Tropaeolaceae*). La hipótesis general propuesta es que las especies raras de las *Tropaeolaceae* chilenas se ubicarían en posición temprana o derivada dentro de la filogenia, con la hipótesis nula que no hay una relación entre la posición filogenética y el ámbito de distribución de las especies del género *Tropaeolum*, es decir, en esta situación, las especies raras se distribuirían al azar dentro del árbol filogenético.

Capítulo I. Ámbito de distribución del género *Tropaeolum*

Introducción

El género *Tropaeolum* pertenece a la familia Sudamericana Tropaeolaceae, en la que desde hace poco, se reconocen tres géneros: *Magallana* con dos especies, *Trophaeastrum* con una especie y *Tropaeolum* con 86 especies (Sparre & Andersson, 1991). *Magallana* y *Trophaeastrum* se distribuyen en la Patagonia argentina y *Tropaeolum* se distribuye ampliamente en Sudamérica. *Tropaeolum* está subdividido en diez secciones, cada una ocupando regiones fitogeográficas distintas. Esta división subgenérica se basa principalmente en características de la hoja, tales como la forma de los lóbulos, la razón longitud/ancho de la lámina y la forma de la base de la lámina. Otro carácter importante en esta subdivisión, es la morfología floral, especialmente la forma del espolón y lóbulos del cáliz, y la forma y tamaño de los pétalos. Además, tienen importancia el grado de heteromorfía de los pétalos superiores respecto de los inferiores, la presencia o ausencia de cilios en el margen y grado de disección (Sparre & Andersson 1991). De acuerdo a Sparre & Andersson (1991), en Chile existe solamente la sección *Chilensia*. Esta sección sería la de mayor antigüedad dentro del género *Tropaeolum* junto a *Trophaeastrum* y *Magallana* (Sparre & Andersson 1991). La sección *Chilensia*, está

bien definida morfológica y fitogeográficamente y comprende 18 especies la mayoría de las cuales se encuentran en las zonas áridas del norte y centro de Chile, incluyendo zonas adyacentes de Argentina.

La elección de las *Tropaeolaceae* chilenas para este estudio, se debe a que la familia contiene tanto especies con un amplio rango de distribución como especies con distribución restringida y abundancia variable (Sparre & Andersson 1991). Por otra parte, el estudiar la rareza en un taxón completo, versus ensambles locales, es ventajoso ya que evitamos considerar una especie rara en un sector geográfico, que puede ser común en otro lugar. El estudio de la rareza dentro de un taxón, permite hacer estudios integrales de rareza y hacer comparaciones entre taxa y no genera ambigüedades. Además la comparación de especies del mismo género tiene la ventaja de reducir la variación en otros factores (por ejemplo forma de vida) que podrían afectar la tasa de especiación y así los patrones de rareza.

Las especies de *Tropaeolum* sección *Chilensia* están concentradas en Chile central, llegando hasta sectores cordilleranos, el desierto costero en el norte y con un ejemplar en la zona del bosque valdiviano en el sur (Sparre & Andersson, 1991). Chile central presenta un alto número de taxa endémicos y monotípicos (Arroyo & Cavieres 1997). Un análisis preliminar de la flora completa sugiere que contiene más de 500 especies raras (Hernández *et al.* 2000).

Por otro lado, Chile central ha sido afectado por eventos geomorfológicos de gran escala, tales como el levantamiento de la cordillera de los Andes, la formación de la Diagonal Árida (Villagrán 1995, Villagrán & Hinojosa 1997), además de eventos glaciales. Este conjunto de factores habría llevado a ciclos de especiación en los nuevos ambientes y la formación de refugios en donde se concentran especies relictas. En Chile, la zona mediterránea cubre un pronunciado gradiente climático latitudinal de xérico a mésico, asociado al incremento de precipitación de norte a sur. Además, el efecto de la sombra de lluvias ejercido por ambas cordilleras ha determinado una fuerte variación este - oeste en la vegetación (Villagrán 1995; Arroyo *et al.* 1995). Además existen fuertes gradientes altitudinales (entre el nivel del mar y los 5000 m de altitud), lo que determina cambios abruptos en la vegetación. Es ampliamente reconocido que la inserción de climas mediterráneos en el Terciario (Raven & Axelrod 1978) habría provocado rápida especiación y altos niveles de neoendemismos en las zonas mediterráneas en general. Por lo tanto, en las zonas de clima mediterráneo, como Chile central, se esperaría encontrar una combinación de especies raras antiguas y recientemente evolucionadas en un mismo grupo. El género *Tropaeolum* sección *Chilensia*, se distribuye ampliamente en Chile central, por lo que su elección es muy adecuada para responder la pregunta ¿cuáles taxa del género *Tropaeolum* tienen un ámbito de distribución y/o abundancia restringida (taxa raros) y cuáles tienen un ámbito de distribución y/o abundancia amplio?.

Objetivo

Analizar la distribución geográfica de las especies y subespecies del género *Tropaeolum* sección *Chilensia* en Chile, con el propósito de determinar sus ámbitos de distribución geográfica y distinguir mediante un criterio a priori los taxa raros de aquellos de

distribución amplia.

Métodos

Distribución de las especies de *Tropaeolum*

Se determinó la distribución geográfica de las especies de *Tropaeolum* en Chile a través de registros de herbario (Tabla 1, Anexo 4). Se construyó una base de datos de las localidades utilizando las siguientes fuentes de información: Base de Datos de la Flora de Chile, que contiene registros de las colecciones depositadas en los herbarios de la Universidad de Concepción (CONC), el Museo Nacional de Historia Natural (SGO); registros de colectas en las monografías del género publicadas por Sparre (1955) y Sparre & Andersson 1991; registros de los herbarios del profesor Otto Zöllner, de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de Chile, de la Universidad de Talca, del Departamento de Silvicultura de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de Chile y de la Universidad de La Serena. Adicionalmente, se incluyó información de bases de datos del Royal Botanic Garden of Edinburgh, de la Flora de la IV Región de Coquimbo (versión Agosto 2000), colectas del profesor Sebastián Teillier y colectas de los proyectos Fondecyt 1980705 (MT Kalin Arroyo) y 1000909 (Mark Hershkovitz). A estas fuentes se sumaron varias colectas nuevas del género obtenidas durante el curso de este estudio (tabla 2).

Se eliminaron de la base de datos todos aquellos registros repetidos en más de un herbario, registros localizados en sectores extremadamente alejados del rango descrito en Sparre & Andersson (1991), registros cuyos referentes en sus respectivos herbarios estaban ausentes en sus carpetas, y muestras que presentaban etiquetas dudosas o simplemente no tenían etiqueta.

Tabla 1: Taxa del género *Tropaeolum* sección *Chilensia*.

Relación entre distribución y posición filogenética en las especies del género *Tropaeolum*, sección Chilensia

Especies	Abreviatura
<i>Tropaeolum azureum</i> Miers ex Colla	AZ
<i>Tropaeolum beuthii</i> Klotzsch	BE
<i>Tropaeolum brachyceras</i> Hook. et Arn.	BR
<i>Tropaeolum ciliatum</i> Ruiz et Pavón ssp <i>ciliatum</i>	CI
<i>Tropaeolum ciliatum</i> Ruiz et Pavón ssp <i>septentrionale</i> Sparre	CS
<i>Tropaeolum hookerianum</i> Barn. ssp <i>hookerianum</i>	HO
<i>Tropaeolum hookerianum</i> Barn. ssp <i>austropurpureum</i> J.M. Watson et A.R. Flores	AU
<i>Tropaeolum hookerianum</i> Barn. ssp <i>pilosum</i> J.M. Watson et A.R. Flores	PI
<i>Tropaeolum incisum</i> (Speg.) Sparre	IN
<i>Tropaeolum jilesii</i> Sparre	JI
<i>Tropaeolum kingii</i> Phil.	KI
<i>Tropaeolum leptophyllum</i> G.Don ssp <i>gracile</i> (Hook. et Arn.) Sparre	GR
<i>Tropaeolum leptophyllum</i> G.Don ssp <i>leptophyllum</i>	LE
<i>Tropaeolum looseri</i> Sparre	LO
<i>Tropaeolum myriophyllum</i> (Poepp. et Endl.) Sparre	MY
<i>Tropaeolum nuptae-jucundae</i> Sparre	NU
<i>Tropaeolum polyphyllum</i> Cav.	PO
<i>Tropaeolum rhomboideum</i> Lemaire	RH
<i>Tropaeolum sessilifolium</i> Poepp. et Endl.	SE
<i>Tropaeolum speciosum</i> Poepp. et Endl.	SP
<i>Tropaeolum tricolor</i> Sweet	TR
<i>Tropaeolum x tenuirostre</i> Steud.	TX

Tabla 2: Localidades de colecta y especies de *Tropaeolum* colectadas en este estudio.

Capítulo I. Ámbito de distribución del género *Tropaeolum*

	AU	AZ	BE	BR	CI	SE	HO	IN	JI	KI	GR	LE	LO	MY	NU	PI	PO	RH	SE	SP	TR	TX
<u>Agosto-2000</u>																						
Cuesta Chacabuco		X																				
Desembocadura Río Limarí							X															
<u>Septiembre-2000</u>																						
Paposo			X																			X
Lagunillas																						X
Curacaví				X																		X
<u>Septiembre – Octubre 2000</u>																						
Huentelauquén-Canela Baja	X																					
La Viñita										X			X									
La Serena																						X
Andacollo, Samo Alto		X																				X
<u>Octubre-2000</u>																						
Lagunillas																		X				X
Chillán-Portezuelo											X											
Mininco															X							
<u>Noviembre-2000</u>																						
Pichilemu					X						X											
<u>Diciembre-2000</u>																						
Laguna Tenó												X										X
Farellones																	X		X			
PN La Campana						X																
Alicahue																			X			
<u>Enero-2001</u>																						
Laguna del Maule								X														
PN Tolhuaca																				X		
Liucura								X														
Embalse El Yeso																	X					
<u>Septiembre-2001</u>																						
Andacollo																X						
Illapel	X																					
Conservación en sílica Gel	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X

Análisis del ámbito de distribución

En los análisis de rareza se consideró el supuesto que los esfuerzos de colectas de las especies del género son independientes de la distribución y abundancia de las especies.

Además se consideró a cada taxón reconocido en la monografía del género (Sparre & Andersson, 1991) como una unidad taxonómica independiente. De acuerdo con este criterio, se consideró hasta el nivel de subespecie en el análisis. Las localidades de cada taxón fueron representadas en cuadrículas de 0,25° de latitud por 0,25° de longitud. Cabe notar que inicialmente se trabajó con cuadrículas de 0,5° latitud x 0,5° longitud, pero para lograr un análisis más fino, se redujo la escala geográfica.

El análisis de rareza se efectuó sobre la base de dos variables: (1) el tamaño del rango geográfico, es decir el número de cuadrículas en que está presente cada taxón y (2) abundancia local, es decir, el promedio de registros del taxón por cuadrícula, considerando solamente las cuadrículas donde está presente el taxón.

Utilizando estas variables, se puede definir un gradiente continuo de abundancias y rangos geográficos por especie. Sin embargo, para poder comparar un ensamble de entidades taxonómicas, es necesario contar con una definición operacional de rareza que permita establecer un punto de corte entre las especies raras y las comunes. Gaston (1994, 1997) sugiere usar la definición “cuartil de rareza”, es decir detectar el 25% de las especies en un ensamble con las más bajas abundancias medias y menores rangos geográficos, sin considerar como éstos fueron determinados.

Para definir las especies raras, se utilizaron tres criterios de rareza dados por Gaston (1994), para cada una de las variables y se establecieron puntos de corte arbitrarios para cada criterio.

Criterio 1: Proporción de Especies

Las especies raras son definidas como el x % de los taxa con los más pequeños rangos geográficos o las menores abundancias en el ensamble. En ambos casos el porcentaje utilizado para establecer el punto de corte en la literatura, ha variado entre 23,5 y 49,1 % (Gaston 1994).

Criterio 2: Proporción de la suma

Especies raras son definidas como aquellas especies con un rango geográfico menor que el x % del tamaño de rango más grande posible en el área de estudio (es decir el área o número de cuadrículas ocupados por todos los taxa del género), o las especies con abundancias promedio menores que el x % de las abundancias sumadas de todas las especies.

En términos operacionales, el valor de x debe ser tal que al menos incluya una entidad taxonómica rara y no debe ser tan alto como para que incluya a todas las entidades taxonómicas como raras.

Criterio 3: Proporción del máximo

En este caso las especies raras son definidas como aquellas especies que tienen tamaños de rango de distribución o abundancias menores que el x % de aquellas especies con el mayor rango de distribución o abundancia local promedio en el ensamble.

Relación entre distribución geográfica y abundancia local

Se realizó una prueba no paramétrica debido a que los datos no se distribuyen normalmente. El análisis de correlación de Spearman es adecuado para determinar el grado de asociación entre las dos variables usadas en el análisis de rareza. Se comparó el número de cuadrículas en que cada taxón estaba presente con su abundancia local promedio.

Comparación entre criterios de rareza

Se determinó el grado de asociación entre los criterios de rareza. Para este efecto se comparó los criterios de rareza a través de un análisis de similitud. Para este análisis se realizó el Índice de Jaccard:

$$I_{Ap} = \left[\frac{a}{a+b+c} \right] \times 100$$

Donde:

- a. número de especies seleccionadas por dos criterios simultáneamente
- b. número de especies seleccionadas por el primer criterio exclusivamente
- c. número de especies seleccionadas por el segundo criterio exclusivamente

Este índice permite comparar dos criterios a la vez, permitiendo evaluar la relación de similitud entre las especies raras seleccionadas por cada criterio, a través de registros de coincidencias y no coincidencias entre ellos.

Análisis gráfico de rareza

Se realizó un análisis gráfico, en el cual se representó la distribución geográfica versus la abundancia local y se determinó un porcentaje de los taxa que tienen las menores abundancias y las distribuciones más restringidas, para establecer el punto de corte gráficamente. Se establecieron cuatro agrupaciones (figura 1), usando el 25 % de los taxa con las menores abundancias y los menores rangos de distribución. Donde: a = 25 % de los taxa con baja abundancia y distribución restringida; b = taxa con baja abundancia y amplia distribución; c = taxa con alta abundancia y amplia distribución; y d = taxa con alta abundancia y distribución restringida.

Además se hizo un análisis de la distribución de las especies raras por regiones políticas.

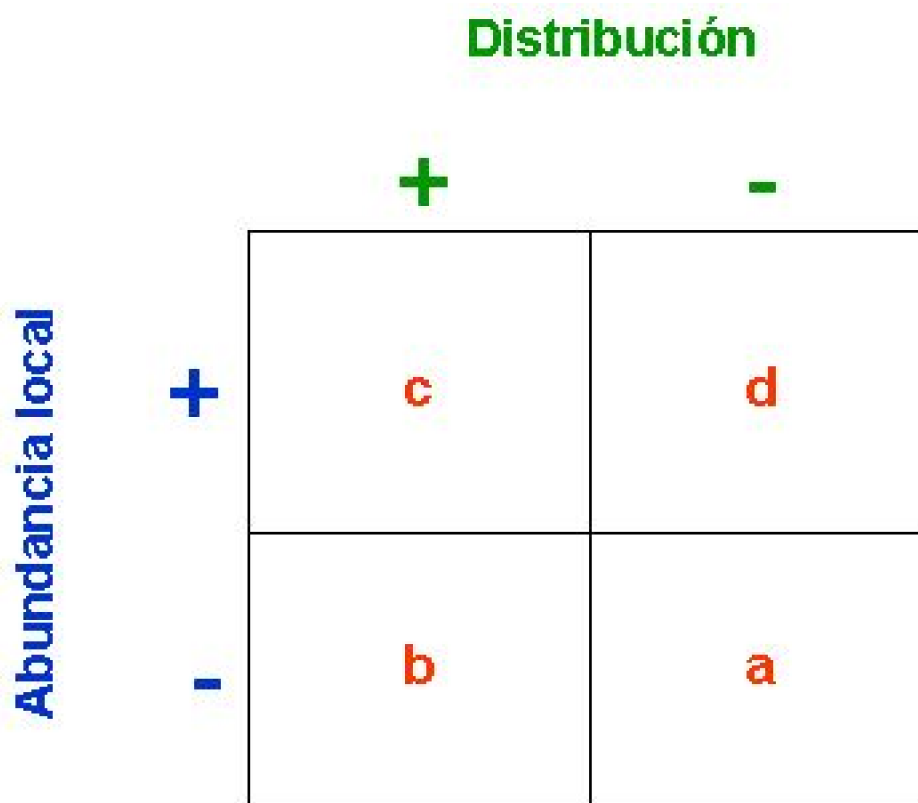


Figura 1: Análisis gráfico de la rareza.

Resultados

Distribución del género *Tropaeolum* en Chile

A. Análisis de registros

En la tabla 3 se observan las fuentes de registros utilizados para la construcción de la base de datos de *Tropaeolum*. De los 1.458 registros totales se eliminaron 118 por considerarse dudosos, utilizándose finalmente un total de 1.340 registros para los análisis. En el Anexo 1 se presenta un análisis de cada uno de los registros que se consideraron dudosos para los análisis realizados.

Tabla 3: Fuentes de registros para la construcción de la base de datos de *Tropaeolum* en Chile.

Fuente	Nº de registros	% de registros
Base de datos Flora de Chile	965	66,2
Colectas de Claudia Hernández	47	3,2
Base de datos de la Flora de la IV Región de Coquimbo	60	4,1
Colectas del Proyecto Fondecyt 1980705	93	6,4
Herbario de la Facultad de Química y Farmacia, Universidad de Chile	64	4,4
Base de datos del Royal Botanic Garden of Edinburgh	42	2,9
Herbario del Depto. de Silvicultura de la Fac. de Ciencias Forestales de la Univ. de Chile	46	3,2
Colectas del profesor Sebastián Teillier	13	0,9
Herbario de la Universidad de Talca	9	0,6
Herbario del profesor Otto Zöllner	119	8,2
Total	1.458	100

B. Distribución

El rango de distribución del género *Tropaeolum* en Chile continental se extiende entre la segunda (22° S) y la décima región (43° S) (figura 2). Abarca un total de 255 cuadrículas de 0,25° latitud x 0,25° longitud. La especie más ampliamente distribuida es *Tropaeolum tricolor*, la cual ocupa prácticamente todo el rango de distribución del género (24°30' S – 40°15' S). En contraposición, las especies con los rangos más pequeños son: *Tropaeolum rhomboideum* (Región Metropolitana), *T. myriophyllum* (VII, VIII Regiones) y *T. hookerianum* ssp *pilosum* (IV Región), las cuales se encuentran sólo en una o dos cuadrículas cada una. Adicionalmente, estas tres especies presentaron un bajo número de colectas en la base de datos, como se observa en la tabla 4, donde se presenta la frecuencia de colectas por especie. En esta tabla observamos que sólo tres especies representan alrededor del 50% de las colectas. Cinco especies presentan menos de 10 colectas cada una, trece especies presentan más de 10 y menos de 100 colectas cada una y cuatro especies presentan más de 100 colectas cada una. Esta situación se ve reflejada en los rangos de distribución de las especies de *Tropaeolum*, que se observan en la figura 3.

Análisis del ámbito de distribución

A. Criterios de rareza usados en las variables frecuencia de cuadrículas y abundancia local

Criterio 1: Proporción de especies

Un valor moderado y conservador es el 25% de las entidades taxonómicas reconocibles, el cual corresponde al “cuartil de rareza” de Gaston (1994, 1997). Este valor

corresponde a 6 taxa del género *Tropaeolum*.

Criterio 2: Proporción de la suma

Analizando las distribuciones (número de cuadrículas ocupadas) de las especies de *Tropaeolum*, observamos que éstas varían entre 1 y 114 cuadrículas por especie (tabla 5), pero la diferencia entre la especie más ampliamente distribuida y la segunda más ampliamente distribuida representa una diferencia de 61 cuadrículas, equivalente a un 23,9% de las cuadrículas totales (255 cuadrículas). En consecuencia, se calculó como punto de quiebre el punto medio entre 1 y 52 cuadrículas, es decir, entre la especie con menor distribución y la segunda especie más ampliamente distribuida. Este valor representa un 10,4% de todas las cuadrículas que incluyen la distribución del género en Chile (N = 255 cuadrículas). Se definió así este porcentaje como el punto de corte entre las especies raras y las comunes para las especies y subespecies de *Tropaeolum*.

En caso de la variable abundancia local promedio (tabla 6), se considera el mismo criterio. Se determina el promedio de la mayor y menor abundancia (es decir, entre 6 y 1), lo que representa un porcentaje de 58,3% del valor de abundancia más alto. Este porcentaje se aplica a las abundancias sumadas de los taxa, para establecer el punto de corte entre las especies raras y comunes de *Tropaeolum*.

Criterio 3: Proporción del máximo

Considerando el mismo criterio operacional que en el criterio 2, se utilizó como punto de quiebre, un 10,4% de los cuadrantes ocupados por la especie de *Tropaeolum* con mayor rango de distribución en el ensamble. Para la variable abundancia local promedio, utilicé el mismo punto de quiebre entre las especies raras y comunes, el 58,3% de la abundancia promedio del taxón más abundante en el ensamble.

Tabla 4: Frecuencia de colectas por especie.

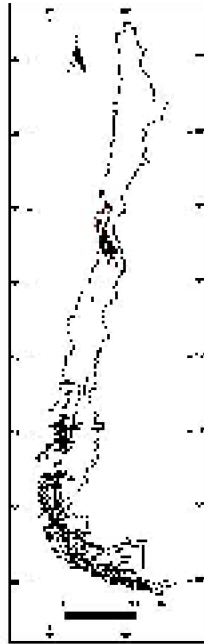
Especies o subespecies de <i>Tropaeolum</i>	Nº colectas por taxa	% colectas por taxa
<i>T. tricolor</i>	393	29,33
<i>T. azureum</i>	142	10,60
<i>T. polyphyllum</i>	140	10,45
<i>T. speciosum</i>	106	7,91
<i>T. brachyceras</i>	91	6,79
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>ciliatum</i>	72	5,37
<i>T. sessilifolium</i>	58	4,33
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>septentrionale</i>	56	4,18
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>leptophyllum</i>	48	3,58
<i>T. hookerianum</i>	42	3,13
<i>T. X tenuirostre</i>	36	2,69
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>gracile</i>	31	2,31
<i>T. incisum</i>	31	2,31
<i>T. kingii</i>	29	2,16
<i>T. looseri</i>	19	1,42
<i>T. nuptae-jucundae</i>	13	0,97
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>austropurpureum</i>	12	0,90
<i>T. beuthii</i>	6	0,45
<i>T. rhomboideum</i>	6	0,45
<i>T. jilesii</i>	4	0,30
<i>T. myriophyllum</i>	3	0,22
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>pilosum</i>	2	0,15
Total	1.340	100



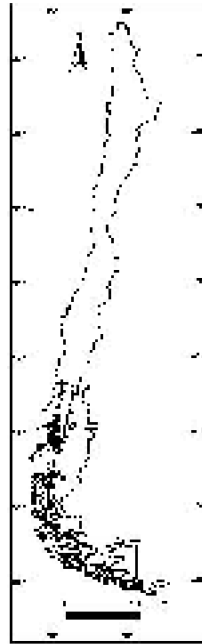
Figura 2: Distribución del género *Tropaeolum* sección *Chilensia* en Chile (los puntos corresponden a los sitios de colecta).

Figura 3: Distribución de las especies y subespecies del género *Tropaeolum* sección *Chilensia* en Chile.

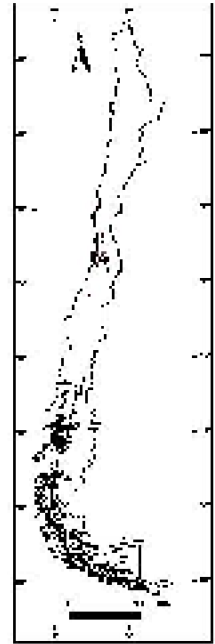
Tropaeolum azureum Miers ex Colla



Tropaeolum caeruleum Kuntze

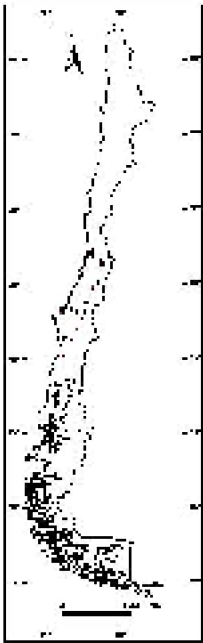


Tropaeolum dracunculifolium Hoffm. et
S.T.

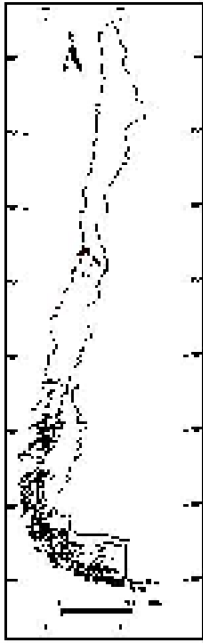


Relación entre distribución y posición filogenética en las especies del género *Tropaeolum*, sección *Chilensis*

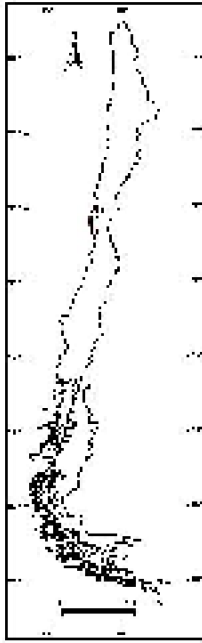
Tropaeolum chilense Bur. & Endl.
ssp. *chilense*



Tropaeolum chilense Bur. & Endl.
ssp. *colchaguaense* (Pere) G. Don



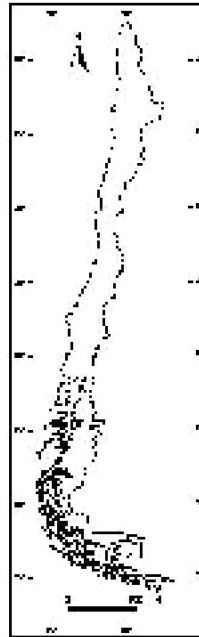
Tropaeolum chilense Bur. & Endl.
ssp. *patagonicum*



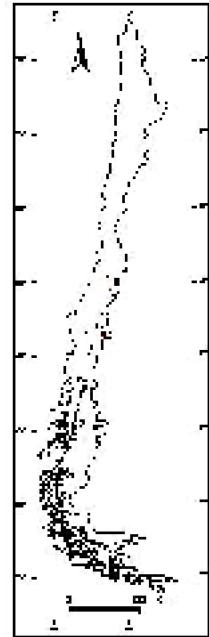
Tropaeolum hookerianum Dem. Cass.
subespecie *hookerianum* (Dem. Cass.)
H. & A.



Tropaeolum hookerianum Dem. Cass.
subespecie *hookerianum* (Dem. Cass.)
H. & A.

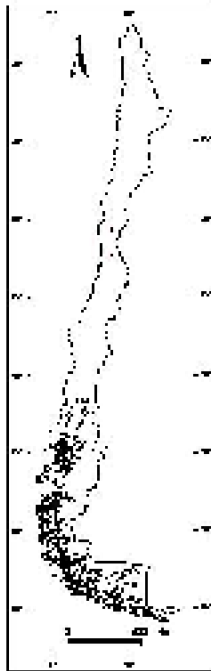


Tropaeolum incanum (Cav.) C. Greene

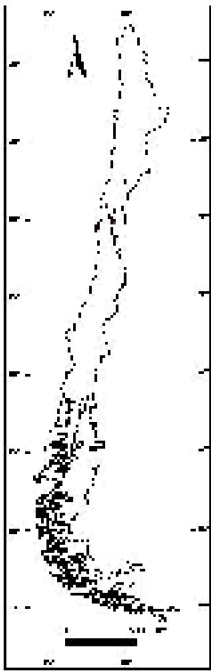


Relación entre distribución y posición filogenética en las especies del género *Tropaeolum*, sección *Chilensis*

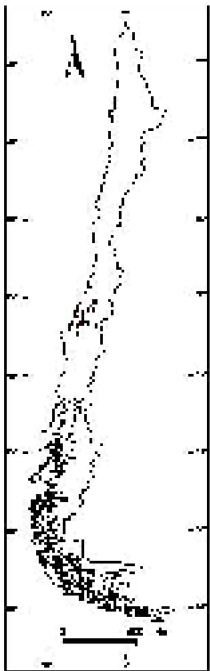
Tropaeolum sp. (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10) (11) (12) (13) (14) (15) (16) (17) (18) (19) (20) (21) (22) (23) (24) (25) (26) (27) (28) (29) (30) (31) (32) (33) (34) (35) (36) (37) (38) (39) (40) (41) (42) (43) (44) (45) (46) (47) (48) (49) (50) (51) (52) (53) (54) (55) (56) (57) (58) (59) (60) (61) (62) (63) (64) (65) (66) (67) (68) (69) (70) (71) (72) (73) (74) (75) (76) (77) (78) (79) (80) (81) (82) (83) (84) (85) (86) (87) (88) (89) (90) (91) (92) (93) (94) (95) (96) (97) (98) (99) (100)



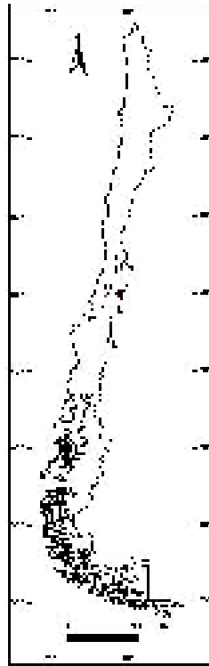
Tropaeolum sp. (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10) (11) (12) (13) (14) (15) (16) (17) (18) (19) (20) (21) (22) (23) (24) (25) (26) (27) (28) (29) (30) (31) (32) (33) (34) (35) (36) (37) (38) (39) (40) (41) (42) (43) (44) (45) (46) (47) (48) (49) (50) (51) (52) (53) (54) (55) (56) (57) (58) (59) (60) (61) (62) (63) (64) (65) (66) (67) (68) (69) (70) (71) (72) (73) (74) (75) (76) (77) (78) (79) (80) (81) (82) (83) (84) (85) (86) (87) (88) (89) (90) (91) (92) (93) (94) (95) (96) (97) (98) (99) (100)



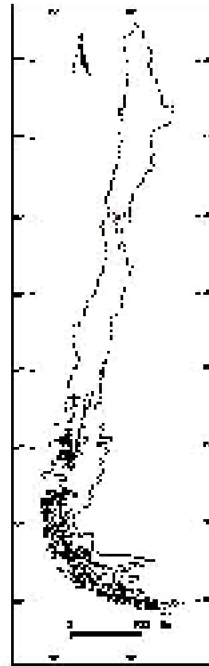
Tropaeolum sp. (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10) (11) (12) (13) (14) (15) (16) (17) (18) (19) (20) (21) (22) (23) (24) (25) (26) (27) (28) (29) (30) (31) (32) (33) (34) (35) (36) (37) (38) (39) (40) (41) (42) (43) (44) (45) (46) (47) (48) (49) (50) (51) (52) (53) (54) (55) (56) (57) (58) (59) (60) (61) (62) (63) (64) (65) (66) (67) (68) (69) (70) (71) (72) (73) (74) (75) (76) (77) (78) (79) (80) (81) (82) (83) (84) (85) (86) (87) (88) (89) (90) (91) (92) (93) (94) (95) (96) (97) (98) (99) (100)



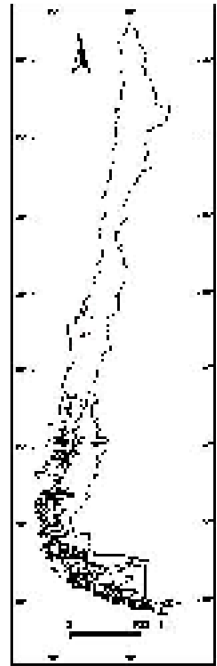
Tropaeolum leptophyllum O.Lon
var. *leptophyllum*



Tropaeolum jensenii Sastre

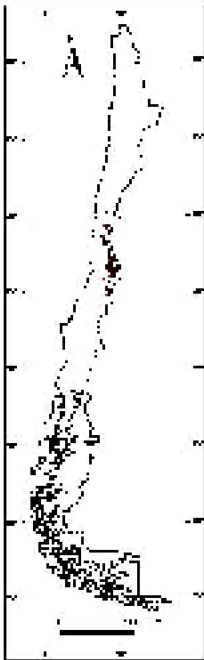


Tropaeolum nucleosolum Sastre
var. *nucleosolum*

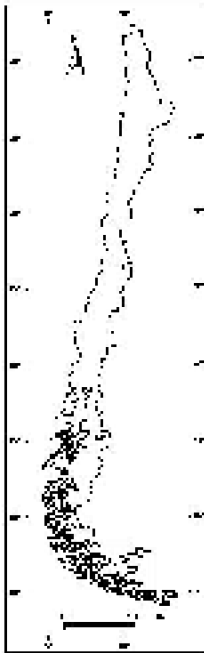


Relación entre distribución y posición filogenética en las especies del género *Tropaeolum*, sección *Chilensis*

Tropaeolum magellanicum Phil.



Tropaeolum chilense Lamour.



Tropaeolum chilense Phil.

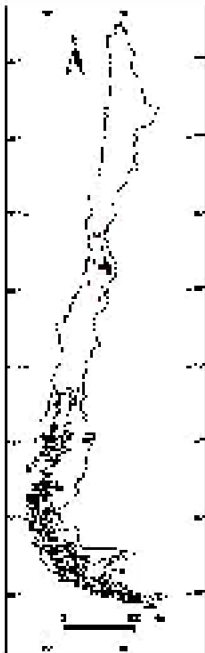


Figura 4. Distribución geográfica de *Tropaeolum* en Chile.

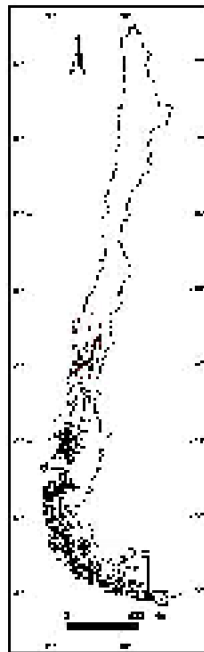


Figura 5. Distribución geográfica de *Tropaeolum* en Chile.

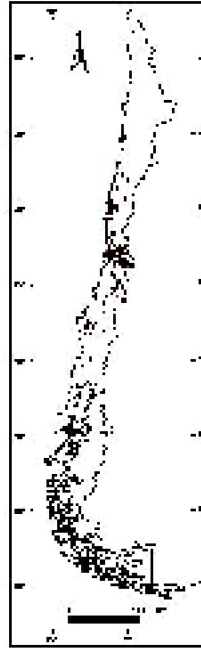
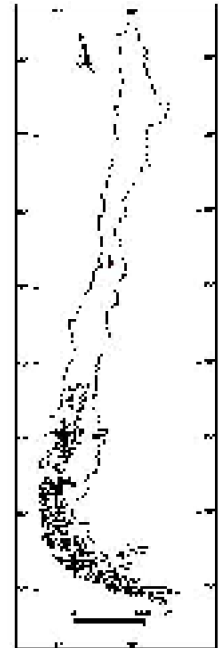


Figura 6. Distribución geográfica de *Tropaeolum* en Chile.



B. Tamaño del rango geográfico

En la tabla 5 se representa el número de cuadrículas en que está presente cada taxa. El número total de cuadrículas donde hay presencia de taxa de *Tropaeolum* es 255. La especie que está presente en el mayor número de cuadrículas es *Tropaeolum tricolor*, con cerca de la mitad de las cuadrículas totales; luego la sigue *Tropaeolum speciosum* con menos de un cuarto de las cuadrículas. Al otro extremo hay diez taxa restringidos a menos del 10% de las cuadrículas. *Tropaeolum rhomboideum* es la única que está presente en una sola cuadrícula.

De acuerdo al criterio (1) proporción de especies, seis taxa serían raros, de acuerdo al criterio (2) proporción de la suma, dieciséis taxa serían raros y de acuerdo al criterio (3) proporción del máximo diez taxa serían raros (figura 4).

C. Abundancia local promedio

Relación entre distribución y posición filogenética en las especies del género *Tropaeolum*, sección Chilensia

En la tabla 6 se presentan los valores de abundancia local promedio (número promedio de colectas por cuadrículas) de los taxa. La especie que presenta la mayor abundancia local es *Tropaeolum rhomboideum*, mientras que *Tropaeolum hookerianum* ssp. *pilosum* es la especie con la menor abundancia local. Aplicando los tres criterios descritos (figura 5), de acuerdo al criterio (1) proporción de especies, seis taxa serían raros, de acuerdo al criterio (2) proporción de la suma veintidós taxa (todos) serían raros y de acuerdo al criterio (3) proporción del máximo diecinueve taxa serían raros (figura 5).

Tabla 5: Frecuencia de cuadrículas de 0,25° latitud x 0,25° longitud por especie de *Tropaeolum*.

Especies	Número de Cuadrículas	Frecuencia (%)
<i>T. tricolor</i>	114	44,7
<i>T. speciosum</i>	52	20,4
<i>T. azureum</i>	49	19,2
<i>T. polyphyllum</i>	36	14,1
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>ciliatum</i>	33	12,9
<i>T. brachyceras</i>	31	12,2
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>leptophyllum</i>	26	10,2
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>septentrionale</i>	25	9,8
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>gracile</i>	21	8,2
<i>T. sessilifolium</i>	21	8,2
<i>T. incisum</i>	17	6,7
<i>T. hookerianum</i>	13	5,1
<i>T. looseri</i>	12	4,7
<i>T. kingii</i>	12	4,7
<i>T. X tenuirostre</i>	10	3,9
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>austropurpureum</i>	6	2,4
<i>T. nuptae-jucundae</i>	6	2,4
<i>T. jilesii</i>	3	1,2
<i>T. beuthii</i>	3	1,2
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>pilosum</i>	2	0,8
<i>T. myriophyllum</i>	2	0,8
<i>T. rhomboideum</i>	1	0,4
Total		100

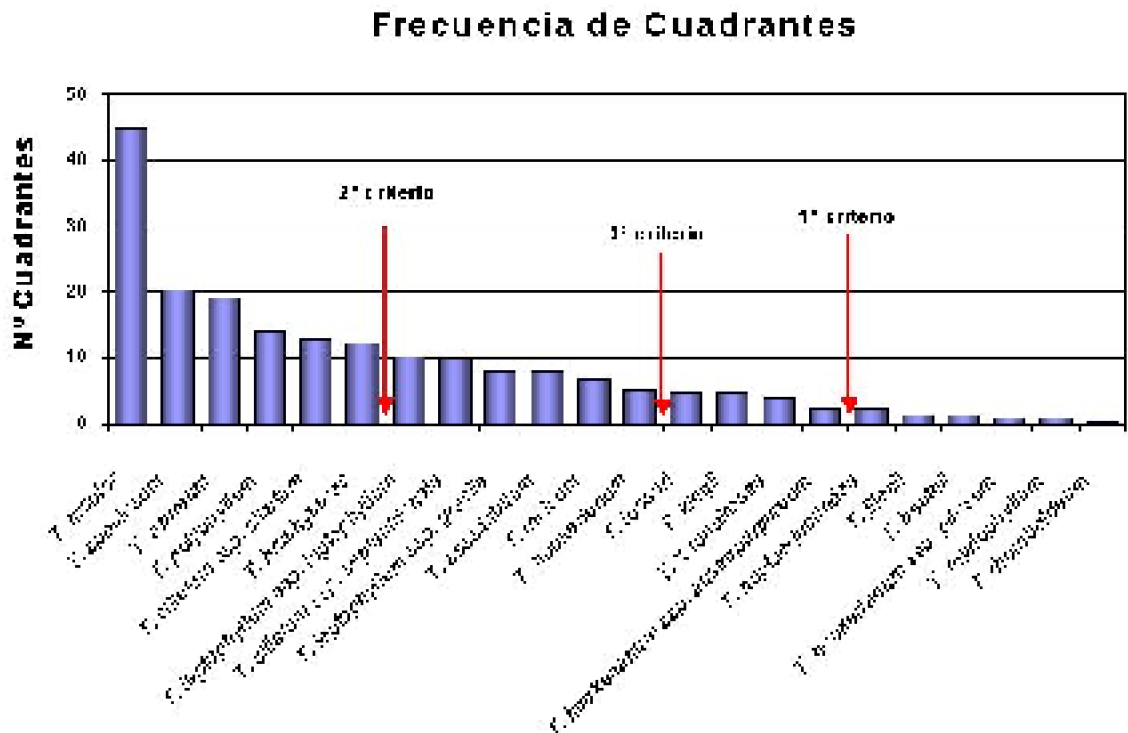


Figura 4: Número de cuadrículas ocupadas por cada una de las especies de *Tropaeolum* en Chile continental y puntos de quiebre usando tres criterios de selección de especies raras.

Tabla 6: Abundancia local de las especies de *Tropaeolum* en Chile continental expresados en números de cuadrículas en que está presente cada especie y comparación de tres criterios de selección de especies raras

Relación entre distribución y posición filogenética en las especies del género *Tropaeolum*, sección Chilensia

Especies	Número de colectas	Abundancia local
<i>T. rhomboideum</i>	6	6,0
<i>T. polyphyllum</i>	140	3,9
<i>T. X tenuirostre</i>	36	3,6
<i>T. tricolor</i>	393	3,4
<i>T. hookerianum</i>	42	3,2
<i>T. brachyceras</i>	91	2,9
<i>T. azureum</i>	142	2,9
<i>T. sessilifolium</i>	58	2,8
<i>T. kingii</i>	29	2,4
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>septentrionale</i>	56	2,2
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>ciliatum</i>	72	2,2
<i>T. nuptae-jucundae</i>	13	2,2
<i>T. speciosum</i>	106	2,0
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>austropurpureum</i>	12	2,0
<i>T. beuthii</i>	6	2,0
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>leptophyllum</i>	48	1,8
<i>T. incisum</i>	31	1,8
<i>T. looseri</i>	19	1,6
<i>T. myriophyllum</i>	3	1,5
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>gracile</i>	31	1,5
<i>T. jilesii</i>	4	1,3
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>pilosum</i>	2	1,0

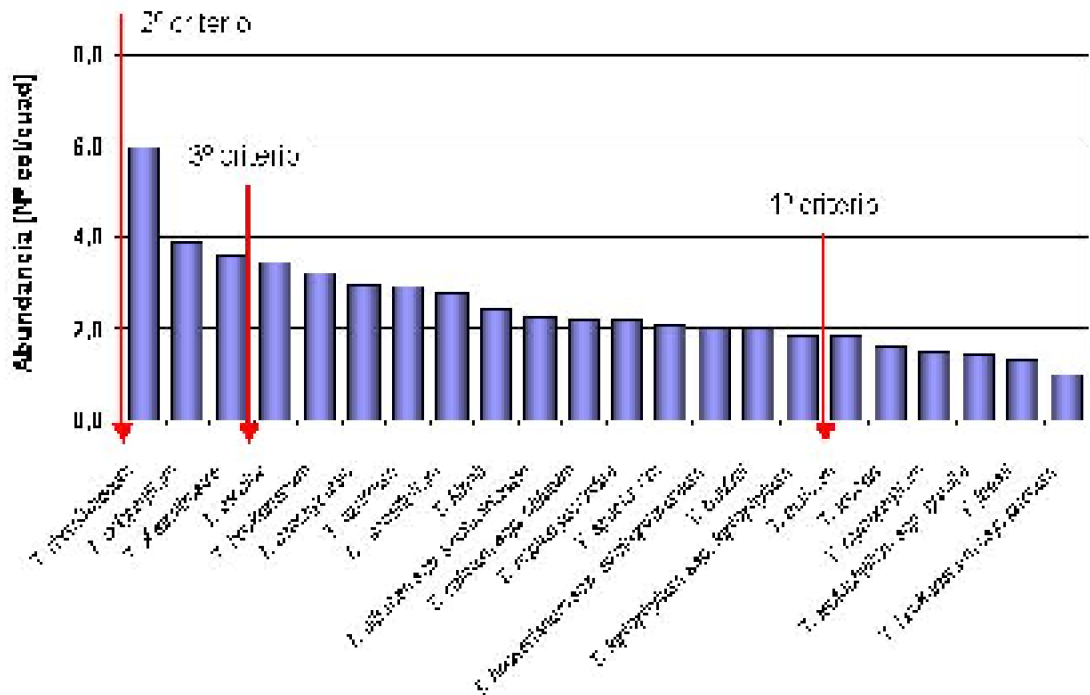


Figura 5: Abundancia local para cada especie de *Tropaeolum*, expresada como número de colectas en relación con el número total de cuadrículas en que está presente cada taxa.

En relación con los resultados de rareza obtenidos, en la tabla 7 se presenta un resumen en el cual se consideran ambas variables, tanto frecuencia de cuadrantes como abundancia local promedio

Tabla 7: Especies raras (x) y comunes (0) de *Tropaeolum* seleccionadas de acuerdo a tres criterios de rareza (C1, C2, C3) basados en el número de cuadrículas y la abundancia local promedio.

Relación entre distribución y posición filogenética en las especies del género *Tropaeolum*, sección Chilensia

Especies	Número de Cuadrículas			Abundancia local		
	C1	C2	C3	C1	C2	C3
<i>T. azureum</i>	0	0	0	0	x	x
<i>T. beuthii</i>	x	x	x	0	x	x
<i>T. brachyceras</i>	0	0	0	0	x	x
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>ciliatum</i>	0	0	0	0	x	x
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>septentrionale</i>	0	x	0	0	x	x
<i>T. hookerianum</i>	0	x	0	0	x	x
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>austropurpureum</i>	0	x	x	0	x	x
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>pilosum</i>	x	x	x	x	x	x
<i>T. incisum</i>	0	x	0	x	x	x
<i>T. jilesii</i>	x	x	x	x	x	x
<i>T. kingii</i>	0	x	x	0	x	x
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>gracile</i>	0	x	0	x	x	x
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>leptophyllum</i>	0	x	0	0	x	x
<i>T. looseri</i>	0	x	x	x	x	x
<i>T. myriophyllum</i>	x	x	x	x	x	x
<i>T. nuptae-jucundae</i>	x	x	x	0	x	x
<i>T. polyphyllum</i>	0	0	0	0	x	0
<i>T. rhomboideum</i>	x	x	x	0	x	0
<i>T. sessilifolium</i>	0	x		0	x	x
<i>T. speciosum</i>	0	0	0	0	x	x
<i>T. tricolor</i>	0	0	0	0	x	x
<i>T. X tenuirostre</i>	0	x	x	0	x	0

D. Relación entre Distribución Geográfica y Abundancia Local

Las variables utilizadas para caracterizar la rareza dentro del género *Tropaeolum* no están significativamente correlacionadas (figura 6).

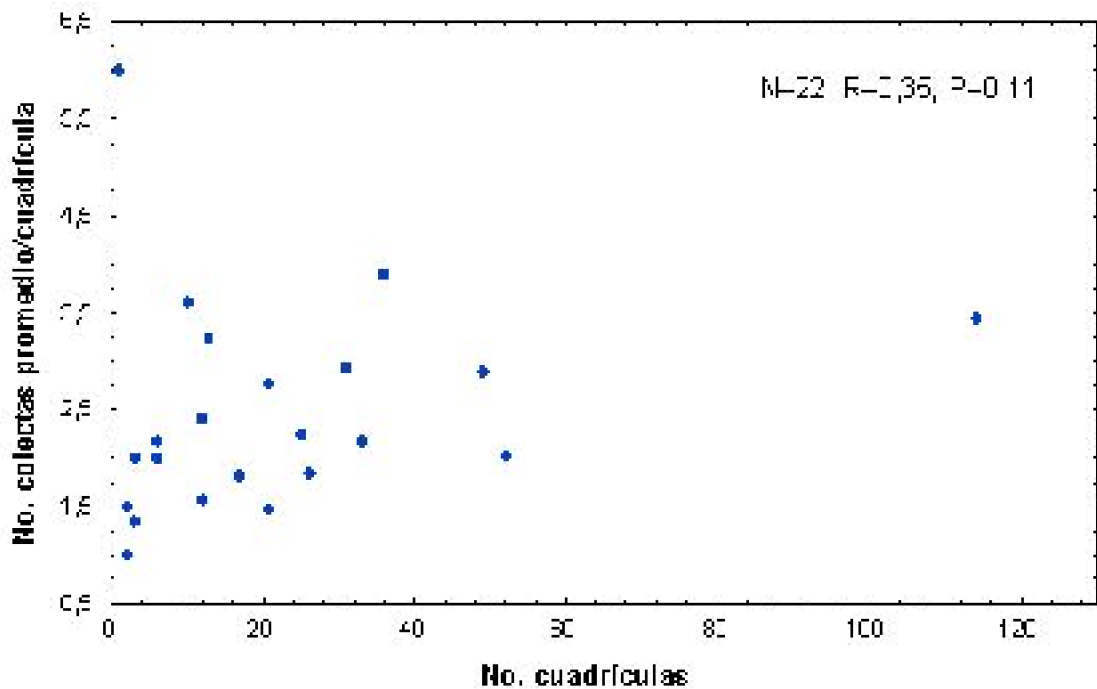


Figura 6: Análisis de correlación de Spearman para 22 especies y subespecies de *Tropaeolum* en Chile.

E. Comparación entre criterios de rareza a través de un análisis de asociación

No se observan coincidencias en los porcentajes de asociación entre los criterios comparando ambas variables de rareza, por lo cual este análisis no es informativo, al no existir un patrón claro (tabla 8).

Tabla 8: Análisis de Asociación (%).

Frecuencia de Cuadrantes	Criterio 1	Criterio 2
Criterio 2	37,5	
Criterio 3	60	62,5
Abundancia Local		
Criterio 2	27,3	
Criterio 3	31,6	86,4

F. Análisis gráfico de rareza

Este análisis (tabla 9, figura 7) muestra que en el grupo a (el 25 % de los taxa con baja abundancia y distribución restringida) se seleccionan seis taxa. En el grupo b (taxa con baja abundancia y amplia distribución) se seleccionaron cuatro taxa. En el grupo c (taxa con alta abundancia y amplia distribución) se seleccionaron siete taxa. En el grupo d (taxa con alta abundancia y distribución restringida) se seleccionaron cinco taxa.

Relación entre distribución y posición filogenética en las especies del género *Tropaeolum*, sección Chilensia

Se observa un mayor número de taxa raros en cuanto a distribución geográfica y abundancia y comunes, que las situaciones intermedias (caso *b* y *d*).

Tabla 9: Categorización de los taxa de *Tropaeolum* de acuerdo a su distribución y abundancias en categorías de rareza de acuerdo a figura 1.

Especies	Categoría	Descripción de rareza
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>pilosum</i>	a	taxa con baja abundancia y distribución restringida
<i>T. jilesii</i>	a	
<i>T. myriophyllum</i>	a	
<i>T. beuthii</i>	a	
<i>T. looseri</i>	a	
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>austropurpureum</i>	a	
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>gracile</i>	b	taxa con baja abundancia y amplia distribución
<i>T. incisum</i>	b	
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>leptophyllum</i>	b	
<i>T. speciosum</i>	b	
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>septentrionale</i>	c	taxa con alta abundancia y amplia distribución
<i>T. sessilifolium</i>	c	
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>ciliatum</i>	c	
<i>T. brachyceras</i>	c	
<i>T. azureum</i>	c	
<i>T. polyphyllum</i>	c	
<i>T. tricolor</i>	c	
<i>T. nuptae-jucundae</i>	d	taxa con alta abundancia y distribución restringida
<i>T. kingii</i>	d	
<i>T. hookerianum</i>	d	
<i>T. X tenuirostre</i>	d	
<i>T. rhomboideum</i>	d	

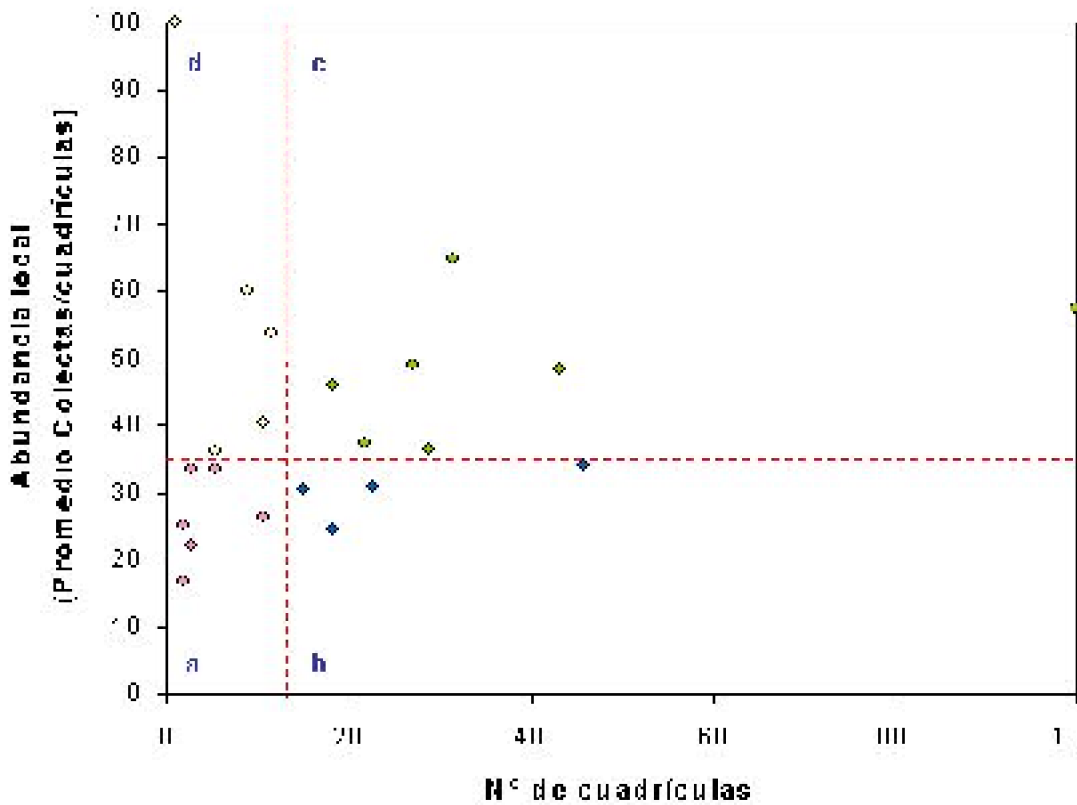


Figura 7: Análisis gráfico de la rareza, se representa la abundancia y la distribución en escala de 1 a 100. Las líneas segmentadas representan el punto de corte del 25% de las especies con menores abundancias y distribución geográfica.

G. Análisis de rareza en las regiones políticas del país.

Haciendo un análisis de la distribución geográfica por regiones políticas de las especies raras (figura 8), observamos la proporción de especies comunes versus especies raras en cada región de Chile continental. Las regiones III, VI, X y XI no presentan taxa raros, las regiones II, RM y IX sólo tienen un taxón de *Tropaeolum* raro, las regiones V, VII y VIII tiene dos taxa raros. La región con más taxa raros es la IV región.

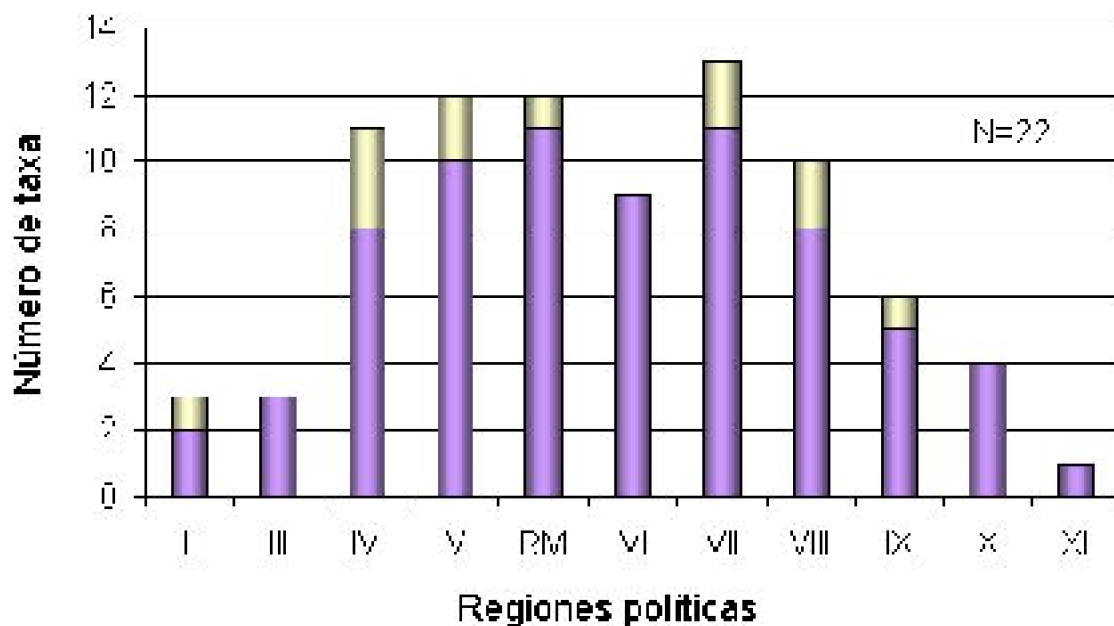


Figura 8: Número de especies comunes (morado) versus especies raras (amarillo) de *Tropaeolum*, en cada región de Chile continental.

Discusión

Dificultades taxonómicas

Al realizar la recopilación de registros de *Tropaeolum*, fue necesario hacer un análisis de cada registro utilizado, comparando la distribución descrita en las monografías (Sparre, 1955; Sparre & Andersson 1991), usando mapas cuadrículados donde se representó la distribución de cada taxón (Anexo 1). De esta manera fue posible disminuir los errores asociados a la base de datos de *Tropaeolum*, ya sean de tipeo, registros que no se encontraron en los herbarios citados y otros. En las visitas a los herbarios se intentó también corregir aquellas especies mal determinadas, pero no fue posible hacerlo en todos los casos.

Durante las salidas a terreno para coleccionar especies de *Tropaeolum*, y en las visitas a los herbarios, se detectaron algunas incongruencias taxonómicas, en particular el caso de *Tropaeolum X tenuirostre* y *Tropaeolum myriophyllum*.

Tropaeolum X tenuirostre es una especie híbrida entre *Tropaeolum tricolor* y *Tropaeolum brachyceras*, se distribuye en el área común donde se traslapa la distribución de *T. tricolor* y *T. brachyceras* y comprende una serie de morfotipos intermedios entre ambas especies (Sparre & Andersson 1991). En las visitas a los herbarios de la Universidad de Concepción (CONC) y del Museo de Historia Natural de Santiago (SGO)

se aprecian incongruencias entre los especímenes presentes en las carpetas de *T. X tenuirostre*, puesto que se encontraron morfotipos muy parecidos a *T. brachyceras*, sin encontrar ejemplares claramente distinguibles entre estas dos especies. De acuerdo a la clave de identificación y las descripciones de la monografía de Sparre & Andersson (1991) no fue posible distinguir entre ambos taxa, ya que se detectaron incoherencias entre la clave y las descripciones. Por lo tanto es muy probable que existan errores de identificación, es decir, que no todas las muestras presentes en las carpetas pertenezcan a la especie señalada.

En el caso de *Tropaeolum myriophyllum*, de acuerdo a Sparre (1955), esta especie se distribuye en los sectores cordilleranos bajos, entre la provincia de Santiago y Ñuble. En la monografía más reciente del género (Sparre & Andersson 1991) es descrita como una especie muy rara, conocida solo en la cordillera de Linares a Ñuble y en la localidad tipo, Volcán Antuco, donde fue colectada por Poeppig en octubre del año 1828. Se buscó esta especie en varios sectores cordilleranos entre ellos, Laguna del Maule, Laguna del Laja, Volcán Antuco y sector de Liucura en la novena región, sin éxito.

En las visitas realizadas al herbario de la Universidad de Concepción (CONC) se pudo corroborar que no existe ninguna muestra de *Tropaeolum myriophyllum*, y en el herbario del Museo de Historia Natural de Santiago (SGO) se constató que todas las muestras originalmente situadas en la carpeta de esta especie, habían sido corregidas, no encontrándose ningún espécimen. La colecta de Poeppig 794, el dibujo de *Tropaeolum polyphyllum* en Poeppig & Endlicher (1835) y otros registros, fueron utilizados por Sparre (1955, 1991), para describir este espécimen como una nueva especie. Los especímenes usados en la descripción de esta especie en la monografía del año 1955 de Sparre, actualmente están reidentificados como *T. polyphyllum* o *T. leptophyllum*.

De acuerdo a las descripciones de la monografía Sparre & Andersson (1991), *Tropaeolum myriophyllum* es fácilmente confundible con *Tropaeolum incisum*. Para poder estudiar el caso en profundidad se solicitaron imágenes de la especie tipo y otras a herbarios internacionales (Anexo 2). Al comparar estas imágenes (la mayoría corresponden al tipo de *Tropaeolum myriophyllum* y solo una corresponde a otro espécimen) con colectas de *Tropaeolum incisum*, casi no se detectaron diferencias, por lo que la distinción podría deberse a variación fenotípica solamente.

Por los argumentos antes descritos y el hecho que esta especie prácticamente no ha sido colectada, considero dudosa su existencia.

Rareza

Se utilizaron dos variables de rareza, distribución geográfica y abundancia local. Se consideró el promedio de colectas por cuadrícula como una medida de abundancia, a pesar que no es una medida muy precisa, da cuenta de la tendencia de las especies a ser más o menos abundantes, si una especie es más veces colectadas, es probable que sea más abundante que aquella que no es colectada tantas veces.

En relación con las especies raras, fue necesario contar con una definición

operacional de rareza que permitiera establecer un punto de corte entre las especies raras y las comunes. Así, se establecieron tres criterios de rareza y se definieron puntos de corte arbitrarios que separaron especies raras y comunes de *Tropaeolum*.

Gaston (1994) sugirió tres criterios para definir las especies raras: (1) proporción de especies, (2) proporción de la suma y (3) proporción del máximo. Cada criterio depende de la variable utilizada, ya sea la abundancia local o el tamaño del rango geográfico, independientemente de cómo hayan sido determinadas, y del punto de corte establecido para cada uno. No es trivial establecer el punto de corte, ya que estamos utilizando variables continuas, y las abundancias o rango geográfico varían en montos muy pequeños entre especies de *Tropaeolum*, sin saltos abruptos (figuras 4 y 5). Además el punto de corte debe ser capaz de discriminar especies raras y comunes, es decir, dos grupos dentro del género. Como el establecimiento del punto de corte finalmente es arbitrario, se consideró este punto como el promedio entre el mínimo y el máximo en cada variable.

Tambutti (2002) utilizó como criterio de rareza solamente la distribución geográfica debido a que usó datos de presencia y ausencia de especies, lo cual no aporta información acerca de la abundancia de las especies. Esta autora también estableció un punto de corte arbitrario, a través de una distribución bimodal de las especies de su estudio, argumentando que si hubiera utilizado la mediana, sus resultados no hubieran cambiado.

Gaston (1994, 1997) sugirió usar como definición el cuartil de rareza, por el cual se discrimina siempre un 25% de las especies de un ensamble como raras, considerando las diferencias en abundancia y/o tamaño del rango geográfico. El problema de esta aproximación es que siempre es posible identificar especies raras, en términos relativos aunque estemos trabajando con un grupo de especies muy abundantes y/o ampliamente distribuidas.

Dado que los organismos pueden responder de distintas maneras al cambio ambiental, es esperable encontrar en la naturaleza distintas expresiones de la rareza, por ejemplo, especies con gran abundancia local pero muy estrechas en su rango de distribución, o viceversa. Otra forma de rareza podría ser por ejemplo, especies que cuentan con rangos amplios y abundancias locales altas, pero presentan una forma de distribución alargada, por ejemplo a lo largo de un cinturón climático o de un hábitat específico. Creo que es más apropiado usar más de un criterio de rareza y más de una variable en el análisis, y las intersecciones de criterios y variables permitirán definir un grupo de especies raras con mayor consistencia interna.

El análisis del grado de asociación entre los tres criterios de rareza utilizados sugiere una tendencia a una mayor asociación entre el criterio 1 y 3 (entre un 60 y 85% asociación), para ambas variables de rareza. Esto sugiere que el criterio 2 es menos fino para la clasificación de rareza, al ser menos consistente en la determinación de especies raras respecto a los otros criterios.

La mayor proporción de especies raras se ubica en la cuarta región. Esta, se considera un centro de biodiversidad, en la cual existen varias especies con serios problemas de conservación, por ejemplo *Viola aurata* dentro de las hierbas anuales o

bianuales está en considerada en peligro (Squeo & Arroyo, 2001). De acuerdo a este escenario podemos establecer un orden de prioridades de conservación para el género *Tropaeolum*, priorizando aquellas especies de *Tropaeolum* que tienen sus hábitat en la IV región.

Capítulo II. Filogenia molecular de *Tropaeolum*

Introducción

La sistemática moderna, a través de herramientas moleculares, provee un sustrato para construir hipótesis acerca de las relaciones filogenéticas dentro de un grupo determinado y establecer sus relaciones de relictualidad relativa. Además, en conjunto con la biogeografía permite la identificación de aquellas áreas que contienen muchos taxa en especiación activa (Soltis & Gitzendanner 1999), permitiendo establecer los patrones de dispersión geográfica de los taxa de un grupo y sus posibles relaciones con eventos geológicos e históricos ocurridos en la región.

La biología molecular es una herramienta ampliamente utilizada en la reconstrucción de las historias filogenéticas de grupos de organismos de distintos niveles de organización taxonómica. A través de la utilización de caracteres moleculares es posible construir árboles filogenéticos que representan las relaciones de parentesco entre familias, géneros y especies de organismos.

Andersson & Andersson (2000), desarrollaron un estudio filogenético molecular con 35 especies de *Tropaeolum* sudamericanos, dentro de las cuales 6 especies pertenecen

a taxa chilenos. Las relaciones entre las especies fueron estimadas a través de la variación de secuencias de nucleótidos de ADN plastidial (gen *rbcL* e intron *rps16*) y de ADN nuclear ribosomal (ITS1 – 5.8S – ITS2, repetidos en tandem). En este estudio, se incorporan a las especies de los otros géneros de la familia Tropaeolaceae dentro del grupo chileno de *Tropaeolum* y además se agrupan las diez secciones reconocidas por Sparre & Andersson (1991) en solamente dos secciones, *Tropaeolum* y *Chilensia*.

En este capítulo se pretende responder la pregunta ¿cuales son las relaciones de parentesco entre los taxa chilenos del género *Tropaeolum*?

Objetivos específicos

1) Comprobar la monofilia del clado que incluye la mayoría o todos los taxa chilenos de *Tropaeolum* y estimar la filogenia de este clado usando caracteres moleculares.

Métodos

Muestreos

Se colectó la mayoría especies (21 de 22 taxa) del género *Tropaeolum* en distintas localidades de Chile continental durante salidas a terreno realizadas en los períodos de floración entre agosto 2000 a septiembre 2001 (tabla 2). El material vegetal colectado (trozos pequeños de hojas y tallos) se conservó en sílica gel. Además se solicitó una muestra de herbario de la especie híbrida *Tropaeolum x tenuirostre* al herbario de la Universidad de Concepción (CONC). Las muestras seleccionadas para realizar los análisis moleculares se muestran en la tabla 10.

Secuencias de otras especies de la familia y de las especies para usar como outgroup, fueron obtenidas desde The NCBI Entrez Taxonomy (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/>).

Trabajo de laboratorio

1. Extracción de ADN de material conservado en sílica gel
2. Amplificación de ADN: Se amplificó la región ITS ADN ribosomal nuclear.
3. Purificación de producto de amplificación de ADN
4. Secuenciación (ABI 3100 Genetic analyzer)

Los protocolos utilizados para la realización de todo el proceso se adjuntan en el anexo 3.

Tabla 10: Muestras seleccionadas para los análisis moleculares.

Relación entre distribución y posición filogenética en las especies del género *Tropaeolum*, sección Chilensia

Especies y subespecies	Nº Colecta	Fecha Colecta	Región	Localidad
<i>T. azureum</i>	CH_22	05-10-2000	4	Andacollo
<i>T. azureum</i>	CH_8	20-08-2000	5	Cuesta Chacabuco
<i>T. azureum</i>	MTK_992341	25-09-1999	4	Illapel
<i>T. azureum</i>	MTK_992117	22-01-1999	5	Rungue
<i>T. beuthii</i>	CH_11	08-09-2000	2	Paposo
<i>T. brachyceras</i>	CH_13	29-09-2000	M	Curacaví
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>ciliatum</i>	CH_28	29-11-2000	6	Alcones - Pichilemu
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>septentrionale</i>	CH_34	17-12-2000	5	Cerro La Campana
<i>T. hookerianum</i>	CH_9	27-08-2000	4	Río Limarí
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>austropurpureum</i>	CH_15	30-09-2000	4	Canela Baja
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>austropurpureum</i>	CH_47	17-09-2001	4	Tunga Sur - Illapel
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>pilosum</i>	CH_46	17-09-2001	4	Andacollo
<i>T. incisum</i>	CH_36	24-01-2001	7	Laguna del Maule
<i>T. incisum</i>	CH_41	30-01-2001	9	Liucura
<i>T. jilesii</i>	MH_263	09-10-2000	4	Pabellon (Rio Hurtado)
<i>T. kingii</i>	CH_16	01-10-2000	4	La Viñita
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>gracile</i>	CH_1	22-11-1999	7	Cauquenes
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>gracile</i>	CH_26	24-10-2000	8	Chillán - Portezuelo
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>leptophyllum</i>	CH_37	25-01-2001	7	Laguna del Maule
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>leptophyllum</i>	CH_30	03-12-2000	7	Romeral - Los Queñes
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>leptophyllum</i>	CH_6	23-11-1999	6	Termas del Flaco
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>leptophyllum</i>	CH_5	23-11-1999	6	Termas del Flaco
<i>T. looseri</i>	CH_17	01-10-2000	4	La Viñita
<i>T. nuptae-jucundae</i>	CH_27	26-10-2000	9	Mininco - Collipulli
<i>T. polyphyllum</i>	CH_45	03-02-2001	M	Embalse El Yeso
<i>T. rhomboideum</i>	CH_23	22-10-2000	M	Lagunillas
<i>T. rhomboideum</i> x <i>tricolor</i>	CH_24	22-10-2000	M	Lagunillas
<i>T. sessilifolium</i>	CH_35	28-12-2000	5	Laguna Alicahue
<i>T. sessilifolium</i>	CH_32	13-12-2000	M	Yerba Loca
<i>T. speciosum</i>	CH_40	29-01-2001	9	Termas de Tolhuaca
<i>T. tricolor</i>	CH_21	05-10-2000	4	Andacollo
<i>T. tricolor</i>	CH_14	29-09-2000	M	Colliguay - Curacavi
<i>T. tricolor</i>	MTK_992345	25-09-1999	4	Cuesta Cavilolén
<i>T. tricolor</i>	CH_20	01-10-2000	4	La Serena
<i>T. tricolor</i>	CH_25	22-10-2000	M	Lagunillas
<i>T. tricolor</i>	CH_12	27-09-2000	M	Lagunillas
<i>T. tricolor</i>	MTK_992022	18-09-1999	M	Lo Prado
<i>T. tricolor</i>	CH_10	08-09-2000	2	Paposo
<i>T. tricolor</i>	MTK_994488	24-11-1999	M	Río Clarillo
<i>T. tricolor</i>	CH_31	03-12-2000	7	Romeral - Los Queñes

<i>T. X tenuirostre</i>	MTK_993512	20-10-1999	M	Cuesta Lo Prado
<i>T. X tenuirostre</i>	MTK_992024	18-09-1999	M	Lo Prado
<i>T. X tenuirostre</i>	CONC_2358	1935	M	Peñaflor

MTK (Mary Kalin Arroyo)

MH (Mark HersHKovitz)

CONC (Herbario Universidad de Concepción)

** Todas las muestras están depositadas en CONC**

Análisis y selección de secuencias

Se analizó el espectro de cada una de las secuencias de ADN, con el objeto de elegir aquellas secuencias con mayor nitidez y resolución de bases.

Las secuencias seleccionadas (una por taxa colectado) primero se alinearon utilizando el programa computacional T-Coffee (Notredame *et al.*, 2000), luego se alinearon manualmente con el objeto de detectar errores de alineación que el programa computacional no es capaz de detectar. Durante este proceso se demarcaron sectores con alineación ambigua para excluirlos del análisis.

Cuando el proceso de alineación de secuencias es terminado, se ingresan al programa computacional PAUP 4.0 (Swofford, 2001) para realizar los análisis de máxima parsimonia y distancia y al programa Mr. Bayes (Huelsenbeck & Ronquist, 2001) para los análisis de verosimilitud, y así realizar las reconstrucciones filogenéticas. Se eliminaron aquellas secuencias de distintos taxa que no presentaron diferencias con otras secuencias.

Reconstrucción filogenética

La reconstrucción filogenética o estimación de las relaciones de parentesco de las especies chilenas del género *Tropaeolum*, se realizó utilizando tres metodologías, análisis de máxima parsimonia, análisis de distancia y análisis bayesiano de máxima verosimilitud, usando distintos modelos. Se hizo una estimación de la variabilidad filogenética a través de análisis de bootstrap, en los casos de máxima parsimonia y distancia, y estimación de la probabilidad posterior, en el caso de los análisis bayesiano de máxima verosimilitud. Se hizo una estimación de la raíz (origen) del árbol.

Para establecer la raíz del ingroup preferentemente se utiliza la metodología de outgroup, en este trabajo se utilizó la metodología midpoint rooting, debido a que el grupo de *Tropaeolum* chilenos son muy diferentes al resto de los taxa sudamericanos y con el objetivo de obtener mayor apoyo en los clados.

Inicialmente se analizaron las secuencias usando la metodología de outgroup para enraizar al grupo hermano. Se utilizaron tres especies para el outgroup: *T. magnificum*, *T. kuntzeanum* y *T. cuspidatum*, cuyas secuencias se obtuvieron del GenBank. Los resultados obtenidos presentaron variación en el apoyo de los diferentes clados, aunque

el patrón de variación fue similar usando distintas metodologías. Analizando las secuencias ITS publicadas de todas las especies de *Tropaeolum* potencialmente outgroup, visualmente no presentan ninguna similitud especies con el grupo hermano. Al realizar búsquedas con BLAST de secuencias ITS1 e ITS2, recupera secuencias de muchas familias de angiospermas con igual o mayores valores de significancia que para las especies de outgroup. De esta manera la identidad del outgroup puede ser irrelevante, debido a que las secuencias del outgroup son esencialmente aleatorias en comparación con el ingroup. Así, al enraizar con estas especies, la raíz del árbol va a quedar en un lugar azaroso o inestable dentro de la filogenia, dependiendo del criterio de optimización utilizado. Sin utilizar outgroup se puede estimar la raíz usando el ingroup, con la metodología midpoint rooting.

La metodología midpoint rooting se basa en el supuesto que la uniformidad de tasas es algo más débil que la que supone un reloj molecular a través del árbol entero, es decir si dos linajes divergentes han evolucionado a la misma tasa, entonces la raíz más adecuada es el punto medio entre las rutas que conectan esas taxa (Swofford *et al.*, 1996). Es decir, distribuye la cantidad de cambios equitativamente en ambos lados de la raíz, bajo el supuesto que en el árbol verdadero el cambio total es balanceado.

Análisis de máxima parsimonia

La base filosófica de las metodologías de parsimonia radica en la idea que la mejor hipótesis para explicar un proceso es aquella que requiere el menor número de supuestos (Nei & Kumar, 2000). En ciencias, parsimonia se traduce esencialmente en la preferencia de las hipótesis más simples a las más complicadas y a evitar el uso de hipótesis ad-hoc en lo posible. En general los métodos de parsimonia para inferir filogenias operan seleccionando árboles que minimizan la longitud total del árbol, es decir el número de pasos evolutivos (transformaciones de un estado de carácter a otro) requeridos para un grupo de datos dado (Swofford *et al.*, 1996). Es decir, el menor número de substituciones de nucleótidos que explique el proceso evolutivo completo, expresado en una determinada topología (Nei & Kumar, 2000).

Cuando el número de secuencias o taxa analizados supera a 20 aproximadamente, se utiliza "*Heuristic search*", donde se examina una pequeña porción de todos los posibles árboles y luego utilizando algún algoritmo se elige el mejor árbol. Muchos de los algoritmos para elegir el mejor árbol se basan en el mismo principio. Primero se construye un árbol provisional utilizando un algoritmo de adición paso a paso (*Stepwise addition algorithm*). Este algoritmo toma un árbol inicial de tres taxa, y cada taxa sobrante es elegido para la siguiente adición de taxón. El taxón es conectado a una de las tres ramas del árbol inicial y se evalúa la longitud de los tres árboles resultantes, eligiéndose aquel árbol de menor longitud. Este proceso se repite hasta incorporar todos los taxa y producir el árbol provisional.

El árbol provisional es sometido a algún algoritmo de *Branch swapping* para encontrar el árbol más parsimonioso. Dentro de estos algoritmos el más usado es TBR (*tree – bisection – reconnection*) ya que es capaz de explorar un mayor número de árboles. Este algoritmo corta un árbol provisional en dos subárboles y estos subárboles son reconectados uniendo dos ramas de cada subárbol para generar una topología diferente. Este procedimiento es realizado para todos los posibles pares de ramas de dos

subárboles, lo cual genera muchas topologías diferentes.

Los métodos de parsimonia producen varios árboles igualmente parsimoniosos y existen métodos para construir árboles compuestos que representan a todos los árboles, es decir un árbol de consenso.

Los análisis filogenéticos usando métodos de parsimonia se realizaron con la siguiente configuración:

Starting tree = Stepwise addition

Heuristic search, algoritmo branch swapping: TBR (tree – bisection – reconnection)

Bootstrap = 500 replications.

La crítica a esta metodología es la saturación mutacional, es decir, las secuencias de longitudes fijas divergen asintóticamente, entonces las mutaciones paralelas y reversas pueden provocar convergencia. De esta manera, en este análisis hay una tendencia a conectar las ramas más largas (taxa más divergentes), sin considerar si estas taxa están estrechamente relacionados o no.

Análisis de distancia

Las medidas de distancia evolutiva son determinadas para todos los pares de taxa, luego el árbol filogenético es construido considerando las relaciones entre los valores de distancia (Nei & Kumar, 2000).

El criterio de evolución mínima optimiza las diferencias entre las distancias de la matriz y las distancias observadas en el árbol, basándose en medidas de distancia, minimizando el error asociado a los valores estimados y esperados usando el criterio de los cuadrados mínimos para todas las topologías. La topología que tiene la sumatoria más pequeña es elegida como el mejor árbol (Nei & Kumar, 2000).

El algoritmo de *Neighbor Joining* (NJ), es utilizado para construir el árbol inicial, el cual se basa en el Principio de Evolución Mínima, que es una variante basada en el cálculo de cuadrados mínimos y que hace una aproximación. En NJ la sumatoria de todas las estimaciones de longitud de ramas para todas las topologías que da el valor más pequeño determina el mejor árbol, pero no examina todas las posibles topologías. El algoritmo de NJ comienza con un árbol estrella que se construye bajo el supuesto que no hay taxa agrupados. Luego se van agrupando pares de taxa como vecinos y se determina la suma de todas las ramas. Se consideran todos los pares de taxa como potenciales pares de vecinos y se calcula la sumatoria de las longitudes de las ramas, entonces se elige aquel par de taxa con la menor sumatoria.

En todos los ensayos se utilizó la siguiente configuración:

Starting tree = neighbor-joining

Neighbor joining, algoritmo branch swapping: TBR (tree – bisection – reconnection)

Maxtrees = 100

Criterio de optimización: evolución mínima.

Bootstrap = 500 replications.

En los ensayos realizados, se utilizaron distintos parámetros, entre ellos, distintas medidas de distancia evolutiva (tabla 11).

Medidas de Distancia utilizadas:

Medidas sin corrección: Considera la proporción de sitios de nucleótidos en que dos secuencias son diferentes. Se determina a través del cociente entre el número de diferentes nucleótidos entre dos secuencias y el número total de nucleótidos examinados. Esta medida de distancia (P) proporciona una estimación del número de sustituciones por sitio cuando las secuencias están estrechamente relacionadas. Cuando P es grande, da una subestimación del número, debido a que no considera sustituciones reversas y paralelas.

Medidas con corrección: En general, las medidas con corrección se basan en modelos de evolución de secuencias por probabilidad.

Modelos con un parámetro

Estos modelos son los más simples, utilizan el supuesto que las sustituciones de nucleótidos en los sitios, ocurre con la misma frecuencia (a una tasa de $a/año$) y que ocurren a la misma tasa. Un ejemplo es el modelo de Jukes & Cantor. Una variación de este modelo es el de Felsenstein 1981. En este modelo se utiliza el supuesto que las sustituciones de nucleótidos en los sitios ocurren con distinta frecuencia a la misma tasa. Es un parámetro con corrección para sesgo de proporción de bases.

Modelos con dos parámetros

1. Las transversiones y transiciones ocurren a diferentes tasas. La tasa de sustitución de nucleótidos transicional es con frecuencia más alta que la tasa de sustitución de nucleótidos transversional en datos reales, pero supone igual frecuencia de bases. Por ejemplo, el modelo de Kimura de 2 parámetros.

2. La tasa de sustitución de nucleótidos no es igual para todos los sitios, variando de sitio en sitio. Análisis estadísticos de las tasas de sustitución en diferentes sitios de nucleótidos han sugerido que la tasa de variación sigue aproximadamente la distribución gamma (Nei & Kumar 2000). Esta distribución es la distribución continua más usada para modelar la heterogeneidad de tasas. Tiene un parámetro que da cuenta de la forma (a), y un parámetro que da cuenta de la escala (b) (Swofford *et al.*, 1996). La distribución gamma varía de acuerdo al parámetro utilizado. Cuando a tiende a infinito la tasa de sustitución tiende a ser la misma para todos los sitios; cuando a es pequeño, la mayoría de los sitios evoluciona lentamente, y pocos sitios tasas moderadas a altas.

Tabla 11: Parámetros utilizados en los experimentos de distancia.

Nº parámetros	Medida de distancia	Tipos de sustitución	Tasa de sustitución	Frecuencia de bases
0	P	1	=	igual
0	Jukes & Cantor	1	=	igual
1	Kimura 2 parámetros	2	=	igual
1	Felsenstein 1981	1	=	proporcional
2	Jukes & Cantor	1	a=0,5	igual
2	Kimura 2 parámetros	2	a=0,5	igual
2	Felsenstein 1981	1	a=0,5	proporcional

Bootstrap

El análisis de bootstrap es una técnica de pseudoreplicación o re muestreo estadístico usado como intervalos de confianza en filogenias, generando re muestreos de los propios datos para inferir la variabilidad de la estimación filogenética (Felsenstein, 1985).

Análisis bayesiano de máxima verosimilitud de inferencia filogenética

La inferencia bayesiana de máxima verosimilitud (Mr. Bayes) se fundamenta en la probabilidad posterior de un árbol filogenético (Huelsenbeck *et al.* 2001) cuya solución se basa en los resultados anteriores. Encuentra un árbol con la máxima probabilidad posterior, considerando como evidencia árboles previamente encontrados. Este método usa los mismos modelos de evolución de secuencias como en metodología de distancia. Utilizando el criterio de máxima verosimilitud, encuentra un árbol con la máxima probabilidad posterior. Para obtener una aproximación de la probabilidad posterior se usa un método numérico llamado Cadena de Markov de Monte Carlo (MCMC). Se construye una cadena de Markov que tiene en su estado espacial los parámetros del modelo estadístico y la distribución estacionaria que es la distribución de la probabilidad posterior de los parámetros (Huelsenbeck, *et al.* 2001). La cadena de Markov tiene las siguientes etapas: (1) supone un modelo de árbol, (2) calcula la máxima verosimilitud, (3) toma alguna etapa en alguna dirección, (4) acepta o rechaza 3, (5) si 3 es rechazado, toma otro y (6) si 3 es aceptada, se tiene una nueva observación.

Por otra parte, la inferencia filogenética a través de análisis de máxima verosimilitud, evalúa una hipótesis acerca de la historia evolutiva en términos de la probabilidad que un modelo propuesto de un proceso evolutivo y la historia hipotética, puedan originar los datos observados.

Una de las ventajas de esta metodología es que con frecuencia produce estimaciones con menor varianza que otros métodos, es decir, con frecuencia el método de estimación es menos afectado por el error de muestreo. La probabilidad es determinada a través de modelos de Markov, donde la probabilidad de cambio de un estado *i* a un estado *j* en un sitio dado, no depende de la historia del sitio antes de obtener el estado *i*. Las probabilidades de sustitución no cambian en diferentes partes del árbol, es decir, los mecanismos evolutivos responsables del cambio de secuencias constituyen un proceso homogéneo de Markov (Swofford *et al.*, 1996).

Los parámetros utilizados en los análisis se muestran a continuación. En la tabla 12

se muestran los parámetros usados en cada experimento.

a) Modelos de sustitución:

1. Todos los tipos de sustitución tienen tasas iguales (como en los modelos de Jukes & Cantor 1969 o Felsenstein 1981).

2. Existen dos tipos de sustitución, la tasa de las transiciones es distinta a la tasa de las tranversiones (como en el modelo de Kimura 1980).

3. Existen seis tipos de sustitución: A-C, A-G, A-T, C-G, C-T, y G-T, cada una con una tasa potencialmente diferente.

b) Tasas de sustitución:

1. Igual: no hay tasa de variación entre sitios

2. Gamma: tasa de variación con distribución gamma

c) Frecuencia de bases

1. Igual: frecuencia de bases $\frac{1}{4}$ para cada nucleótido

2. Empírico: frecuencia empírica de cada nucleótido

3. Estimado: frecuencia de bases de cada nucleótido estimadas

d) Número de generaciones

En este trabajo se usó el valor 50.000

e) Burnin: Parámetro permite ignorar todos los primeros árboles generados.

En este trabajo se usó el valor 100, es decir, se ignoraron los 100 primeros árboles generados, o bien las primeras 10.000 generaciones.

Una vez realizados los análisis, se construyeron árboles de consenso con los valores de probabilidad posterior de los últimos 100 árboles obtenidos. Los valores de probabilidad posterior son equivalentes a los valores de bootstrap.

Tabla 12: Parámetros utilizados para cada uno de los experimentos de inferencia bayesiana.

Nº parámetros	Experimento	Tipos de sustitución	Tasas de sustitución	Frecuencia de bases
0	1 eq eq	1	=	igual
1	1 eq emp	1	=	empírico
2	1 eq est	1	=	estimado
2	1 g emp	1	a=0,5	empírico
2	1 g est	1	a=0,5	estimado
2	2 eq emp	2	=	empírico
3	2 g emp	2	a=0,5	empírico
3	2 g est	2	a=0,5	estimado
2	6 eq emp	6	=	empírico
3	6 g emp	6	gamma	empírico
3	6 g est	6	gamma	estimado
2	6 g eq	6	gamma	igual

Resultados

Análisis moleculares

Una vez realizado el trabajo de laboratorio, es decir, extracción de ADN del material conservado en sílica gel, amplificación, purificación y secuenciación del material genético, se analizaron los electroferogramas obtenidos de cada una de las secuencias, con el objetivo de seleccionar las secuencias para hacer la reconstrucción filogenética. En la tabla 13 se observa el listado de secuencias seleccionadas para realizar la reconstrucción filogenética, incluyéndose además las secuencias obtenidas en The NCBI Entrez Taxonomy.

De las secuencias seleccionadas, se excluyeron aquellas que no presentaron diferencias en cuanto a la frecuencia de bases, pero si fueron incluidas en los árboles generados. Las secuencias repetidas (ver códigos de referencia en la tabla 13) son: azureum_Chacabuco = azureum_NCBI, brachyceras_Curacaví = tricolor_Clarillo = tenuirostre_Prado, hookerianum = pilosum, jilesii = looseri, kingii = rhomboideum, gracile = incisum = leptophyllum = polyphyllum_Yeso = polyphyllum_NCBI = incisum_NCBI, tricolor_Paposo = tricolor_Cavilolén, tricolor_Colliguay = tricolor_NCBI y kuntzeanu_NCBI = cuspidatum_NCBI.

Tabla 13: Secuencias seleccionadas para el análisis filogenético.

Relación entre distribución y posición filogenética en las especies del género *Tropaeolum*, sección Chilensia

Especies	Nº Colecta	Código
<i>T. azureum</i>	CH_22	azureum_Andacollo
<i>T. azureum</i>	CH_8	azureum_Chacabuco
<i>T. beuthii</i>	CH_11	beuthii
<i>T. brachyceras</i>	CH_13	brachyceras_Curacaví
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>ciliatum</i>	CH_28	ciliatum
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>septentrionale</i>	CH_34	septentrionale
<i>T. hookerianum</i>	CH_9	hookerianum
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>austropurpureum</i>	CH_47	austropurpureum
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>pilosum</i>	CH_46	pilosum
<i>T. incisum</i>	CH_41	incisum
<i>T. jilesii</i>	MH_263	jilesii
<i>T. kingii</i>	CH_16	kingii
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>gracile</i>	CH_1	gracile
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>leptophyllum</i>	CH_37	leptophyllum
<i>T. looseri</i>	CH_17	looseri
<i>T. nuptae-jucundae</i>	CH_27	nuptae
<i>T. polyphyllum</i>	CH_45	polyphyllum
<i>T. rhomboideum</i>	CH_23	rhomboideum
<i>T. tricolor</i> x <i>rhomboideum</i>	CH_24	tricolor x rhomboideum
<i>T. sessilifolium</i>	CH_32	sessilifolium
<i>T. speciosum</i>	CH_40	speciosum_Tolhuaca
<i>T. tricolor</i>	CH_14	tricolor_Colliguay
<i>T. tricolor</i>	MK_992345	tricolor_Cavilolén
<i>T. tricolor</i>	CH_10	tricolor_Paposo
<i>T. tricolor</i>	MK_994488	tricolor_Clarillo
<i>T. X tenuirostre</i>	MK_992024	tenuirostre_Prado
<i>T. azureum</i>	NCBI-AF253993	azureum_NCBI
<i>T. brachyceras</i>	NCBI-AF253996	brachyceras_NCBI
<i>T. speciosum</i>	NCBI-AF254052	speciosum_NCBI
<i>T. polyphyllum</i>	NCBI-AF254041	polyphyllum_NCBI
<i>T. incisum</i>	NCBI-AF254012	incisum
<i>T. tricolor</i>	NCBI-AF254057	tricolor_NCBI
<i>T. magnificum</i>	NCBI-AF254018	magnificum
<i>T. kuntzeanum</i>	NCBI-AF254014	kuntzeanum
<i>T. cuspidatum</i>	NCBI-AF254003	cuspidatum
<i>T. pentaphyllum</i>	NCBI-AF254035	pentaphyllum
<i>Magallana porifolia</i>	NCBI-AF253981	magallana
<i>Trophaeastrum patagonicum</i>	NCBI-AF253984	trophaeastrum

Reconstrucción filogenética

Los análisis de máxima parsimonia generaron como resultado dos árboles igualmente parsimoniosos. Los clados identificados en los análisis de máxima parsimonia son comunes a los clados encontrados por las otras metodologías (tabla 14). La representación gráfica de estos resultados son árboles que muestran las relaciones filogenéticas entre las especies estudiadas. Los árboles obtenidos utilizando distintos parámetros en cada metodología siguen patrones similares. De los distintos ensayos realizados, se seleccionó un árbol de cada metodología, en los casos de metodologías de distancia y análisis de inferencia bayesiana de máxima verosimilitud, se eligieron aquellos ensayos que utilizaron el mayor número de parámetros. En las figuras 9-14 se observan los árboles obtenidos a través de las distintas metodologías, en cada caso se muestra un árbol arbitrario elegido entre aquellos obtenidos y el árbol de consenso de bootstrap (máxima parsimonia y distancia) y de probabilidad posterior (en el caso de análisis de inferencia bayesiana de máxima verosimilitud).

Tabla 14: Clados obtenidos de los análisis realizados.

Clados	Agrupación de especies
1	azureum_Andacollo / brachyceras_ NCBI
2	tricolor_Paposo / tricolor_Colliguay
3	2 / brachyceras_Curacaví
4	3 / azureum_Chacabuco
5	kingii / tricolor x rhomboideum
6	5 / nuptae
7	4/6
8	ciliatum / septentrionale
9	speciosum / speciosum
10	9 / pentaphyllum
11	10 / trophaeastrum
12	11/8
13	jilesii / sessilifolium
14	13 / gracile
15	12/14
16	7/15
17	16 / magallana
18	1/17
19	beuthii / hookerianum
20	7 / magallana

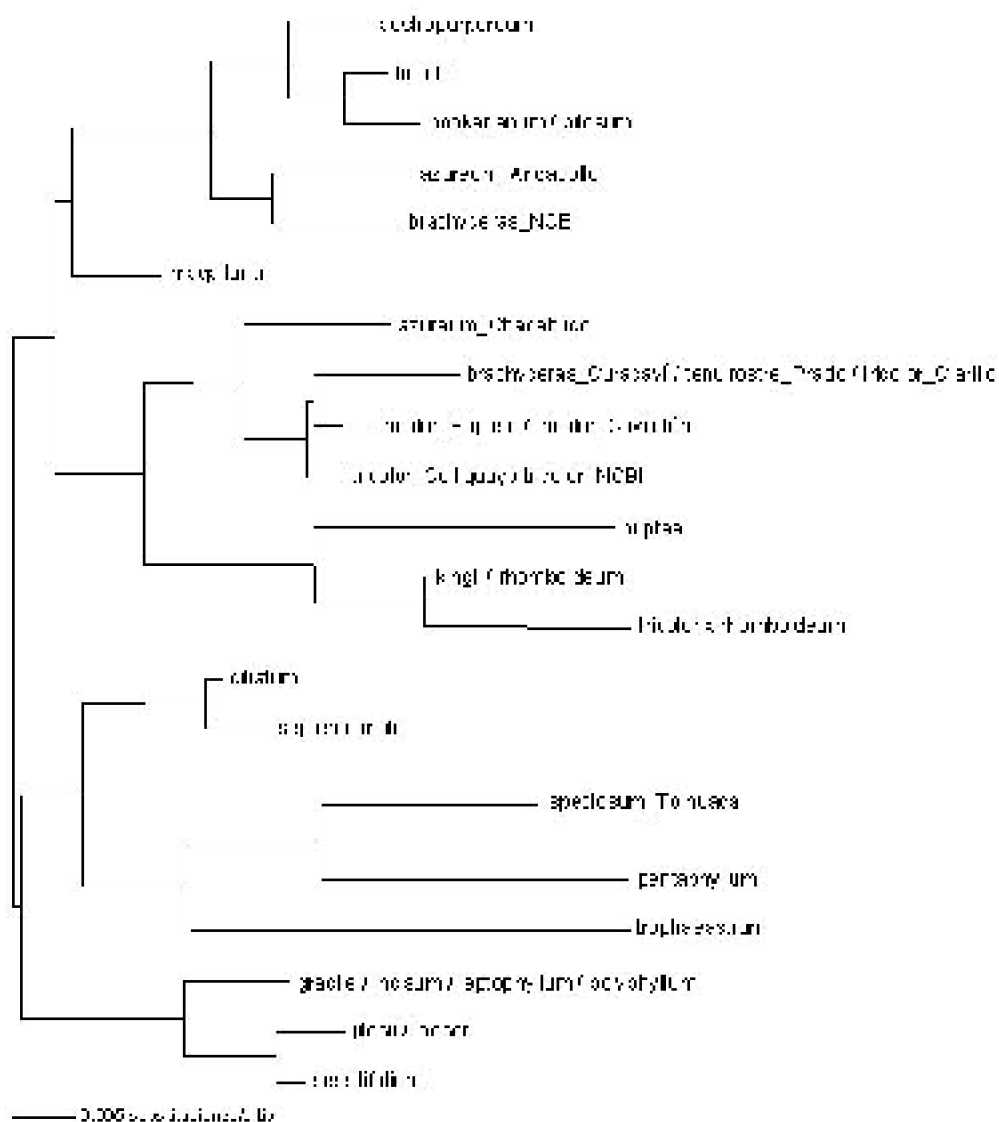


Figura 11: Árbol construido con distancia [K2P_G].

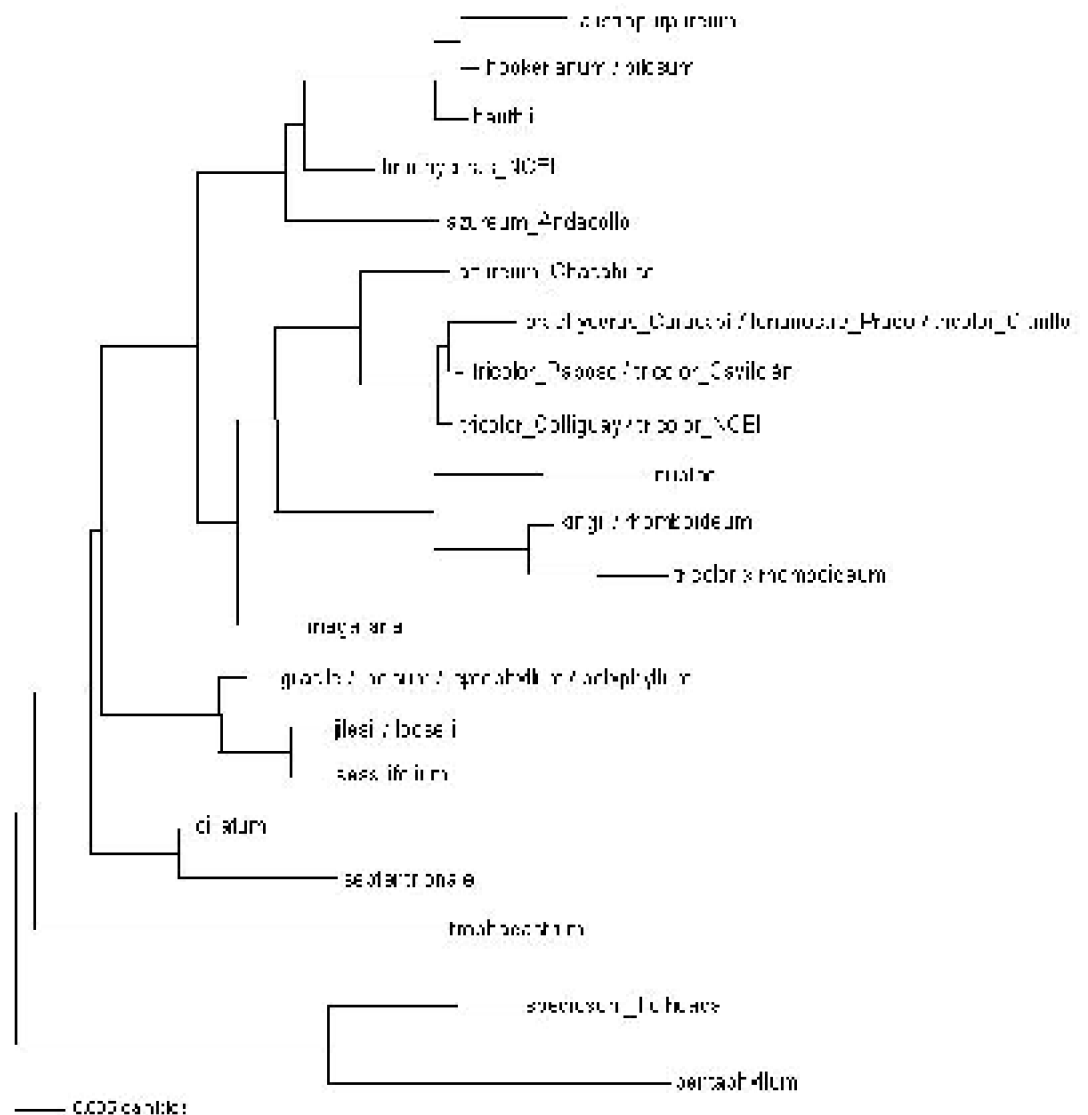


Figura 13: Árbol de análisis bayesiano [6 G emp] (árbol N° 501 de 501).

presentan valores de bootstrap superiores a 80 y 2 clados con valores inferiores a 50 (figura 16).

El clado 20 (clado 7 y magallana, tabla 14) en análisis de distancia (figura 15) presenta un valor inferior a 20, en análisis de inferencia bayesiana (figura 16) este clado tiene valores superiores a 60 con más de 20 unidades de diferencia entre el máximo y el mínimo. Este clado es apoyado con un valor cercano a 60 en análisis de máxima parsimonia.

El clado 17 (el cual reúne los clados 7, 15 y magallana) obtiene valores altos con todas las metodologías (figuras 15, 16 y 17).

El clado 16 (clados 7 y 15, tabla 14) en análisis de inferencia bayesiana (figura 16) presenta un valor inferior a 30, y los clados constituyentes de este clado, es decir, los clados 7 y 15 tienen valores cercanos a 90 o superiores. Este mismo clado en análisis de distancia (figura 15) clado tiene valores superiores a 60 con poca diferencia entre los valores máximos y mínimos, y los clados constituyentes de este clado, es decir, los clados 7 y 15, presentan valores cercanos a 80, es decir más altos. Con máxima parsimonia el clado 16 obtiene un valor de 15, y los clados 7 y 15 obtienen valores superiores a 80 (figura 17). Esta situación es más parecida al lo que ocurre con metodologías de distancia. En resumen, cuando los clados constituyentes obtienen más apoyo, la agrupación completa es más débil, y cuando la agrupación constituyente tiene menos apoyo la agrupación completa es más fuerte.

La posición de *Magallana* es la que provoca las diferencias encontradas en los análisis con metodologías de distancia e inferencia bayesiana y máxima parsimonia

El clado 2, el cual agrupa a tricolor_Paposo y tricolor_Colliguay, obtiene valores cercanos a 40 con análisis de inferencia bayesiana, 31 con máxima parsimonia y valores superiores a 60 con metodologías de distancia. El clado siguiente, el cual agrupa a tricolor_Paposo, tricolor_Colliguay y brachyceras_Curacaví, obtiene valores superiores a 90 con metodologías de inferencia bayesiana y máxima parsimonia mientras que con metodologías de distancia los valores son superiores a 60.

Si analizamos las siguientes agrupaciones: (1) tricolor_Paposo con brachyceras_Curacaví, y (2) tricolor_Colliguay con brachyceras_Curacaví, obtenemos los siguientes valores: los valores de la agrupación (1) varían entre 15 y 22 con metodologías de distancia y entre 26 y 34 con análisis bayesiano. Los valores de la agrupación (2) varían entre 8 y 11 con metodologías de distancia y entre 25 y 31 con análisis bayesiano. Ambas agrupaciones obtienen valores más altos con metodologías de análisis bayesiano. Estas agrupaciones no aparecen con metodologías de máxima parsimonia. En ambos casos (análisis bayesiano y distancia) existe mayor apoyo para la agrupación (1), siendo los valores para ambas agrupaciones similares con análisis bayesiano, en cambio con metodologías de distancia los valores entre ambas agrupaciones tienen cierta diferencia. El clado 2 puede verse debilitado en el apoyo con análisis bayesiano por el efecto de los valores de las agrupaciones (1) y (2). En distancia obtiene mayor apoyo, siendo más débil el apoyo a las agrupaciones (1) y (2). La divergencia entre las secuencias es muy pequeña (valores de longitud de ramas alrededor de 0,004), por lo tanto es improbable que cualquier configuración pueda obtener mayor apoyo.

En la figura 17 se observan los valores de bootstrap alcanzados en los análisis de máxima parsimonia. El patrón que siguen estos valores es similar al patrón obtenido con los análisis de inferencia bayesiana de máxima verosimilitud.

En general los análisis realizados con metodologías de máxima parsimonia y análisis bayesiano llegaron a resultados similares, discrepando principalmente en los clado 2, 16 y 20 con los modelos de distancia.

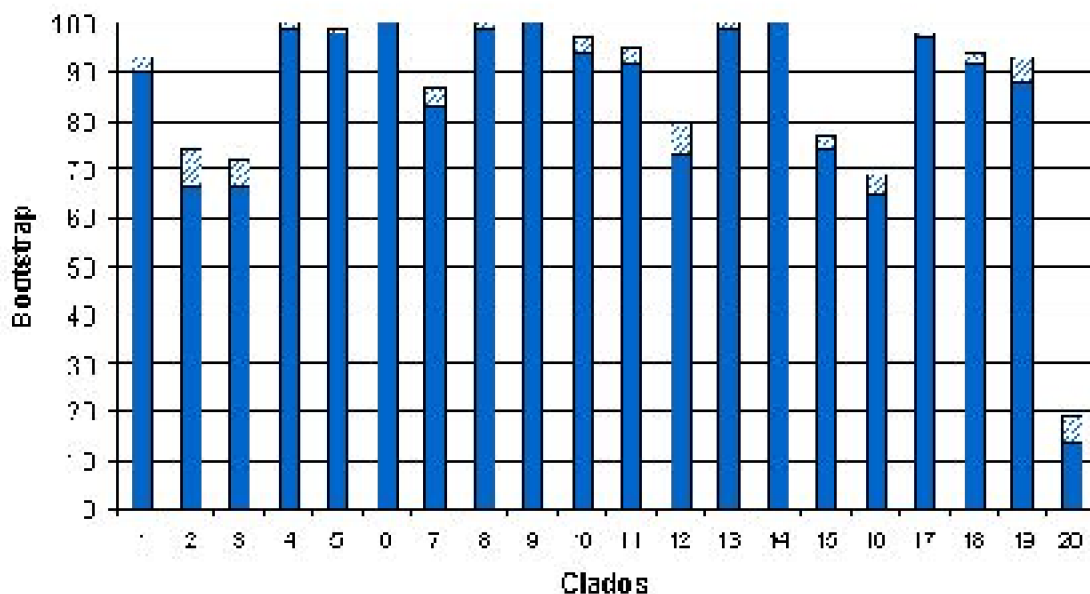


Figura 15: Variación en los valores de bootstrap en los análisis hechos con metodologías de distancia.

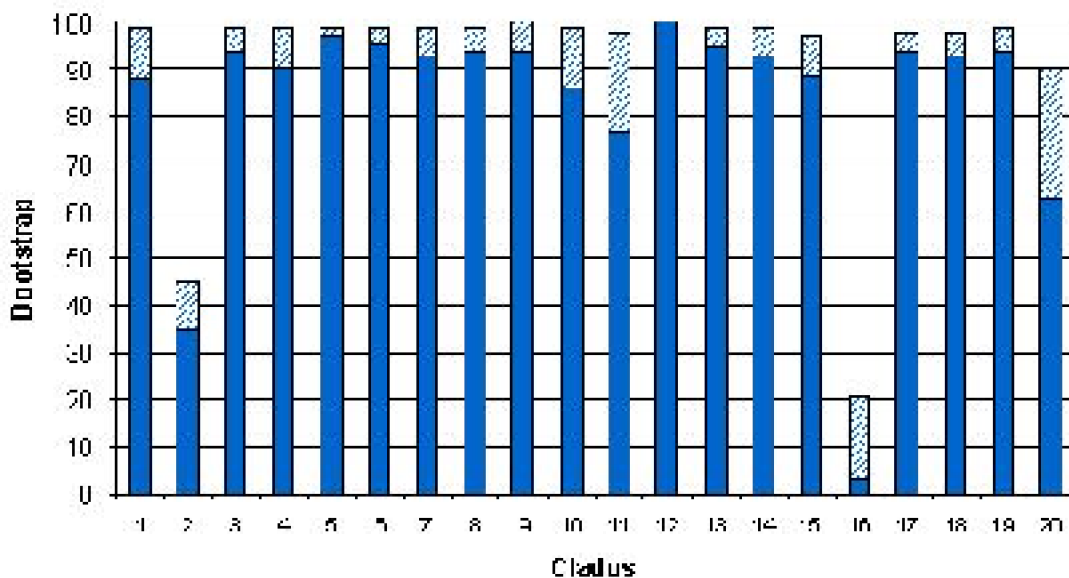


Figura 16: Variación en los valores de probabilidad posterior en los análisis hechos con metodologías de análisis bayesiano.

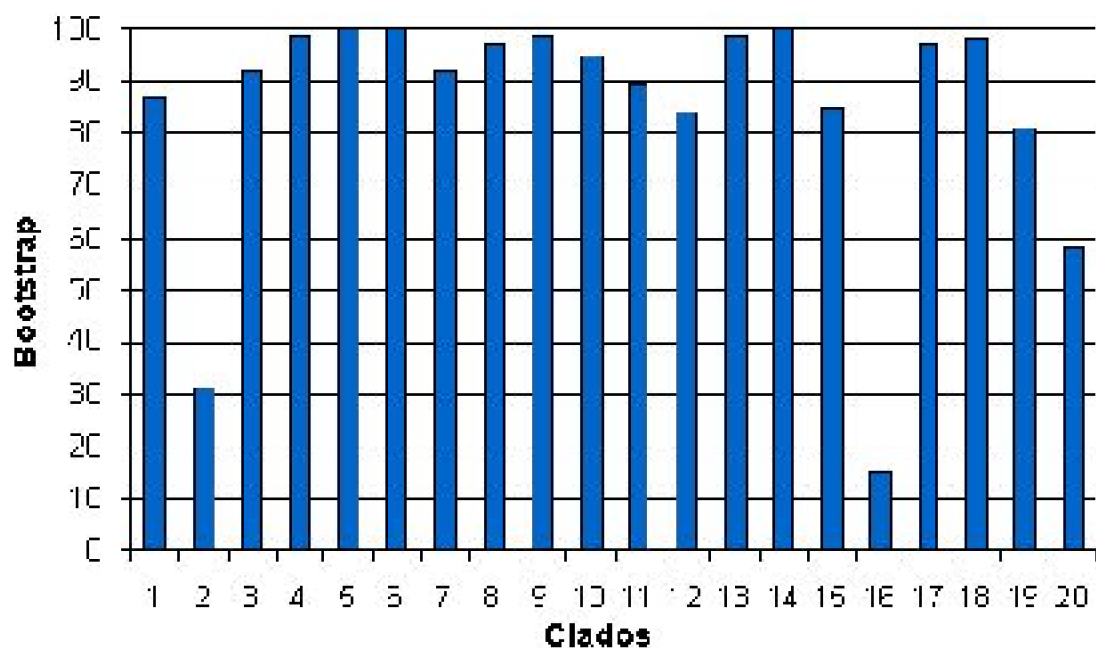


Figura 17: Valores de bootstrap en análisis de máxima parsimonia.

En la tabla 15 se resaltan los valores mínimos y máximos de bootstrap y en la tabla 16 los valores de probabilidad posterior, alcanzados con cada uno de los modelos utilizados. No hay una tendencia a que los valores extremos fueron alcanzados con los modelos de más o menos parámetros.

(● VALORES MÍNIMOS ● VALORES MÁXIMOS).

CLADOS	P	F81 EQ	F81 G	K2P EQ	K2P G	JC EQ	JC G
1	93	92	92	91	92	90	83
2	74	68	72	72	66	66	72
3	72	68	66	66	67	68	59
4	100	99	100	99	100	100	89
5	99	98	99	99	99	98	88
6	100	100	100	100	100	100	100
7	65	66	67	67	64	63	54
8	100	100	99	100	100	100	100
9	100	100	100	100	100	100	100
10	67	94	97	96	94	96	86
11	64	95	93	93	92	93	84
12	74	76	73	80	80	78	50
13	99	99	99	100	100	99	100
14	100	100	100	100	100	100	100
15	76	76	77	75	74	77	74
16	89	86	88	86	88	89	86
17	90	90	90	97	97	90	80
18	50	92	92	92	90	92	84
19	67	68	68	91	80	90	82
21	17	18	19	17	19	14	16
min/max	1/12	0/5	5/11	4/0	5/9	7/0	4/5

Tabla 15: Valores de bootstrap máximos, mínimos y diferencia entre ellos, usando metodología de distancia

Relación entre distribución y posición filogenética en las especies del género *Tropaeolum*, sección Chilensis

● VALORES MÍNIMOS ● VALORES MÁXIMOS

CLADOS	T_BO_LB1	T_BO_LB2	T_BO_LB3	T_BO_LB4	T_BO_LB5	T_BO_LB6	T_BO_LB7	T_BO_LB8	T_BO_LB9	T_BO_LB10	T_BO_LB11	T_BO_LB12
1	97	99	99	96	90	95	92	93	99	98	9	89
2	91	91	90	93	95	97	91	91	90	97	95	90
3	95	99	94	98	97	95	98	98	97	90	93	97
4	95	99	90	97	95	95	98	98	98	94	95	95
5	98	98	97	97	93	97	98	99	97	97	93	97
6	98	97	96	98	93	97	97	97	97	97	95	98
7	95	96	93	90	91	91	91	91	91	94	91	91
8	97	91	91	91	91	91	91	91	91	91	91	91
9	91	96	91	91	91	91	91	91	91	91	91	91
10	91	97	96	97	97	97	97	97	97	97	97	97
11	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
12	95	98	98	98	95	95	95	95	95	97	95	98
13	94	93	98	99	93	97	99	98	98	97	95	98
14	89	90	96	97	97	97	96	95	97	97	97	97
15	7	8	9	11	12	1	10	21	4	16	1	12
16	95	94	95	97	95	97	98	97	97	94	98	95
17	97	96	97	96	97	95	97	95	95	93	95	96
18	98	97	97	99	95	95	95	97	94	90	95	96
19	91	99	90	90	91	91	91	93	94	92	91	91
media	91	92	92	95	95	95	95	95	92	93	95	92

Tabla 16: Valores de probabilidad posterior máximos, mínimos y diferencia entre ellos, usando metodología de análisis bayesiano (D).

Discusión

Refiriéndose al primer objetivo de este capítulo, el comprobar la monofilia del clado que incluye los taxa chilenos y resolver su filogenia usando caracteres moleculares, recientemente Andersson & Andersson (2000), basándose en estudios filogenéticos moleculares, han demostrado que *Tropaeolum* es parafilético con respecto a los géneros *Magallana* y *Trophaeastrum* y que la mayoría de las secciones reconocidas por Sparre & Andersson (1991) son monofiléticas. De acuerdo a estos resultados, proponen subdividir el género *Tropaeolum* en dos secciones: sección *Tropaeolum* (incluyendo las secciones *Bicolora*, *Dipetala*, *Mucronata*, *Schizotrophaeum*, *Serratociliata*, *Tropaeolum* y *Umbellata*)

y ampliar la sección *Chilensia* (para incluir a los géneros *Magallana*, *Trophaeastrum* y a la sección *Chymocarpus*, esta última incluye a la especie *Tropaeolum pentaphyllum*). De acuerdo con este estudio, las especies pertenecientes a la sección *Chilensia* constituirían un grupo monofilético.

Con relación a estimación de la filogenia de este clado o la reconstrucción de la historia filogenética de las especies y subespecies del género *Tropaeolum*, un aspecto relevante en los análisis filogenéticos es la variedad de métodos de inferencia que pueden ser realizados y que son activamente propuestos por los expertos (Huelsenbeck, *et al.* 2001). En este trabajo se utilizaron tres metodologías: máxima parsimonia, distancia y análisis bayesiano de máxima verosimilitud. Una metodología en particular, puede dar resultados más robustos al cambiar los parámetros, pero no existe un acuerdo universal para elegir una metodología u otra. Por esta razón se eligió mostrar los árboles obtenidos con las tres metodologías.

Los árboles obtenidos a través de cada metodología son bastante similares entre sí. Exceptuando los árboles obtenidos con distancia versus los obtenidos con análisis bayesiano y parsimonia, diferenciándose en que el primero sitúa a *Magallana porifolia* en una posición diferente que los otros dos análisis. Hay una tendencia general en las posiciones de las especies que se observa en todos los árboles, existiendo politomías entre algunos taxa que fueron consistentes en todas las metodologías usadas. Estos resultados son suficientes para cumplir los objetivos de esta tesis.

En la reconstrucción filogenética las muestras *azureum_Andacollo* y *brachyceras_NCBI* y *azureum_Chacabuco* y *brachyceras_Curacaví* (todas estas secuencias son distintas) aparecen agrupadas en distintos sectores del árbol filogenético. Aparecen, por una parte, como taxa hermanos en un mismo clado (*azureum_Andacollo* y *brachyceras_NCBI*) y por otra, como taxa parafiléticos con respecto a *T. tricolor* (*azureum_Chacabuco* y *brachyceras_Curacaví*). *T. brachyceras* está representado por una muestra proveniente de un cultivo (NCBI) y por una muestra proveniente de los muestreos realizados por CH (*brachyceras_Curacaví*). *T. azureum* proviene de dos colectas provenientes de los muestreos de CH de distintos sitios, una de ellas fue colectada en la Cuesta Chacabuco (*azureum_Chacabuco*) en la V región y la otra en Andacollo (*azureum_Andacollo*) en la IV región.

Diferentes escenarios podrían explicar estos resultados, ninguno de ellos es completamente satisfactorios en ausencia de evidencia adicional. Por una parte esta situación podría explicarse por una mala identificación de los especímenes, pero la determinación de las muestras *azureum_Andacollo*, *azureum_Chacabuco* y *brachyceras_Curacaví*, fue hecha en el herbario CONC con el apoyo del curador del herbario, por lo cual no cabe duda que corresponden a las especies señaladas. La muestra *brachyceras_NCBI*, es una muestra proveniente de cultivo y no es posible obtener el voucher para corroborar su determinación. Estas especies son fácilmente distinguibles morfológicamente, por lo cual se descarta un error en su determinación.

Otra explicación de esta situación podría ser que la secuencia de *brachyceras_Curacaví* tenga apariencia morfológica de *T. brachyceras* pero su secuencia corresponda a una secuencia híbrida entre *T. tricolor* y *T. brachyceras*, ambas especies generan híbridos espontáneamente, es decir que la secuencia corresponda al híbrido *T.*

X tenuirsotre.

El caso de *T. azureum* es más difícil de explicar debido a que sus secuencias en ambas muestras son distintas a todas las otras secuencias estudiadas. Es posible que algunas de las dos muestras de *T. azureum* sea un híbrido con *T. tricolor* o *T. brachyceras*. En la monografía del género (Sparre & Andersson, 1991), se señala que esta especie no genera híbridos espontáneos en la naturaleza con *T. brachyceras*, pero en cultivo se ha visto que sí ocurre este fenómeno. Se sugiere que tal vez en la zona donde ambas especies traslapan sus distribuciones pudieran generar híbridos, específicamente en la monografía sugieren que en la zona central, en las provincias de Valparaíso, Santiago y Aconcagua.

Otra posibilidad es que las secuencias discordantes representen copias parálogas divergentes y que los parálogos parientes en cada clado (1 y 3) se hayan extinguido, pero no existe evidencia de polimorfismos en las secuencias estudiadas.

Para el presente estudio, la explicación de especies parálogas/extinción será rechazada, en parte por la ausencia de evidencia de polimorfismo de secuencias en las muestras y en parte por esta hipótesis la cual implica que el árbol filogenético es sustancialmente incorrecto en uno de los casos.

Capítulo III. Relación entre el ámbito de distribución (rareza) y la posición filogenética en el género *Tropaeolum*

Introducción

El explorar si la influencia de factores históricos han afectado las dinámicas de especiación de un taxón es biológicamente relevante, ya que especies cuyos rangos de distribución son restringidos o presentan bajas abundancias locales (especies raras) podrían representar especies que están en el preámbulo de la extinción (taxa relictos), dado que las modificaciones históricas de sus hábitats han sido tales que estas especies no han sido capaces de mantener sus rangos o abundancias originales. Por otra parte, los nuevos ambientes pudieran haber facilitado el establecimiento de nuevas especies, permitiendo dinámicas de expansión de las mismas (taxa recientemente evolucionados o especies paleo o neo endémicas (Stebbins & Major 1965, Fielder 1995)).

Objetivos específicos

1. Determinar la posición filogenética (relictuales o derivadas) de las especies y subespecies raras y comunes del género *Tropaeolum* sección *Chilensia*.
2. Establecer si existe una relación entre la posición filogenética de cada taxa y su condición de rareza.

Métodos

Filogenia, grado de relictualidad e integración con los resultados de rareza y distribución geográfica de los taxa de *Tropaeolum* estudiados

La definición de relictualidad en este estudio es usada como una medida del tiempo de divergencia de los linajes producida por las especies existentes. Las especies terminales o clados que conectan a los nodos más profundos en un árbol son más relictuales que las especies terminales o nodos que conectan a ramas más superficiales. Esta definición no implica que un taxón más relictual, asimismo es más “antiguo” que un taxón menos relictual. Un taxón más relictual puede haber divergido de un taxón hermano extinto más recientemente que un taxón menos relictual. Como corolario, un taxón más relictual tiene menos especies que su taxón hermano. Esta definición enfatiza la edad relativa de los linajes, o el tiempo relativo en el cual el linaje divergió de otros taxa. En términos de un cladograma enraizado, la relictualidad de un taxón puede ser medida en términos del número de nodos entre el sector terminal y la raíz.

En este estudio, a cada taxón es asignado un grado de relictualidad basado en su posición en el árbol inferido usando varios métodos. La raíz del árbol es asignada usando el método de midpoint rooting en los árboles de distancia y parsimonia. Aunque los árboles inferidos usando los diferentes métodos no son completamente congruentes, sus diferencias no afectan la asignación de las categorías de relictualidad a las especies. Los taxa más problemáticos son *T. azureum* y *T. brachyceras*, porque secuencias diferentes provenientes de distintos individuos de estos taxa, aparecen en diferentes partes del árbol. En el caso de *T. azureum*, correlaciones en relación al valor de relictualidad fueron calculadas separadamente considerando árboles que asumen que una u otra secuencia representan la especie, pero no la otra.

Considerando a cada nodo en la representación filogenética, como un evento de especiación, aquellos taxa que presentan una historia con menos eventos de especiación serían más antiguas que aquellos taxa con una historia con más eventos de especiación, los cuales serían evolutivamente más recientes.

Se asignó el grado de relictualidad cada taxa de acuerdo al número de nodos desde la raíz, en el árbol filogenético. Se incluyen especies repetidas que provienen de secuencias pertenecientes a una misma especie, pero que presentan un patrón posicional distinto en el árbol.

Se mapearon las distribuciones generalizadas para cada uno de los taxa en la representación filogenética, para ver la relación entre la posición filogenética y la distribución geográfica de las especies de *Tropaeolum*. Además se integraron los resultados de rareza de cada taxa estudiado.

Análisis de correlación

Se realizó un análisis de correlación de Pearson para investigar si existe correlación entre las variables de rareza (frecuencia de cuadrantes y abundancia local) y la relictualidad de las especies. Además se graficaron ambas variables de rareza con la variable relictualidad.

Resultados

En este capítulo se estableces categorías de relictualidad para las especies del género *Tropaeolum* en Chile, además se integran estos resultados con las categorías de rareza establecidas en el capítulo I y el hábitat que ocupan las especies.

Filogenia, grado de relictualidad e integración con los resultados de rareza y distribución geográfica de los taxa de *Tropaeolum* estudiados

En la tabla 17 se presenta el número de nodos (o eventos de diversificación) para cada especie, de acuerdo a los análisis de Máxima parsimonia (MP), Distancia (D) y Mr. Bayes (MB) y el valor promedio obtenido por especie (valor de relictualidad). En los casos de especies que forman parte de una politomía se consideró un valor promedio de las distintas topologías alternativas para cada especie.

En la figura 18 se representa un gradiente de relictualidad de las especies de *Tropaeolum*, usando los valores de la tabla 17. De acuerdo al gradiente obtenido, se establecen cuatro puntos de corte arbitrarios, designando cuatro categorías de relictualidad: taxa *derivados*, taxa *intermedios a derivados*, taxa *intermedios a relictuales* y taxa *relictuales*.

En los extremos del gradiente de relictualidad (figura 18), los taxa considerados más relictuales son: *T. beuthii*, *T. hookerianum*, *T. hookerianum* ssp. *pilosum*, *T. brachyceras* NCBI, *T. azureum* Andacollo, *Magallana porifolia* y *T. hookerianum* ssp. *austropurpureum*. Los taxa considerados derivados (o recientes) son: *T. speciosum*, *T. tricolor* Paposoy Colliguay, *T. pentaphyllum*, *T. X tenuirostre*, *T. tricolor* Clarillo, *T. rhomboideum*, *T. rhomboideum* x *tricolor*, *T. kingii* y *T. brachyceras* Curacaví.

En la tabla 18 y figura 19 se integran los resultados filogenéticos y de rareza, con la distribución geográfica de las especies. Podemos observar que dentro del grupo de taxa

considerados relictuales, aquellos que están en Chile, se sitúan principalmente en la IV región excepto *T. beuthii* que solo está en la II región en la costa.

Los taxa *T. brachyceras* y *T. azureum* tienen distribuciones más amplias y se sitúan en posiciones distintas en el árbol. *T. brachyceras* NCBI y *T. azureum* Andacollo quedan en una posición relictual. *T. azureum* Chacabuco se sitúa en una posición intermedia a relictual y *T. brachyceras* Curacaví queda en una posición derivada. Todas las muestras de *T. tricolor* se sitúa en una posición derivada.

Los taxa agrupados en la categoría intermedios a relictuales se ubican en distintos clados en el árbol filogenético, y tienen distribuciones en distintos hábitats.

Los taxa agrupados en la categoría intermedios a derivados, forman parte de un mismo clado (*T. looseri* y *T. jilesii*) y son ambos altoandinos de la IV región.

Los taxa considerados más derivados o recientes, se encuentran agrupados dentro de un mismo clado, exceptuando a *T. nuptae-jucundae* y *T. speciosum* (de distribución más o menos amplia). Las especies *T. kingii*, *T. rhomboideum* y *T. rhomboideum x tricolor*, todas alto andinas, no traslapan sus distribuciones, exceptuando a *T. rhomboideum* y *T. rhomboideum x tricolor* y tiene distribución restringida. Las especies *T. tricolor* Paposo, Cavilolén, Colliguay y Clarillo, *T. x tenuirostre* y *T. brachyceras* Curacaví, también forman parte de un mismo clado.

Al contrastar estos resultados con los resultados obtenidos de rareza de la primera parte de esta tesis, podemos observar (tabla 18, figura 18) que los taxa raros en relación a su abundancia y distribución (a), son predominantemente relictuales o intermedios a derivados. Aquellos taxa que son raros sólo de acuerdo a su abundancia (b), son taxa predominantemente intermedios a relictuales, excepto por *T. speciosum* que es derivado. El grupo de especies raras de acuerdo a su distribución geográfica (d) son predominantemente derivados, exceptuando a *T. nuptae-jucundae* (intermedio a relictual) y *T. hookerianum* (relictual). Las especies comunes (alta abundancia y amplia distribución), se agrupan en todas las categorías de relictualidad, excepto en la categoría intermedio a derivado.

Considerando la distribución geográfica de las especies, ya sea si son de la costa, valle, precordillera o altoandinas, obtenemos que los taxa costeros son todos relictuales, los taxa del valle son predominantemente intermedios a relictuales y menor medida derivados. Los taxa de la precordillera son relictuales y/o también intermedios a relictuales. Los taxa altoandinos son predominantemente intermedios a relictuales, con una menor proporción de taxa intermedios a derivados y taxa derivados (tabla 18).

Tabla 17: Grado de relictualidad de las especies, en relación al número de nodos de diversificación en el árbol filogenético de acuerdo a cada análisis. MP = máxima parsimonia; D = distancia; MB = Mr. Bayes.

Capítulo III. Relación entre el ámbito de distribución (rareza) y la posición filogenética en el género *Tropaeolum*

ESPECIES	Relict	MP	Dist	MB	Estado
<i>T. speciosum</i>	7,3	7	8	7	Taxa derivados
<i>T. tricolor</i> Paposo y Colliguay	7,3	7	8	7	
<i>T. brachyceras</i> Curacaví	7,0	7	7	7	
<i>T. kingii</i>	7,0	7	7	7	
<i>T. rhomboideum</i>	7,0	7	7	7	
<i>T. rhomboideum</i> X <i>T. tricolor</i>	7,0	7	7	7	
<i>T. tricolor</i> Clarillo	7,0	7	7	7	
<i>T. X tenuirostre</i>	7,0	7	7	7	
<i>T. jilesii</i>	6,3	6	7	6	Taxa intermedios a derivados
<i>T. looseri</i>	6,3	6	7	6	
<i>T. pentaphyllum</i>	6,3	6	7	6	
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>ciliatum</i>	5,3	5	6	5	Taxa intermedios a relictuales
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>septentrionale</i>	5,3	5	6	5	
<i>T. incisum</i>	5,3	5	6	5	
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>gracile</i>	5,3	5	6	5	
<i>T. leptophyllum</i> ssp. <i>leptophyllum</i>	5,3	5	6	5	
<i>T. polyphyllum</i>	5,3	5	6	5	
<i>T. sessilifolium</i>	5,3	5	6	5	
<i>Trophaeastrum patagonicum</i>	5,3	5	6	5	
<i>T. azureum</i> Chacabuco	5,0	5	5	5	
<i>T. nuptae-jucundae</i>	5,0	5	5	5	
<i>T. hookerianum</i>	3,0	3	3	3	Taxa relictuales
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>pilosum</i>	3,0	3	3	3	
<i>Magallana porifolia</i>	2,7	3	2	3	
<i>T. azureum</i> Andacollo	2,0	2	2	2	
<i>T. beuthii</i>	2,0	2	2	2	
<i>T. brachyceras</i> NCBI	2,0	2	2	2	
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>austropurpureum</i>	1,0	1	1	1	

ESPECIES	Categoría de Distribución	Grado de Relictualidad	Rareza
<i>T. leubnii</i>	CCSTA	I	a
<i>T. brachyceras</i> NCBI	CCSTA	I	c
<i>T. lanketanum</i>	CCSTA	I	d
<i>T. lanketanum</i> ssp. <i>pubescens</i>	PRECORDILLERA	I	a
<i>T. azureum</i> Ardaco 10	PRECORDILLERA	I	c
<i>T. hookerianum</i> ssp. <i>aurifloropurpureum</i>	VALLE	I	a
<i>T. incanum</i>	ALTOANDINO	II	b
<i>T. leptogonum</i> ssp. <i>leptogonum</i>	ALTOANDINO	II	b
<i>T. calycellum</i>	ALTOANDINO	II	c
<i>T. sessiliflorum</i>	ALTOANDINO	II	c
<i>T. azureum</i> (Catal Abasco)	PRECORDILLERA	II	c
<i>T. leptogonum</i> ssp. <i>gracile</i>	VALLE	II	b
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>ciliatum</i>	VALLE	II	c
<i>T. ciliatum</i> ssp. <i>septentrionale</i>	VALLE	II	c
<i>T. nuptae-jucundae</i>	VALLE	II	d
<i>T. jilesii</i>	ALTOANDINO	III	a
<i>T. looseri</i>	ALTOANDINO	III	a
<i>T. klayi</i>	ALTOANDINO	IV	d
<i>T. struthianum</i>	ALTOANDINO	IV	d
<i>T. spectabile</i>	VALLE	IV	b
<i>T. trochil</i>	VALLE	IV	c
<i>T. xanthostre</i>	VALLE	IV	d

Tabla 18: Relación entre la distribución geográfica, el grado de relictualidad y la rareza.

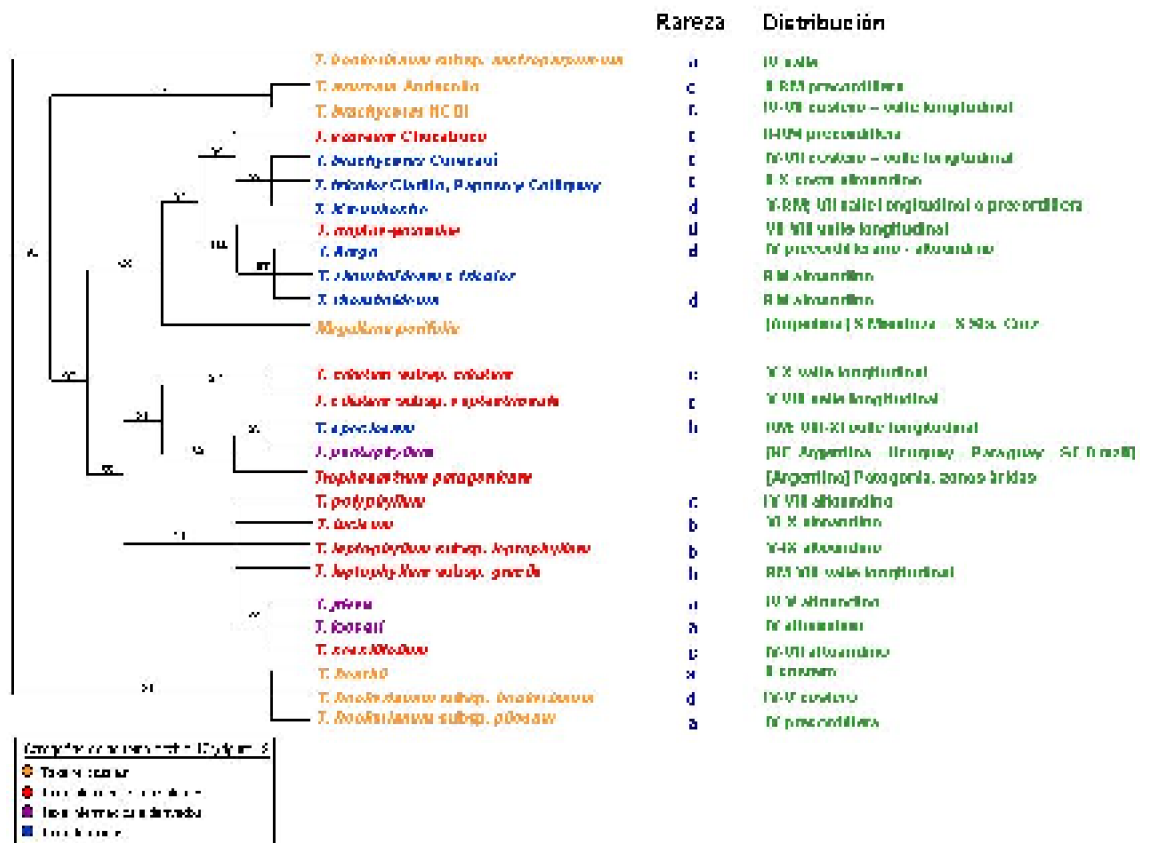


Figura 19: Relación entre posición filogenética, distribución geográfica y ámbito de distribución (rareza), de las especies de *Tropaeolum*. Categorías de rareza de acuerdo a figura 1.

Discusión

En este capítulo se integran los resultados de los análisis de rareza o ámbito de distribución, con los resultados obtenidos de los análisis filogenéticos. Los objetivos propuestos son determinar la posición filogenética de las especies raras y comunes del género *Tropaeolum* y estudiar si existe alguna relación entre la posición filogenética de cada taxa y su ámbito de distribución. Los resultados de estos análisis indican que todas las especies del primer grupo (a), es decir las especies raras de acuerdo a su distribución geográfica y abundancia, se distribuyen en la zona norte del país, *T. hookerianum* ssp.

auropurpureum se ubica en la zona de Huentelauquén en la cuarta región, *T. beuthii* en Paposo en la tercera región, *T. hookerianum* ssp. *pilosum* en Andacollo en la cuarta región, *T. jilesii* en la cuarta y quinta región en hábitat de altura y *T. looseri* en la cuarta región en hábitat de altura. Dentro de este grupo, aquellas especies de mayor relictualidad (*T. hookerianum* ssp. *auropurpureum*, *T. beuthii* y *T. hookerianum* ssp. *pilosum*), se ubican a una altitud media o bien en la costa y son todas trepadoras, carácter considerado ancestral dentro del grupo. Las especies *T. jilesii* y *T. looseri*, son de hábito rastrero, carácter derivado en el grupo y son consideradas taxa de relictualidad intermedia a derivada. Estas especies se ubican en lugares de mayor altitud hacia los Andes. Una posible explicación de estos resultados resulta de los eventos que llevaron a la formación del desierto de Atacama y el levantamiento de la cordillera de los Andes. Aquellos taxa más ancestrales (*T. hookerianum* ssp. *auropurpureum*, *T. beuthii* y *T. hookerianum* ssp. *pilosum*) pueden corresponder a relictos cuyas distribuciones actuales son el resultado de estos eventos y no han ampliado sus rangos de distribución y abundancia debido a la especificidad de hábitat que usan actualmente. Los taxa *T. jilesii* y *T. looseri* serían taxa que acompañaron el levantamiento de la cordillera quedando ubicados en hábitat de altura.

Por lo general, las especies de este género de hábito rastrero también son algo suculentas, lo cual puede relacionarse con hábitats cordilleranos relativamente más restrictivos que los costeros. Esta condición podría considerarse una ventaja adaptativa a los nuevos ambientes.

T. hookerianum ssp. *pilosum* está dentro del grupo de especies relictuales, pero con el valor máximo en esta categoría (tabla 17), y es el único taxa del género que presenta vellosidades en sus estructuras, carácter considerado derivado del género (Sparre & Andersson 1991). Cabe notar que este taxa ha sido colectado solo en dos oportunidades, por J.M. Watson & A.R. Flores y por C. Hernández, esta situación refleja la escasez de esta especie. Por otra parte, dentro del mismo clado de especies ancestrales encontramos a *T. hookerianum* ssp. *hookerianum*, el cual es raro solo en relación con su distribución. Esta situación puede ser un reflejo del sobre muestreo al que ha sido sometido el sector en el cual se encuentra, ya que este taxa está solamente en Fray Jorge y alrededores en la IV región. Por lo tanto lo más probable es que sea una especie relictual que sobrevive actualmente gracias a las neblinas costeras que mantienen el ecosistema de Fray Jorge al igual que el caso de *T. beuthii* en Paposo.

Todos aquellos taxa cuya rareza es respecto a su distribución geográfica (d), son derivadas, exceptuando a *T. hookerianum* ssp. *hookerianum* y *T. nuptae-jucundae*. En esta agrupación se observan taxa del norte (*T. kingii*), zona central (*T. rhomboideum* y *T. rhomboideum* x *tricolor*) y sur (*T. nuptae-jucundae*). Es probable que la ubicación geográfica actual de estos taxa recientes se relacione con la disposición actual de las zonas más secas y templadas de la zona mediterránea. Las zonas secas avanzan hacia el sur por la Depresión Intermedia y las zonas Templadas avanzan hacia el norte por ambas cordilleras (Villagrán, 1995). Esta situación podría tener relación con el reciente levantamiento de los Andes (geológicamente) y con especiación reciente de estas especies.

La ubicación de *T. nuptae-jucundae*, estaría aproximadamente en el límite entre la

zona seca del norte y la zona templada en el valle central y las otras especies estarían en los faldeos andinos de la cordillera de los andes, al norte. En el caso de esta especie, su limitada distribución geográfica puede tener relación con las perturbaciones antrópicas (sustitución de especies forestales nativas por especies exóticas) de los últimos años en la VIII región. Antiguamente, esta especie fue colectada en un rango geográfico mayor, actualmente es bastante difícil encontrarla. Su hábitat ha sido reemplazado por las actuales plantaciones forestales de exóticas que caracterizan esta región.

Aquellos taxa cuya rareza es respecto a su abundancia local, están agrupados en el árbol filogenético, un grupo formando parte de una politomía y presentando un grado de relictualidad intermedio a relictual. Excepto *T. speciosum*, el cual no forma parte del mismo clado y sería de origen reciente. En este grupo, los taxa *T. leptophyllum* ssp. *leptophyllum*, *T. polyphyllum* y *T. incisum*, son esencialmente andinos, y *T. leptophyllum* ssp. *gracile* se ubica en el valle. La amplitud de su rango geográfico puede tener relación con el tiempo de aparición y su rápida colonización de los ambientes, formados a partir de los eventos biogeográficos que caracterizan a Chile.

T. speciosum comparte el mismo clado con *T. pentaphyllum*, una especie que se distribuye en las áreas templadas de Sudamérica (NE de Argentina, Uruguay, Paraguay y SE Brazil). Es posible que ambas especies hayan tenido una distribución conjunta antes del levantamiento de los Andes, pero es contrastante el hecho que son especies recientes.

Todas aquellas especies de amplia distribución y abundancia: *T. ciliatum* ssp. *septentrionale*, *T. sessilifolium*, *T. ciliatum* ssp. *ciliatum*, *T. brachyceras*, *T. azureum*, *T. polyphyllum* y *T. tricolor*, es decir, los taxa comunes, se ubican en todas las categorías de relictualidad.

Los taxa *T. ciliatum* ssp. *ciliatum* y ssp. *septentrionale* (taxa intermedios a relictuales) junto a *T. speciosum* son los únicos con estipulas persistentes y con sistema radicular rizoma. Los taxa *T. ciliatum* ssp. *ciliatum* y ssp. *septentrionale* (taxa intermedios a relictuales) presentan estipulas persistentes reniformes, en cambio *T. speciosum* tiene estipulas profundamente divididas. El resto de los taxa de este grupo, tienen tubérculos y no presentan estipulas persistentes. La presencia de rizomas es un carácter primitivo respecto a la presencia de tubérculos. La presencia de estructuras que permiten un mayor almacenaje de recursos, como serían los tubérculos, es más adecuado para ambientes con estación de crecimiento corta, como podrían ser los ambientes andinos. De la misma manera, los ambientes en el valle y más cercanos a la costa serían ambientes menos restrictivos, por lo cual es adecuado tener un sistema radicular simple.

Discusión General

Discusión General

En esta tesis se desarrollan varios temas, por una parte se revisa la taxonomía de *Tropaeolum*, lo cual es la base fundamental para poder llevar a cabo un estudio de esta naturaleza. También se desarrolla una metodología para establecer de la manera más acertada las especies raras y las comunes del grupo de interés. Además se desarrolla un completo estudio filogenético molecular del grupo *Tropaeolum* chilenos.

La pregunta planteada en este trabajo, si existe alguna relación entre la posición filogenética y la rareza en el grupo *Tropaeolum*, fue respondida satisfactoriamente, encontrándose relaciones relevantes.

La metodología desarrollada para estudiar la rareza en el género *Tropaeolum* contempla la utilización de dos variables en conjunto, lo cual la hace una herramienta eficaz para la caracterización de las especies en categorías de rareza. Por un lado la abundancia local, es decir, cuán exitosa es una especie para colonizar una determinada área, y la distribución geográfica o cómo una especie es eficiente en la expansión de su rango abarcando un amplio espectro de características ambientales. Ambos criterios en su conjunto permiten establecer las especies raras de un grupo y las tendencias en cuanto a su rareza, existiendo especies raras de acuerdo a ambos criterios o de acuerdo a cada uno de ellos por separado. Esta caracterización permite establecer distintas hipótesis. Cada uno de los análisis realizados son perfeccionables, lo cual podría permitir la obtención de resultados más precisos.

Una restricción a la obtención de resultados más precisos es el contar con una base de datos de las colectas de las especies, que arrastra el sesgo del esfuerzo de muestreo. A pesar que se construyó a partir de varias fuentes, los esfuerzos de muestreo en cada uno de los lugares donde está presente *Tropaeolum* son diferentes, por lo cual en algunos casos se genera una subestimación y en otros una sobreestimación de los rangos y abundancias de las especies.

En relación con los análisis filogenéticos desarrollados, se utilizaron tres tipos de análisis diferentes, obteniéndose resultados similares. La utilización de la metodología de midpoint rooting fue una elección adecuada, ya que los resultados obtenidos fueron satisfactorios para responder la pregunta central de este trabajo, considerando las restricciones para encontrar un grupo externo adecuado.

Integrando los resultados obtenidos, al considerar ambas variables de rareza por separado, existiría una tendencia a que la condición de rareza geográfica estaría asociada a especies derivadas, es decir especies recientemente evolucionadas que no han expandido sus rangos de distribución por falta de tiempo. La condición de rareza en cuanto a la abundancia local, estaría asociada a especies de la categoría intermedias a relictuales, es decir aquellas especies que van declinando su existencia, que quizás están en el preámbulo de la extinción.

Este tipo de estudios son relevantes en términos de la biología de la conservación, sirviendo como criterio de priorización para elegir sitios de conservación, permitiendo elegir a aquellas especies más vulnerables a la extinción para poder conservarlas. Las posibilidades de sobrevivencia de una especie no son las mismas al ser más basal en la filogenia, ya que son especies que están en una etapa de su existencia tendiente a desaparecer, al contrario de lo que ocurre con especies más derivadas, las cuales está comenzando a expandir sus rangos.

Con el desarrollo de este trabajo surgen inquietudes que resolver en el futuro, entre otras, revisar con profundidad la taxonomía del grupo y reevaluar la existencia real de todas las especies descritas. Por otra parte, sería interesante investigar la amplitud del rango geográfico y de hábitats de *Tropaeolum tricolor*.

CONCLUSIONES

No se encontró una correlación estadísticamente significativa entre las variables de rareza y la posición filogenética, pero si hay tendencias relevantes con cada criterio por separado.

La mayoría de las especies raras en cuanto a abundancia y distribución se ubican en la zona norte (II y IV región) y son especies ancestrales en la filogenia molecular.

Las especies comunes del género están en todas las categorías de relictualidad.

Considerando ambas variables de rareza por separado, existiría una tendencia a que la condición de rareza geográfica estaría asociada a especies derivadas en la filogenia molecular y la condición de rareza en cuanto a abundancia estaría asociada a especies intermedias a relictuales (más basales en la filogenia).

Literatura Citada

- Adersen, H (1989) The rare plants of the Galápagos Islands and their conservation. *Biological Conservation* 47: 49-77.
- Andersson, L & S Andersson (2000) A molecular phylogeny of Tropaeolaceae and its systematic implication. *Taxon* 49: 721-736.
- Arita, HT (1993) Rarity in Neotropical bats: correlations with phylogeny, diet, and body mass. *Ecological Application* 3: 506-517.
- Arroyo, MTK & L Cavieres (1997) The mediterranean type-climate flora of central Chile - What do we know and how can we assure its protection?. En: Aspectos Ambientales, Ideológicos, Éticos y Políticos en el Debate Nacional sobre Bioprospección y Uso de Recursos Genéticos en Chile. *Noticiero de Biología* 5: 48-56.
- Arroyo, MTK, L Cavieres, C Marticorena & M Muñoz (1995) Convergence in the mediterranean floras in central Chile and California: Insights from comparative biogeography. En Arroyo, MTK, PH Zedler and MD Fox Eds. *Ecology and biogeography of Mediterranean Ecosystem in Chile, California, and Australia*. Springer - Verlag. New York: 43-88.
- Bevill, RL & SM Louda (1999) Comparisons of related rare and common species in the study of plant rarity. *Conservation Biology* 13: 493-498.
- Bock, CE (1984) Geographical correlates of abundance vs. rarity in some North American winter landbird. *The Auk* 101: 266-273.

- Bright, PW & A Morris (1996) Why are Dormice rare? A case study in conservation biology. *Mammal Review* 26: 157-187.
- Dobson, FS (1993) Rarity in Neotropical forest mammals revisited. *Conservation Biology* 7: 586-591.
- Dobson, FS, J Yu & AT Smith (1995) The importance of evaluating rarity. *Conservation Biology* 9: 1648-1651.
- Felsenstein J. (1985) Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Fielder PL (1995) Rarity in the California Flora: New thoughts on old ideas. *Madroño* 42: 127-141.
- Gaston, KJ (1994) *Rarity*. Chapman & Hall.
- Gaston, KJ (1996) Species-range-size distributions: patterns, mechanisms and implications. *Tree* 11 (5): 197-201.
- Gaston, KJ (1997) What is rarity?. En Kunin, WE & KJ Gaston Eds. *The biology of rarity. Causes and consequences of rare-common differences*. Chapman & Hall Publishers, London UK.
- Gaston KJ & Kunnin WE (1997) Rare- common differences: an overview. En Kunin, WE & KJ Gaston Eds. *The biology of rarity. Causas and consequences of rare-common differences*. Chapman & Hall Publishers, London UK.
- Goerck, JM (1997) Patterns of rarity in the birds of Atlantic forest of Brazil. *Conservation Biology* 11: 112-118.
- Hernández, C, M Arroyo, C Marticorena & M Muñoz (2000) Tamaño del rango de distribución de especies endémicas y no endémicas de la zona mediterránea. *Gayana Botánica* 57 Suplemento: p. 80 (resumen).
- Huelsenbeck, J & F Ronquist (2001) Mr Bayes 2.01.
- Huelsenbeck, JP, Ronquist, F, Nielsen, R & Bollback, JP (2001) Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. *Science* 294: 2310-2314.
- Kattan, GH (1992) Rarity and vulnerability: The birds of the Cordillera Central of Colombia. *Conservation Biology* 6: 64-70.
- Karr, JR (1977) Ecological correlates of rarity in a tropical forest bird community. *The Auk* 94: 240-247.
- Karron, JD (1987a) The pollination ecology of co-occurring geographically restrictes and widespread species of *Astragalus* (Fabaceae). *Biological Conservation* 39: 179-193.
- Karron, JD (1987b) A comparison of levels of genetic polymorphism and self-compatibly in geographically restrictes and widespread plant congeners. *Evolutionary Ecology* 1: 47-58.
- Karron, JD (1989) Breeding systems and levels of inbreeding depression in geographically restrictes and widespread species of *Astragalus* (Fabaceae). *American Journal of Botany* 76: 331-340.
- Kruckeberg AR & D Rabinowitz (1985) Biological aspects of endemims in higher plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 447-479.
- Kunin, WE & KJ Gaston (1997) *The biology of rarity. Causas and consequences of*

- rare-common differences. Chapman & Hall Publishers, London UK.
- Kunin, WE & A Shmida (1997) Plant reproductive traits as a function of local, regional, and global abundance. *Conservation Biology* 11: 183-192.
- Kunin, WE & KJ Gaston (1993) The biology of rarity: patterns, causes and consequences. *Tree* 8: 298-301.
- Lahti, T, E Kemppainen, A Kurto & P Uotila (1991) Distribution and biological characteristics of threatened vascular plant in Finland. *Biological Conservation* 55: 299-314.
- Les, DH, JA Reinartz & EJ Esselman (1991) Genetic consequences in *Aster furcatus* (Asteraceae), a threatened, self-incompatibility plant. *Evolution* 45: 1641-1650.
- McCoy, ED & HR Mushinsky (1992) Rarity of organisms in the sand pine scrub hábitat of Florida. *Conservation Biology* 6: 537-548.
- Nei, M & S Kumar (2000) Molecular evolution and phylogenetics. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Notredame, C, GH Desmond & J Heringa (2000) T-Coffee: a novel method for fast and accurate multiple secuencia alignment. *Journal of Molecular Biology* 302: 205-217.
- Poeppig, E & S Endlicher (1835) Nova genera ac species plantarum quas in regno chilensis, peruviano et in terra amazonica. Lipsiae samptibus Friederic Hofmaister.
- Rabinowitz, D, JK Rapp & PM Dixon (1984) Competitive abilities of sparse grass species: means of persistence or causes of abundance. *Ecology* 65: 1144-1154.
- Raven, P & DI Axelrod (1978) Origin and relationships of the California Flora. University of California Publications in Botany 72: 1-134.
- Schoener, TW (1987) The geographical distribution of rarity. *Oecologia* 74: 161-173.
- Schoener, TW (1990) The geographical distribution of rarity: misinterpretation of atlas methods affects some empirical conclusions. *Oecologia* 82: 567-568.
- Soltis, PS & MA Gitzendanner (1999) Molecular systematics and the conservation of rare species *Conservation Biology* 13: 474-471.
- Sparre, B (1955) Preliminary studies toward a monograph on the *Tropaeolum* family I. Tropaeolaceae Chilenses. *Darwiniana* 11: 89-132.
- Sparre, B & L Andersson (1991) A taxonomic revision of the Tropaeolaceae. *Opera Botanica* 108: 1-140.
- Squeo, F & Arroyo, MTK (2001) Presentación científica del libro rojo de la flora nativa y de los sitios prioritarios para su conservación: región de Coquimbo. En: Libro rojo de la flora nativa y de los sitios prioritarios para su conservación: región de Coquimbo. Gobierno regional de Coquimbo, Corporación Nacional Forestal (IV región), Universidad de la Serena. Ediciones Universidad de la Serena, La Serena, Chile.
- Stebbins, GL (1942) The genetic approach to problems of rare and endemics species. *Madroño* 6: 241-272.
- Stebbins GL & J Major (1965) Endemism and speciation in the California flora. *Ecological Monograph* 35: 1-35.
- Stebbins, GL (1980) Rarity of plant species: a synthetic viewpoint. *Rhodora* 82: 77-86.
- Swofford DL, Olsen GJ, Waddell PJ & DM Hillis (1996) Phylogenetic inference. En DM

- Hillis, C Moritz & B Mable Eds. *Molecular Systematics*. Second Edition. Sinauer Associates, Inc Publishers. Sunderland, Massachussets, USA: 407-514.
- Swofford, DL (2001) PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony, version 4.0b10. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland Massachusetts. Smithsonian Institution.
- Tambutti, MI (2002) *Diversidad del género Agave en México: una síntesis para su conservación*. Tesis para obtener el Título de Bióloga. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Villagrán, C (1995) Quaternary History of the Mediterranean Vegetation of Chile. En Arroyo, MTK, PH Zedler and MD Fox Eds. *Ecology and biogeography of Mediterranean Ecosystem in Chile, California, and Australia*. Springer - Verlag. New York: 3-20.
- Villagrán, C & LF Hinojosa (1997) Historia de los bosques del sur de Sudamérica, II: Análisis fitogeográfico. *Revista Chilena de Historia Natural* 70: 2411-267.
- Wright, DH (1991) Correlations between incidence and abundance are expected by chance. *Journal of Biogeography* 18: 463-466.
- Zöllner, O & M Nilo (1996) *Tropaeolum jillessi* Sparre. Noticiario mensual, Museo Nacional de Historia Natural - Chile 327: 7-9.

Anexos

Anexo 1: Distribución geográfica descrita en Sparre & Andersson (1991) y análisis de los registros dudosos de las especies del género *Tropaeolum* revisados en mapas cuadrículados de distribución por taxón.

1. *Tropaeolum speciosum*

Es endémico de Chile, se establece entre las provincias de Concepción y Ñuble hasta la parte norte de la provincia de Aysén (Sparre & Andersson, 1991).

Existe una colecta correspondiente al sector Apoquindo en la provincia de Santiago, correspondiente al registro 1544 del herbario de Química y Farmacia de la Universidad de Chile (colecta de Ernestina Reyes). Este registro parece dudoso, ya que se aleja del rango de distribución descrito. Debido a que este material fue revisado por Benk Sparre en el herbario de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de Chile en 1968, no fue eliminado del análisis.

2. *Tropaeolum ciliatum*

Tropaeolum ciliatum ssp. *ciliatum* se distribuye principalmente entre Concepción y el norte de Cautín (Sparre & Andersson, 1991). *Tropaeolum ciliatum* subsp. *septentrionale* se distribuye entre las provincias de Aconcagua y Curicó, alcanza 2000 m en la cordillera.

El registro correspondiente a la colecta de Azocart s/n (SGO), a pesar de estar en el rango de la especie, al no estar en el herbario del Museo de Historia Natural de Santiago (SGO), no fue utilizado en el análisis.

3. *Tropaeolum looseri*

Es endémico del norte y centro de la provincia de Coquimbo, entre los 1200 y 2400 msnm (Sparre & Andersson, 1991). Por esta razón es probable que los registros situados al sur de la cuarta región se refieran a individuos mal determinados. Esta especie se podría confundir fácilmente con *T. incisum*, que se distribuye en la cordillera de Los Andes, pero más al Sur.

Registros dudosos:

- Registro proveniente de un estudio de impacto ambiental, sin colector, en la localidad de Coquimbo, no fue utilizado en el análisis.
- Sin nombre del colector, localidad Colchagua, Cajón de Tinguiririca (SGO) y Philipii, colecta del año 1958, localidad de Colchagua, Tinguiririca - Las Damas. Ambas colectas se alejan del rango de distribución descrito de la especie. En la visita al Herbario del Museo Nacional de Historia Natural se constató la ausencia de estos registros. No fueron utilizados en el análisis.

4. *Tropaeolum incisum*

Es una especie poco común en Chile (es más abundante en Argentina), se encuentra en pasos estrechos (portezuelos) a través de la cordillera de Los Andes, entre Colchagua y Valdivia (Sparre & Andersson, 1991).

Registros dudosos:

- Philipii, sin número de colecta, localidad de Santiago y Selle del año 1897, localidad de colecta en las cercanías de Riñihue, no aparecieron en la revisión de las carpetas del herbario del Museo de Historia Natural de Santiago (SGO). No fueron utilizados en el análisis.

5. *Tropaeolum myriophyllum*

Se encuentra en las cordilleras montanas y bajas, entre la provincia de Santiago y Ñuble (Sparre 1955). Especie muy rara conocida solo en la Cordillera de Linares a Ñuble y en la localidad tipo, en Volcán Antuco (Sparre & Andersson, 1991).

En las salidas a terreno para la búsqueda de las especies del género, fue imposible encontrar esta especie; además, por una parte, a través de las descripciones de la monografía es fácilmente confundible con *T. incisum*. En las visitas al herbario de la Universidad de Concepción (CONC) se corroboró que no existe ninguna muestra de esta especie. En el herbario del Museo de Historia Natural de Santiago (SGO) se constató que todas las muestras situadas en la carpeta de la especie estaban corregidas, no encontrando ningún espécimen.

Los especímenes usados en la descripción de esta especie en la monografía del año 1955 de Sparre actualmente están reidentificados como *T. polyphyllum* o *T. leptophyllum*.

Solicité imágenes del espécimen tipo de este taxón (Poeppig 794, Volcán Antuco), recibiendo imágenes de los siguientes herbarios:

- National Botanic Garden of Belgium: Poeppig 794
- Nationaal Herbarium Nederland: Poeppig 794
- The Natural History Musseum London: Poeppig 794
- Botanische Staatssammlung München: Grau 1541 (Embalse El Planchón, Curicó)
- Naturhistorisches Museum Wien, Botanische Abteilung Phanerogamen Herbarium W: Poeppig 794

Además se revisó un dibujo que representa la colecta 794 en Poeppig & Endlicher (1835), en el cual se puede apreciar un gran parecido con *Tropaeolum leptophyllum* ssp. *leptophyllum*, en este dibujo está nombrada como *Tropaeolum polyphyllum*. En las imágenes de las colectas de Poeppig se aprecia un parecido con esta especie, en la muestra de Grau 1541 el parecido es aún más notable. (ver anexo 2). La colecta de Poeppig 794, el dibujo antes mencionado y otros registros, fueron utilizados por Sparre (1955) y Sparre & Andersson (1991), para describir este espécimen como una nueva especie.

Los argumentos antes mencionados y el hecho que esta especie prácticamente no ha sido colectada, han sido discutidos con el curador del herbario de la Universidad de Concepción, Max Quezada, y nos han llevado a pensar seriamente la posibilidad que esta especie no exista realmente.

Los registros de las localidades de cordillera de Maule (Linares/Ñuble) y Volcán Antuco (localidad tipo) fueron registrados a partir de la monografía.

Registros dudosos:

- Las colectas de Kirkpatrick 369 y 404 del año 1991, localidad de San Alfonso, almacenadas en el Royal Botanic Garden of Edinburgh con los números 19912318 y 19912353, respectivamente. Se solicitó una imagen del espécimen y no existía ya que solo se recibieron semillas del colector. No se utilizó en el análisis.

6. *Tropaeolum leptophyllum*

Tropaeolum leptophyllum ssp. *leptophyllum*, se distribuye en el valle central desde Aconcagua a Linares, donde alcanza los 2200 msnm (Sparre & Andersson, 1991). *Tropaeolum leptophyllum* subsp *gracile* se distribuye entre Talca y Malleco, alcanzando 1500 msnm. También se ubica entre la zona entre Concepción y Chillán (Sparre & Andersson, 1991).

Registros dudosos:

- La colecta de Landrum 7551 del año 1991, localidad Fray Jorge, está fuera del área de distribución descrita y además el espécimen no está en el herbario (CONC). No fue utilizado en el análisis.

7. *Tropaeolum polyphyllum*

Es bastante común en la cordillera entre los 2000-3000 msnm, desde el sur de la provincia de Coquimbo hasta la provincia de Colchagua (Sparre & Andersson, 1991).

Registros dudosos:

- Registro proveniente de un estudio de impacto ambiental, sin colector, año 1991, en la localidad de Coquimbo. Esta es una especie esencialmente cordillerana, por lo tanto no corresponde la localidad. Se excluye del análisis.
- Colecta de Otto Zöllner, año 1991, en la localidad de Sierra Polcura, Laja. Considerando el rango de distribución descrito, representa solo una colecta en el cuadrante, probablemente esté mal determinada. No Se excluye del análisis.

8. *Tropaeolum jilesii*

Hasta 1996 solo se conocía en su localidad tipo (Jiles 1539, año 1949, localidad Coquimbo, Hualtata, 2400 msnm). Posteriormente se encontró en una nueva localidad, camino a la Laguna Alicahue (V región, Provincia de Petorca) a los 2500 msnm aproximadamente, donde es abundante (Zollner & Nilo, 1996). La última colecta de esta especie a la fecha, fue realizada por Hershkovitz 263 en el sector de Pabellón, IV región.

9. *Tropaeolum sessilifolium*

Es endémico de Chile, se distribuye casi en el mismo rango de *T. polyphyllum*, pero es menos común (Sparre & Andersson, 1991).

Registros dudosos:

- Registro proveniente de un estudio de impacto ambiental, sin colector, año 1991, en

la localidad de Coquimbo, debido a que es una especie esencialmente de altura, y este cuadrante corresponde a la costa de Coquimbo, no es utilizada en el análisis. Este registro no fue considerado en el análisis.

- La colecta de Kirkpatrick 4119 del año 1991, localidad de Volcán Antuco, paso Pino Hachado, almacenadas en el Royal Botanic Garden of Edinburgh con el número 19912368, es una colecta en semillas. Este registro no fue considerado en el análisis.

10. *Tropaeolum beuthii*

Se ha visto en la zona costera entre Tocopilla y Antofagasta, donde crece en hábitats semiáridos cercanos al mar. La localidad original de acuerdo a Klotzsch es Iquique y Arica en la provincia de Tarapacá (Sparre & Andersson, 1991).

En el mapa se observa una distribución disjunta para esta especie, situándose en el área costera a la altura de Taltal (300 msnm) y Tocopilla (700 msnm).

Registros dudosos:

- Colecta de Peña s/n (CONC 119171) del año 1952, en la localidad de Caritaya, Iquique es difícil que sea una localidad probable para esta especie según Sparre & Andersson (1991). Esta colecta está en CONC y se corroboró que la etiqueta no corresponde al espécimen de la carpeta. Este registro no fue considerado en el análisis.

11. *Tropaeolum hookerianum*

Esta especie es endémica en un área costera limitada de la región de Coquimbo (Sparre & Andersson, 1991).

Registros dudosos:

- Colecta de Puga s/n del año 1878 (SGO), localidad Ñuble. Según Sparre & Andersson (1991), es probable que la muestra esté mal etiquetada, ya que si pertenece a la especie *T. hookerianum*. En mi visita al Herbario del Museo de Historia Natural de Santiago (SGO), donde está preservada esta muestra (por Sparre el año 1968 y Base de Datos en uso), no fue posible ubicarla en las carpetas de *T. hookerianum*. Por la incerteza del registro no fue usado en el análisis.

12. *Tropaeolum brachyceras*

Esta especie es endémica al centro de Chile. Se distribuye principalmente en los valles costeros alrededor de Valparaíso y el valle central alrededor de Santiago, el límite norte alcanza al sur de la provincia de Coquimbo (Sparre & Andersson, 1991).

Registros dudosos:

- Colectas de Leon s/n del año 1947, localidad de Cauquenes, San Bernabé (CONC 7794); Cerda s/n, del año 1951, Bio-Bio, Mulchén (CONC 11655) y Schwabe 202, del año 1952, localidad Malleco, Mininco (CONC 12635).
- Registros dudosos con relación al rango de distribución descrito, que son considerados en el análisis por estar bien determinados:
- Aravena 22, año 1955, localidad Linares, Cerro Alto de Caliboro (CONC 48637) y Aravena 9, año 1943, localidad San Fernando, Ciruelos (SGO 59573). No están en el herbario. No fueron usados en el análisis.

13. *Tropaeolum x tenuirostre*

Esta especie híbrida se distribuye en el área común donde se traslapa la distribución de *T. tricolor* y *T. brachyceras* y comprende una serie de morfotipos intermedios entre ambas especies (Sparre & Andersson, 1991).

En las visitas a los herbarios de la Universidad de Concepción (CONC) y del Museo de Historia Natural de Santiago (SGO) se aprecia una falta de congruencia con esta especie, puesto que en las carpetas se encuentran morfotipos muy parecidos a *T. brachyceras*, además que la clave de identificación es algo ambigua para este taxón.

En el mapa de distribución se aprecia una concentración de la especie en la Región Metropolitana.

Los registros correspondientes a las colectas de Barros 849, del año 1920, localidad Curico, Rauco (CONC 119117) y de Barra s/n del año 1963, localidad de Curico, Aquelarre, (CONC 28669) fueron revisados por Sparre, por lo tanto si fueron utilizados en el análisis.

Anexo 2: Imágenes de *Tropaeolum myriophyllum*

A. Dibujo que representa la colecta tipo (Poeppig, 794) en Poeppig & Endlicher (1835)



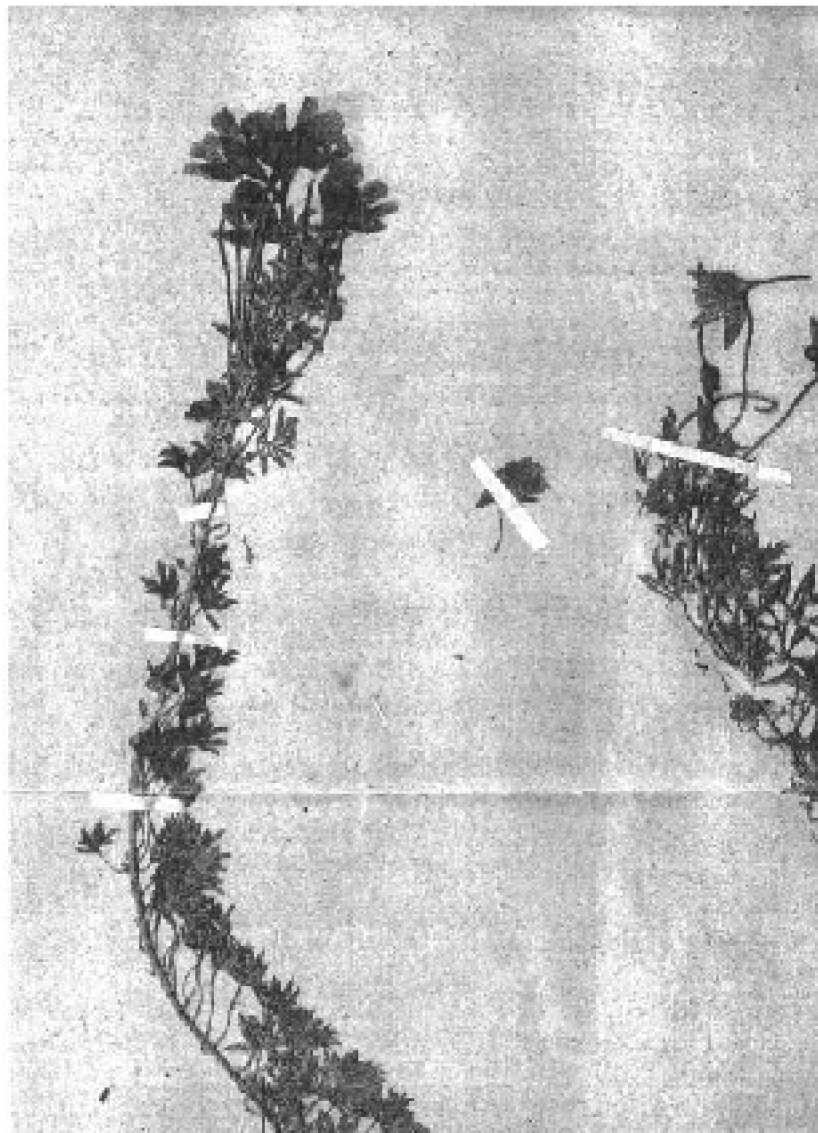
B: Colecta de J. Grau del Botanische Staatssammlung München: Grau 1541 (Embalse El Planchón, Curicó).



C. The Natural History Musseum London: Poeppig 794



D. Naturhistorisches Museum Wien, Botanische Abteilung Phanerogamen Herbarium
W: Poeppig 794



E. Nationaal Herbarium Nederland: Poeppig 794



F. National Botanic Garden of Belgium: Poeppig 794



G. *Tropaeolum incisum* (Hernández 41)



Anexo 3: Protocolos utilizados en el proceso de obtención de ADN para los análisis moleculares

1. Preparación Gel de Agarosa

1% agarosa

1 ml Bromuro de Etidio [10 mg/ml]

Volumen de la cámara de electroforesis: 50 ml

- 0,5 g de agarosa (no importa si es un poquito mas)
- Matraz Erlenmeyer de boca ancha para preparar la agarosa
- 50 ml de buffer TBE [1X]

Se pone la agarosa y el buffer en el matraz y se calienta en el microondas por 1:30 min. aproximadamente, debe quedar disuelto. Como se pierde un poco de líquido, se le agrega un poquito mas de buffer TBE, hasta alcanzar 50 ml.

A la cámara "limpia" no se puede agregar demasiado caliente. Para enfriar un poco se pone en hielo unos segundos y se revuelve (girando el matraz en el hielo), mezclar y no dejar que se congele.

Agregar el Bromuro de Etidio ~ 1ml (una puntita), antes de enfriar completamente.

El gel (líquido) se agrega desde una esquina en la cámara, es importante que quede sin burbujas.

Poner las peinetas (a 3 mm del fondo aproximadamente).

Una vez sólido, quitar las peinetas del gel y agregar buffer TBE (es importante llenar los agujeros con buffer para evitar que se rompan).

Se guarda mojado en buffer TBE en el refrigerador (no es necesario, pero es mejor).

2. Buffer TBE

1X TBE, pH=8,4 (89mM tris base / 89mM Ácido Bórico / 2mM EDTA)

Para preparar 4 litros de buffer:

Tris base	43,2 g
Acido bórico	11 g
EDTA	2,98 g

3. Protocolo de Electroforesis

1. Tener todo dispuesto preparado antes de empezar.
2. Poner el gel en la cámara y cubrir con TBE. Se pone una cinta negra por debajo para poder ver los hoyitos del gel. Mantener o recordar el orden que se va a utilizar.
3. 1 ml de 6x Loading Dye / 5 ml de muestra
4. 1 ml de 6x Loading Dye / DNA de Fago I (10 ng, 25 ng, 50 ng, 100 ng)
5. Poner todo en un pedazo de parafilm, conservando el orden.
6. Agregar cada una de las mezclas a los hoyos del gel. Se toma la mezcla del parafilm, se mezcla y sin aire en la punta se agrega de una vez en el agujero. Se utiliza siempre la misma punta, enjuagando en buffer de la cámara cada vez.

Aplicar 65 V por ~20 min. , dependiendo de la migración. Se le puede poner corriente 7. por mas tiempo si es necesario.

4. Extracción de DNA

Protocolo de Extracción de DNA desde tejido de plantas

Protocolo DNeasy Plant Mini Kit

La única modificación al protocolo usado es que el último paso se hizo la elusión con agua en lugar de buffer AW.

5. Amplificación de DNA (Reacción de PCR)

Primers:

C26A/NnC18s10	(40 ng muestra)
ITS5/ITS4	(4-5 ng muestra)

Por lo general se utilizan 2 o 5 ml de muestra, 10 ml muestra cuando da bandas débiles. Todo depende de la cantidad de DNA que tengan las muestras.

Reacción de PCR para obtener 50 ml de solución final:

Reactivos	Cantidad [ml]
Agua	20
Buffer [10 X]	5
MgCl [25mM]	2,5
Primers 1 C26A [10mM]	4
Primer 2 NnC18s10 [10mM]	4
d NTP [1mM]	5
DMSO	4
TAQ polimerasa [1 u/ml]	0,5
DNA (muestra)	5

Se prepara n reacciones + 1 negativo + 1 extra.

Procedimiento

- 1) Descogelar
- 2) Cuando esté descongelado Vortex al buffer y MgCl.
- 3) Mezclar: Primers, dNTP, DNA
- 4) Poner TAQ en hielo
- 5) Enumerar tubos y cada reacción.

Relación entre distribución y posición filogenética en las especies del género *Tropaeolum*, sección Chilensia

4) Preparar el cóctel para n + 2 en el siguiente orden:

1° Agua

2° Buffer

3° MgCl₂, primers, dNTP, DMSO

4° Mezclar

5° TAQ

6° Mezclar el cóctel en vortex y poner en hielo

5) Poner en tubos y al hielo, cuando está frío se pone el DNA.

6) Se ponen los tubos en el termociclador en el programa ITSC26A:

Programa ITSC26A		
Ciclo	Temperatura	Tiempo
LID = 100°		
1	97°	5''
2	PAUSA	
3	97°	45''
4	94°	45''
5	50°	45''
6	72°	2'
7	CICLO 4	1 VEZ
8	94°	45''
9	47°	45''
10	72°	2'
11	CICLO 8	1 VEZ
12	94°	45''
13	45°	45''
14	72°	2'
15	CICLO 12	26 VECES
16	72°	7'
17	HOLD 4°	

7) Preparación del gel

5. Purificación de DNA (Precipitación del Producto de PCR)

DNA

1 ml Tween 1%

50 ml PEG 30%

300 ml Etanol 80%

1) Poner todo en un tubo rotulado

-
- 2) Mezclar bien cada tubo en vortex
 - 3) Baño a 37° por 15 minutos o más
 - 4) Microcentrifugar 15 minutos a alta velocidad
 - 5) Pipetear el sobrenadante, sin tocar las paredes, dejar un poco para asegurarse de no remover el DNA
 - 6) Lavar el pelet con 300 ml (o más) de etanol al 80% frío (no es tan importante que esté frío). Esperar un poco para que salga todo el etanol de la pipeta
 - 7) Mezclar bien (no en vortex), asegurarse que PEG no quedó en el fondo
 - 8) Centrifugar por 5 minutos a máxima velocidad
 - 9) Votar el etanol (voltenadio el tubo, sin pipeta, golpeando suavemente)
 - 10) Repetir los pasos 6, 7, 8 y 9 dos veces más (tres veces en total)
 - 11) Secar los tubos en Speed Vac con calor, el tiempo que sea necesario.
 - 12) Resuspender en 25 ml de agua
 - 13) Poner en el termociclador por 15 min., agitando de vez en cuando en el programa HOLD 65 (mantiene a 65°)

Preparación del gel

2 ml DNA + 2 ml Loading Dye + 8 ml agua

5 ml marcador + 2 ml Loading Dye + 5 ml agua

10 ml marcador + 2 ml Loading Dye

7. Preparación para secuenciar DNA

3 ml Safe Money (\$) (agitar en vortex)

3,2 ml Primer [1mM]

6,8 ml H₂O

5 ml Big Dye (se debe mantener en la oscuridad, agitar en vortex)

2 ml DNA [5 ng/ml] (las muestras deben diluirse a [5 ng/ml])

Mezclar todo con pipeta y dejar en la cubeta con hielo en oscuridad

Volumen total de la reacción: 20 ml

Termociclador: SEQ CYCLE (se demora ~2,5 h)

Programa SEQ CYCLE		
Ciclo	Temperatura	Tiempo
LID = 105°		
1	96°	1''
2	PAUSA	
3	96°	10''
4	50°	5''
5	60°	4'
6	CICLO 3	24 VECES
7	HOLD 4°	

Anexo 4: Especies chilenas del género *Tropaeolum*

Tropaeolum azureum



Tropaeolum beuthii



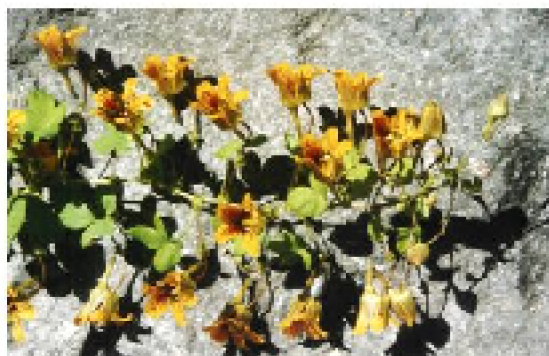
Tropaeolum hookerianum esp. *andropurpureum*



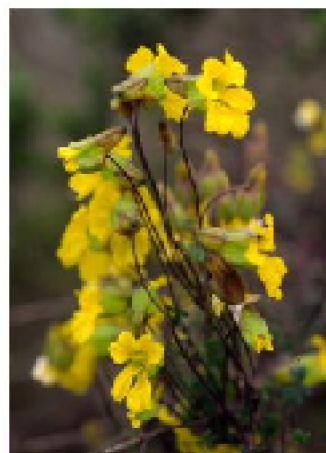
Tropaeolum prechyceras



Tropaeolum cilialium



Tropaeolum bonariense ssp. *nankeleticum*



Tropaeolum nankeleticum ssp. *pauciflorum*



Tropaeolum nankeleticum



Tropaeolum Chilei



Tropaeolum Koeppii



Tropaeolum leucophyllum ssp. *arcticum*



Tropaeolum leucophyllum ssp. *leucophyllum*



Trigonium leucum



Trigonium puberuloideum



Trigonium cruphyllum



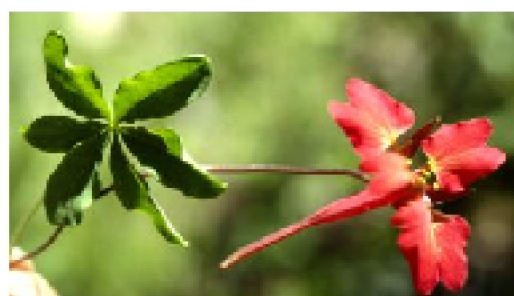
Trigonium tinctoriale



Protopium sessifolium



Protopium sessifolium



Relación entre distribución y posición filogenética en las especies del género *Tropaeolum*, sección *Chilensia*

Tropaeolum tricolor



Tropaeolum chilense

