

UCH-FC
Doc-EBE
Z 945
C. 2



LA DIVERSIFICACIÓN DEL GÉNERO *CALLYNTRA* (COLEOPTERA:
TENEBRIONIDAE) DURANTE LAS OSCILACIONES CLIMÁTICAS
DEL PLEISTOCENO EN CHILE CENTRAL.

Tesis entregada a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para
optar al grado académico de

Doctor en Ciencias con Mención en Ecología y Biología Evolutiva

Facultad de Ciencias

Universidad de Chile

Por

Álvaro Sebastián Zúñiga Reinoso

Enero, 2016

Director de tesis: Dr. Marco Méndez Torres

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACION

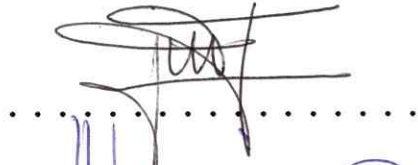
TESIS DE DOCTORADO

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Doctorado presentada por el candidato.

ALVARO SEBASTIÁN ZÚÑIGA REINOSO

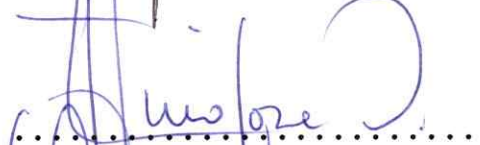
Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Doctorado en Ciencias con mención en Ecología y Biología Evolutiva, en el examen de Defensa Privada de Tesis rendido el día 29 de Octubre de 2015.

Director de Tesis:
Dr. Marc o Méndez



Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Luis Felipe Hinojosa (P)



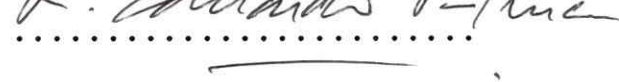
Dr. Claudio Veloso



Dr. Elie Poulin



Dr. Eduardo Palma



RESEÑA



Álvaro Zúñiga-Reinoso nace el 2 de junio de 1981 en la ciudad de San Felipe, Región de Valparaíso, Chile. Sus estudios de enseñanza media fueron realizados en el Liceo Augusto D'Halmar de Ñuñoa. Estudió la carrera de Licenciatura en ciencias Biológicas en la Universidad de Magallanes. Posteriormente obtuvo su Magíster en Ciencias con Mención en Zoología de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción. El 2011 ingresa al programa de doctorado en Ciencias con Mención en Ecología y Biología Evolutiva de la Universidad Chile. Desde temprana edad mostró su pasión por la entomología, dedicación que abordó desde la edad de 8 años de forma autodidacta. Este conocimiento, le permitió como estudiante de pregrado, participar en diferentes expediciones y proyectos que lo llevaron a recorrer toda la región de Magallanes, cuyas experiencias decantaron en las primeras publicaciones científicas y de difusión. Durante su periodo de formación ha realizado clases y ayudantías en la Universidad de Magallanes, Universidad de Concepción, Universidad de Valparaíso y durante su estadía en el doctorado ha sido ayudante del curso de postgrado Procesos Evolutivos en la Universidad de Chile durante dos años consecutivos. Álvaro es miembro de la Sociedad Chilena de Entomología donde participó activamente como Secretario y actualmente es su Presidente. Fue miembro creador y fundador de la Red Chilena Entomológica de la Conservación y actualmente es su Vicepresidente. Como investigador ha sido autor y coautor de distintas presentaciones congresos y publicaciones científicas de corriente principal. Sus investigaciones están orientadas principalmente a la taxonomía, sistemática, evolución y conservación de insectos, particularmente en coleópteros.

Agradecimientos

Quisiera agradecer en primera instancia a mi esposa, Daniela Mardones, por apoyarme, acompañarme, inspirarme y empujarme de forma incondicional durante el desarrollo de mi doctorado y para ella va dedicada esta tesis. Un especial cariño a mi madre y a mis hermanos, quienes colaboran de forma “diferente” a este estudio. A mis amigos que de alguna u otra forma han ayudado en mi formación y a la formulación de este trabajo: Carlos Muñoz, Dr. Dusan Boric, Christian Muñoz, Dr. Claudio Correa, Dr. Gonzalo Collado, Jorge Avaria, Oscar Inostroza, Pamela Morales, Dr. Luis Pastenes, Dra. Viviane Jerez, Pablo Fibla, Franco Cruz, Paola Jara, Moises Valladares, Rafaela Mardones, Dr. Gustavo Flores, Dra. Anna Papadopoulou y Fermín Alfaro. A los “bichólogos” que colaboraron con material valioso de *Callyntra*: Mauricio Cid, Andrés Fierro, Mario Elgueta, Pablo Pinto, José Mondaca, Sebastián Larrea, Alejandro Vera, Jaime Zavala, Ximena Fuentealba, Guillermo Aceituno, Christian Iglesias y Andrés Ramírez. Particularmente a Pablo Pinto por las fotografías de la lámina.

Un especial agradecimiento a mi tutor, Dr. Marco Méndez, quien me dio la oportunidad, apoyo, espacio, consejos y motivación para desarrollarme durante el transcurso del doctorado. Por otra parte, agradecer a la comisión evaluadora de la tesis, quienes me brindaron consejos y comentarios valiosos para enriquecer mi trabajo.

Finalmente a CONICYT, por brindarme el apoyo financiero para mi manutención durante mi periodo de doctorado, con la beca Nro 21110367 y financiamiento para la realización de la tesis con la beca CONICYT Nro 8355/2014 para gastos operacionales.

INDICE DE CONTENIDOS

RESEÑA.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
RESUMEN.....	4
ABSTRACT.....	5
INTRODUCCIÓN	7
HIPÓTESIS.....	18
OBJETIVOS.....	20
MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
RESULTADOS.....	28
DISCUSIÓN.....	41
CONCLUSIÓN.....	52
CUADRO DE RESUMEN.....	53
LITERATURA CITADA.....	54
MATERIAL SUPLEMENTARIO.....	65

Resumen

Las oscilaciones climáticas del Pleistoceno han modelado los patrones evolutivos de Chile central, donde las biotas de las montañas andinas y costeras existen estrechas relaciones, aunque presentan distribución disyunta. Existen dos hipótesis para este fenómeno, las que explican el modo de especiación: modelo de montaña y de bolsón. El género *Callyntra* presenta características distribucionales que lo hacen un buen modelo para evaluar estas hipótesis. *Callyntra* es un componente endémico de Chile central, que presenta una distribución mayoritariamente altomontana, asociado a ambas cordilleras, mostrando en la actualidad una disyunción en la distribución, pero filogenéticamente emparentados. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el rol de las oscilaciones climáticas del Pleistoceno en la diversificación de *Callyntra*. Se reconstruyó la filogenias utilizando los genes mitocondriales (COI, 16S) y el gen nuclear (Mp20). Adicionalmente, se calcularon los tiempos de divergencia, así como también se estimaron los pulsos de diversificación. Junto con lo anterior, se reconstruyó el origen biogeográfico del Ancestro Común más Reciente (ACMR) del género y en base a esto, se estimaron los modelos de especiación. Los resultados muestran un árbol con topología desbalanceada con cinco clados. En cuanto a las relaciones filogenéticas, cabe destacar que las especies que habitan en cordillera de la Costa, poseen a sus especies hermanas en las terrazas costeras o en la cordillera de los Andes y esto ocurre independiente en dos clados. Además, hay un clado estrictamente costero, que es hermano de un clado compuesto mayoritariamente de especies andinas. Las divergencias de *Callyntra* comenzaría durante el Pleistoceno y las cladogénesis estarían asociadas mayoritariamente a periodos interglaciales. La acumulación de linajes se ha mantenido constante en el tiempo y el punto de máxima diversificación coincide con el inicio de la cladogenesis del género a los 2,41 Myrs. Adicionalmente, el ACMR de

Callyntra pertenecería al área de Desierto Costero de Coquimbo (DC) y alcanza la distribución actual mediante saltos a nuevas áreas. Por lo tanto, la diversificación de *Callyntra* ocurre en el Pleistoceno y se ha mantenido constante en el tiempo. La especiación ocurre mayoritariamente durante los interglaciales, debido a los eventos fundadores a nuevas cumbres y posterior aislamiento, eventos fundadores que además coinciden con alzas en la diversificación en la filogenia de *Callyntra*.

Abstract

The Pleistocene climatic oscillations have shaped the evolutionary patterns of the biota in central Chile, where the biotic components of the Andes and coastal mountains there are close relationships, even when they have disjunct distribution. There are two hypotheses for this phenomenon, which explains the model of speciation: mountain and pocket model. The genus *Callyntra* presents distributional characteristics that make it a good model to evaluate these hypotheses. *Callyntra* is endemic of central Chile, which have a high mountain distribution mainly associated with both mountain ranges, showing now a disjunction in the distribution, but phylogenetically related. Therefore, the aim of this study was to understand the role of Pleistocene climatic oscillations in the diversification of *Callyntra*. Phylogenies were reconstructed using mitochondrial markers (COI, 16S) and one nuclear gene (MP20). In addition, the divergence times were calculated, as well as the pulses diversification were also estimated. Along with this, the biogeographical origin of the Most Recent Common Ancestor (MRCA) of genus and on this basis, we estimate the models of speciation. The results show an unbalanced tree topology with five clades. The phylogenetic relationships, show that species that inhabit in coastal mountains, have their sister species on the coast or in the Andes and this occurs independently in two clades. In

addition, there is a strictly coastal clade, which is the brother of a clade composed mainly of Andean species. The results suggest that the divergence in *Callyntra* begin with the Pleistocene and the cladogenesis would be associated mainly to interglacial periods. The accumulation of lineages has remained constant over time and the point of maximum diversification coincides with the start of the cladogenesis to 2.41 Myrs. Additionally, the ACMR of *Callyntra* would belong in the Coastal Desert of Coquimbo area (DC) and would reach the current distribution through colonization to new areas. Therefore, the results suggest that the diversification of *Callyntra* occurs in the Pleistocene and has remained constant over time. Speciation occurs mostly during the interglacial, due to the founding events to new heights and subsequent isolation, founder events also coincide with increases in the diversification of *Callyntra*.

Introducción

Eventos Históricos

Los eventos geológicos y climáticos históricos han moldeado el paisaje, el clima y la biota de cada región del planeta. Las consecuencias de estos eventos sobre la biota dependen de numerosos factores, tales como la geología local y las características biológicas particulares (Hewitt 2000). Entre los eventos históricos más importantes en el cono sur de Sudamérica, están los ciclos glaciales-interglaciales del Pleistoceno ya que estos ciclos, afectaron profundamente a la biota del sur de Sudamérica (Sérsic et al. 2011). Si bien, en el hemisferio sur las coberturas de hielo fueron mucho menor que en el hemisferio norte, ésta llegó a cubrir extensas áreas del sur de Sudamérica, por lo que la biota debió ser afectada fuertemente en cuanto a su demografía y su distribución. Esta cobertura de hielo debió tener fuertes efectos, especialmente sobre las especies asociadas con las alturas, donde la capa de hielo ocupó gran parte del cono sur (Clapperton 1993, 1994). Las especies que habitan en las alturas pudieron haber sufrido extinciones locales, reducciones poblacionales o cambios de distribución, para luego presentar expansiones poblacionales, recolonizaciones o colonizaciones a nuevos lugares despejados de hielo, siguiendo las oscilaciones glaciales del Cuaternario (Vuilleumier 1971, Brown & Lomolino 1998, Hewitt 2000). Por lo tanto, las especies o linajes de altura experimentaron periodos alternados de aislamiento y conectividad durante estas oscilaciones climáticas del Pleistoceno (Knowles 2001).

Las evidencias y modelos actuales muestran que los glaciares cubrieron extensas áreas entre los 33° a los 56° de latitud Sur, dejando áreas libres de hielo al Este de los Andes (estepa Argentina) y en áreas costeras del sur Chile, al Oeste de los Andes (Clapperton 1994, McCulloch *et al.* 2000). Este escenario debió afectar la flora y fauna terrestre de la

región, delimitando la distribución espacial de los organismos y favoreciendo procesos de diferenciación genética (Hewitt 2000). Debido a la inestabilidad ambiental durante el Pleistoceno, la distribución espacial de los organismos terrestres de climas fríos debió restringir su distribución a zonas altas libres de hielo durante los interglaciales (Villagran et al 1998) o restringirse para persistir en refugios aislados de altura durante los periodos glaciales (Sérsic et al. 2013), los cuales no fueron cubiertos por la capa de hielo durante las glaciaciones del Pleistoceno. En ambos casos, el aislamiento geográfico pudo conllevar a extinciones locales, colonizaciones, estructuración genética de las poblaciones y probablemente promover procesos de especiación (Knowles 2001). Bajo este contexto, se ha propuesto que las glaciaciones cuaternarias son un factor abiótico histórico que podría aumentar las tasas de especiación, mediante la fragmentación de los rangos de distribución por la separación de poblaciones en refugios glaciares (vicarianza) y por la colonización de una proporción de la población a nuevos lugares (efecto fundador) durante los interglaciales (Hewitt 2000, Knowles 2000, 2001).

La evidencia referente a los pulsos glaciares-interglaciales durante el Pleistoceno en Chile Central es escasa (Villagran 1994). Sin embargo, existe evidencia glaciológica en los extremos de la región, donde hay registros de 360 mil y 170 mil años de antigüedad, que muestran que las lenguas glaciares que bajaban desde la cordillera del Aconcagua, llegaron hasta aproximadamente los 1800 metros de altitud. (Clapperton 1994, Espizúa 2002). En general, todos los registros muestran que por cada pulso glacial, la línea glacial descendió aproximadamente 1000 metros en comparación con la actualidad (entre los 25° y 46° sur) y bajó hasta los 200 metros de altitud en las regiones más australes (Clapperton 1994). Por otra parte, la evidencia oceanográfica y palinológica muestran un movimiento del frente polar, de unos cinco o seis grados de latitud hacia el norte, lo que permitió una expansión

glacial y un aumento de las precipitaciones en el centro-sur de Chile (Clapperton 1994, Villagran 2001) y a la vez el desarrollo vegetacional de bosques valdivianos en la zona central, particularmente en la ladera oeste de la Cordillera de la Costa (Villagran *et al.* 1998, Villagran 2001). Los últimos registros con isotopos de oxigenos en el pacífico del norte de Chile, muestran al menos trece periodos interglaciales y 12 periodos glaciales en el último millón de años en el pacífico sur, así como también la extensión e intensidad de cada uno de estos periodos (Martínez-Méndez *et al.* 2013).

Los estudios realizados en el centro y sur de Chile revelan la importancia de los eventos históricos en la conformación de patrones genético-evolutivos de la biota, pero son restringidos para algunas especies de vertebrados y de plantas (Beheregaray 2008). La respuesta de la biota a estos eventos históricos ha sido documentada para algunos organismos del sur de Chile, principalmente en la extensión más septentrional de la lengua de hielo durante el UMG (Premoli *et al.* 2000, Muellner *et al.* 2005, Palma *et al.* 2005, Torres-Pérez *et al.* 2007, Vásquez *et al.* 2007, Victoriano *et al.* 2008, Salaberry-Pincheira *et al.* 2011, Vásquez *et al.* 2013). En estos trabajos se ha propuesto que el avance y el retroceso de los hielos, habrá determinado la distribución de los linajes. Así por ejemplo, el crecimiento de los ríos, debido al retroceso de los glaciales del Pleistoceno, habría actuado como barreras geográficas y estaría explicando la estructuración poblacional y/o la diferenciación de *Liolaemus monticola* (Torres-Pérez *et al.* 2007, Vásquez *et al.* 2007), *Philodryas chamissonis* (Salaberry-Pincheira *et al.* 2011) y en menor grado en *Rhinella arunco* (Vásquez *et al.* 2013). Por otra parte, también se han encontrado evidencias de múltiples localidades de la costa, que sirvieron como refugios para algunos linajes durante el UMG y posteriores eventos de recolonización postglaciales (Premoli *et al.* 2000, Muellner *et al.* 2005, Palma *et al.* 2005, Himes *et al.* 2008, Victoriano *et al.* 2008). Por lo

tanto la evidencia sugiere que los eventos glaciales promueven la diferenciación y/o el movimiento de las especies hacia refugios en los periodos glaciales y posteriormente la recolonización durante los periodos interglaciales (Victoriano *et al.* 2008). En general, existe poca evidencia (desde la perspectiva filogenética/filogeográfica), sobre los efectos que estos eventos han tenido sobre la biota terrestre en Chile central, o si existieron refugios para éstos, particularmente aquellos que habitaban ambientes altoandinos (Beheregaray 2008). Bajo un escenario glacial, las especies de altura pudieron haber experimentado fuertes cambios genético-demográficos y distribucionales en sus poblaciones (Vuilleumier 1971, Hewitt 2004). En Chile, los ambientes de altura corresponden a uno de los principales componentes de la geografía de zona centro-sur, ya que éstos corren de forma paralela por los cordones montañosos andinos y costeros. Entre los componentes bióticos de las montañas andinas y costeras que corren en paralelo existen varias similitudes en cuanto a flora y fauna, aun cuando presentan patrones de distribución disjunta (Villagrán & Armesto 2005). Lo anterior, podría indicar que ambas biotas estuvieron conectadas durante las últimas glaciaciones en zonas de baja altitud y que elementos andinos, pudieron colonizar los ambientes de altura de la cordillera de la costa y viceversa (Elgueta 1988, Villagrán & Armesto 2005). En este contexto, en Chile se han planteado dos hipótesis contrastantes para explicar este patrón de distribución y la diversidad biótica de la región central (Hellmich 1951, Fuentes & Jaksic 1979). La primera de estas hipótesis es llamada “hipótesis de bolsones”, la que predice que la diferenciación entre las especies (o linajes) ocurriría durante los periodos glaciales, debido a que las especies quedarían atrapadas en bolsones libres de hielo (refugios), contrayendo sus distribuciones y provocarían una disyunción con los linajes atrapados en otros bolsones (*i.e* Alopatria) (Hellmich 1951, Fuentes & Jaksic 1979). Según Fuentes & Jaksic (1979), predicen que este modelo se ajusta

mejor en organismos endotermos, ya que pueden cambiar de rango altitudinal y de dieta, pudiendo usar mas de un tipo de ambientes, donde sólo por encierro no pueden entremezclarse con otros linajes. La segunda explicación, llamada especiación de islas de altura (también llamada de montaña o "sky island"), predice que la diferenciación entre las especies (o linajes) ocurriría durante los periodos interglaciales, debido a una contracción distribucional altitudinal y por lo tanto, la disyunción por los valles que separan las cumbres de las montañas (Hellmich 1951, Brown 1971, Fuentes & Jaksic 1979, Knowles 2000). Según Fuentes & Jaksic (1979), predicen que este modelo se ajustaría a organismos ectotermos, ya que estan altamente especializado a su ambiente, restringiendo su actividad a las estaciones de máxima productividad.

La evidencia previa basada en la distribución y diversidad de especies y subespecies del genero *Liolaemus* y de roedores de Chile central, sugieren que estos organismos siguen modelos diferentes para explicar su diversificación. Es así que, los *Liolaemus* se diferenciarían de acuerdo a un modelo combinado de islas-bolsón lo que explicaría la alta diversidad de especies y subespecies (Fuentes & Jaksic 1979). En contraste, los roedores se ajustarían sólo al modelo de especiación de "bolsón", lo que explicaría su baja diversidad en la región (Fuentes & Jaksic 1979). La evidencia microevolutiva, basada en marcadores moleculares mitocondriales en la especie *Liolaemus nigroviridis* sugiere la existencia de 5 linajes independientes asociados a cumbres de la cordillera de la Costa y de los Andes de Chile central (Cianferoni *et al.* 2013). Estos autores, sugieren que la diferenciación de los linajes de *Liolaemus nigroviridis* en Chile central podría tratarse de un modelo de diferenciación de islas de altura. A la fecha, no existen estudios que pongan a prueba de forma explícita ambas hipótesis, donde una combinación de ambas hipótesis propuestas podrían estar actuando en los procesos evolutivos de la biota de Chile central.

Taxonomía y Sistemática del género Callyntra

El género *Callyntra* Solier pertenece a los Nycteliini, una tribu de Pimeliinae endémica de los ambientes áridos y semiáridos del cono sur de Sudamérica. Este género fue descrito por Solier (1836) y definió claramente las diferencias entre *Callyntra* y el género *Epipedonota*. Sin embargo, algunos autores describen especies con características de *Callyntra* en *Epipedonota* (Waterhouse 1841), mientras que otros describen nuevas especies de *Callyntra* (Solier 1851, Germain 1854). Posteriormente Lacordaire (1859) sinonimiza *Callyntra* en *Epipedonota*, propuesta que se mantuvo estable hasta hace poco tiempo. En un análisis cladístico posterior de la tribu Nycteliini (Flores 2000), las especies anteriormente incluidas en *Callyntra* se agruparon en un clado y separado de *Epipedonota sensu stricto*. En este trabajo se propuso que se debe revalidar el género *Callyntra*, debido a la cantidad de caracteres que los separan de *Epipedonota sensu stricto*. Así el nombre genérico *Callyntra* ha sido restaurado recientemente y se reconocieron 17 especies endémicas del centro-sur de Chile (Flores & Vidal, 2000a b). Las diferencias entre *Callyntra* y *Epipedonota* han sido plasmadas en una nueva clave taxonómica que diferencia a ambos grupos (Flores & Vidal, 2000a). El análisis cladístico basado en la morfología del género *Callyntra* sugiere que este género posee 7 grupos y vuelven a recuperar en el árbol a cada una de las 17 especies hasta ese entonces descritas (Flores & Vidal 2000b, Fig. 1). Sin embargo, recientemente han aparecido nuevas contribuciones taxonómicas para el género *Callyntra*, que han elevado el número de especies a 22 (Zúñiga-Reinoso & Cid-Arcos 2013, 2015; Aceituno & Guerrero 2014; Zúñiga-Reinoso 2015) (ver S1). Además, se ha citado recientemente una especie de *Callyntra* para Argentina, identificada como *C. unicosta* (Roig-Juñent et al. 2004).

Por otra parte, la evidencia biogeográfica, sugiere que la separación de *Callyntra* y *Epipedonota* habría ocurrido con el levantamiento de los Andes (Roig-Juñent & Flores 2003). Por lo tanto, la diversificación del género *Callyntra* debió ocurrir después de este evento histórico y podría tratarse de uno de los Nyctelini con origen más reciente (Flores & Vidal 2000b). En este sentido, es necesario volver a reconstruir la filogenia del grupo, pero esta vez utilizando marcadores moleculares (DNA mitocondrial y nuclear) para

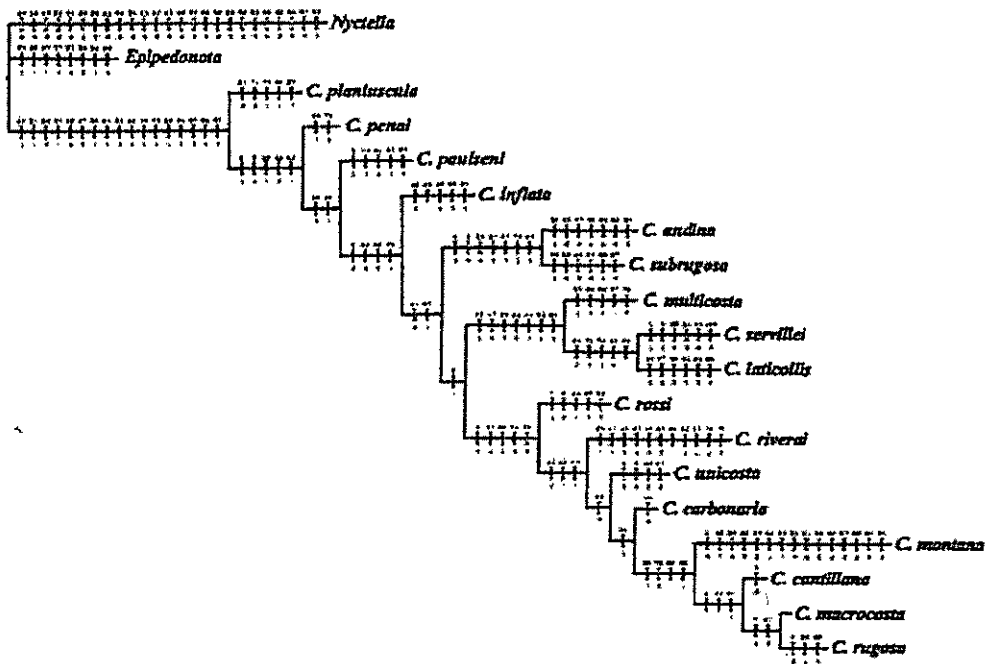


Figura 1. Filogenia morfológica del género *Callyntra* propuesta por Flores & Vidal (2000b). Barras negras indican sinapomorfias y barras blancas indican homoplasias.

responder problemas sistemáticos y evolutivos, de manera de proponer un escenario evolutivo, que permita evaluar como afectaron los eventos climáticos del pasado los patrones de especiación de este grupo. En la actualidad existen herramientas que utilizan la información implícita del árbol filogenético (*i.e* topología y largo de rama), que permiten calcular los tiempos de divergencia entre las especies, pudiendo relacionar el tiempo de las cladogénesis con un evento histórico particular que conlleva a la diversificación. Adicionalmente es posible ponderar modelos de diversificación explícitos que nos permiten poner a prueba las hipótesis relacionadas con pulsos temporales de diversificación. Por otro lado, existen también modelos que utilizan una filogenia para detectar y asociar qué modelos de especiación se ajustan mejor al patrón de diversificación encontrado. Todo esto nos permite por primera vez ponderar para esta región cómo las glaciaciones influyeron en los procesos evolutivos que han dominado sobre un grupo de coleópteros congenéricos asociados a las alturas de Chile central y que en conjunto podrían explicar su patrón de distribución actual.

Distribución y biología del género Callyntra

La mayoría de las especies del género *Callyntra* son un componente endémico de Chile central entre los paralelos 32° y 39° Sur, desde la IV a la IX región (excepto una especie de Argentina), en la ladera occidental de la cordillera de los Andes (Fig. 2). Este rango de distribución se encuentra dentro de la provincia biogeográfica de Chile Central (Cabrera & Willink 1980), uno de los 18 "Hotspot" de biodiversidad reconocidos mundialmente (Myers 1988). Según Peña (1966), las especies del género *Callyntra* ocuparían cinco de las 18 regiones entomofaunísticas dentro de Chile: Desierto Coquimbano, Cordillera Costera

Central, Cordillera Andina Central, Cordillera Andina Sureña y Pehuenar. Las que según Flores & Vidal (2000b), corresponderían a áreas de endemismo para este género (Fig. 3).

En general, las especies del género *Callyntra* poseen una distribución longitudinalmente disyunta, asociadas principalmente a los dos cordones montañosos de la cordillera de la Costa y de los Andes, no encontrándose especies de este género en la depresión intermedia. Las especies del género *Callyntra* pueden utilizar una gran variedad de hábitat, encontrándose desde el nivel del mar, hasta los 3.200 m.s.n.m, ocupando ambientes áridos y semiáridos de la costa, cordillera de los Andes y cordillera de la Costa (Flores & Vidal 2000a, Fig 4). Según, Flores & Vidal (2000a), algunas especies se encuentran en bosques caducifolio de altura (Fig. 4 d, f y g), mientras que otras prefieren lugares abiertos como las estepas de altura (Fig. 4 c y e), así como las terrazas costeras (Fig. a y b). En observaciones de campo, se registró que las especies de *Callyntra* están asociadas a pastizales de tipo *Festuca* sp., presente en todos los ambientes antes descritos, incluso se han encontrado larvas asociadas a las raíces de estas Poaceae (Zúñiga-Reinoso obs. pers.), donde probablemente se desarrollen. La mayoría de las especies son de actividad principalmente diurna (e.g. *C. multicosta*, *C. unicosta*, *C. carbonaria*, *C. rossi*), pero además presentan hábitos crepusculares y/o nocturnos (*C. rugosa*, *C. paulseni*). Observaciones de campo reportan que las especies son activos caminantes, alimentándose principalmente de vegetación, sin tener ninguna preferencia en particular, tanto viva como muerta (Vidal & Guerrero 2007). Por otra parte, debido a su condición de ectotermos, al igual que otros tenebriónidos, se esconden durante las noches y en las horas de máxima radiación bajo la tierra, troncos, piedras y plantas rastreras cuando las condiciones ambientales no son óptimas (Cloudsley-Thompson 2001, Flores 1997). En general, los insectos de las zonas templadas son univolinios (i.e una generación por año), donde la final de la temporada

reproductiva los adultos mueren debido a que invierten toda su energía en la reproducción (Wolda 1988). En *Callyntra*, los adultos tienen un periodo de actividad durante las estaciones estivales, actividad que es temporalmente más tardía y estrecha a medida que aumenta la latitud (Zúñiga-Reinoso & Muñoz-Ramírez en prep.), aunque en ocasiones se han observado adultos vivos en estaciones hibernales, bajo troncos y bostas en estado de descanso (Zúñiga-Reinoso obs. pers.). Además, las especies de *Callyntra* presentan adaptaciones morfológicas y conductuales para la supervivencia en climas áridos y fríos; la fusión de los élitros y el segundo par de alas atrofiadas, da lugar a la formación una cavidad subelital, característico de las especies de tenebriónidos que habitan en ecosistemas áridos, que ayudaría a la disminución de pérdida de agua (Cloudsley-Thompson 2001).

En general, el género *Callyntra* presenta bajas densidades poblacionales, comparado con otros géneros de la tribu Nycteliini (e.g. *Gyriosomus* y *Nyctelia*). Vidal & Guerrero (2007) mencionan que la mayoría de las especies son de difícil observación en la naturaleza. Quizás, esta sea la razón principal de que no existan estudios poblacionales acabados en las especies del género. Además, existen especies que presentan problemas de conservación, como es el caso de *C. multcosta*, *C. hibrida*, *C. penai*, *C. cantillana* y *C. planiuscula*, debido a que presentan acotado rango de distribución y se encuentran amenazados por la destrucción del hábitat (Jerez *et al.* 2015). Finalmente, se desconoce sobre los ciclos de vida y las larvas son prácticamente desconocidas, sólo existiendo la descripción de la larva de *C. andina* y *C. penai* (Vidal & Guerrero 2007).

Por lo tanto, debido a que actualmente la mayoría de las especies están asociadas a ambientes de altura, así como también por ser ectodermos caminadores, estos coleópteros pudieron ser afectados por las oscilaciones climáticas del Pleistoceno, determinado los

procesos de diversificación y el patrón actual de distribución, cambiando su distribución en el pasado hacia ambientes de baja altitud y colonizando nuevas alturas, lo que promovería eventos de especiación.

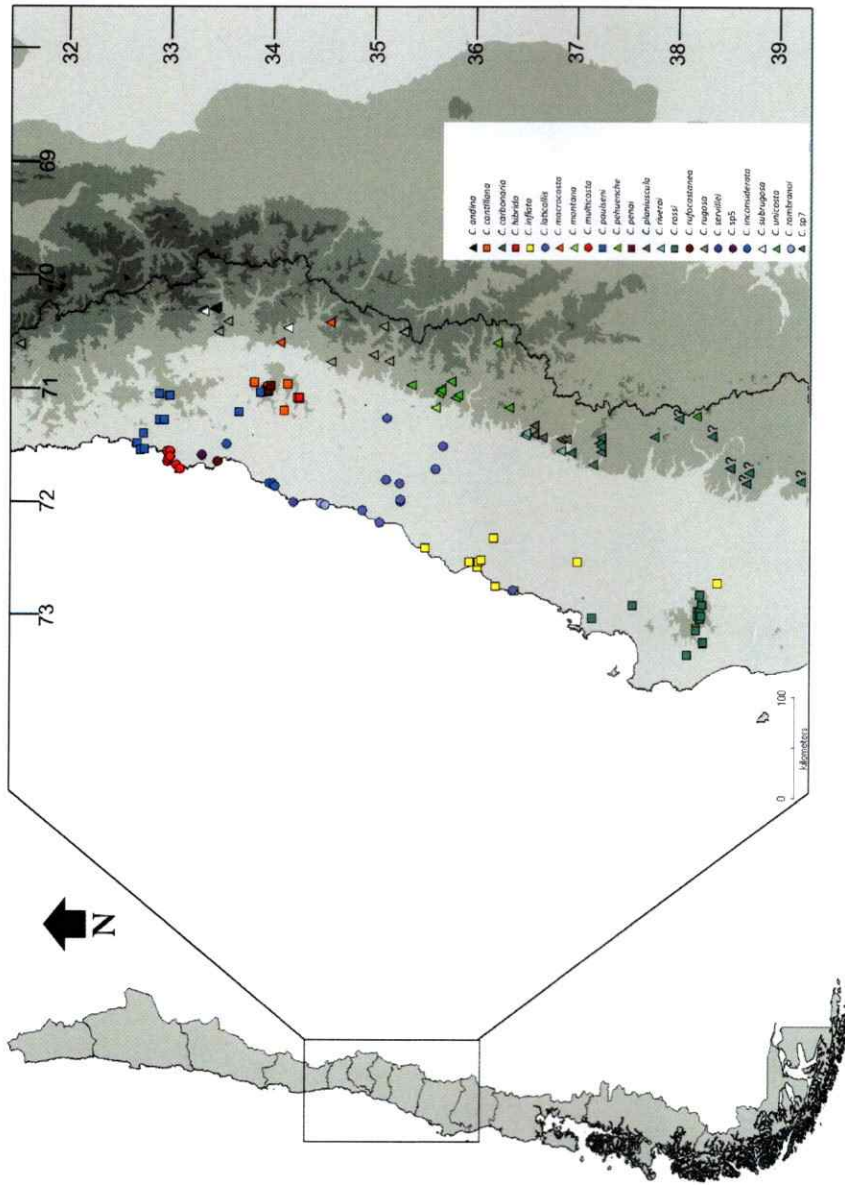


Figura 2. Mapa de distribución de las especies del género *Callyntra* en Chile central.

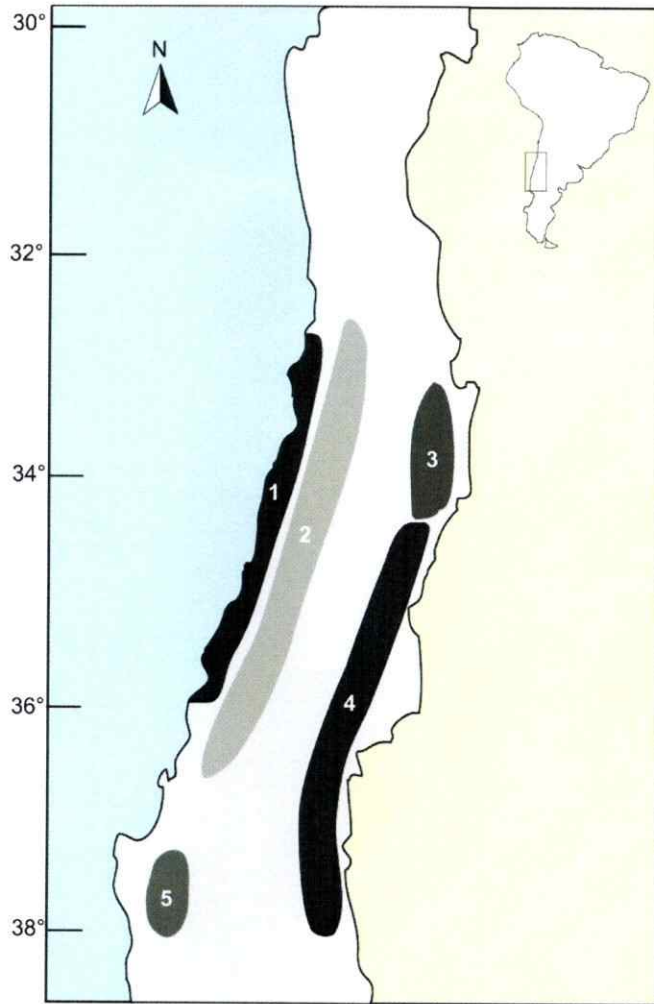


Figura 3. Mapa con las regiones biogeográficas y áreas de endemismos propuestas por Peña (1966) y Flores & Vidal (2000c) para tenebriónidos y *Callyntra* respectivamente y se destacan la distribución del género *Callyntra*. 1) Desierto de Coquimbo sur, 2) Cordillera de la Costa central, 3) Andes Central, 4) Andes del Sur y 5) Pehuenar Costero.

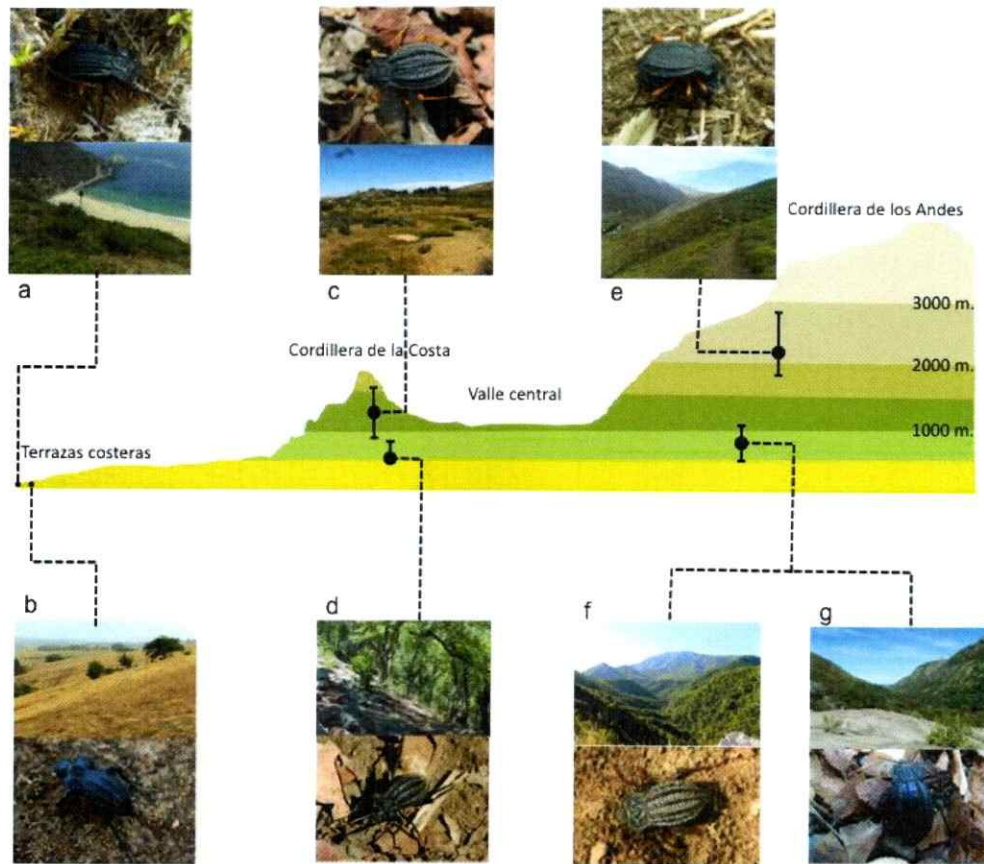


Figura 4. Corte topográfico longitudinal esquemático a los 34° sur de Chile central que muestra la distribución altitudinal de algunas especies de *Callyntra*. Se representa el tipo de ambiente donde habitan y la morfología asociada a este ambiente. a-b: especies costeras *Callyntra multicosta* (a) y *Callyntra servillei* (b); c: *Callyntra cantillana* y el ambiente de altura de la cordillera de la costa; d: *Callyntra hibrida* y el ambiente de media altura de la cordillera de la costa; e: *Callyntra macrocosta* (arriba) y *Callyntra rugosa* (abajo), apareándose en la estepa andina; f-g: especies de media altura de la cordillera de los Andes. *Callyntra riverai*, especie no registrada desde 1956 (f) y *Callyntra planiuscula* (g).

Hipótesis:

Considerando que:

- 1) La mayoría de las especies del género *Callyntra* son endémicas de Chile Central, región que habría sido afectada por las oscilaciones climáticas del Pleistoceno;
- 2) Son especies ectotermas y univoltinas, asociado a hábitat áridos costeros y de alturas, cuyo ciclo de vida podría estar asociados a pastos presentes en estos ambientes;
- 3) Presentan un patrón de distribución disyunto, donde especies de la cordillera de la costa, tienen especies hermanas tanto en la cordillera de los Andes como la costa y;
- 4) La diversificación de este grupo habría ocurrido después del último alzamiento importante de los Andes, se plantea que:

Hipótesis: Las especies de *Callyntra* en Chile central respondieron a las oscilaciones climáticas del Pleistoceno, cambiando su distribución en el tiempo, bajando a los valles durante los periodos glaciales y subiendo a los hábitat de alturas durante los interglaciales, siendo los periodos interglaciares donde se promovió la diversificación del genero *Callyntra*.

Predicción 1: Debido a que el modelos de especiación de montaña sugiere que los periodos interglaciares del Pleistoceno afectaría a la diversificación, se espera que los tiempos de diversificación del género *Callyntra* comiencen a los 2,5 millones de años antes del presente y que los tiempos de divergencia estén relacionado a periodos interglaciales.

Predicción 2: Debido a que el modelo de especiación de montaña predice que la colonización promovería la especiación, se espera que los mayores pulsos de diversificación del género *Callyntra* coincidan con la colonización a nuevas áreas de distribución.

Predicción 3: Dado que en el modelo de especiación de montaña, los eventos fundadores explicarían la especiación, se espera que el ancestro común más reciente del género *Callyntra* tenga un origen costero y que la colonización a las alturas de la Cordillera de la Costa y los Andes daría paso a la especiación por eventos fundadores.

1.5. Objetivos

Objetivo general

Evaluar el papel de las oscilaciones climáticas del Pleistoceno sobre los procesos evolutivos y la diversificación del género *Callyntra* en Chile Central.

Objetivos específicos

- 1) Examinar las relaciones filogenéticas del género *Callyntra* utilizando secuencias de DNA nuclear y mitocondrial.
- 2) Estimar los tiempos de divergencias de cada cladogenesis y los periodos donde ocurren los pulsos de diversificación en el árbol del género *Callyntra*.
- 3) Determinar el rango de distribución del ancestro común más reciente y conjuntamente determinar a qué modelo de especiación se ajusta la diversificación del género *Callyntra*.

Materiales y métodos

Recolección de muestras y selección del sitio de estudio.

El material recolectado considera todo el rango de distribución del género *Callyntra* en Chile. La recolección del material se realizó manualmente durante las épocas estivales de cada año. Las localidades de muestreo fueron escogidas por los siguientes criterios: 1) según registros de localidades publicadas en literatura (Flores & Vidal 2000b) y 2) según registro de colecciones entomológicas de referencia (Museo de Zoología de la Universidad de Concepción, Universidad Metropolitana de Ciencia de la Educación, Instituto Argentino de Investigaciones de Zonas Áridas, Museo Nacional de Historia Natural) (ver Tabla 1). Todo el material fue conservado en etanol absoluto para la posterior extracción de DNA. Se consideró material de varias localidades para tener una buena representación de la diversidad genética dentro de cada especie. Se logró recolectar material de 21 de las 22 especies descritas hasta la fecha (excepto *C. subrugosa*), mas dos morfos que no fueron adcritos a ninguna especies descrita previamente.

Extracción de ADN, Amplificación y Secuenciación

El DNA fue extraído de la musculatura de patas y tórax, usando una modificación del método de extracción de sales de Jowett (1986). Se amplificaron los genes mitocondriales Citocromo Oxida I (COI) para 87 individuos, RNA ribosomal 16S (16S) para 30 individuos, y el gen nuclear de la proteina muscular (Mp20) para 28 individuos. Se utilizaron los partidores C1-J-2183 (CAA CAT TTA TTT TGA TTT TTT GG) y TL2-N-3014 (TCC AAT GCA CTA ATC TGC CAT ATT A) para COI, LR-J-12961 (TTT AAT CCA ACA TCG AGG) y LR-N-13398 (CGC CTG TTT AAC AAA AAC AT) para 16S, Mp20-5 (ATG TCT CTK GAA CGT CAA GTC C) y Mp20-3 (TGN CCG GCY TGK GTG GCR CCC TTG) y los partidores internos Mp20-F1 (TTG GCC

CCC GGC TCC GTC CC) y Mp20-R1 (TGT TCT GGC CTG CCT GAA GC), diseñados en este estudio. La mezcla de reacción incluye 3 mM de MgCl₂, 0.2 mM de dNTPs, 0.2 μM de cada partidor, 1 U de Taq polimerasa (Invitrogen, Carlsbad, CA) y 50-100 ng de ADN total. El perfil térmico para la PCR fue: 94 °C por 5 minutos, seguido de 36 ciclos de 94 °C por 45 segundos, 45 °C por 30 segundos y 72 °C por 60 segundos, con una extensión final de 72 °C por 2 minutos. Mientras que para el protocolo térmico de PCR para el gen Mp20 se realizó un protocolo *touchdown* de 94 °C por 3 minutos, seguido de 8 ciclos de 94 °C durante 30 segundos, 58 a 54 °C durante 1 minuto y 72 °C por 1.25 minutos. Esto es seguido por 32 ciclos a 94 °C por 30 segundos, 54 °C por 1 minuto y 72 °C por 1,25 minutos. Finalmente el paso de extensión final a 72 °C por 10 minutos. El producto PCR fue purificado y secuenciado por MacroGen, Inc. (Seul, Corea). Las secuencias de ADN de cada individuo, fueron revisadas, editadas, y luego alineadas usando CLUSTAL W (Thompson *et al.* 1994), en el programa BioEdit 7.0.5.3 (Hall 1999).

Reconstrucción filogenética

Se realizaron reconstrucciones filogenéticas tradicionales, bajo los algoritmos de Máxima Parsimonia (MP), Maximum Likelihood (ML) e Inferencia Bayesiana (IB). Para enraizar los árboles se usó como grupo externo la especie *Epipedonata ebenina*, ya que este género ha sido descrito como género hermano de *Callyntra*.

Para la reconstrucción por Máxima Parsimonia todos los caracteres fueron considerados como no ordenados y de igual peso. Se condujo una búsqueda heurística con 100 réplicas de adición de taxón al azar, con "tree bisection reconnection" (TBR). El soporte de los nodos fue obtenido a partir de análisis de bootstrap (Felsenstein 1985) con 1000 pseudoréplicas. Para Maximum Likelihood e Inferencia Bayesiana, se seleccionó

Tabla 1. Cuadro general de las muestras utilizadas para este estudio. Especie= Especies muestreadas. Código= Código asignado para cada especie y localidad. Nro. Ind.= Numero de individuos utilizados por cada localidad. Localidad= Ubicación geográfica de las muestras. Latitud-Longitud: Georeferencias decimales de la localidades muestreadas. Procedencia= Procedencia geográfica de las muestras: CA= Cordillera de los Andes, CC= Cordillera de la Costa, TC= Terrazas costeras.

Especie	Código	Nro. Ind.	Localidad	Región	Latitud	Longitud	Procedencia
<i>C.andina</i>	CandFAR	2	Potrero Grande	RM	-33.42	-70.23	CA
<i>C.andina</i>	CandPOR	2	Portezuelo	RM	-33.44	-70.27	CA
<i>C.andina</i>	CandPAR	1	La Parva	RM	-33.33	-70.25	CA
<i>C.cantillana</i>	CcanCAN	2	Las Launitas	RM	-33.91	-70.97	CA
<i>C.cantillana</i>	CcanPOQ	4	Cerro Poqui	VI	-34.19	-71.06	CA
<i>C.carbonaria</i>	CcarTRA	4	Las Trancas	VIII	-36.9	-71.5	CA
<i>C.hibrida</i>	ChibPOQ	4	Cerro Poqui	VI	-34.2	-71.06	CC
<i>C.inflata</i>	CinfQUE	1	R.N. Los Queules	VII	-35.95	-72.61	CC
<i>C.inflata</i>	CinfPAN	2	Pan de Azucar	VII	?	?	CC
<i>C.inflata</i>	CinfRUI	1	R.N. Los Ruiles	VII	-35.83	-72.51	CC
<i>C.inflata</i>	CinfNAH	1	Nahuelbuta	IX	-37.78	-72.96	CC
<i>C.laticollis</i>	ClatILO	1	Iloca	VII	-34.91	-72.18	TC
<i>C.laticollis</i>	ClatPUL	1	Pullaullao	VII	-35.38	-71	TC
<i>C.laticollis</i>	ClatCUR	1	Curepto	VII	-35.1	-71.99	CC
<i>C.laticollis</i>	ClatLIE	1	Lien	VII	-35.1	-71.97	CC
<i>C.macrocosta</i>	CmacTFL	5	Termas del Flaco	VI	-34.95	-70.42	CA
<i>C.montana</i>	CmonTEA	3	Teatino	VII	-35.42	-71.15	CA
<i>C.multicosta</i>	CmulDOC	2	Las Docas	V	-33.13	-71.7	TC
<i>C.paulseni</i>	CpauVAL	2	Valle Alegre	V	-32.81	-71.39	TC
<i>C.paulseni</i>	CpauPNC	1	C° La campana	V	-32.96	-71.26	CC
<i>C.pehuenche</i>	CpehCAM	2	El Campanario	VII	-35.97	-70.57	CA
<i>C.penai</i>	CpenCAN	1	Altos de Cantillana	RM	-33.95	-70.96	CC
<i>C.planiuscula</i>	CplaLPL	2	Laguna de la Plata	VIII	-36.38	-71.42	CA
<i>C.riverai</i>	CrivALI	3	Alico	VIII	-36.55	-71.54	CA
<i>C.rossi</i>	CrosSPD	1	San Pedro	VIII	-37.19	-72.92	CC
<i>C.rossi</i>	CrosNAH	2	P.N. Nahuelbuta	IX	-37.78	-72.97	CC
<i>C.rossi</i>	CrosCAR	3	Caramavida	IX	-37.68	-73.35	CC
<i>C.rufocastanea</i>	CrufTAB	1	El Tabito	V	-33.46	-71.64	TC
<i>C.rugosa</i>	CrugTFL	3	Termas del Flaco	VI	-34.95	-70.42	CA
<i>C.rugosa</i>	CrugQUE	3	Los Queñes	VII	-35.14	-70.47	CA
<i>C.servillei</i>	CserCAT	2	Catricia	VI	-34.43	-72.02	TC
<i>C.sp5</i>	Csp5PLA	2	Placilla	V	-33.33	-71.57	TC
<i>C.inconsiderata</i>	CincMAT	3	Pupuya	VI	-33.98	-71.85	TC
<i>C.inconsiderata</i>	CincMAI	1	Navidad	VI	-33.96	-71.83	TC
<i>C.unicosta</i>	CuniPAL	1	Palos Negros	VII	-35.2	-70.95	CA
<i>C.unicosta</i>	CuniRAD	2	R.N. Radal	VII	-35.47	-70.98	CA
<i>C.unicosta</i>	CuniVIL	4	Vilches Alto	VII	-35.6	-71.06	CA
<i>C.unicosta</i>	CuniEND	1	Enladrillado	VII	-35.56	-70.92	CA
<i>C.unicosta</i>	Csp6GUA	1	Guampallo	VII	-35.6	-70.93	CA
<i>C.unicosta</i>	Cunisp8	1	Los Niches	VII	-35.12	-71.1	CA
<i>C.zambranoi</i>	CzamPIC	3	Catricia	VI	-34.43	-72.03	TC
<i>E.ebenina</i>	EebeSAU	1	El Sauce	VIII	-36.63	-71.23	CA

previamente el mejor modelo de evolución de secuencias mediante el Akaike Information Criterion (AIC) utilizando el programa jModelTest 0.1.1 (Posada 2008). El mejor ajuste encontrado para las secuencias fueron los modelos HKY+I+G para COI, GTR+I+G para 16S y GTR+I para Mp20 los cuales fueron establecidos para cada partición en todos los análisis. Posteriormente, se realizó una búsqueda heurística y el soporte de nodos al igual que en MP. Tanto la reconstrucción por MP, como por ML fueron realizados con el programa PAUP*4.0 (Swofford 2002). Finalmente, la reconstrucción bayesiana se realizó en el programa Mr. Bayes (Huelsenbeck & Ronquist. 2001), utilizando el método Markov Chain Monte Carlo (MCMC). Para la búsqueda de árboles con Inferencia Bayesiana se consideró 100 millones de generaciones, con un muestreo cada 1000 generaciones. De los 100000 árboles muestreados se tomaron los valores de verosimilitud de cada árbol y se graficaron para examinar la convergencia de las distribuciones de probabilidad de los parámetros. Posteriormente, se descartaron los árboles que no se encuentran en la etapa previa a la fase estacionaria de la cadena de Markov. Luego se construyó un árbol de consenso por regla de la mayoría y la consistencia de los nodos se obtuvo por la probabilidad *a posteriori*. Todas las reconstrucciones se hicieron para el gen mitocondrial COI, para los genes COI y 16S combinados y finalmente con los genes mitocondriales y el nuclear concatenados (COI+16S+Mp20).

Para graficar la incertidumbre filogenética de la hipótesis bayesiana con todos los genes concatenados se graficaron todos los árboles con sus diferente largos de rama, así como también sus diferentes topologías con el programa DensiTree 2.0.1, el cual ayuda a identificar y comprender el poco sustento de algunos nodos en la filogenia.

Tiempos de Divergencia y tasa de diversificación

La estimación del tiempo de divergencia se realizó mediante inferencia bayesiana implementada en el programa BEAST 1.8.2 (Drummond & Rambaut 2007). Se consideraron independientemente los modelos de sustitución previamente estimados para cada una de las particiones. Además se corrió el programa con todos los modelos preestablecidos en BEAST y se seleccionó el modelo de reloj estricto mediante factor de Bayes en TRACER 1.6. El modelo de especiación que se utilizó fue el de proceso de Yule. Para la calibración de la estimación se utilizaron las tasas mutacionales para cada gen (3,54% para COI, 1,06% para 16S y 3,6% para Mp20) propuesta para Tenebrionidae (Papadopoulou *et al.* 2010). Para la estimación de los tiempos de divergencia se realizó una corrida de 20 millones de generaciones, muestreando cada mil generaciones. Los resultados fueron analizados en TRACER (Rambaut & Drummond 2007) para determinar la convergencia y el tamaño efectivo de muestra (ESS) de todos los parámetros, adicionalmente se analizó la acumulación de linajes a través del tiempo (i.e LTT). El archivo de árboles fue resumido en un único árbol mediante el programa TreeAnnotator 1.8.2. Finalmente, los resultados fueron visualizados y editados en FIGTREE 1.4.2 (Drummond & Rambaut 2007).

Por otra parte, con el árbol ultramétrico calibrado de BEAST, se modeló la dinámica macroevolutiva de diversificación de *Callyntra* con el programa BAMM 2.0 (Bayesian Analysis of Macroevolutionary Mixtures: Rabosky *et al.* 2013; Rabosky 2014; disponible en <http://bamm-project.org/>). Se cuantificó la tasa de diversificación a lo largo de los clados de *Callyntra*, y se identificaron las tasas de cambio de los procesos de diversificación compartidos por todos los linajes (i.e regimenes macroevolutivos). Para la filogenia bayesiana obtenida, se corrieron 10 millones de generaciones, muestreando cada 1000 generaciones con cadenas de Markov Monte Carlos y reversible-jump (MCMCJ). El muestreo fue complementado con Metropolis-coupled

(MC3) para otorgarle mejor eficiencia de la simulación de la distribución de probabilidad *a posteriori* (Altekar *et al.* 2004). Así el muestreo de cadenas frías y calientes del MC3 permite explorar más a fondo el espacio de parámetros dado al aplanamiento de los valles de probabilidad *a posteriori* por parte de las cadenas calientes. Los resultados fueron graficados en el programa R, utilizando el paquete BAMMtools.

Reconstrucción de la distribución de ancestro común más reciente y estimación del modo de especiación de Callyntra.

Se utilizó el paquete BioGeoBEARS (“BioGeography with Bayesian Evolutionary Analysis in R Scripts”) para reconstruir el rango de distribución de cada nodo de la hipótesis filogenética resultante de *Callyntra*. Específicamente, se utilizaron los modelos DEC (Dispersal- Extinction-Cladogenesis; Ree and Smith 2008) y DEC+j (Matzke 2013) para obtener una distribución de probabilidades del área ancestral más probables. El modelo DEC posee dos parámetros, d (tasa de dispersión, *i.e.* la tasa en la cual se adicionan rangos de distribución a lo largo de las ramas) y e (tasa de extinción, *i.e.* la tasa en la cual se pierde rango de distribución locales a lo largo de las ramas). El modelo DEC+j posee el parámetro de árbol d , e y adicionalmente el parámetro j (factor de ponderación para la dispersión de salto o de especiación por evento fundadores). Este parámetro j es particularmente importante, pues explica la “aparición” de los taxa en una región biogeográfica totalmente diferente a la del ancestro común más reciente. El programa utiliza un árbol en formato “newick” con largos de ramas transformados a ramas de tiempo y una matriz de presencia/ausencia de las regiones biogeográficas donde se distribuyen las especies en la actualidad. Para éste propósito se utilizaron las áreas de endemismo propuestas por (Flores & Vidal 2000c) para la distribución del

género *Callyntra*. Bajo este criterio, la regiones utilizadas son: 1) Desierto de Coquimbo sur (DC), 2) Cordillera de la Costa central (CC), 3) Andes Central (AC), 4) Andes del Sur (AS) y 5) Pehuenar Costero (CP) (Fig. 2). Ambos modelos fueron corridos de forma independiente y el modelo que tuvo mejor ajuste dado la topología y largos de rama fue el modelo DEC+j, seleccionado mediante la prueba de razón de Likelihood.

Resultados

Análisis filogenéticos

Se obtuvieron fragmentos de 848, 455 y 575 pb respectivamente para los genes COI, 16S y Mp20. Sin embargo, para las especies *C. penai*, *C. unicosta*, *C. zambranoi*, *C. rossi* y *C. paulseni* sólo se pudo amplificar 420 pb de Mp20 debido al uso de partidores internos. No fue posible amplificar el fragmento de Mp20 para las especies *C. planiuscula* y *C. servillei*. Finalmente, se encontraron 322 sitios polimórficos para COI, 92 para 16S y 76 para Mp20 y sólo el gen Mp20 mostró indels (tres sitios). El análisis de saturación mutacional no evidenció saturación para ninguna de las particiones.

Al concatenar todas las particiones, se obtuvo una matriz de 1878 pb. El árbol de IB posee una topología desbalanceada y recupera cinco clados principales. El clado B (*C. inconsiderata*, *C. paulseni*), compuesto por una especie costera y otra costera-cordillera de la costa respectivamente, ocupa la posición más basal en el árbol y es el clado hermano de todas las especies de *Callyntra*. Le sigue en el árbol el clado D (*C. penai* (*C. hibrida* (*C. multicosta*, *C. rufocastanea*))) compuesto por dos especies de la cordillera de la costa (*C. penai* y *C. hibrida*) y dos especies de la costa (*C. multicosta*, *C. rufocastanea*), es hermano del resto de las especies de *Callyntra*. Luego aparece el clado F (*C. rugosa* (*C. planiuscula*, *C. andina*)), primer grupo con especies andinas. Finalmente, se obtiene la separación de dos grupos monofiléticamente recíprocos: el clado H (*C. laticollis* (*C.sp5* (*C. servillei*, *C. zambranoi*))), representado sólo por

especies costeras y otro gran clado I ((*C. cantillana* (*C. macrocosta* (*C. pehuenche*, *C.unicosta-montana*))), (*C. inflata* (*C. carbonaria*, *C. riverai*), (*C. sp7*, *C. rossi*))), este último representado por todas las especies andinas del sur y algunas especies de la cordillera de la costa (*i.e C. cantillana*, *C. inflata* y *C. rossi*) (ver Fig.5a). La topología de las reconstrucciones filogenéticas mediante ML e IB fueron similares y sólo diferían en la posición de un grupo, dado que ML arroja que el clado A y B forman un grupo monofilético en la base del árbol. Por otra parte, en la reconstrucción por MP, uno de los cinco árboles más parsimoniosos (TL= 1272, CI= 0.3789 y RI= 0.5611) coincide exactamente con la topología del árbol de IB y ninguno con la topología del árbol de ML. Los otros cuatro árboles de MP muestran incongruencias en la posición de las especies *C. rugosa* y *C. planiuscula*. Por otra parte, los valores de soporte de nodo, *bootstrap* para MP y ML y en algunos casos la probabilidad *à posteriori* para IB, son bajos en algunas relaciones filogenéticas más internas del árbol, particularmente en los nodos C, E, G y F.

Por otra parte, la reconstrucción filogenética utilizando los genes mitocondriales concatenados (COI + 16S), tiene prácticamente la misma topología de la obtenida por la filogenia con todos los genes. Se observa que difiere en la posición de las especies del clado F (*C. rugosa*, *C. andina* y *C. planiuscula*), donde estas especies son un grupo monofilético en la reconstrucción con todos los genes, mientras que sólo con los genes mitocondriales cada especie conforma un grupo independiente (Fig 5b). Finalmente, con la reconstrucción sólo con el gen mitocondrial COI, este coincide con el resto de las reconstrucciones sólo en posición y agrupación del clado I. El clado H, cambia de posición y se sitúa en la base del árbol y cada especie se disgrega en clados independientes. Por otra parte, el clado B, D y F, conforman un gran clado hermano del clado I (Fig 5c y 6). El DensiTree construido con todos los genes concatenados, muestra

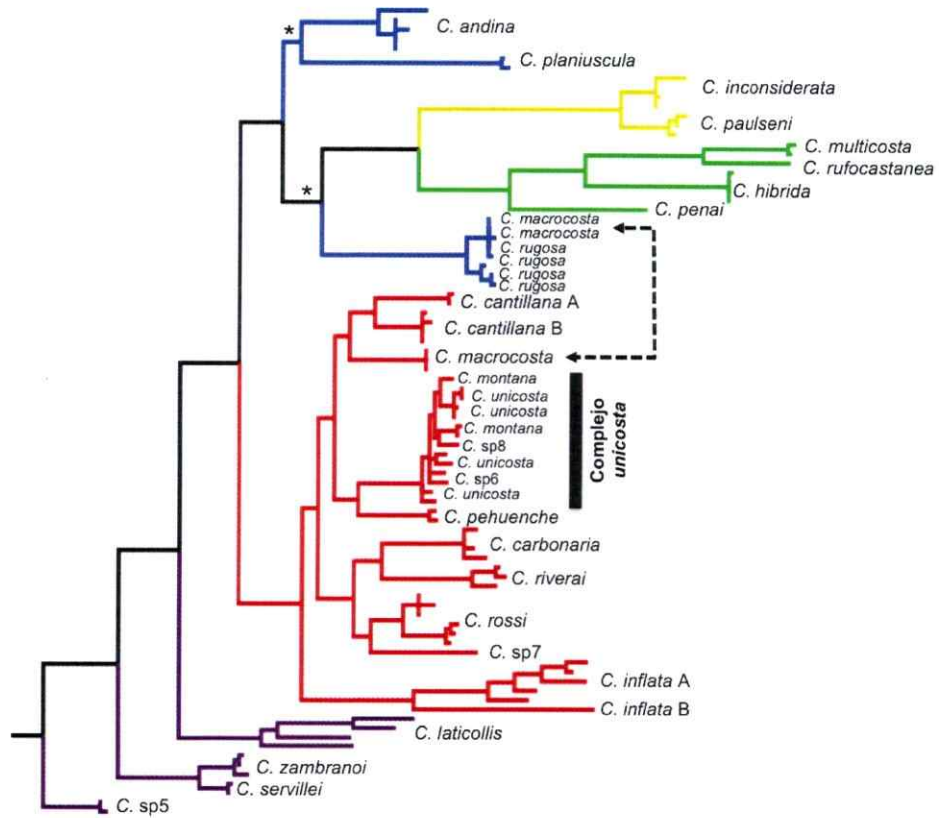


Figura 6. Hipótesis filogenética para el género *Callyntra* obtenida con inferencia bayesiana mediante el uso de 87 secuencias del gen mitocondrial COI. Asteriscos sobre los nodos indican bajos valores de soporte de probabilidad *posteriori*. Flecha de línea punteada indica la presencia de secuencia de *Callyntra macrocosta* en el clado de *Callyntra rugosa*. Banda negra indica el clado del complejo “unicosta”.

como la incertidumbre va aumentando a medida que se acerca al grupo externo, mostrando una gran variabilidad en los largos de ramas (amplitud de la sombra), no así con la topología que aparece en alta frecuencia (reportada en rojo). Sin embargo, la topología varía hacia las ramas terminales, mayormente en todo el clado F, donde aparece una topología alternativa en frecuencia media (en amarillo) y baja (en azul) para las especie *C. rugosa*, *C. andina* y *C. planiuscula*. Además, aparecen incongruencias en baja frecuencia (en azul) en el clado I, específicamente en la posición de los linajes de la especie *C. unicosta* y en la posición de la especie *C. riverai* (ver Fig 7).

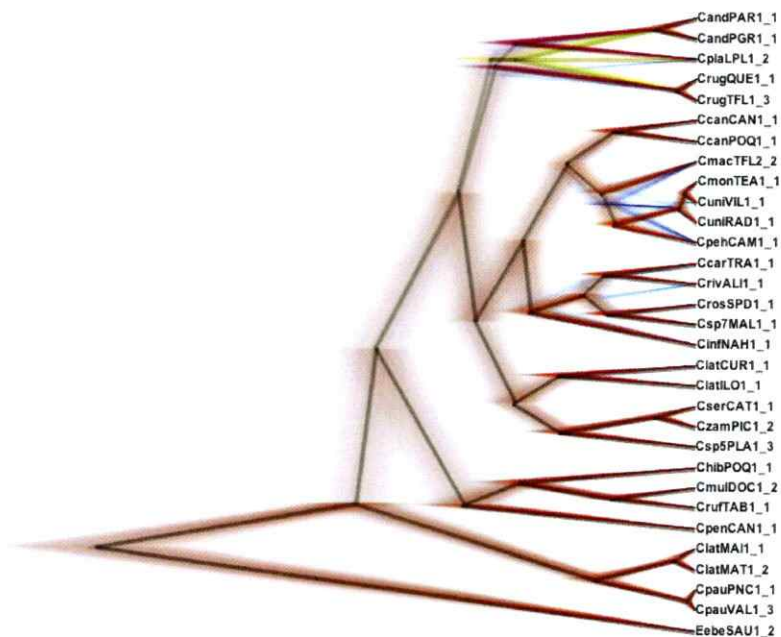


Figura 7. DensiTree mostrando el árbol de consenso (línea gris) y todos los árboles obtenidos por la filogenia bayesiana mostrando la incerteza a lo largo de la topología y los largos de rama . El color rojo indica alta frecuencia de la topología. El color amarillo indica topologías de frecuencia media y el azul topologías de baja frecuencia.

Tiempos de Divergencia y tasa de diversificación

El tiempo de divergencia de *Callyntra* con el grupo externo (i.e. *Epipedonota ebenina*) habría ocurrido hace 4,24 My (HPD: 3,47-5,12), Plioceno temprano. La divergencia de *Callyntra* comenzaría recién hace 2,41 My (HPD: 2,1-2,78), asociada con el inicio del Pleistoceno, en esta fecha se separa el clado B del resto de las especies de *Callyntra* y la separación de ambas especies que conforman este clado (*C. paulseni* y *C. inconsiderata*) habría ocurrido recién hace 0,7 My (HDP: 0,52-0,9). Al poco tiempo ocurre la segunda divergencia a los 2,28 My (HDP: 1,97-2,61) que separa al clado D, del resto de las *Callyntra*. Dentro de este clado hay tres divergencias importantes, la primera ocurre hace 1,65 My (HDP: 1,37-1,95), donde habría especiada *C. penai*, luego le sigue *C. hibrida* que habría especiada hace 1,25 My (HDP: 1-1,5) y finalmente la especiación de *C. multicosta* y *C. rufocastanea* que se habría originado hace solo 0,58 My (HDP: 0,44-0,75). La tercera divergencia entre clados es a los 1,69 My (HDP: 1,47-1,93), donde el clado F se separa del clado G. Dentro de este clado hay dos divergencias que originan especies. La primera ocurre hace 1,45 My (HDP: 1,21-1,71), donde habría especiada *C. rugosa* y la especiación de *C. andina* y *C. planiuscula* que habría acontecido hace 1,29 My (HDP: 1,04-1,56). Finalmente, ocurre la divergencia entre los clados H y I hace 1,57 My (HDP: 1,37-1,79). Dentro del clado H hay tres divergencias que originan especies, la primera en separarse es *C. laticollis* hace 1,29 My (HDP: 1,09-1,5), posteriormente ocurre una segunda divergencia debido a la especiación de *C. sp5* hace 0,96 My (HDP: 0,75-1,16) y solo hace 0,27 My (HDP: 0,17-0,39) habría ocurrido la especiación de *C. servillei* y *C. zambranoi*. Por otra parte, en el clado I acontece una divergencia que separa a este clado en dos grupos hace 1,23 My (HDP: 1,06-1,43). En uno de los grupos ocurre la primera divergencia a los 0,96 My (HDP: 0,75-1,1), que da origen a *C. cantillana*, luego le sigue la separación de *C. macrocosta* hace 0,67 My

(HDP: 0,53-0,82) y finalmente la divergencia entre *C. pehuenche* y el complejo *C. unicosta-montana* hace 0,58 My (HDP: 0,45-0,73). Por el otro grupo, la primera divergencia es la que da origen a *C. inflata* hace 1,18 My (HDP: 1-1,37), luego le sigue una separación hace 0,79 My (HDP: 0,65-0,95) que da paso a dos divergencias posteriores. La primera ocurre hace 0,65 My (HDP:0,5-0,81) que da origen a las especies *C. carbonaria* y *C. riverai* y la segunda que ocurre hace 0,62 My (HDP:0,47-0,78) que da origen a las especies *C. sp7* y *C. rossi* (ver Fig. 8). Si se considera la información paleoclimática disponible (Lisiecki & Raymo 2005, Méndez-Martínez et al. 2013), se puede observar que en la topología del árbol que los principales eventos de divergencia se asocian a eventos interglaciales (26 cladogenesis), siendo minoritarios los asociados a eventos glaciales (3 cladogenesis) (Fig. 8). La gráfica de los linajes a través del tiempo (LTT), muestra una acumulación lineal de linajes ($R^2=0,95$; $p<0,001$) desde hace 2,41 My al presente, mostrando al menos tres periodos de “ausencia” de especiación, el primero entre los 1,7-2,3 MY, el segundo entre los 1-1,2 My y el último entre los 0,3-0,58 My aproximadamente (Fig 9).

Por otra parte, BAMM reconoce sólo un cambio importante en la diversificación del género *Callyntra*, el que ocurren en la primera cladogénesis (nodo clado A) de la filogenia, hace 2,41 Myrs, este momento al inicio de la diversificación del grupo sería el de mayor tasa de diversificación y hasta el presente ha ido disminuyendo paulatinamente (Fig. 10a). Sin embargo, en la curva estimación de la tasa instantánea de especiación a través del tiempo del género, aparecen tres alzas de especiación posterior de los 2,41 Myrs., una a los 2,28 My, otra a los 1,57 Myrs. y una tercera a los 1,23 Myrs, las cuales no conllevan cambios importantes en la tasa de diversificación de *Callyntra* (Fig. 10b).

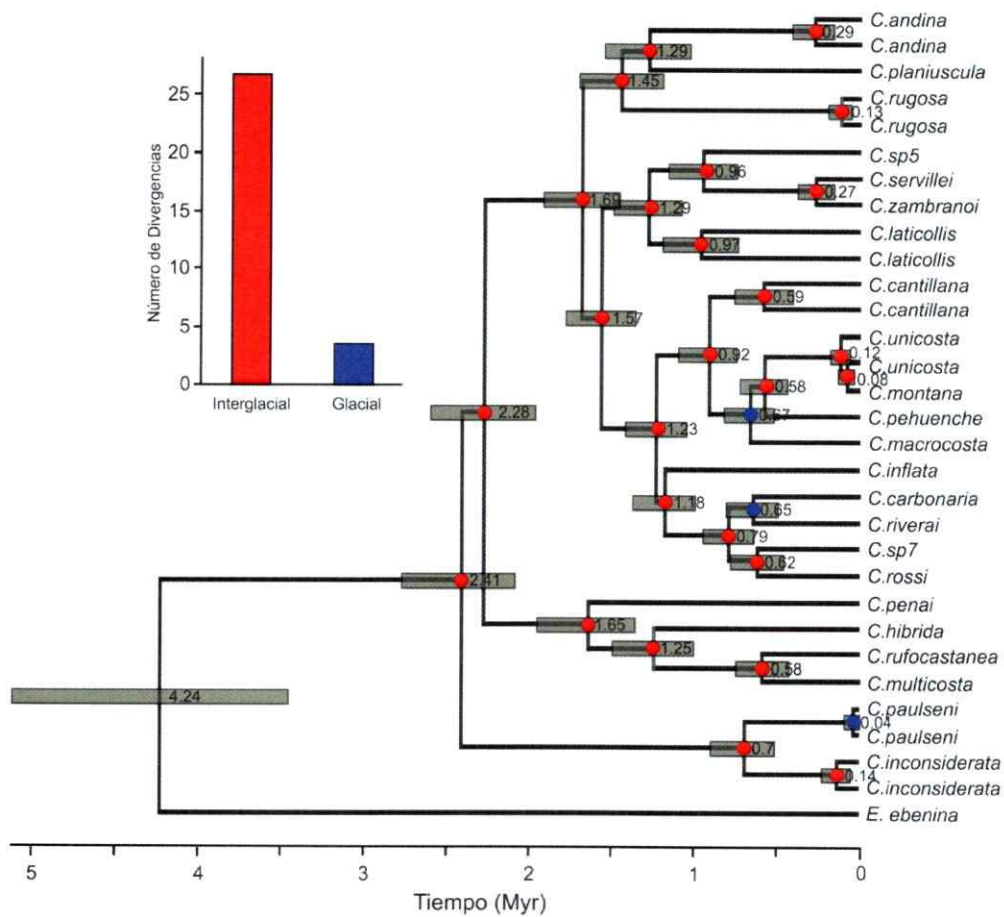


Figura 8. Estimación de los tiempos de divergencia de la filogenia de *Callyntra* en escala de millón de años. Números asociados a los nodos indican el tiempo de la divergencia. Las barras grises indican los intervalos del 95% de la alta densidad posterior (o *highest posterior density*; HPD). Los puntos rojo en los nodos indican que la divergencia está asociada a periodos interglaciales, mientras que los azules indican periodos glaciales. El histograma compara el número de las divergencias asociadas a periodos interglaciales y glaciales en la filogenia. Para la estimación de los periodo glaciales-interglaciales se utilizaron las bases de datos paleoclimatológicas de los artículos Lisiecki & Raymo (2005) y Martínez-Méndez et al. (2013), disponible en Pangea (www.pangea.de).

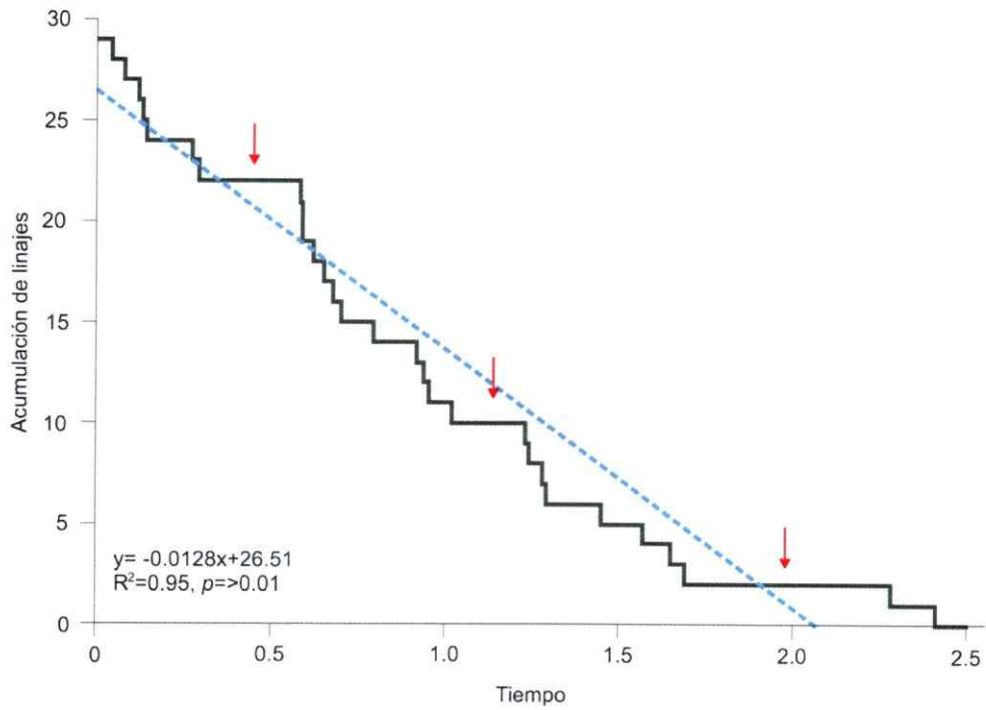


Figura 9. Acumulación de linajes de *Callyntra* a través del tiempo (o *lineages through time*, LTT). Sobrepuesta con una línea punteada azul una correlación lineal de Pearson. Las flechas rojas indican periodos de ausencia de acumulación de linajes.

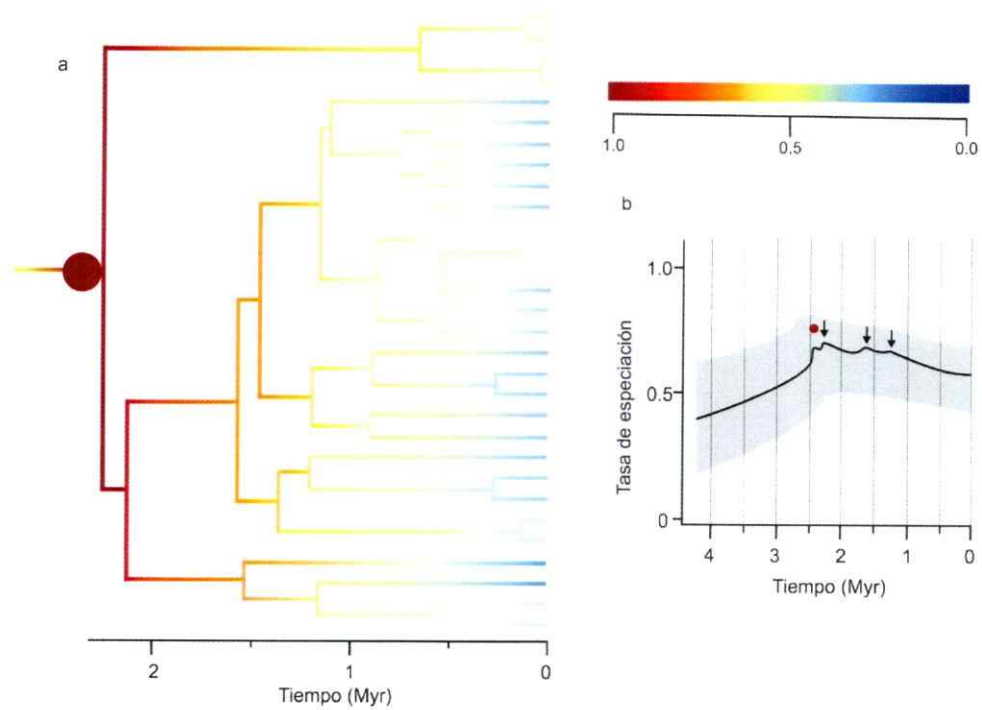


Figura 10. Estimación de la tasa de diversificación obtenida de la filogenia bayesiana de *Callyntra*. a) Tasa de diversificación representada por colores a lo largo de las ramas del árbol, colores cálidos indican mayores tasas de diversificación, mientras que los colores fríos indican la pérdida de esta a través de las ramas. El círculo rojo indica el punto donde ocurre un cambio importante en la tasa de diversificación de la filogenia. b) estimación de la tasa instantánea de especiación a través del tiempo del género *Callyntra* con un intervalo de 90% de credibilidad de la distribución *a posteriori* de BAMM. Las flechas indican alzas de especiación, que no fueron indicadas como cambios importantes en la tasa de diversificación.

Distribución ancestral de Callyntra y modo de especiación

El modelo que tuvo mayor ajuste a la filogenia y distribución de *Callyntra* fue el modelo DEC+j ($\ln L = -52,9$), con $d = 0,019$, $e = 0$ y $j = 0,051$. El área de distribución del ancestro común más reciente (ACMR) del género *Callyntra* correspondió al área de Desierto de Coquimbo Sur (DC) (Fig 11), área que abarca la terraza costera desde la V a las VII región aproximadamente (ver Fig. 3). Actualmente, las especies que conforman del clado B, *C. inconsiderata* y *C. paulseni* ocupan la región de este ACMR y habrían especiado *in situ*. Sin embargo, en *C. paulseni* se observa un “salto” en uno de sus linajes para ocupar recientemente la Cordillera de la Costa (CC) (ver Fig 11, clado B). Luego se observa un salto importante desde DC a CC en el ACMR del clado C, la primera rama del ACMR del clado D, se mantiene en la misma área (CC) y permite la especiación de *C. penai* en el Cordón de Cantillana (*i.e* CC). Posteriormente, en este mismo clado, existe un segundo salto que retorna a DC al ACMR de *C. hibrida*, *C. rufocastanea* y *C. multicosta*. Sin embargo, hay un tercer salto, que retorna nuevamente hacia CC, dando origen a *C. hibrida* en la zona de Cerro Poqui (al sur del Cordón Cantillana). Finalmente, las especies *C. rufocastanea* y *C. multicosta* especian en DC, en la misma área de distribución de su ACMR (Fig 10, clado D). Por otra parte, hay un nuevo salto desde CC a la Cordillera de los Andes del Sur (AS) en el ACMR del clado E. Esta área de distribución se mantiene en el ACMR del clado F. Dentro del clado F, hay dos saltos simultáneos, ambos a la Cordillera de los Andes Central (AC), los que dan origen a las especies *C. andina* y *C. rugosa*. En esta última especie, se observa un nuevo salto en uno de sus linajes para ocupar recientemente AS. Finalmente, dentro de este clado hay un último salto a AS que permite la especiación de *C. planiuscula* (Fig 11, clado F)

Luego volviendo al ACMR del clado E, hay un salto que permite una gran ocupación del ACMR del clado G a las áreas CC y DC combinadas. Esta misma gran área la ocupa el ACMR del clado H, que por simple pérdida de área, da origen en DC a las diferentes especies del clado H. Por otra parte, el ACMR de G se dispersa a la Cordillera de la Costa del Pehuenar (CP) y gana una área de distribución (*i.e* CC+CP) originando la especiación de *C. inflata*, especie presente en la actualidad en la cordillera de la costa de la VII región y en la cordillera de Nahuelbuta. Mientras que por la otra rama, hay un salto desde la CC+CP a AS en el ACMR del clado conformado por las especies *C. sp7*, *C. rossi*, *C. carbonaria* y *C. riverai*. Desde este ancestro, en una rama presenta un nuevo salto desde AS a CP, dando origen a *C. rossi*, especie endémica de la cordillera de Nahuelbuta y nuevamente otro salto que retorna a AS, que permite la especiación de *C. sp7*, especie de la Cordillera de las Raíces. Por la otra rama, las especies *C. riverai* y *C. carbonaria* habrían especiado *in situ*, en la misma área de distribución de su ACMR. Además, la otra rama del ACMR del clado I, da origen a un subclado cuya área ancestral de distribución sería CC y está compuesto por las especies *C. cantillana*, *C. macrocosta*, *C. pehuenche* y *C. unicosta-montana*. La primera rama que sale de este ACMR pertenece a *C. cantillana*, y mantendría esta distribución en CC y actualmente es un componente endémico de Altos de Cantillana. Sin embargo, por la otra rama hay un salto desde CC a AC+AS que da origen al ACMR de las especies *C. macrocosta*, *C. pehuenche* y *C. unicosta-montana*. Desde este ancestro, se da origen en la misma área de distribución a *C. macrocosta*, mientras que por la otra rama aparece un nuevo linaje dentro del área de distribución del ACMR y pasa de AC+AS a solo AS como área de distribución de las especies *C. pehuenche*, *C. unicosta-montana* y de su ACMR (Fig. 11, clado I).

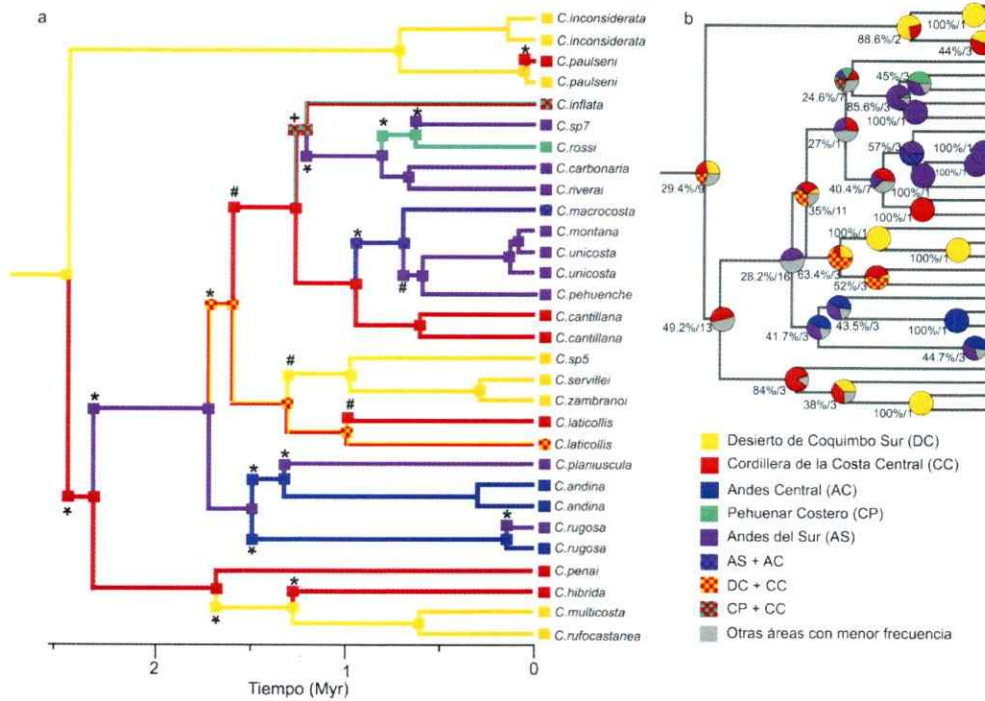


Figura 11. Estimación de la distribución del ancestro común más reciente de *Callyntra* mediante el modelo DEC+j. a) La filogenia con el área ancestral más probable representada en los nodos. Las esquinas son utilizadas sólo para indicar cuando hay cambios de área de distribución inmediatamente después de la cladogénesis. El asterisco indica los cambios de distribución asociados a saltos, la cruz indica cambios de distribución asociados a eventos de dispersión y el numeral indica cambios asociados a eventos vicariantes. b) gráficos de tortas en los nodos muestran la probabilidad relativa de los posibles estados de las áreas de distribución (25 combinaciones en total). Valores en las ramas corresponden al porcentaje asignado al área ancestral asignada para el nodo y número de áreas probables para cada nodo.

Discusión

Sistemática filogenética y taxonomía

Al comparar los árboles resultantes de este estudio (*i.e.* COI, 16S, Mp20, COI+16S y COI+16S+Mp20), ninguno de ellos coincide con la hipótesis filogenética propuesta por Flores & Vidal (2000b) en base a morfología (Fig. 1). Además, ninguna de las relaciones filogenéticas propuestas en base a morfología, coincide con las conseguidas en este trabajo. Esta discordancia filogenética es esperable debido a la naturaleza que poseen los datos. Se ha documentado que la morfología tiene una baja resolución filogenética, debido a que al estar bajo constante selección natural, conlleva a la convergencia adaptativa de los caracteres en especies que habitan en ambientes similares o poseen hábitos tróficos parecidos (Dávalos et al. 2012). La evolución convergente resulta de la adaptación ecológica a un ambiente en particular lo que podría generar homoplasias y conflictos en la filogenia morfológica debido al uso de caracteres convergentes (Wiens et al. 2003). Esto se puede observar en la filogenia morfológica de *Callyntra* de Flores & Vidal (2000c), la que presenta muchas homoplasias (Fig. 1: líneas blancas en las ramas).

Esta posible convergencia adaptativa, puede ser observada muchas veces en la hipótesis filogenética que se propone. Esto se observa en los clados B, D (excepto *C. penai* y *C. hibrida*) y H, en donde las especies presentan el morfo típicamente “costero” (*i.e.* élitros angostos y lisos, costas secundarias en los élitros, pronoto más ancho que los élitros). Todas estas especies son morfológicamente similares entre si (ver Fig. 4 a y b), lo que ha conllevado a algunas confusiones taxonómica (Zúñiga-Reinoso en prep.). Por otra parte, también hay evidencia de convergencia morfológica en las especies que viven en altura, así las especies que componen los clados F (excepto *C. planiuscula*) e I (excepto *C. inflata*), presentan élitros arrugados, sin costas secundarias en los élitros y los élitros

mas anchos que el pronoto, lo que las convierten en especies difíciles de distinguir entre sí (ver Fig 4c, e y f) . Finalmente, las especies *C. penai*, *C. hibrida*, *C. planiuscula*, *C. inflata* presentan una morfología externa similar entre sí, siendo todas habitantes de zonas de media altura (entre los 500 a los 900 m.s.n.m), y ninguna de estas poseen un ancestro en común, estando repartidas en diferentes clados. Se caracterizan por tener los élitro lisos, con una costa en cada élitro y los élitros mas anchos que el pronoto (ver Fig. 4 d y g).

Por otra parte, la filogenia morfológica sólo fue realizada con las 17 especies que hasta esa fecha estaban descritas (Flores & Vidal 2000c). Recientemente se han descrito cinco nuevas especies para el genero *Callyntra* en base a taxonomía clásica (Zúñiga-Reinoso & Cid-Arcos 2013, 2015; Aceituno & Guerrero, 2014 y Zúñiga-Reinoso 2015), las cuales fueron consideradas dentro de la filogenia molecular, lo que le daría mayor robustez a esta hipótesis filogenética.

En general, la mayoría de las identidades propuestas en base a taxonomía clásica y a la filogenia morfológica (ver Flores & Vidal 2000a, 2000b, Zúñiga-Reinoso & Cid-Arcos 2013, 2015; Aceituno & Guerrero, 2014 y Zúñiga-Reinoso 2015) fueron recuperadas y sustentadas por la aproximación filogenética molecular. Sin embargo, en el caso particular de las especie *C. montana*, ninguna reconstrucción logro separarla de *C. unicosta* y se propone que ambas especies deben ser sinonimizadas. Esta última especie es altamente polimórfica, ya que además de la forma *C. montana*, hubo algunos morfos (no coincidentes a ningún taxón descrito), que fueron agrupados dentro del clado *C. unicosta* (ver Fig 6). Muchos procesos evolutivos pueden explicar este problema, como por ejemplo reciente divergencia filogenética, alta plasticidad fenotípica y/o barreras blandas para el flujo génico entre ecotipos (Dumnill *et al.* 2012). Estos procesos suelen ser considerados cuando se trata de definir un complejo de especies que presentan

algunas diferencias morfológicas. Por lo tanto, se sugiere que esta agrupación con diversos morfos y divergencia filogenéticas recientes (ramas cortas) debería ser tratado como "complejo *unicosta*".

Por otra parte, la evidencia molecular sugiere al menos dos nuevas especies putativas, designadas aquí como *C. sp5* y *C. sp7*, dispuestas dentro del clado H e I respectivamente. La revisión preliminar de la morfología externa y de la genitalia de los machos de estas especies, presentan varios caracteres que permiten diferenciarlas fácilmente del resto de las especies de *Callyntra*, lo que sustentaría aún mas la hipótesis de nuevas especies. Además, existen divergencias profundas en los linajes de las especies *C. cantillana* y *C. inflata* (ver Fig. 6), que sugieren diferenciación genética suficiente (*i.e* comparada con las otras divergencias en el árbol) para considerarlas como especies diferenciadas. En el caso de *C. inflata*, Flores & Vidal (2000b) en base a morfología, sinonimizaron a la especie *C. opaca* con *C. inflata*, ambas especies propuestas por Peña (1994 y 1974 respectivamente). Bajo la nueva evidencia filogenética molecular, probablemente las especies sugeridas por Peña (1974, 1994), deban ser revalidadas con una revisión más profunda.

Finalmente, los resultados sugieren posibles eventos de hibridación entre las especies no hermanas *C. macrocosta* y *C. rugosa* en el sector de Termas del Flaco, debido a que dos individuos adscritos a *C. macrocosta*, se agruparon en el clado de *C. rugosa* (ver Fig. 6). La hibridación natural en Tenebrionidae es un fenómeno poco estudiado y ocurriría entre especie que presentan una distribución simpátrica, con la misma preferencia de hábitat y ritmo de actividad (Leo & Fattorini 2002). Estas características serían concordantes con ambas especies, las que se distribuyen simpátricamente e incluso en observaciones de campo, se registraron apareamientos de ambas especies de *Callyntra* (Fig 4e).

Finalmente, la filogenia presenta bajos valores de bootstrap en algunos de los clados intermedios. Por una parte, estos bajos valores de soporte podrían deberse a la incertidumbre taxonómica que pudiese tener el árbol. Sin embargo, en esta filogenia se cuenta con casi la totalidad de las especies descritas y el bajo valor de soporte en el clado F, podría deberse a una incertidumbre filogenética (también se puede observar en el DensiTree, Fig 6). En dicho clado, es justamente donde debería estar presente la especie *C. subrugosa*, la única especie descrita que no fue posible obtener para este estudio. Por otra parte, los bajos valores de soporte, pueden deberse a una diversificación del grupo extremadamente rápida (Knowles 2009), ya que normalmente, las filogenias con genes concatenados, suelen entregar valores elevados de sustento. Sin embargo, también podría estar influyendo la incongruencia entre los loci concatenados (Dávalos et al. 2012), dado que los resultados muestran una incongruencia parcial entre las filogenias realizadas con los diferentes loci utilizados (ver en Fig. 5)

Patrones de diversificación en Callyntra

Los resultados sugieren que el inicio de la diversificación de *Callyntra* es coincidente con el inicio del Pleistoceno, período de climas hiperáridos en la vertiente occidental de Sudamérica, debido a la sombra de lluvia producida por el levantamiento de los Andes (Villagrán & Hinojosa 1997). Este evento habría favorecido a la diversificación del género *Callyntra*, (ver Fig. 9), lo que coincide con el inicio del tiempo de divergencia encontrados en otros coleópteros de sistemas áridos de África, como los tenebriónidos del género *Onymacris* (Lamb & Bond 2013) y para los escarabajos del subgénero *Pachysoma* (Sole et al. 2005). Esta evidencia reforzaría la hipótesis sobre la ocurrencia de especiación durante el Pleistoceno (Hewitt 1999, Knowles 2000). Esto se debería a que durante los periodos glaciales, los Andes de Chile Central fueron cubiertos por

hielo, lo que llevo a que la flora y fauna de altamontaña descendiera a los valles centrales y/o se desplazara hacia el norte (Hellmich 1951, Vuilleumier 1971, Brown 1971, Fuentes & Jaksic 1979, Villagran et al. 1998). Mientras que durante los periodos interglaciales, las especies que estaban en los valles centrales, contraerían su distribución al recolonizar o colonizar las alturas de los Andes o de la cordillera de la Costa, lo que conllevaría a una disyunción por los valles que separan las montañas (Hellmich 1951, Fuentes & Jaksic 1979). La (re)colonización de las alturas después de refugiarse en zonas bajas libres de hielo (e.g valles centrales y/o costa) durante las glaciaciones, conocido como modelo de especiación de montaña o de islas de altura, jugaría un rol importante en los patrones de diversificación del genero *Callyntra*, ya que la evidencia sugiere que es durante los periodos interglaciales donde ocurriría la diferenciación de las especies (Fig. 7). Es por ello, que existen especies de la cordillera de la costa (e.g *C. cantillana*, *C. rossi*, *C. hibrida*) que poseen especies hermanas en los Andes y en las terrazas costeras. Esto también pasa a nivel de clados, donde clados costeros son hermanos de clados Andinos (eg clado H con clado I) (ver Fig. 5a). Este fenómeno no solo ocurre de forma longitudinal, sino que también latitudinal en las mismas áreas de distribución (i.e. Andes, cordillera de la Costa y costa), es así que las especies de *Callyntra* pueden tener a las especies hermanas en el mismo cordón montañoso, pero mas al sur o norte. Ejemplo de esto es lo que sucede con las especies del clado F y probablemente entre la especie *C. unicosta*, donde su especie hermana, *C. pehuenche*, se encuentra inmediatamente al sur del río Maule y en una altura mayor. En este sentido, los valles transversales de Chile, también se han propuesto como una barrera para el flujo génico y dentro de los más importantes están los valles asociados al río Maule y al río Bío Bío (Vuilleumier 1971), donde además de la separación por las alturas, está la barrera del río que descarga por los valles. Por otra parte, el crecimiento

de los ríos durante los interglaciales puede ser un importante factor de especiación para las especies costeras, donde la amplitud de los ríos cerca de la costa de ríos andinos y costeros podrían funcionar como barrera sin necesidad de estar en “isla de altura”. Esto podría estar sucediendo en el clado I, donde todas las especies son costeras (excepto un linaje de *C. laticollis*) o entre las especies *C. multicosta* y *C. rufocastanea* en el clado D (Fig. 5a).

A pesar de que la mayor parte de la evidencia sustentaría la hipótesis de especiación de montaña, también existe evidencia que sugiere especiación en bolsones, durante los periodos glaciales (Fig. 8). Son los casos de las divergencias entre la especie andina *C. macrocosta* y el grupo andino *C. unicosta*-*C. pehuenche*, la divergencia de las especies andinas *C. riverai* y *C. carbonaria* y la separación de los linajes de *C. paulseni*, especies que se distribuye mayoritariamente en la cordillera de la costa. Esto ocurriría debido a la existencia de refugios libres de hielo (*i.e* bolsones) que habrían tenido separada a las poblaciones durante los periodos glaciales provocando la divergencia (Fuentes & Jaksic 1979). Se han documentado, algunos refugios en la zonas andinas del centro-sur de Chile al norte de los 36° S (refugios de valles) y refugios en toda la costa de Chile, tanto para plantas como para vertebrados (Sérsic et al. 2013). Tanto *C. unicosta*, *C. carbonaria* y el linaje de la cordillera de la costa de *C. paulseni*, tienen actualmente un amplio rango de distribución, en contraste con sus especies (o linajes) hermanas, las cuales tienen un rango de distribución acotado (ver en Fig. 2). Esto podría ser una señal de que las especies quedaron separadas en pequeños refugios de altura, tanto en la cordillera de los Andes, como de la costa y que posterior a la retirada de los hielos, expandieron su rango de distribución, logrando en algunos casos contacto secundario (linajes de *C. paulseni*) y otras habrían quedado definitivamente aisladas, promoviendo la diferenciación (*C. macrocosta* y *C. riverai*). Hasta ahora, este esquema

de especiación en bolsones ha sido propuesto para roedores, algunas lagartijas (Fuentes & Jaksic 1979) y coleópteros de la familia Cleridae (Solervicens 1987).

Por otra parte, la oscilación climática glacial-interglacial aunque es cíclica, parece seguir un patrón constante en el tiempo y la diversificación de *Callyntra*, parece seguir también este patrón (Fig. 9) y donde las alzas de especiación del género *Callyntra* (Fig. 10b) parecen estar ligados a periodos interglaciales largos (Lisiecki & Raymo 2005). Esto permitiría que los periodos de disyunción entre las alturas sean más largos y permitan la diferenciación necesaria entre los linajes, para que ocurra el aislamiento reproductivo y el no reconocimiento en un posible encuentro durante los periodos glaciales cuando las especies bajan de las alturas. En este sentido, se ha propuesto que el no reconocimiento entre linajes podría verse acelerado por la fuerte selección sexual, que existe en los aparatos copuladores, lo que aceleraría el aislamiento reproductivo (Eberhard 1993), asociado a la estructura tipo llave-cerradura de los órganos copuladores de los insectos. En general, las especies de *Callyntra* son morfológicamente muy similares, probablemente debido a una convergencia adaptativa al ambiente (ver arriba y Fig. 4) y se diferencian principalmente en la forma de la genitalia de los machos (ver Zúñiga-Reinoso & Cid 2013, 2015).

Por otra parte, parecen haber tres periodos de “estasis” evolutivas (Fig. 9), los cuales parecen estar ligados a periodos donde los periodos glaciales parecen haber sido largos (ver en Lisiecki & Raymo 2005, Martínez-Méndez et al. 2013), lo que conllevaría a la inexistencia de aislamiento reproductivo (excepto para las especies que quedaron en bolsones). Finalmente, la especiación reciente en las alturas evidenciada por los datos de *Callyntra*, sugiere que el conservadurismo de nicho, es el modelo ecológico que subyace esta hipótesis, donde las especies siguen su nicho fundamental en el tiempo (Wiens & Graham 2005), lo que explicaría el sube-baja-sube de las especies de

Callyntra a través de los diferentes ciclos glaciales-interglaciales. Este conservadurismo de nicho, podría deberse a la posible estrecha relación entre *Festuca* sp. y el desarrollo del ciclo de vida de *Callyntra*, donde las especies de *Callyntra* seguirían los cambios de distribución de esta planta. En este sentido, se ha documentado cambios en la distribución vegetacional de la costa de Chile central durante la última glaciación, donde habría predominado una vegetación precordillerana y de gramíneas (Valero-Garcés 2005). Este mecanismo de seguimiento de la vegetación se ha sugerido para la especie *Nyctelia confusa*, un género emparentado con *Callyntra* y que también tendría una estrecha relación con las gramíneas del género *Festuca* sp. (Zúñiga-Reinoso *et al.* 2015)

Historia biogeográfica de Callyntra

El análisis de distribución ancestral sugiere que el Desierto de Coquimbo Sur (DC) es el área ancestral del género. Desde esta área ancestral, las especies han ido colonizando nuevas áreas biogeográficas, principalmente por “saltos” y este hecho es lo que estaría promoviendo diferenciación dentro de *Callyntra* (Fig. 11). Estos saltos que son coincidentes con los periodos interglaciales (Fig. 8), correspondería con la colonización de *Callyntra* a nuevas áreas (*i.e* nuevas “islas de altura”) por una fracción de la población ancestral que estuvo refugiada en los valles centrales o en la costa, lo que significaría que el modelo de especiación que subyace al patrón filogenético encontrado es el de evento fundador (Matzke 2013, 2014). El modelo de evento-fundador ha sido ampliamente utilizado para explicar la especiación en los sistemas insulares (Templeton 2008, Matzke 2014). En este contexto, los resultados sugieren que las cumbres de las cordilleras de Chile central, estarían actuando como islas en las alturas para *Callyntra*, tal como lo que ocurriría para otros insectos de alta montaña en el mundo (Knowles 2000, Toussaint *et al.* 2013, Sekar & Karanth 2013). Este modelo de especiación de

montaña o de islas de altura fue propuesto tempranamente para la fauna de Chile por Hellmich (1951) y ha sido sugerido en base a patrones de distribución para diferentes taxa, como lagartijas (Hellmich 1951, Fuente & Jaksic, Nuñez 2007, Cienferoni et al. 2013), coleópteros (Elgueta 1988) y también para plantas (Villagrán & Armesto 2005), sin ser puesta a prueba hasta ahora de forma explícita, mediante métodos que usan una aproximación filogenética. En general, para *Callyntra* la direccionalidad de la colonización por efecto fundador en el tiempo van desde el Desierto de Coquimbo Sur, a la Cordillera de la Costa y desde esta a la Cordillera de los Andes, para colonizar la porción sur de la Cordillera de la costa y Desierto de Coquimbo (VI-VII regiones), y finalmente dispersar hacia la Cordillera del Pehuenar y desde aquí colonizar a los Andes del Sur de las regiones VIII y IX (Fig. 11). Estos cambios zigzagueantes, tienden a ir al sur, a nuevos lugares nunca antes ocupado por *Callyntra*. Es así que el evento fundador de DC a CC, hace 2,28 My, podría estar relacionado con el pico de diversificación en ese periodo. Este patrón se repite con las alzas de especiación en el salto desde AC, al área CC hace 1,57 My (colonización del Sur costero) y a la ocupación de AS del Bío-Bío y Araucanía a los 1,23 My (ver Fig. 10 y 11). Por lo tanto, la diversificación en el grupo sería promovida por la llegada a nuevos ambientes con nichos desocupados. En este sentido, se ha postulado que en las alturas de los Andes, la disposición de nuevos nichos post retirada glacial, podría producir eventos de radiación debido a una especiación ecológica (Hughes & Eastwood 2006). Como se discutió anteriormente, existen evidencias de adaptaciones ecológicas a las diferentes alturas (ver Fig. 4), lo que podría ajustarse a lo que sucede con *Callyntra*. Este fenómeno de partición altitudinal debido a la estrecha relación entre el fenotipo y el ambiente, ha sido propuesta para lagartijas del genero *Liolaemus*, donde también se ha propuesto una diversificación por el fenómeno de islas de altura (Fuentes & Jaksic 1979). Cabe destacar que existen dos

periodos de estasis evolutiva previos a saltar a nuevas áreas de distribución (Fig. 8: entre los 1,7-2,3 y los 0,97-1,2 My). Esto podría tratarse del denominado tiempo de ausencia evolutiva (“*evolutionary lag time*”), que es el tiempo que transcurre cuando se desarrolla un hábitat en una región y luego es colonizado por un determinado clado (Guerrero et al. 2013). Por lo tanto, si un linaje se demora en colonizar un nuevo hábitat (tiempo de ausencia evolutiva) podría deberse a que este linaje carecería de las adaptaciones necesarias para invadir dicho hábitat.

Por otro lado, hay algunas excepciones a este patrón de “saltos” en la filogenia, como lo que ocurre en las especies costeras del clado I y en el clado D con las especies *C. multicosta* y *C. rufocastanea*, donde las especies se diferencian en el misma área de su ACMR. En casos como este, Matzke (2014) sugiere que la especiación debería estar asociado a un modelo de especiación simpátrica. Sin embargo, el área del DC es un área que abarca una gran extensión de territorio, desde la V a la VIII región aproximadamente (ver Fig. 3). En esta extensión, eventos alopátricos mediados por ríos pudieron haber ocurrido, ya que en esta zona es donde desembocan tanto los ríos andinos como costeros que fragmentan el territorio, lo que podría explicar de forma más simple la especiación en estas áreas. Sin embargo, en el caso de las especies hermanas, *C. zambranoi* y *C. servillei*, podría tratarse efectivamente de una especiación simpátrica, ambas especies se encuentran exactamente en la misma localidad y ocupan el mismo ambiente. Morfológicamente ambas especies son similares (Aceituno & Guerrero 2014), y sólo se diferencian por la considerable diferencia de tamaño entre ambas especies y la genitalia de los machos. Además, son las especies con menor tiempo de divergencia (i.e 0,27 My), lo que haría menos probable la posibilidad de especiación por vicarianza y posterior contacto secundario, en el acotado rango de distribución de ambas especies en las terrazas costeras de la zona de Pichilemu (ver Fig. 2).

Finalmente, esta reconstrucción de las áreas ancestrales muestra repetidos retornos hacia el área de cordillera de la Costa (central y pehuenar), y hacia la cordillera de los Andes. Muchas de estas especies y linajes de *Callyntra* que colonizan estas zonas, actualmente presentan “microendémismo”, con rangos de distribución acotado sólo a algunas cumbres. Muchas de estas cumbres, presentan más de una especie “microendémica”, tales es el caso de la Cordillera de Cantillana (3 spp.), la Cordillera de Santiago (2 spp.), la Cordillera de Nahuelbuta (2 spp.) y la Cordillera de Parral (2 spp.). Además, las especies que ocupan las mismas cumbres no comparte un ancestro en común, lo que sugiere que estas cumbres han servido múltiples veces como zonas de refugio durante los periodos interglaciales del Pleistoceno. En Chile, no se han propuesto refugios para especies adaptadas a climas áridos y fríos, como las especies de *Callyntra* de alturas, en donde los periodos interglaciales obligan a las especies restringir su distribución en refugios de altura. Por otra parte, tradicionalmente la costa de Chile ha sido ampliamente documentada como una zona de refugio durante las glaciaciones del Pleistoceno, tanto para la flora como para la fauna (Sérsic et al. 2013). En este sentido, la evidencia muestra que el ACMR de las especies costeras una vez que colonizan la costa, se mantienen prácticamente sin cambios de distribución y especian *in situ* debido probablemente a la estabilidad ambiental, lo que podría ser señal de que la costa también pudo haber sido refugio para las especies que ocupan esta área.

Conclusión

En este trabajo se hace una reevaluación de la sistemática del género *Callyntra* mediante marcadores moleculares, el cual aporta una nueva hipótesis filogenética y cuya topología permite clasificar al grupo en cinco clados, así como también revela nuevos linajes que pueden ser considerados como nuevas especies. Por otra parte, se puso a prueba a través de la filogenia, los procesos evolutivos que subyacen a la diversidad actual del género *Callyntra* y como estos procesos sirven para explicar el patrón de distribución actual del grupo. En este sentido, se evidenció que es durante el Pleistoceno donde comienza la diversificación de *Callyntra*, asociado principalmente al modelo de especiación de montaña-islas durante los periodos interglaciales. También se encontró que hay una relación entre la diversificación y la colonización a nuevos lugares, previo a tiempos de estasis evolutiva. La colonización a nuevos lugares por eventos fundadores, disponibilidad de nicho y selección sexual podrían estar interactuando fuertemente en la rápida divergencia de las especies del género *Callyntra* en periodos cortos de tiempo. Este patrón evolutivo explica entonces la alta riqueza de especies y endemismo de *Callyntra* en ambas cordilleras y costa de Chile central.

Tabla 2. Cuadro de resumen con las predicciones de la investigación y resultados obtenidos para cada una de ellas.

Predicción	Resultados
Se espera que los tiempos de diversificación del género <i>Callyntra</i> comiencen a los 2,5 millones de años antes del presente y se mantenga constante en el tiempo y que los tiempos de divergencia estén relacionado a periodos interglaciales.	La filogenia reconstruida con todos los genes sugieren que la divergencia comenzaría el Pleistoceno (2,41 Myr) y se ha mantenido constante en el tiempo ($R^2 = 0,95$, $p > 0,01$). La mayoría de las cladogénesis están relacionados a periodos interglaciales ($n=27$). Sin embargo, también hay evidencia de eventos de divergencia durante periodos glaciales ($n=3$).
Se espera que el ancestro común más reciente del género <i>Callyntra</i> tenga un origen costero y que la colonización a las alturas de la Cordillera de la Costa y los Andes daría paso a la especiación por eventos fundadores.	Mediante a la topología del árbol obtenida con todos los genes se infirió que el ACMR de <i>Callyntra</i> tuvo una distribución en el Desierto Costero de Coquimbo (DC) y luego fue colonizando (saltos) nuevas áreas de distribución conllevando especiación por eventos fundadores.
Se espera que los mayores pulsos de diversificación del género <i>Callyntra</i> coincidan con la colonización a nuevas áreas de distribución .	En la estimación de la tasa de diversificación en el tiempo se observaron cuatro picos de máxima diversificación dentro de la filogenia de <i>Callyntra</i> . La primera está ligado a la llegada del ACMR a la costa de Chile. La segunda esta relacionado con la colonización de la cordillera de la Costa y la tercera con la llegada a la cordillera de la costa y costa del sur. Finalmente la cuarta estaría ligada a la colonización de <i>Callyntra</i> a los Andes del Sur.

LITERATURA CITADA

- Aceituno, G. & M. Guerrero. 2014. Nuevas especies de *Callyntra* (Coleoptera: Tenebrionidae) de Chile central. *Revista Chilena de Entomología*, 39, 05-11.
- Alexandrino, J., E. Froufe, J.W. Arntzen & N. Ferrand. 2000. Genetic subdivision, glacial refugia and postglacial recolonization in the golden-striped salamander, *Chioglossa lusitanica* (Amphibia: Urodela). *Molecular Ecology*. 9: 771-781.
- Altekar, G., S. Dwarkadas, J.P. Huelsenbeck & F. Ronquist. 2004. Parallel Metropolis-coupled Markov chain Monte Carlo for Bayesian phylogenetic inference. *Bioinformatics*. 20:407-415.
- Beheregaray, L.B. 2008. Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. *Molecular Ecology*. 17:3754-3774.
- Brown, J.H. 1971. Mammals on mountaintops: nonequilibrium insular biogeography. *The American Naturalist*. 171: 467-478.
- Brown, J.H. & M.V. Lomolino. 1998. *Biogeography*. Segunda edición. Sinauer Associates, Inc., Publishers Sunderland. Massachusetts. 691pp.
- Cabrera, A. L., & A. Willink. 1980. Biogeografía de América Latina. Ser. Biol. OEA Monogr. 13.
- Cianferoni, F., R.P. Yáñez, R.E. Palma, C.F. Garín & F. Torres-Pérez. 2013. Deep divergences within *Liolaemus nigroviridis* (Squamata, Liolaemidae) lineages associated with Sky Islands in Central Chile. *Zootaxa*. 3619: 59-69.

- Clapperton, C.M. 1993. Nature of environmental changes in South America at the last glacial maximum. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 101: 189-208.
- Clapperton, C.M., 1994. The Quaternary glaciation of Chile: a review. *Revista Chilena de Historia Natural*. 6: 369-383.
- Cloudsley-Thompson, J. 2001. Thermal and water relations of desert beetles. *Naturwissenschaften*. 88: 447-460.
- Dávalos, L.M., A.L. Cirranello, J.H. Geisler & N.B. Simmons. 2012. Understanding phylogenetic incongruence: lessons from phyllostomid bats. *Biological Review*. 87:991–1024.
- Drummond, A.J. & A. Rambaut. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*. 7: 214.
- Duminil, J., D. Kenfack, V. Viscosi, L. Grumiau, O.J. Hardy. 2012. Testing species delimitation in sympatric species complexes: The case of an African tropical tree, *Carapa* spp. (Meliaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 62: 275-285.
- Ederhard, W.1993. Evaluating models of sexual selection: genitalia as a test case. *The American naturalist*. 142 (3): 564-571.
- Elgueta, M. 1988. Insectos epigeos de ambientes altomontanos en Chile Central: algunas consideraciones biogeográficas con especial referencia a Tenebrionidae y Curculionidae (Coleoptera). *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural*. 41: 125-144.

Espizúa, L.E. 2002. Glaciaciones Cuaternarias en el valle del río Mendoza, Andes argentinos. *En*: Trombotto, D. y R. Villalba (eds). *IANIGLA, 1973-2003: 30 años de Investigación Básica y Aplicada en Ciencias Ambientales*. Editorial ZETA. Editores, Mendoza, Argentina. 269 pp.

Fairmaire, L. 1885. Descriptions de deux nouvelles espèces de coléoptères. *Bulletin de la Société entomologique de France*. 1885: 140 -141

Fairmaire, L. 1876. Révision des coléoptères du Chili. Famille des Tenebrionidae, Tribu des Nyctélites. *Ann. Soc. Entomol. Fr.* 5: 143-170,341-383.

Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.

Flores, G. E. 1997. Revisión de la tribu Nycteliini (Coleoptera: Tenebrionidae). *Rev. Soc. Ent. Argent.* 56:1-19.

Flores, G. E & P. Vidal. 2000a. Cladistic analysis of the Neotropical tribe Nycteliini (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of New York Entomological Society*. 108:13-25.

Flores, G. E. & P. Vidal. 2000b. Revalidation and systematic revision of the Chilean genus *Callyntra* Solier (Coleoptera: Tenebrionidae). *Annals of the Entomological Society of America*. 93(5): 1052-1075.

Flores G.E. & P. Vidal. 2000c. Cladistic analysis of the Chilean genus *Callyntra* Solier (Coleoptera: Tenebrionidae), with description of a new species. *Journal of New York Entomological Society*. 108:187-204.

Fuentes, E.R. & F.M.Jaksic. 1979. Lizards and rodents: an explanation for their relative species diversity. *Archivos de Medicina y Biología Experimental*. 12:179-190.

- Germain, P. 1854. Descripción de 21 especies nuevas de Coleópteros de Chile. *Anales de la Universidad de Chile* 11: 326-336.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 41: 95-98.
- Hellmich, W. 1951. On ecotypic and autotypic characters, a contribution to the knowledge of the evolution of the genus *Liolaemus* (Iguanidae). *Evolution*. 5:359-369
- Hewitt, G., 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*. 405: 907-913.
- Hewitt, G., 2004. Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 359: 183-195.
- Huelsenbeck, J. & F. Ronquist. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*. 17:754-755.
- Hughes, C. & R. Eastwood. 2006. Island radiation on a continental scale: Exceptional rates of plant diversification after uplift of the Andes. *PNAS*. 103: 10334-10339.
- Jerez, V., A. Zúñiga-Reinoso, C. Muñoz-Escobar & J. Pizarro-Araya. Acciones y Avances sobre la conservación de insectos de Chile. *Gayana (Concepción)*. 79: 1-3.
- Knowles L. L. 2000. Tests of Pleistocene speciation in montane grasshoppers from the sky islands of western North America (Genus *Melanoplus*). *Evolution*. 54: 1337-1348.
- Knowles, L.L. 2001. Did the Pleistocene glaciations promote divergence? Tests of explicit refugial models in montane grasshoppers. *Molecular Ecology*. 10: 691-701.
- Kozak, K. H., & J. J. Wiens. 2010. Accelerated rates of climatic niche evolution underlie rapid species diversification. *Ecology Letters*. 13: 1378-1389.

Kulzer, H. 1954. Neunter Beitrag zur Kenntnis der Tenebrioniden (Col.) Eine Studie über die Tribus Nycteliini. *Entomol. Arbeiten aus dem Museum G. Frey, Tutzing bei München*. 5: 145-267.

Lacordaire, J. T. 1859. Histoire Naturelle des Insectes. Genera des Coléoptères, vol. 5. Paris.

Lamb, T. & J.E. Bond. 2013. A multilocus perspective on phylogenetic relationships in the Namib darkling beetle genus *Onymacris* (Tenebrionidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 66: 757-765.

Leo, P. & S. Fattorini. 2002. Discovery of natural hybridization in tenebrionid beetles (Coleoptera : Tenebrionidae). *Entomological News*. 113:113-120.

Matzke, N. J. 2013. Probabilistic historical biogeography: new models for founder-event speciation, imperfect detection, and fossils allow improved accuracy and model-testing. *Frontiers of Biogeography*. 5: 242-248.

Matzke, N.J. 2014. Model Selection in Historical Biogeography Reveals that Founder-event Speciation is a Crucial Process in Island Clades. *Systematic Biology*. 63: 951-970

Martínez-Méndez, G., D. Hebbeln, M. Mohtadi, F. Lamy, R. De Pol-Holz, D. Reyes-Macaya & T. Freudentha. 2013. Changes in the advection of Antarctic Intermediate Water to the northern Chilean coast during the last 970 kyr. *Paleoceanography*. 28 (4). 607-618

McCulloch, R., M. Bentley, R. Purves, N. Hulton, D. Sugden & C. Clapperton. 2000. Climatic inferences from glacial and palaeoecological evidence at the last glacial termination, southern South America. *Journal of Quaternary Science*. 15: 409-417.

- Muellner A. N., Tremetsberger K., Stuessy T., & C. M. Baeza. 2005. Pleistocene refugia and recolonization routes in southern Andes: insights from *Hypochoeris palustris* (Asteraceae, Lactuceae). *Molecular Ecology*. 14: 203–212.
- Myers, N. 1988. Threatened biotas: “Hot spots” in tropical forests. *The Environmentalist*. 8: 1–20.
- Palma, R., E. Rivera-Milla, J. Salazar-Bravo, F. Torres-Perez, U. Pardinas, P. Marquet, A. Spotorno, A. Meynard & T.L. Yates. 2005. Phylogeography of *Oligoryzomys longicaudatus* (Rodentia: Sigmodontinae) in temperate South America. *Journal of Mammalogy*. 86:191–200.
- Papadopoulou, A., I. Anastasiou & A.P. Vogler. 2010. Revisiting the Insect Mitochondrial Molecular Clock: The Mid-Aegean Trench Calibration. *Molecular Biology and Evolution*. 27: 1659–1672.
- Peña L.E. 1966. Ensayo preliminar para dividir Chile en regiones entomofaunísticas, basadas especialmente en la familia Tenebrionidae (Col). *Apartado de la Revista Universitaria*. 51: 210-220.
- Peña, L.E. 1974. Nuevas especies y subespecies de Tenebrionidae (Coleoptera) de Chile y de Argentina, con anotaciones sobre nuevas localidades para Argentina, Bolivia y Chile. *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural*. 33: 109-127.
- Peña, L.E. 1994. Nuevas especies de Tenebrionidae (Insecta-Coleoptera) de la Región Neotropical. *Gayana Zoología*. 58: 151-168.
- Philippi, R. A. & F. H. Philippi. 1864. Beschreibung einiger neuen Chilenischen Käfer. *Stettin. Entomol. Ztg*. 25: 313- 406.

- Posada, D. 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*. 25: 1253-1256.
- Premoli, A., T. Kitzberger & T. Veblen .2000. Isozyme variation and recent biogeographical history of the long-lived conifer *Fitzroya cupressoides*. *Journal of Biogeography*. 27:251-260.
- Rabosky, D.L. 2013. Diversity-dependence, ecological speciation, and the role of competition in macroevolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* . 44: 481-502.
- Rabosky, D.L. 2014. Automatic detection of key innovations, rate shifts, and diversitydependence on phylogenetic trees. *PLoS One*. 9:e89543.
- Roig-Juñent, S. & G. Flores. 2003. Historia biogeográfica de las áreas áridas de América del sur austral. *En: Llorente, J. & J. Morrone (eds.). Introducción a la biogeografía en Latinoamérica: Teorías, conceptos, métodos y aplicaciones*. Las Prensas de Ciencias, Facultad de Ciencias, UNAM. México. 277 pp.
- Roig-Juñent, S., G.E. Flores, F.C. Ocampo & A.B. Smith. 2004. Nuevas citas de Coleoptera para la Argentina (Carabidae, Lucanidae, Scarabaeidae y Tenebrionidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*. 63: 45-48.
- Salaberry-Pincheira N., Garin C.F., González-Acuña D., Sallaberry M.A., Vianna J.A. 2011. Genetic divergence of Chilean long-tailed snake (*Philodryas chamissonis*) across latitudes: conservation threats for different lineages. *Diversity and Distribution*. 17: 152-162.

- Sérsic, A.N., A. Cosacov, A.A. Cocucci, L. Johnson, R. Pozner, L.J. Avila, J. W. Sites Jr. & M. Morando. 2011. Emerging phylogeographical patterns of plants and terrestrial vertebrates from Patagonia. *Biological Journal of the Linnean Society*. 103: 475–494.
- Sole, C.L., C.H Scholtz, A.D.S. Bastos. 2005. Phylogeography of the Namib Desert dung beetles *Scarabaeus* (*Pachysoma*) MacLeay (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Biogeography*. 32: 75–84.
- Solier, A.J.J. 1836. Essai sur les Collaptérides. 5e Tribu: Nyctélites. *Annales de la Société Entomologique de France*. 5: 303-355.
- Solervicens, J. 1987. Filogenia y biogeografía del género *Eurymetopum* Blanchard, 1844 (Coleoptera: Cleridae: Phyllobaeninae). *Acta Entomológica Chilena*. 14: 127-154.
- Swofford, D. 2002. PAUP. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Templeton, A.R. 2008. The reality and importance of founder speciation in evolution. *BioEssays*. 30: 470–479.
- Thompson J.D., D.G. Higgins & T.J. Gibson. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*. 22:4673-4680.
- Torres-Pérez, F., M. Lamborot, D. Boric-Bargetto, C. Hernández, J. Ortiz & R. Palma. 2007. Phylogeography of a mountain lizard species: an ancient fragmentation process mediated by riverine barriers in the *Liolaemus monticola* complex (Sauria: Liolaemidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. 45: 72–81.

Valero-Garcés, B. L., B. Jenny, M. Rondanelli, A. Delgado-Huertas, S.J. Burns, H. Veit & A. Moreno. 2005. Palaeohydrology of Laguna de Tagua Tagua (34°30'S) and moisture fluctuations in Central Chile for the last 46 000 yr. *Journal of Quaternary Science*. 20: 625-641.

Vásquez, M., F. Torres-Pérez & M. Lamborot. 2007. Genetic variation within and between four chromosomal races of *Liolaemus monticola* (Tropiduridae) in Chile. *Herpetological Journal*. 17: 149-160.

Vásquez, D., C. Correa, L. Pastenes, R. E. Palma & M.A. Méndez. Low phylogeographic structure of *Rhinella arunco* (Anura: Bufonidae), an endemic amphibian from the Chilean Mediterranean hotspot. 52:35.

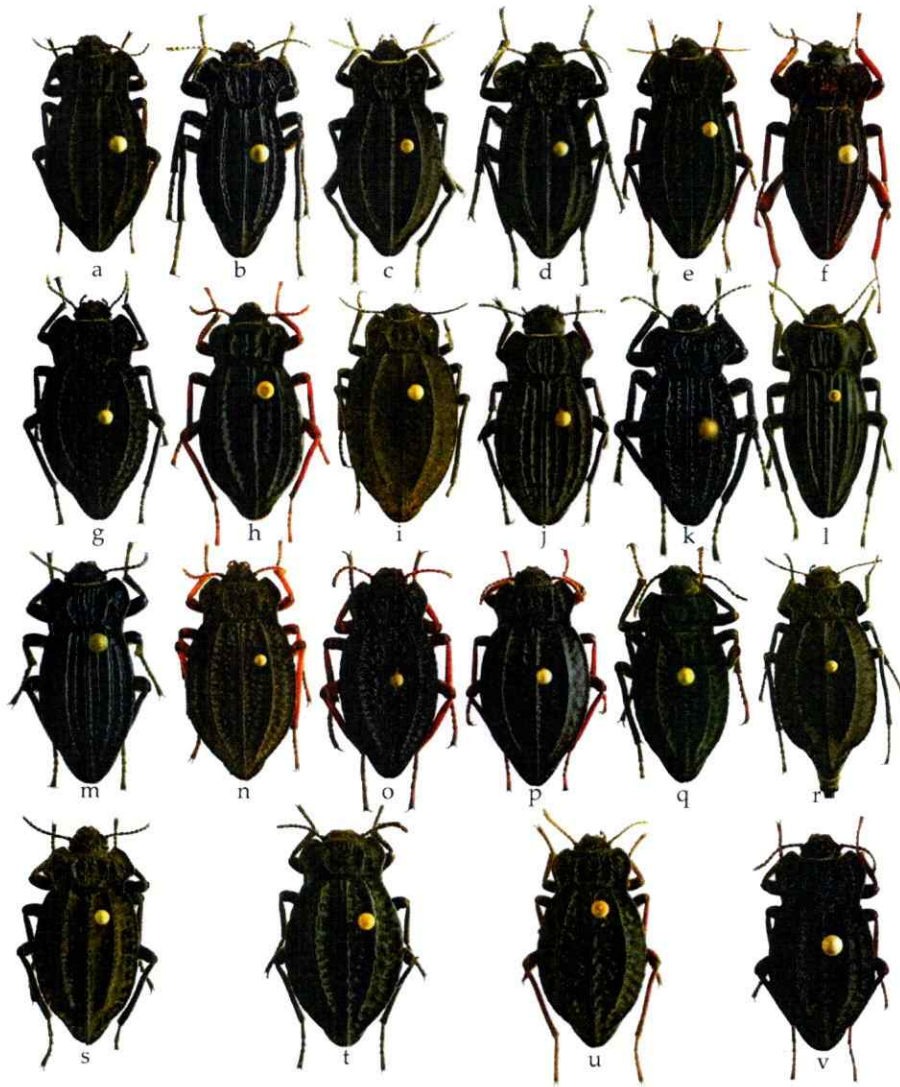
Victoriano, P., J. Ortiz, E. Benavides, J. Byron & J. Sites. 2008. Comparative phylogeography of codistributed species of Chilean *Liolaemus* (Squamata: Tropiduridae) from the central-southern Andean range. *Molecular Ecology*. 17: 2397-2416.

Vidal, P. & M. Guerrero. 2007. *Los Tenebriónidos de Chile*. 1a edición. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 478 pp.

Villagran, C. 2001. Un modelo de la historia de la vegetación de la Cordillera de La Costa de Chile central-sur: la hipótesis glacial de Darwin. *Revista Chilena de Historia Natural*. 74: 793-803.

Villagrán, C. & J.J. Armesto. 2005. *Fitogeografía histórica de la Cordillera de la Costa de Chile*. En: Smith-Ramirez, C., Armesto J.J., Valdovinos, C. Historia, biodiversidad y ecología de los bosques costeros de Chile. Ed. Universitaria. Santiago, Chile.

Material complementario



S1: Especies del genero *Callyntra* consideradas en este estudio (excepto *Callyntra* sp7): a) *Callyntra paulseni*, b) *Callyntra inconsiderata*, c) *Callyntra penai*, d) *Callyntra hibrida*, e) *Callyntra multicosta*, f) *Callyntra rufocastanea*, g) *Callyntra rugosa*, h) *Callyntra andina*, i) *Callyntra planiuscula*, j) *Callyntra laticollis*, k) *Callyntra* sp5., l) *Callyntra zambranoi*, m) *Callyntra servillei*, n) *Callyntra cantillana*, o) *Callyntra macrocosta*, p) *Callyntra unicosta*, q) *Callyntra pehuenche*, r) *Callyntra inflata* (B), s) *Callyntra inflata* (A), t) *Callyntra rossi*, u) *Callyntra carbonaria* y v) *Callyntra riverai*.