

UCH-FC
MAE-B
V 648
C.1

**RECONSTRUCCIÓN FILOGENÉTICA DEL GÉNERO *TRIPTILION* Y SU
RELACIÓN CON EL GÉNERO *NASSAUVIA***



Tesis
entregada a la
Universidad de Chile
en cumplimiento parcial de los requerimientos
para optar al grado de
Magister en Ciencias Biológicas
Facultad de Ciencias

Por
Paula Vidal Bravo
2012

Director de tesis: Dra. Mary Kalin Arroyo
Cotutor: Dra. Paola Jara Arancio

**FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE
INFORME DE APROBACIÓN
TESIS DE MAGISTER**

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

PAULA VIDAL BRAVO

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magister en Ciencias con mención en Ecología y Biología Evolutiva, en el examen de Defensa Privada de Tesis rendido el día 18 de Marzo del 2012.

Director de tesis:

Dra. Mary Kalin Arroyo

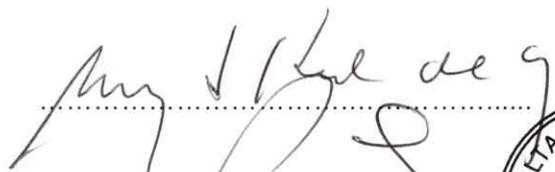
Cotutor:

Dra. Paola Jara-Arancio

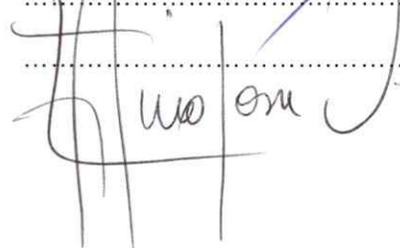
Comisión de Evaluación de la Tesis

Dra. Carolina Villagrán

Dr. Felipe Hinojosa


.....

.....

.....

.....





A mis hijas Laura y Sofía



AGRADECIMIENTOS

En el arduo camino que ha significado este trabajo me he sentido siempre muy acompañada, a esas personas que siempre han estado con migo quiero agradecerles.

A mis padres, por siempre contar con su apoyo, a mis hijas Laura y Sofía, siempre fueron el motor para seguir adelante, a Robinson por su cariño y sus palabras que siempre eran lo que necesitaba escuchar para poder seguir adelante.

Quisiera agradecer a todas las personas del laboratorio, empezando por mi tutora Mary Kalin por su incondicional apoyo y consejos, a quien inicio con migo este camino Rosita Scherson y a quienes han compartido día a día con migo siempre con una palabra de apoyo, Claudia, Constanza, Josefina, Romina, Diego, Pablo y don Juan.

A Paola Jara quien me saco de las tinieblas y me ayudo a ver la luz, su apoyo, su guía, sus palabras de aliento y sus correcciones han sido fundamentales para terminar con éxito esta etapa.

A mis amigas Claudia y Mariela, les agradezco el estar ahí para lo que fuese necesario, un consejo, una palabra de aliento o simplemente distracción.

Agradezco también a Alicia Marticorena y Mélica Muñoz, por facilitarme muestras y tenerme paciencia.

No puedo dejar de agradecer a quienes corrigieron este trabajo, Carolina Villagrán y Felipe Hinojosa, por sus valiosas contribuciones.

Al financiamiento otorgado por los proyectos ICM P05-002 y PFB-23.



ÍNDICE

RESUMEN	xiv
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo General	9
Objetivos Específicos	9
Hipótesis	10
METODOLOGÍA	11
RESULTADOS	21
DISCUSIÓN	30
REFERENCIAS	41
TABLAS Y FIGURAS	50

ÍNDICE DE TABLAS



Tabla 1. Especies del género *Nassauvia*.

Tabla 2. Sitios de colecta de los individuos del género *Triptilion*.

Tabla 3. Sitios de colecta de las especies utilizadas como grupo externo.

Tabla 4. Código de las secuencias obtenidas en GenBank.

A- Código de las secuencias de grupo Externo *Nassauvia*, para ITS (rDNA).

B- Código de las secuencias de grupo Externo *Nassauvia*, para trnL-trnF (cpDNA).

Tabla 5. Código de secuencias obtenidas de GenBank, para ITS (rDNA),
en la segunda parte del estudio (nueva evidencia).

Tabla 6. Caracteres y estados de caracteres morfológicos.

Tabla 7. Caracteres categorizados por especie.

Tabla 8: Descripción del grupo es estudio (grupo interno).

ÍNDICE DE FIGURAS



Figura 1. Distribución geográfica de las especies del género *Triptilion*.

Figura 2. Mapa de distribución de las especies anuales del género *Triptilion* (izquierdo) y especies perennes del género *Triptilion* (derecha).

Figura 3. Grupo interno conformado por las siete especies del género *Triptilion*.

Figura 4. Árbol de consenso de 18 árbol con el mismo valor de parsimonia, basado en secuencias de rDNA de la región ITS, para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y como grupo externo 15 especies del género *Nassauvia*, una de *Calopappus* y una de *Nastanthus*. Los valores de bootstrap se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan nodos < a 70% de soporte. Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La letra L que acompaña a algunas especies de *Nassauvia*, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. Líneas negras muestran el grupo externo y rojas el grupo interno.

Figura 5. Árbol filogenético de inferencia bayesiana, basado en secuencias de rDNA de la región ITS, para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y como grupo externo 15 especies del género *Nassauvia*, una de *Calopappus* y una de *Nastanthus*. Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan nodos < a 0.95 de soporte. Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La letra L que acompaña a algunas especies

de *Nassauvia*, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. Líneas negras muestran el grupo externo y rojas el grupo interno.

Figura 6. Árbol filogenético de inferencia bayesiana, mediante evidencia total (ITS, cpDNA de la región trnL-F y rpl32-trnLUAG) para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y como grupo externo 17 especies del género *Nassauvia*, una de *Calopappus* y una de *Nastanthus*. Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La letra L que acompaña a algunas especies de *Nassauvia*, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. Líneas negras muestran el grupo externo y rojas el grupo interno. Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan nodos < a 0.95 de soporte.

Figura 7. Árbol filogenético de inferencia bayesiana para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y 51 especies como grupo externo 23 especies del género *Nassauvia*, 16 especies del género *Chaetanthera* dos especies de *Perezia*, dos especies de *Actinoseris*, una especie de *Pachylaena*, una especie de *Gochnatia*, una especie de *Gerbera*, una especie de *Polyachyrus*, una especie de *Calopappus*, una especie de *Schelechtendalia* y una especie de *Nastanthus*. Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La letra L que acompaña a algunas especies, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. Líneas negras muestran el grupo externo y rojas el grupo interno. Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo para el análisis de

Bayes/parsimonia; los asteriscos representan nodos $<$ a 0.95 de soporte para el análisis Bayesiano y $<$ a 70 para el caso de parsimonia.

Figura 8. Estados ancestrales de la forma de vida de las siete especies de *Triptilion* (Asteraceae) y 15 especies del género *Nassauvia*, basado en topología de evidencia total y del rasgo de vida anual o perenne, mediante análisis de parsimonia (A) y máxima verosimilitud (B). La coloración de las circunferencias determina la forma de vida de las especies ancestrales. Ambiguo, indica que el ancestro pudo haber sido anual o perenne.

Figuras 9 A y B. Estimación de tiempos de divergencia basado en secuencias de rDNA de la región ITS, para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y como grupo externo 22 especies del género *Nassauvia*, 16 especies del género *Chaetanthera* dos especies de *Perezia*, dos especies de *Actinoseris*, una especie de *Pachylaena*, una especie de *Schelechtendalia*, una especie de *Gochnatia*, una especie de *Gerbera*, una especie de *Polyachirus*, una especie de *Calopappus* y una especie de *Nastanthus*, utilizando estadística Bayesiana (promedio) expresados en millones de años (Ma).

Figura 10. Árbol de consenso de 18 árbol con el mismo valor de parsimonia, basado en 19 caracteres morfológicos, para siete especies del género *Triptilion* y como grupo externo 26 especies del género *Nassauvia*, (grupo interno) y considerado a nivel de género *Calopappus*, *Moscharia* y *Polyachyrus* (grupo externo).

ANEXO

Figura 1. hipótesis filogenéticas de las relaciones de la subtribu Nassauviinae.

Figura 2. Árbol de consenso de 85 árbol con el mismo valor de parsimonia, basado en secuencias de cpDNA de la región trnL-F, para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y como grupo externo 11 especies del género *Nassauvia*, una de *Calopappus* y una de *Nastanthus*. Los valores de bootstrap se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan nodos < a 70% de soporte. Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La letra L que acompaña a algunas especies de *Nassauvia*, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. Líneas negras muestran el grupo externo y rojas el grupo interno.

Figura 3. Árbol filogenético de inferencia bayesiana, basado en secuencias de cpDNA de la región trnL-F, para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y como grupo externo 11 especies del género *Nassauvia*, una *Calopappus* y una *Nastanthus*. Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan nodos < a 0.95 de soporte. Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La letra L que acompaña a algunas especies de *Nassauvia*, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. Líneas negras muestran el grupo externo y rojas el grupo interno.

Figura 4. Árbol de consenso de un árbol, basado en secuencias de cpDNA de la región rpl32-trnLUAG, para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y como grupo externo seis especies del género *Nassauvia*, una de *Calopappus* y una de *Nastanthus*. Los valores de bootstrap se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan nodos < a 70% de soporte. Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La letra L que acompaña a algunas especies de *Nassauvia*, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. La letra L que acompaña a algunas especies de *Nassauvia*, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. Líneas negras muestran el grupo externo y rojas el grupo interno.

Figura 5. Árbol filogenético de inferencia bayesiana, basado en secuencias de cpDNA de la región rpl32-trnLUAG, para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y como grupo externo seis especies del género *Nassauvia*, una de *Calopappus* y una de *Nastanthus*. Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan nodos < a 0.95 de soporte. Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La letra L que acompaña a algunas especies de *Nassauvia*, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. Líneas negras muestran el grupo externo y rojas el grupo interno.

Figura 6. Estados ancestrales de la forma de vida de las siete especies de *Triptilion* (Asteraceae) y 15 especies del género *Nassauvia*, basado en topología de evidencia total y del rasgo de vida anual o perenne, mediante análisis de parsimonia (A) y máxima verosimilitud (B). La coloración de las circunferencias determina la forma de

vida de las especies ancestrales. Ambiguo, indica que el ancestro pudo haber sido anual o perenne.

Figura 7. Estimación de tiempos de divergencia basado en secuencias de rDNA de la región ITS, para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y como grupo externo 15 especies del género *Nassauvia*, una de *Calopappus* y una de *Nastanthus*, utilizando estadística Bayesiana (promedio y desviación estándar) expresados en millones de años (Ma). Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*.

RESUMEN

El género *Triptilion* (Asteraceae) es endémico de Chile central y del oeste de la Patagonia Argentina y está conformado por siete especies de herbáceas anuales y perennes. Este género ha presentado varias problemáticas taxonómicas, desde su descripción inicial por Ruíz y Pavón (1794), siendo la principal su relación con el género *Nassauvia*. Por lo cual, los objetivos principales de este estudio son: reconstruir la filogenia del género *Triptilion*, determinar sus relaciones con las secciones de *Nassauvia* reconocidas por Cabrera (1982), establecer los tiempos de divergencia de los grupos y trazar la evolución del carácter forma de vida. Con estos propósitos se amplificó el gen nuclear (ITS) y los genes plastidiales (rpl32-trnLUAG y trnL-F). En el caso de ITS, se conformó una matriz con los datos de Maraner *et al.* (2012) y los obtenidos en esta tesis. Los resultados determinaron que el género *Triptilion* está conformado por tres linajes: I (*T. achilleae*); II (*T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*); III (*T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*). El Linaje II y III forman un clado bien soportado, mientras que el Linaje I, representado por *T. chilleae*, se separa de los otros dos linajes formando una politomía con cuatro especies del género *Nassauvia*. Las restantes especies de *Nassauvia* (diecinueve) están agrupadas en un clado fuertemente soportado. Por lo cual, estos resultados sugieren que *Triptilion* es parafilético y que *Nassauvia* como está constituido actualmente no es un género monofilético. Por otra parte, tres de las cuatro especies de *Nassauvia* que forman una politomía con *Triptilion achilleae*, pertenecen al subgénero *Strongyloma*, y

aunque tienen una distribución patagónica, no presentan grandes semejanzas morfológicas con *T. achilleae*. *Triptilion* junto con cuatro especies de *Nassauvia* (*N. lagascae*, *N. fuegiana*, *N. ulicina* y *N. glomerulosa*) se separan del resto del género *Nassauvia* hace $16,5 \pm 1,2$ Ma. La separación de estas cuatro especies de *Nassauvia* con *Triptilion* ocurre a los $14,8 \pm 1,0$ Ma. Al interior del género *Triptilion*, los eventos de divergencia ocurren durante el Mioceno. El Linaje I que se separa de los Linajes II-III a los $13,5 \pm 0,9$ Ma, mientras que la separación entre el Linajes II y III ocurre a los $9,3 \pm 0,7$.

Los tiempos de divergencia se relacionan con la historia paleoclimática de la Patagonia y con el desarrollo del clima Mediterráneo de Chile central. La evolución del hábito anual en *Triptilion* es concordante con el desarrollo temporal y diversificación del género en áreas áridas de la Patagonia y el área de clima Mediterráneo de Chile central, caracterizado por un régimen de lluvias de invierno y veranos secos y cálidos.

ABSTRACT

Triptilion (Asteraceae) consists of seven species of annual and perennial herbs, all endemic to central Chile and the western part of Patagonia Argentina. Since its description by Ruiz and Pavon (1794), the taxonomic recognition of *Triptilion* has been a subject of debate, given its close relationship with the genus *Nassauvia*. The main objectives of this study are to: 1) reconstruct the phylogeny of the genus *Triptilion*; 2) determine the relationship of *Triptilion* and *Nassauvia*; 3) estimate the divergence times of both groups, and; 4) trace the evolution of the annual life form habit in *Triptilion*. We amplified nuclear (ITS) and plastid genes (rpl32-trnLUAG and trnL-F) for all species of *Triptilion* and four species of *Nassauvia*. Additional ITS sequences of *Nassauvia* reported in Maraner *et al.* (2012) were obtained from GenBank. *Triptilion* comprises three lineages: I (*T. achilleae*), II (*T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*); III (*T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*). Lineages II and III form a supported clade, while Lineage I, represented by *T. achilleae*, separates from the other two lineages of the genus forming a polytomy with four species of the genus *Nassauvia*. The remaining species of *Nassauvia* (nineteen) are clustered in a strongly supported clade. Together these results suggest that *Triptilion* is paraphyletic and that *Nassauvia* as presently constituted is not a monophyletic genus. On the other hand, three of the four species which conform the polytomy in *Nassauvia* with *Triptilion achilleae* belong to subgenus *Strongyloma*. Although all these species of *Nassauvia* have a Patagonian distribution, they do not show strong morphological similarities with *T. achilleae*.

Triptilion together with four species of *Nassauvia* (*N. lagascae*, *N. fuegiana*, *N. ulicina* and *N. glomerulosa*) separate from the rest of the genus *Nassauvia* at 16.5 ± 1.2 Ma. Separation of these four species of *Nassauvia* from *Triptilion* occurs at 14.8 ± 1.0 Ma. Within *Triptilion*, the main divergence events occur during the Miocene. Lineage I separated from the combined Lineages II-III at approximately 13.5 ± 0.9 Ma while Lineages II and III separated from each other at 9.3 ± 0.7 Ma.

Divergence times in *Triptilion* can be related to the paleoclimatic history of Patagonia and the development of the Mediterranean climate in central Chile. The evolution of the annual habit of *Triptilion* is consistent with the temporal development and diversification of the genus in arid areas of Patagonia and in the Mediterranean climate regions in central Chile, the latter characterized by winter rainfall and hot, dry summers.

INTRODUCCIÓN

La flora de una región es producto de los linajes que han evolucionado en dicha región. Las regiones biogeográficas experimentan cambios climáticos a lo largo del tiempo que generan presiones selectivas sobre los linajes de tal forma que el curso evolutivo depende de su capacidad de generar adaptaciones apropiadas a dichos cambios.

El sur de Sudamérica el lugar de origen de la familia Asteraceae (Funk et al. 2005) y de esta área se tiene un vasto conocimiento de los procesos climáticos y tectónicos ocurridos. La zona occidental de la cordillera de los Andes de Chile-Perú se encuentra aislada climática-biogeográficamente de otras regiones de Sudamérica. La diversidad ambiental que surge de este aislamiento, favorece el desarrollo de una exclusiva composición de flora que, por su alto endemismo, parte del territorio que la contiene es considerado un punto caliente de biodiversidad ("Hotspot") de Chile central, denominado "*Chilean winter rainfall-valdivian forests*" (Arroyo et al. 1999, Myers et al. 2000).

En este contexto, el género *Triptilion*, distribuido en la zona de clima mediterráneo de Chile y en la Patagonia Argentina, es interesante ya que presenta una estrecha relación con el género *Nassauvia* y tiene la particularidad de presentar transiciones de forma de vida anual-perenne, las que podrían estar asociadas a los cambios climáticos pasados de la región.

El género *Triptilion* Ruiz et Pavón de la familia Asteraceae, perteneciente a la subfamilia Mutisioideae, tribu Nassauvieae (antiguamente tribu Mutisiae y

subtribu Nassauvinae) (Katinas et al. 2008b), es endémico de Chile central y del oeste de la Patagonia Argentina. Está conformado por siete especies, dos anuales y cinco perennes, de las cuales seis son endémicas de Chile (*T. benaventii*, *T. berteroi*, *T. capillatum*, *T. cordifolium*, *T. gibbosum* y *T. spinosum*), y una es compartida por Chile y Argentina (*T. achilleae*). Esta última en Chile se distribuye en la provincia de Malleco (38° a 39° S), y en Argentina al oeste de la Patagonia (39° a 45° S). Las seis especies chilenas se distribuyen en la zona de clima mediterráneo en Chile central, desde Región de Atacama hasta la Región de los Ríos (26° - 38° S) y desde el nivel del mar a 2200 msnm (Fig. 1-2, Tabla 8) (Katinas et al. 1992, Squeo et al. 2008, bases de datos SGO, CONC, HLS).

Di Castri & Hajek 1976 describen la zona de clima mediterráneo como una zona geográfica que presenta precipitaciones concentradas en el período frío del año y sequía en la estación más cálida. La zona de clima mediterráneo se presenta en Chile desde los 25°S hasta los 39°S y se subdivide en seis regiones asociadas a la cantidad de precipitaciones: perárido (desde el límite norte del clima mediterráneo hasta el norte de la provincia de Coquimbo), árido (desde la provincia de Coquimbo y parte de la de Aconcagua), semiárido (parte de la provincia de Aconcagua, Santiago y Valparaíso), subhúmedo (abarca desde el norte de la provincia de O'Higgins hasta la provincia de Talca), húmedo (desde Molina en el interior y se prolonga hacia el sur hacia hasta la provincia de Malleco) y perhúmedo (desde el límite sur de la provincia de Malleco al sur hasta la zona de río bueno y Osorno). Por lo tanto, el género

Triptilion se distribuye a lo largo de toda la zona mediterránea desde la región perárida, en donde se encuentra *T. gibbosum*, hasta la región perhúmeda donde se encuentra *T. achilleae*, y hasta donde llegan *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*.

El género *Triptilion* constituye, junto a los géneros *Polyachyrus*, *Moscharia*, *Nassauvia* y *Calopappus* un grupo derivado dentro de la tribu Nassauviinae, por su tendencia a la reducción del número de flores por capítulo y la agregación de los mismos en capítulos secundarios o pseudocefalios (Katinas et al. 1992). Inicialmente el género fue descrito por Ruiz & Pavón (1794), basándose en la especie *T. spinosum*. Su nombre proviene del griego y hace referencia al número de escamas que constituyen el pappus, que son generalmente tres. Katinas y colaboradores (1992) en la monografía de *Triptilion* describen siete especies como válidas, a partir de estudios filogenéticos basados en caracteres morfológicos.

Históricamente, la relación entre los géneros *Triptilion* y *Nassauvia* ha sido muy controversial. En 1832, Don clasifica a *Triptilion* como una sección de *Nassauvia*; sin embargo un año más tarde lo considera un género válido (Katinas et al. 1992). Aunque no están claros los criterios utilizados por Don para incluir a *Triptilion* dentro del género *Nassauvia*, ni los utilizados para posteriormente separarlos, se ha descrito, en un exhaustivo trabajo morfológico de toda la subfamilia Mutisioideae (Katinas et al. 2008b) que *Triptilion* y *Nassauvia* presentan el mismo tipo de corola, estilo, polen e inflorescencia y que el carácter utilizado para separar ambos géneros son las características del

papus. Crisci (1974) realiza un estudio con caracteres discretos (cinco geográficos y 85 morfológicos) para 26 especies de subtribu Nassauviinae, donde se generan tres cladogramas. Estos muestran a *Nassauvia* y *Triptilion* derivados del mismo ancestro, por lo que se interpreta que están estrechamente relacionados. Crisci (1980) ocupa los mismos datos morfológicos para producir hipótesis filogenéticas de las relaciones de la subtribu Nassauviinae y obtiene tres árboles en que sólo varía el antecesor elegido, pero siempre se observa que los géneros *Nassauvia*, *Triptilion* y *Calopappus* son morfológicamente muy cercanos (Anexo Fig. 1). Cabrera (1982), en su monografía de *Nassauvia*, plantea que si se consideran el número de especies, los caracteres polimorfismos y el carácter perenne de los mismos, *Nassauvia* sería el grupo más antiguo del cual habrían derivado *Triptilion* y *Calopappus*. Específicamente, plantea que el género *Triptilion* derivaría de alguna especie primitiva de la sección *Panargyrum* de *Nassauvia*, la cual posteriormente se habría extendido por las zonas bajas de Chile Central. En un posterior análisis cladístico basado en caracteres morfológicos, que incluye 38 especies de *Nassauvia* y otros géneros cercanos, entre ellos *Triptilion* (el cual fue considerado a nivel genérico sin considerar especies), se concluye que *Nassauvia* y *Triptilion* son grupos hermanos (Freire et al. 1993). En cuanto a la morfología, desde los estudios realizados por Crisci (1974) y Cabrera (1982) hasta lo más actuales (Katinas et al. 2008b), se ha utilizado el papus como carácter diagnóstico para la separación de los géneros, lo cual parece

concordante considerando la similitud del resto de las características morfológicas de las especies pertenecientes a estos géneros.

A nivel molecular, Kim y colaboradores (2002) realizaron un estudio sistemático con genes plastidiales (*ndhF*) en la tribu Mutisieae, donde se incluye una especie de *Triptilion* (*T. spinosum*) y tres de *Nassauvia* (*N. lagascae*, *N. gaudichaudi*, *N. digitata*) y se muestra que, a diferencia de los análisis morfológicos previos, el género *Triptilion* estaría incluido dentro del género *Nassauvia*. Aunque este estudio está basado sólo en una especie de *Triptilion*, concuerda con las primeras apreciaciones de Don (1832). El año 2008a, Katinas y colaboradores publican un estudio donde se analiza la evolución de las cabezuelas secundarias en la subtribu Nassauviinae, utilizando para ello una filogenia molecular con un gen nucleare (ITS) y uno plastidial (*trnL-trnF*). En dicho estudio se utilizó una especie de *Triptilion* (*T. capillatum*) y cuatro especies de *Nassauvia* (*N. axillaris*, *N. ulicina*, *N. revoluta* y *N. argyrophylla*). Los resultados muestran a *Triptilion capillatum* formando una politomía en la base del clado *Triptilion-Nassauvia* en el análisis de parsimonia y como grupo hermano del nodo *Nassauvia* en el análisis de máxima verosimilitud. Simpson y colaboradores (2009) realizan un estudio filogenético con genes plastidiales y nucleares del género *Perezia*, perteneciente también a la subtribu Nassauviinae; en este estudio se incluyen representantes del género *Nassauvia* y una especie de *Triptilion* (*T. spinosum*) la cual se agrupa con las especies de *Nassauvia* (*N. lagascae*, *N. pinnigera*, *N. heterophylla*, *N. aculeata*, *N. digitata*).

Los antecedentes anteriormente expuestos demuestran que la relación entre los géneros *Nassauvia* y *Triptilion* no está clara, ni a nivel morfológico ni a nivel molecular. Por lo tanto, debido a la pobre representatividad del género *Triptilion* y diferencias en los resultados de estudios previos, en esta tesis se realizan estudios morfológicos y moleculares en que se incorporan todas las especies de *Triptilion* y un mayor número de especies de *Nassauvia*, para obtener una visión más acabada de la relación entre estos dos géneros.

Estudios moleculares indican que en la zona sur de Sudamérica estaría el origen de la familia Asteraceae, asociado a eventos vicariantes de importancia, como la separación de América del Sur de la Antártica y Australia. Sin embargo, al no haber fósiles confiables para situar el origen de la familia, se ha estimado la fecha en base a análisis de reloj molecular, los cuales sitúan el origen entre los 36 a 42 Ma (Kim et al. 2005) o en relación a antecedentes de las dos familias más cercanas, Calyceraceae y Goodeniaceae, se considera que estas familias tendrían origen Gondwánico, donde la fecha aproximada sería de 50 Ma (Funk et al. 2005) y estaría basada en eventos vicariantes ocurridos en esta zona. Recientemente, Barreda y colaboradores (2010b) describen un fósil de una inflorescencia de tipo capítulo ubicado al noroeste de la Patagonia que pertenecería a la familia Asteraceae, el cual fue datado para el Eoceno medio (47,5 Ma). Los linajes principales de Asteraceae tales como la tribu Nassauvieae se habían diferenciado en el Mioceno superior (Barreda et al. 2010a), por lo que los géneros como *Triptilion* y *Nassauvia* habrían aparecido posterior a esta fecha. En esta tesis se examina esta proposición, mediante el establecimiento de las

fechas de divergencia y sus relaciones con los eventos biogeográficos ocurridos en el sur de Sudamérica.

El género *Triptilion* presenta cinco especies con forma de vida anual y dos con forma de vida perenne. En las zonas de clima mediterráneo y los desiertos, se ven favorecidas las especies anuales, pues combinan un ciclo de vida relativamente corto, con una alta tasa de crecimiento durante la estación húmeda para evitar la sequía (Rivero et al. 2007). Se ha sugerido que la forma de vida anual evoluciona con frecuencia en ambientes desérticos, debido a su resistencia a la variación interanual de la precipitación, pues anualmente sólo deja semillas (Schaffer & Gadgil, 1975). Arroyo y colaboradores (1995) mostraron que la frecuencia de anuales en la flora de Chile central con un clima mediterráneo aumenta en relación al grado de aridez de verano, llegando a cerca del 25% de las especies nativas en el extremo norte. Para el desierto, a lo largo del Altiplano, la proporción de anuales en la flora decae a medida que aumentan las precipitaciones (Arroyo et al. 1988). En un estudio de Evans y colaboradores (2005) se evaluó para el género *Oenothera* si las condiciones de aridez y el coeficiente de variación (CV) de las precipitaciones están asociados con la evolución de la forma de vida anual, sobre una base estacional. Los resultados determinan que la transición al hábito anual está asociada con el calor pero no con la aridez ni con el CV en el verano; en cambio, se asociaron significativamente con la aridez en invierno.

Por otra parte las anuales pueden resistir la sequía permaneciendo viables en bancos de semillas persistentes por más de un año (Schaffer &

Gadgil, 1975). De acuerdo con lo anterior, para Chile, Arroyo y colaboradores (2006) mostraron que las especies anuales de *Chaetanthera* presentan bancos de semillas de mayor persistencia que las perennes. También se ha sugerido que las anuales se ven favorecidas debido a la abundancia de espacios abiertos lo que permite la supervivencia de plántulas (Schaffer & Gadgil, 1975). Dichas condiciones se dan ampliamente en la vegetación mediterránea de Chile sensu di Castri (1976). Si la evolución del hábito anual en *Triptilion* constituye una respuesta a las condiciones de aridez, debe existir una relación entre la aparición del hábito anual en la filogenia y los cambios climáticos que conllevaron al clima estacional de la zona mediterránea de Chile. Si consideramos además que Cabrera (1982) estima que *Nassauvia* sería el ancestro de *Triptilion*, y que todas las especies de *Nassauvia* son perennes, entonces es posible plantear que las especies anuales de *Triptilion* son derivadas de las especies perennes. La construcción de una filogenia datada de *Triptilion* constituye una herramienta útil para constatar relaciones de este tipo.

Objetivo General

Reconstruir la filogenia del género *Triptilion*, determinar su relación con las secciones de *Nassauvia* reconocidas por Cabrera (1982), establecer los tiempos de divergencia de los grupos y trazar la evolución del carácter forma de vida.

Objetivos específicos

- Establecer relaciones filogenéticas entre los géneros *Triptilion* y *Nassauvia*, en base a 19 caracteres morfológicos
- Establecer relaciones filogenéticas dentro del género *Triptilion*, en base a un gen nuclear y dos genes cloroplásticos, utilizando para esto dos algoritmos parsimonia e inferencia bayesiana.
- Determinar la relación filogenética del género *Triptilion*, con respecto a representantes de las diferentes secciones del género *Nassauvia*, en base a un gen nuclear y dos genes cloroplásticos y utilizando para esto dos algoritmos parsimonia e inferencia bayesiana.
- Estimar los tiempos de divergencia de las especies del género *Triptilion* utilizando reloj molecular con gen ITS.
- Trazar la evolución del carácter de rasgo de vida anual del género *Triptilion*, en base a la topología de inferencia bayesiana con el gen ITS.

Hipótesis

- **Hipótesis 1.** Sobre la base de los antecedentes morfológicos y moleculares, *Triptilion* formaría parte del género *Nassauvia*.
- **Hipótesis 2.** El origen y divergencia de *Triptilion* se correspondería con la historia biogeográfica de la Patagonia Chileno-Argentina y de Chile Central.
- **Hipótesis 3.** La forma de vida anual en *Triptilion* sería derivada.

METODOLOGÍA

Descripción del grupo en estudio

De acuerdo a Cabrera (1982) y a; Katinas et al. (1992), las especies del género *Triptilion* (familia Asteraceae, subfamilia Mutisioideae, tribu Nassauvieae) se caracterizan por ser herbáceas anuales o perennes, con hojas alternas y sésiles. Sus tallos, hojas y brácteas son laxamente pubescentes en ambas caras o restringidas a la cara abaxial. Capítulos sésiles de dos a cuatro en el extremo de los tallos, receptáculo glabro o cubierto, con cinco flores blancas o azules. Aquenios elípticos u obpiramidales, glabros o pubescentes. Pappus blanco casi en todas las especies excepto en *T. cordifolium* donde es amarillo verdoso, formado por tres cerdas caducas, lanceoladas, plegadas longitudinalmente. La presencia de pappus caduco sugiere una pérdida de la dispersión anemófila, excepto en *T. berteroi* que presenta dos tipos de pappus uno caduco y otro persistente (Katinas et al. 1992). Este carácter, el pappus, es utilizado para diferenciar *Triptilion* de *Nassauvia* (Cabrera 1982; Katinas et al. 2008b).

Descripción del grupo Nassauvia

De acuerdo a Cabrera (1982), el género *Nassauvia* (familia Asteraceae, subfamilia Mutisioideae, tribu Nassauvieae) está subdividido en dos

subgéneros, subgénero *Strongyloma* y subgénero *Nassauvia*, este último a su vez subdividido en cuatro secciones (Tabla 1). Las especies del género *Nassauvia* se caracterizan por ser hierbas perennes, rizomatosas o arbustos bajos, con involucro cilíndrico, cinco flores blancas o amarillentas (raramente dos-cuatro) por capítulo, isomorfas, hermafroditas. Receptáculo desnudo. Corola bilabiada. Aquenios obovoides o turbinados. Pappus formado por tres a 15 páleas planas, caducas, o bien por numerosas cerdas ciliadas o plumosas; el pappus es bastante variado dentro del género y ha servido para separar subgéneros y secciones.

Selección del grupo interno y externo

El grupo interno está conformado por todas las especies del género *Triptilion* descritas en la monografía de Katinas (1992). Las seis especies chilenas: *T. benaventii*, *T. berteroi*, *T. capillatum*, *T. cordifolium*, *T. gibbosum* y *T. spinosum* y la especie chilena-argentina *T. achilleae* (Fig. 3, Tabla 2).

El grupo externo está conformado (Tabla 3-4-5) por una especie de la familia Calyceraceae, *Nastanthus scapigerus*, la cual se escogió por pertenecer al grupo hermano de la familia Asteraceae según estudios filogenéticos (De Vore & Stuessy 1995, Kim & Jansen 1995, Lundberg & Bremer 2003). También se incluyó a *Caloppapus acerosus* (Asteraceae) y 17 especies del género *Nassauvia* (Asteraceae), entre las cuales están representadas las cuatro secciones y los dos subgéneros: 15 especies (ITS), 11 especies (trnL-F) y seis

especies (rpl32-trnLUAG) (Tabla 4). Esos últimos *Nassauvia* y *Calopappus* han sido descritos en varios estudios como los grupos más cercanos morfológicamente al género *Triptilion* (Crisci 1980, Cabrera 1982, Katinas et al. 1992).

Análisis filogenético morfológico

El análisis filogenético se realizó a partir de 19 caracteres morfológicos (Tabla 6), obtenidos de información parcial del análisis cladístico de *Nassauvia* (Freire et al. 1993) y de datos obtenidos de la monografía de *Triptilion* (Katinas et al. 1992) (Tabla 7). Los datos se categorizaron dependiendo de la cantidad de estados que presentaba el carácter. En el análisis filogenético se utilizó el algoritmo de parsimonia en el programa PAUP* versión 4.0 (Swofford 2003). La búsqueda heurística se condujo con el algoritmo de "barrido de ramas" (branch-swapping) por bisección y reconexión del árbol (TBR) con adición aleatoria de especies al árbol inicial (100 réplicas). Para comprobar la robustez de cada nodo, se hizo un análisis de bootstrap no paramétrico (Felsenstein 1985) usando 1000 réplicas como estimativos de soporte (Efron et al. 1996) donde se consideró como un nodo bien soportado sobre 70% de valor de bootstrap (Hillis & Bull 1993).

Extracción, amplificación y secuenciación de DNA

Se utilizaron muestras foliares colectadas en ambiente natural y muestras herborizadas provenientes de los herbarios de la Universidad de Concepción y del Museo Nacional de Historia Natural. Las muestras se almacenaron en sílica gel a temperatura ambiente. Se extrae DNA utilizando el protocolo establecido por JanBen y colaboradores (2006). Mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se amplificó la zona del DNA nuclear ribosomal (rnDNA) ubicada en la región del espaciador transcriptor interno ITS, utilizando los partidores "4" y "5" (ITS 4: TCCTCCGCTTATTGATATGC, ITS 5: GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG) (White et al. 1990), según protocolo de Baldwin (1992). Para los genes plastidiales se amplifico la zona del DNA plastidial (cpDNA) ubicada en la región trnL-F, utilizando los partidores "trnL" y "trnF" (trnL: CGAAATCGGTAGACGCTACG, trnF: ATTTGAACTGGTGACAC GAG) (Taberlet et al. 1991), la región rpl32-trnLUAG, utilizando los partidores "rpl32" y "trnLUAG" (rpl32-F: CAGTTCCAAAAAACGTA CTTC, trnL(UAG): CTGCTTCCTAAGAGCAGCGT) (Shaw et al. 2007). La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se llevó a cabo en un volumen final de 25 μ L, el cual contiene 5 μ L de ADN (20 ng/ μ l), 6 μ L de agua destilada, 12,5 μ L de Master Mix y 1,5 μ L de cada partidor (10 μ M). Inicialmente el DNA se desnaturalizó por 5 min a 94°C. Luego se corrieron 35 ciclos de amplificación, que contemplan: desnaturalización de 45 s a 94°C, alineamiento de 1 min a 55°C, elongación de

1 min 30 s a 72°C y finaliza en 7 min a 72°C. Una vez terminado el proceso las muestras se mantuvieron a 10°C, hasta ser retiradas del termociclador. Los productos del PCR se analizaron mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1% y teñidos con Redgel (5 µl/50ml) en buffer TAE al 1X. La electroforesis se efectuó a 80 Volts durante 60 minutos y se visualizaron las muestras en un Transiluminador UV (Electronic). Las muestras se enviaron a purificar y secuenciar a Macrogen (Corea). Este protocolo se realiza en las siete especies de *Triplion* (21 individuos en total), siete especies de *Nassauvia* (ocho individuos en total), en *Nastanthus scapigerus* y *Calopappus acerosus*. Se obtuvieron secuencias de GenBank del género *Nassauvia*, 16 secuencias para ITS y cuatro para trnL-F.

Edición y alineación de secuencias

Las secuencias de las dos hebras de DNA, para los análisis de rDNA y cpDNA se montaron, editaron y alinearon en el programa BioEdit versión 7.0 (Hall 1999), revisadas por inspección ocular y comparadas con los cromatogramas en cada par de secuencias para verificar la edición y reemplazar las bases ambiguas en el programa BioEdit versión 7.0 (Hall 1999). Con el fin de comprobar la correspondencia de las secuencias obtenidas de especies vegetales del mismo grupo de estudio o de grupos cercanos se realizaron "blast" (comparación de similitud) para todas las secuencias

utilizadas en este estudio en la página de “National Center for Biotechnology Information”¹

Análisis filogenético molecular

El análisis filogenético se realizó mediante dos aproximaciones algorítmicas: parsimonia e inferencia bayesiana. En los análisis de reconstrucción filogenética, los nucleótidos faltantes, “gaps”, no fueron considerados en el alineamiento. Los análisis de parsimonia fueron realizados en el programa PAUP* versión 4.0 (Swofford 2003). En todos los casos los caracteres se trataron como no ordenados y se les asignó igual peso siguiendo a Broughton y colaboradores (2000). Las búsquedas heurísticas fueron conducidas con el algoritmo de “barrido de ramas” (branch-swapping) por bisección y reconexión del árbol (“tree-bisection-reconnection: TBR”) con adición aleatoria de especies al árbol inicial (100 réplicas). Para comprobar la robustez de cada nodo, se hizo un análisis de bootstrap no paramétrico (Felsenstein 1985) con la exclusión de caracteres no informativos usando 1000 réplicas, como estimativos de soporte (Efron et al. 1996) donde se consideró como un nodo bien soportado sobre 70% de valor de bootstrap (Hillis & Bull 1993).

¹ (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Para llevar a cabo el análisis de inferencia bayesiana primero se debe obtener el modelo de evolución más apropiado utilizando el programa MrModeltest versión 2.2 (Nylander 2004), posteriormente fue realizado el análisis de inferencia bayesiana en el programa MrBayes versión 3.0 B4 (Ronquist & Huelsenbeck 2003). En cada simulación de cadenas de Markov se utilizó el método de Montecarlo (MCMC). Se corrieron 5.0×10^6 generaciones. Una vez estabilizados los valores de probabilidad a posterior de la cadena de Markov, se descartaron las muestras iniciales previas a la estabilización de la probabilidad (*burn in* = 2.0×10^6 generaciones). A partir de este punto los árboles se muestrearon cada 1000 generaciones. Se computó el consenso de mayoría (50%) incluyendo componentes combinables e información sobre largo de las ramas para todos los árboles muestreados posterior a la estacionalidad de las búsquedas. Para determinar el soporte de los nodos, se realizó pruebas de credibilidad o probabilidad *a posteriori*, donde se consideró un nodo bien soportado aquel que tenía sobre un valor de 0.95 (Ronquist & Huelsenbeck 2003). Considerando el tiempo de ejecución computacional de los análisis, en los casos que los individuos de GenBank se agruparan en el mismo clado con individuos secuenciados en laboratorio, sólo se consideraron las secuencias obtenidas en laboratorio para los análisis.

Análisis de evidencia total a nivel molecular

Se realizó un análisis de evidencia total con rDNA y cpDNA, donde se utilizaron 2720 caracteres nucleotídicos que correspondían a 747 de genes nucleares (ITS) y 1973 de genes plastidiales (914 de trnL-F y 1059 de rpl32-trnLUAG). Se realizó un análisis de inferencia bayesiana en el programa MrBayes versión 3.0B4 (Ronquist & Huelsenbeck 2003) con los mismos parámetros descritos anteriormente. No se realizó un análisis de parsimonia, pues los datos no son congruentes, lo cual fue determinado en la prueba de partición homogénea (Farris et al. 1994).

Estimación de los tiempos de divergencia

Los tiempos de divergencia se estimaron asumiendo Reloj Molecular (Bromham & Penny 2003). La calibración se realizó a partir de la tasa evolutiva de especies vegetales herbáceas determinadas en el estudio de Richardson y colaboradores (2001) para los análisis de rDNA de la región ITS mediante inferencia bayesiana utilizando el programa Beast versión 1.6.1 (Drummond & Rambaut 2007). Esta medida se aplicó debido a la falta de registro fósil para el análisis. Barreda y colaboradores (2010b) describieron un fósil perteneciente a la familia Asteraceae el cual es de poca utilidad para este estudio ya que su identificación más allá del nivel de familia no se ha establecido.

Reconstrucción del carácter de historia de vida

Para poder determinar si el ancestro del género *Triptilion-Nassauvia* es una hierba perenne o anual, se realizó una reconstrucción de caracteres para el rasgo forma de vida. Para este estudio se utilizó la topología generada en el análisis de evidencia total y una matriz con los rasgos de vida de las especies. Este análisis se llevó a cabo en el programa Mesquite 2.74 (Maddison & Maddison 2008) mediante parsimonia y máxima verosimilitud.

Nueva evidencia

A partir del trabajo "Molecular phylogeny of *Nassauvia* (Asteraceae, Mutisieae) based on nrDNA ITS sequences" (Maraner et al. 2012), el cual incluye nuevas secuencias de *Nassauvia*, se decide integrar la información, es decir, agrupar las secuencias utilizadas por Maraner con las obtenidas en esta tesis. Dichas secuencias pertenecientes al gen ITS fueron obtenidas desde GenBank. Estos datos permitieron aumentar el número de especies de *Nassauvia* usado originalmente de 15 a 23. Con la nueva matriz se realizan los siguientes análisis: a) filogenéticos (parsimonia e inferencia bayesiana) b) tiempos de divergencia (reloj molecular) y c) reconstrucción del carácter de vida anual o perenne descritos previamente en esta tesis. La nueva matriz quedó conformada por todas las especies de *Triptilion* obtenidas en el laboratorio

(grupo interno) y 51 especies como grupo externo en la que se incluyen: 23 especies de *Nassauvia* y dos especies de *Polyachyrus*, pertenecientes a la tribu Nassauvieae; 27 especies de otros seis géneros de la tribu Mutisieae, como representante de otra subfamilia de Asteraceae *Schlechtendalia luzulifolia* (Bernadesiodeae) (Tabla 5) y como representante de la familia Calyceraceae, la más cercana a Asteraceae, una especie de *Nastanthus scapigerus*

RESULTADOS

Análisis filogenético morfológico

En este estudio se utilizaron 19 caracteres morfológicos de los cuales 16 fueron informativos. Se retuvieron 35 con el mismo valor de parsimonia, con una longitud de 35 pasos y con valores de índice de consistencia (CI) de 0,43 de homoplasia (HI) de 0,57 y de retención (RI) de 0,78 (Fig.10). Los resultados indican una gran politomía conformada por especies de *Triptilion*, *Nassauvia* y grupo externo. Sólo existe apoyo de un 70% en el clado conformado por las cuatro especies del subgénero *Strongyloma*, sugiriendo una agrupación por el carácter de hábito arbustivo. El otro grupo es el clado constituido por *N. juniperina* y *N. pentacanooides* que presenta un 78% de apoyo, sugiriendo una agrupación por el tipo de inflorescencia solitaria que presentan con respecto a las otras especies. Estos resultados indican que no es posible determinar la relación entre *Triptilion* y *Nassauvia* y tampoco entre las especies al interior del género *Triptilion*.

Secuencias

Se obtuvieron 747 caracteres nucleotídicos de rDNA para la región ITS, 914 de cpDNA para la región trnL-F y 1059 de cpDNA para la región rpl32-

trnLUAG de todos los integrantes del grupo interno (*Triptilion*) y del grupo externo (*Nassauvia*, *Calopappus* y *Nastanthus*).

Análisis filogenético molecular

En los análisis de inferencia filogenética mediante el método de parsimonia para ITS, se utilizaron 747 caracteres nucleotídicos, de los cuales 118 sitios fueron informativos. Se evaluaron 261 árboles y se retuvieron 18 con el mismo valor de parsimonia, con una longitud de 261 pasos y con valores de índice de consistencia (CI) de 0,59, de homoplasia (HI) de 0,41 y de retención (RI) de 0,73. En el análisis de inferencia bayesiana se utilizó el modelo de evolución de secuencias de GTR+G seleccionado como óptimo por el criterio de información Akaike. La filogenia del género *Triptilion* reveló tres principales linajes: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La topología (Fig. 4-5) es semejante en ambos algoritmos, presenta alta resolución y está fuertemente apoyada por los valores de bootstrap y credibilidad. Según los resultados de ITS, sería legítimo pensar que *Triptilion* y *Nassauvia* son géneros distintos, pues todas las especies de *Nassauvia* forman un grupo altamente soportado (0,97) sin la presencia de *Triptilion* en su interior.

En el caso de los análisis de inferencia filogenética mediante el método de parsimonia para trnL-F se utilizaron 914 caracteres nucleotídicos

considerando grupo interno y externo, de los cuales 45 sitios fueron informativos. Se evaluaron 100 árboles y se retuvieron 85 con el mismo valor de parsimonia, con una longitud de 85 pasos y con valores de índice de consistencia (CI) de 0,59 de homoplasia (HI) 0,41 y de retención (RI) 0,69. Para el análisis de inferencia bayesiana se utilizó el modelo de evolución de secuencias de GTR+G, seleccionado como óptimo por el criterio de información Akaike. Las topologías entregadas por ambos análisis (Anexo Fig. 2-3) para este gen son poco robustas, sin embargo, se forman los tres linajes descritos anteriormente y los Linajes II y III están soportados. Dada la escasa robustez de la topología obtenida no se realizaron interpretaciones filogenéticas con este gen, pero los resultados si fueron incluidos en el análisis de evidencia total.

Para rpl32-trnLUAG se utilizaron 1059 caracteres nucleotídicos considerando grupo interno y externo, de los cuales 111 sitios fueron informativos. Se evaluaron 220 árboles, se retuvo un árbol con el mismo valor de parsimonia y con una longitud de 220 pasos. Los valores de índice de consistencia (CI) fueron 0,67 de homoplasia (HI) de 0,33 y de retención (RI) de 0,70. Para el análisis de inferencia bayesiana se utilizó el modelo de evolución de secuencias de GTR+G, seleccionado como óptimo por el criterio de información Akaike. Los resultados muestran que el género *Triptilion* es polifilético (Anexo Fig. 4-5) debido a la incorporación de taxa del género *Nassauvia*. Si comparamos los resultados del gen nuclear ITS, con los del gen plastidial rpl32-trnLUAG se observan los mismos tres linajes (I, II y III), dos de

ellos (I y II) bien soportados. Dada la escasa robustez de la topología obtenida no se realizaron interpretaciones filogenéticas con este gen, pero sí, los resultados fueron incluidos en el análisis de evidencia total.

Análisis de evidencia total a nivel molecular

Los resultados determinaron que el género *Triptilion* es parafilético, donde el grupo formado por los Linajes II y III se separan del Linaje I. Las seis especies que conforman el Linaje II y III tienen como grupo hermano a los representantes de la sección *Panargyrum/Caloptilium* del género *Nassauvia*. *T. achilleae*, además de estar dissociada del género *Triptilion*, se agrupa con un soporte de 0,76, para el análisis de inferencia bayesiana, con tres de las cuatro especies del subgénero *Strongyloma* utilizadas en este estudio (*N. ulicina*, *N. fuegiana* y *N. glomerulosa*) que presentan una distribución patagónica, característica que comparte con *T. achilleae*, única especie de *Triptilion* con distribución patagónica. (Fig. 6)

Estimación tiempos de divergencia

A partir del gen ITS, se determinó que *Calopappus* diverge del grupo *Nassauvia-Triptilion* en el Oligoceno a los $27,8 \pm 0,7$ Ma, *Triptilion* se separa del género *Nassauvia* en el Mioceno temprano hace $18,9 \pm 0,4$ Ma, la separación

de los linajes al interior del género *Triptilion* ocurren en el Neógeno: (a) separación del Linaje I del II-III en el Mioceno temprano ($17,0 \pm 0,4$ Ma), (b) diversificación del Linaje II del III en el Mioceno superior ($10,8 \pm 0,2$ Ma), (c) las especies al interior del Linaje II divergen en dos instancias la primera en el Mioceno superior ($6,0 \pm 0,2$ Ma) y la segunda en el Pleistoceno ($0,5 \pm 0,01$ Ma) (d) las especies al interior del Linaje III también divergen en dos instancias: en el Mioceno superior ($6,7 \pm 0,2$ Ma) ocurre una primera divergencia y una segunda sucede durante el Plioceno ($5,2 \pm 0,2$ Ma) (Anexo Fig. 7).

Reconstrucción del carácter de historia de vida

El análisis de reconstrucción de caracteres de historia de vida anual o perenne realizado a partir de la topología de evidencia total, muestra mediante los dos algoritmos que la forma de vida del ancestro del género *Triptilion-Nassauvia* es perenne (Anexo Fig. 6), por lo que la forma de vida anual es derivada y aparece por lo menos dos veces, posiblemente con una transición posterior a la forma de vida perenne en el Linaje II.

INCORPORACIÓN DE NUEVA EVIDENCIA

Secuencias

Se obtuvieron 794 caracteres nucleotídicos de rDNA para la región ITS, de todos los integrantes del grupo interno (*Triptilion*) y del grupo externo (*Nassauvia*, *Calopappus*, *Chaetanthera*, *Perezia*, *Actinoseris*, *Pachylaena*, *Gochnatia*, *Gerbera*, *Polyachyrus*, *Schelechtendalia* y *Nastanthus*).

Análisis filogenético

En los análisis de inferencia filogenética mediante el método de parsimonia para ITS, se utilizaron 794 caracteres nucleotídicos, de los cuales 345 sitios fueron informativos. Se evaluaron 1520 árboles y se retuvieron 100 con el mismo valor de parsimonia, con una longitud de 1520 pasos y con valores de índice de consistencia (CI) de 0,43 de homoplasia (HI) de 0,56 y de retención (RI) de 0,78. En el análisis de inferencia bayesiana se utilizó el modelo de evolución de secuencias de GTR+G seleccionado como óptimo por el criterio de información Akaike. La filogenia del género *Triptilion*, mostró la existencia de tres principales linajes: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La topología (Fig. 7) es semejante en ambos algoritmos, presenta alta resolución y está fuertemente apoyada por los valores de bootstrap y credibilidad. Según los

resultados de ITS, *Triptilion* y *Nassauvia* no se pueden considerar géneros distintos, ya que hay cuatro especies de *Nassauvia* (*N. lagascae*, *N. fuegiana*, *N. ulicina* y *N. glomerulosa*) que están en una politomía con *T. achilleae* el resto de las especies *Nassauvia* (19 especies) están incluidas dentro un grupo soportado por lo cual el género *Nassauvia* no constituye un grupo monofilético. En cuanto al género *Triptilion*, tampoco se puede considerar un género monofilético ya que la unión de *T. achilleae* con el resto de la especies de *Triptilion* no está apoyada, sin embargo las restantes especies de *Triptilion* forman un grupo fuertemente soportado conformado por los Linajes II, III y a su vez cada linaje está soportado.

Estimación tiempos de divergencia

A partir del gen ITS, se determinó que la familia Asteraceae está presente al menos desde hace 95,7 Ma cuando diverge el clado formado por la especies del género *Chaetanthera* de un grupo formado por *Polyachyrus*, *Perezia*, *Nassauvia* y *Triptilion*. Posteriormente diverge *Polyachyrus* ($58,2 \pm 2,1$ Ma) después *Perezia* ($34,4 \pm 1,9$ Ma) en el Eoceno y luego *Calopappus* diverge del grupo *Nassauvia-Triptilion* en el Oligoceno a los $23,7 \pm 1,5$ Ma. *Triptilion* y cuatro especies de *Nassauvia* (*N. lagascae*, *N. fuegiana*, *N. ulicina* y *N. glomerulosa*) se separan del resto del género *Nassauvia* en el Mioceno temprano hace $16,5 \pm 1,2$ Ma. Una posterior separación de las cuatro especies de *Nassauvia* antes mencionadas del género *Triptilion* se produce a los $14,8 \pm$

1,0 Ma en el Mioceno medio. Al interior del género *Triptilion* la primera divergencia ocurre entre Linaje I y los Linajes II-III a los $13,5 \pm 0,9$ Ma en el Mioceno medio; posteriormente en el Mioceno superior se produce la separación de los linajes II y III a los $9,3 \pm 0,7$ Ma. Las especies al interior del Linaje III divergen en dos oportunidades primero *T. cordifoium* se separa de *T. capillatum*-*T. gibbosum* a $6,3 \pm 0,6$ Ma y posteriormente diverge *T. capillatum* de *T. gibbosum* a $5,4 \pm 0,6$ Ma, ambas divergencias en el Mioceno superior. De igual forma las especies al interior del Linaje II divergen en dos instancias primero *T. berteroi* se separa de las especies perennes *T. spinosum* - *T. benaventii* hace $5,7 \pm 0,5$ Ma, en el Mioceno superior, posteriormente *T. spinosum* diverge de *T. benaventii* hace $4,9 \pm 0,5$ Ma, fecha correspondiente al Plioceno (Fig. 9A-9B).

Reconstrucción del carácter de historia de vida

La reconstrucción de forma de vida realizada a partir de la topología de ITS, arroja mediante parsimonia y en un gran porcentaje del análisis de máxima verosimilitud, que la forma de vida del ancestro del género *Triptilion-Nassauvia* es perenne (Fig. 8). Al observar sólo al género *Triptilion* los resultados indican, para el análisis de parsimonia, que el ancestro es de forma de vida anual. En el caso del análisis de máxima verosimilitud, el ancestro del género *Triptilion* es ambiguo (Fig. 8). Según parsimonia, la transición de perenne a anual se dio por

primera vez hace 13,5 Ma en *T. achilleae*, pero se revirtió a 5,7 Ma en el ancestro de las especies *T. spinosum* y *T. benaventii*.

DISCUSIÓN

Las filogenias, basadas únicamente en caracteres morfológicos, no han logrado esclarecer las relaciones entre *Nassauvia* y *Triptilion*. Se espera que la discusión a nivel de caracteres moleculares, basada en los resultados obtenidos con el gen ITS, que y reúne los datos de Maraner y colaboradores (2012) y los obtenidos en esta tesis, aporte mayor nitidez en este problema.

Los resultados moleculares obtenidos permitirían determinar con mayor certeza la relación entre los géneros *Triptilion* y *Nassauvia* que los trabajos anteriores publicados, pues en este estudio se incluyen todas las especies del género *Triptilion* y un gran número de especies de *Nassauvia*. Sin embargo, y pese a la mayor representatividad de taxa considerados, no se puede concluir que *Triptilion* constituye un grupo monofilético, ya que en *Triptilion* sólo los Linajes II y III (Linaje II y III = seis de las siete especies) forman un clado apoyado. El Linaje I representado por *T. achilleae*, diverge del género conformando una politomía con cuatro especies del género *Nassauvia*. Por otra parte, si bien diecinueve especies de *Nassauvia* forman un clado fuertemente soportado (Fig. 7), dado a la ubicación de cuatro especies de *Nassauvia* fuera de dicho clado y más cercanas a *Triptilion*, sugiere que *Nassauvia* tampoco sería un género monofilético. Si consideramos los resultados moleculares actuales (Fig. 7), se podría pensar en introducir el género *Triptilion* en el género *Nassauvia*, esto porque a grandes rasgos todas las especies de *Triptilion* y *Nassauvia* están incluidas en un mismo clado. Dado que la especie tipo de

Nassauvia (*N. magellanica* fue descrito en 1791) fue descrita con anterioridad a la primera especie de *Triptilion* (*T. spinosum* fue descrito en 1798), de acuerdo con las reglas internacionales de nomenclatura, *Nassauvia* tiene prioridad sobre *Triptilion*. Sin embargo aún queda la posibilidad que, con el uso de un mayor número de marcadores, la politomía se resuelva a favor de que todas las especies de *Triptilion* junto con cuatro especies de *Nassauvia* formen un grupo monofilético. Bajo esta escenario cabe la posibilidad reconocer dos géneros, pero con un reordenamiento interno de las especies, consistente en el género *Nassauvia* con 19 especies, y el género *Triptilion* con 10 especies. Este último incluiría todas las especies de *Triptilion* junto con *N. ulicina*, *N. fuegiana*, *N. glomerulosa* y *N. lagascae*. Si consideramos la primera opción de incorporar el género *Triptilion* en el género *Nassauvia*, se podría aceptar la Hipótesis 1 que plantea que: "Basado en antecedentes morfológicos y moleculares *Triptilion* forma parte del género *Nassauvia*". En el caso que la segunda opción resultara se rechazaría la Hipótesis 1. En cualquier caso ambas alternativas apuntan en la dirección propuesta por Crisci (1974, 1980) y Cabrera (1982) ya que los resultados apoyan fuertemente una relación cercana entre los integrantes de los dos géneros.

Cabe destacar que tres de las cuatro especies de *Nassauvia* que forman una politomía con *T. achilleae* pertenecen al subgénero *Strongyloma*, y aunque tienen una distribución patagónica tal como *T. achilleae*, no presentan semejanzas morfológicas especiales (con respecto al resto de las especies de *Nassauvia*). *Strongyloma* fue considerado entre 1835 y 1873 un género

independiente, por ser leñosa y tener aquenios pubescentes (Cabrera 1982). Sin embargo, la estructura de la inflorescencia y la morfología del capítulo y de las flores son idénticas, para los caracteres evaluados, a las restantes especies de *Nassauvia*, por lo cual actualmente *Strongyloma* (Cabrera, 1982) se mantiene dentro del género *Nassauvia* en categoría de subgénero. *N. lagascae*, la otra especie que conforma la politomia con *T. achilleae*, pertenece a la sección monotípica *Caloptilium*. Se distribuye en la alta cordillera desde San Juan hasta Neuquén en Argentina y desde Aconcagua al Maule en Chile. Morfológicamente se diferencia del resto de las especies de *Nassauvia* por presentar papus con numerosas cerdas plumosas generalmente persistentes y hojas ovado-espatuladas, con costillas paralelas muy conspicuas. Características que a pesar de diferenciarla del resto de las secciones de *Nassauvia*, no la acerca morfológicamente a *T. achilleae*. Si eventualmente se comprueba la existencia de dos grandes linajes en el complejo *Nassauvia-Tription*, los actuales caracteres morfológicos empleados taxonómicamente para separar los géneros reordenados tendrían que revisarse.

Tanto en este trabajo, como en un trabajo realizado por Kim y colaboradores (2005) se utilizó análisis de reloj molecular. Nuestros resultados concuerdan con los de Kim y colaboradores (2005) en que la divergencia de *Nassauviinae* (que incluye a *Calopappus*, *Nassauvia*, *Perezia* y *Tription*) habría ocurrido durante el Oligoceno. Se han datado fósiles patagónicos con afinidad *Nassauviinae* para el Mioceno (Barreda et al. 2008), lo que indica que algunos

miembros de este grupo ya estaban presentes y expandiendo en la Patagonia durante el Mioceno.

Las fechas de las divergencias permiten trazar la evolución de los géneros *Triptilion-Nassauvia* en relación a los cambios climáticos acaecidos en el sur de Sudamérica durante el Terciario. Para una comprensión global, es necesario remontarnos al origen de la familia Asteraceae. Funk y colaboradores (2005) propusieron que la separación del ancestro de los linajes Asteraceae-Calycereae y Goodeniaceae ocurrió en el momento que Sudamérica se separó de Antártica-Australia, a unos 50-66 Ma. Según estos autores, la posterior separación de la subfamilia más antigua de las asteráceas, Barnadesioideae, ocurrió en Sudamérica, seguido por una radiación explosiva a través de los incipientes Andes. Esto sugiere que el grupo ancestral de asteráceas pudo haber integrado la paleoflora subtropical de Sudamérica del Eoceno temprano (Villagrán & Hinojosa, 1997). Kim (2005) estimó que la familia Asteraceae se originó en el Eoceno medio (42-47 Ma), lo que también sugiere su origen en Sudamérica. Barreda y colaboradores (2008) encontraron fósiles del Mioceno inferior que indicarían que los miembros basales de Asteraceae, las subfamilias Barnadesioideae (*Chuquiraga-Doniophyton-duseniella* y *Dasyphyllum*) y Mutisioideae ya se habían diferenciados a esta fecha. En un estudio posterior, Barreda y colaboradores (2010b) describen un fósil de la familia Asteraceae que permite suponer la existencia de la familia desde hace 50 Ma. Descarta que el fósil pertenezca a la subfamilia Barnadesioideae, y proponen que pertenecería a la subfamilia Mutisioideae o a la subfamilia Carduoideae. La fecha de este

fósil llevó a los autores a postular que la familia Asteraceae puede haber integrado la flora subtropical Gondwánica durante el Eoceno, existiéndose, antes de la separación de los continentes.

Se usó la tasa de sustitución de herbáceas perennes descrita para el gen ITS de (Richardson et al. 2001) para estimar las fechas de divergencia. Los resultados (Fig. 9A) datan la separación de las Asteraceae de Calyceraceae a los 95 Ma. Dado que algunos representantes de Asteraceae del grupo externo son leñosos, al usar la tasa de sustitución de herbáceas, esta fecha es probablemente subestimada. Por otra parte las fechas de divergencia de las especies anuales de *Triptilion* estarían sobreestimadas. Además se ha descrito mucha variación en las tasas de sustitución entre una forma de vida determinada (Kay et al. 2006). Si bien, en general, nuestras dataciones sufren de este tipo de imprecisiones, un problema común a este tipo de estudios, permiten concordar con Barreda y colaboradores (2010b) que el origen de la familia Asteraceae se da con anterioridad a la separación de los continentes.

La ruptura de Antártica y Australia hace 38 Ma generó la caída de las temperaturas y de la humedad, causando el reemplazo de bosques con floras cálidas por una paleoflora mixta (Villagrán & Hinojosa 2005), que según Barrera et al. (2010b) podría haber contenido parches de vegetación arbustiva y herbácea. Posteriormente, a los 27 Ma comienza una tendencia al calentamiento que reduce la extensión de hielo en la Antártica, fase que alcanzó su punto máximo a finales del Mioceno medio (17-15 Ma) (Zachos et al. 2001). Según nuestros resultados, en este intervalo se produce la divergencia

de *Calopappus* de *Triptilion-Nassauvia* (23,7 Ma) (Fig. 9A); y a los 16,5 Ma diverge el clado de *Nassauvia* (19 especies) del clado compuesto por *Nassauvia* – *Triptilion* (cuatro especies de *Nassauvia* y seis de *Triptilion*) (Fig. 9B). Este calentamiento fue seguido por un enfriamiento gradual y restablecimiento de una gran capa de hielo en la Antártica hace 10 Ma (Zachos et al. 2001). Concordante con este enfriamiento gradual, durante el Mioceno hace 14,8 Ma divergen cuatro especies de *Nassauvia* (*N. fuegiana*, *N. glomerulosa*, *N. ulicina*, *N. lagascae*) de *Triptilion* (Fig. 9B). Las distribuciones actuales de las especies de los dos géneros indicarían que esta divergencia se desarrolló en la Patagonia.

Hace 13,5 Ma aparece el Linaje I de *Triptilion* que es anual. Esta última fecha corresponde con el período de enfriamiento post Óptimo Climático del Mioceno Medio, (MMCO) y con el levantamiento andino, que según Blisniuk (2005), a los 16,5 Ma, habría formado una sombra de lluvia suficiente como generar un clima árido en la Patagonia (ver también Iglesias et al. 2011). En Chile central, el efecto de sombra de lluvia de la cordillera de los Andes, y la caída en la temperatura global, contribuyen al desarrollo de la aridez y generan el clima mediterráneo determinado por la acción de los vientos del oeste que provocan precipitaciones en invierno y por la mayor influencia anticiclónica del Pacífico que genera sequía estival. El desarrollo de la aridez en la Patagonia y la formación del clima mediterráneo en Chile central inducen el desarrollo de una vegetación más abierta, provocando una explosiva diversificación de la familia Asteraceae. *Nassauvia* y *Triptilion*, tomaron caminos separados, en el

caso de *Triptilion* expandiéndose desde la Patagonia hacia la zona mediterránea de Chile central, y en *Nassauvia*, desde la Patagonia por la cordillera de los Andes hasta Bolivia. El enfriamiento continúa desde el Mioceno tardío hasta el Plioceno temprano donde se produce una leve tendencia al calentamiento que termina hace 3,2 Ma, cuando comienza la glaciación del hemisferio Norte; fecha en la cual ya se han producido todas las divergencias al interior del género *Triptilion*. (Zachos et al. 2001).

La optimización del rasgo forma de vida en la filogenia muestra que la forma de vida ancestral del complejo *Nassauvia-Triptilion* habría sido perenne y, aunque no podemos decir con seguridad que el ancestro de *Triptilion* es *Nassauvia*, por la politomía que forma *T. achilleae* y cuatro especies de *Nassauvia*, es posible pensar que este ancestro habría habitado en la Patagonia. En cuanto a la forma de vida anual, se ha descrito que ésta surge como respuesta a ambientes desérticos o a los que presentan un alto coeficiente de variación en las precipitaciones (Evans et al. 2005), como en el caso de *Oenothera* que se asocia al coeficiente de variación de la precipitación en invierno (Evans et al. 2005), o como se manifiesta en el aumento en la proporción de anuales en la flora, a medida que aumenta la aridez de verano en Chile central (Arroyo et al., 1995). De acuerdo con estos patrones generales, se esperaría encontrar las especies perennes de *Triptilion* en áreas con mayores precipitaciones y/o en hábitats más húmedos, en tanto que las anuales en zonas más áridas.

Si analizamos la distribución geográfica actual de las dos especies perennes de *Triptilion* (Fig. 1, 2), *T. spinosum* se encuentra desde el sector semiárido hasta el perhúmedo de la zona mediterránea; hemos observado que se encuentra muchas veces al borde del bosque esclerófilo o en pequeños claros de bosque esclerófilo, donde en términos relativos hay mayor humedad que en los espacios más abiertos. En cuanto a la segunda especie perenne, *T. benaventii*, se encuentra en los sectores subhúmedo, húmedo, y perhúmedo en terreno cenagosos y a orillas de arroyos (Katinas, 1992).

En cuanto las especies anuales, *T. achilleae* se distribuye al oeste de Patagonia argentina en las provincias de Neuquén, Río Negro, Chubut y Santa Cruz, entrando apenas en territorio Chile a nivel de Lonquimay. El clima en la parte argentina de su distribución es frío y árido con las precipitaciones (aproximadamente 200-400 mm) concentradas en el invierno (Kandus et al. 2008). *T. berteroi*, es una especie muy escasa que se encuentra entre (100 msm) (500-1200 msm) en hábitats rocosos expuestos en los sectores semiárido, subhúmedo, húmedo y perhúmedo. *T. capillatum* abarca los sectores semiáridos y subhúmedos entre 32° a 34° S, encontrándose frecuentemente en espacios abiertos en terrenos arenosos-gravosos, alrededor de los 1500 msm (400-2000 msm). *T. cordifolium* se distribuye en los sectores áridos, semiáridos y subhúmedos entre (20 msm) (300-500 msm) (1700 msm), encontrándose en suelos arenosos. *T. gibbosum*, la especie que distribuye más al norte (hasta los 26° S), se encuentra a bajas alturas (25-550 msm) en los sectores semiárido, árido y perárido en una variedad de hábitats abiertos,

encontrándose especialmente cerca de la costa de la IV Región. Estos antecedentes referidos a las distribuciones muestran cierta correspondencia entre la forma de vida anual y un clima o hábitats más áridos.

Por mucho tiempo los biólogos pensaron que las especies anuales se derivan de especies perennes, y que la transición entre estas dos formas de vida es unidireccional (Stebbins, 1957). Sin embargo, mediante la construcción filogenética se ha documentado ejemplos que van en la dirección opuesta. Por ejemplo, Bena et al. (1998) mostraron que las especies perennes de *Medicago* derivaron de un linaje perenne. En el subtribu Castillejinae (Orobanchaceae), Tank & Olstead (2008) mostraron que el clado perenne de *Castilleja*, con 160 especies, se derivó de un estirpe anual, con una reversión secundaria hacia la forma de vida anual, lo que muestra que las transiciones entre las formas de vida anual y perenne pueden ser en ambas direcciones.

Se observa que el linaje más antiguo de *Triptilion* es de forma de vida anual. Posteriormente, en la filogenia diverge el Linaje III compuesto únicamente por especies anuales (*T. cordifolium*, *T. capillatum* y *T. gibbosum*), las que se distribuyen más hacia al norte en sectores de la zona mediterránea más áridas. Sin embargo, en el Linaje II, que se separó del Linaje III a los 9,3 Ma, se produjo un reversión a la forma de vida perenne a los 5.7 Ma, cuando diverge *T. berteroi* (anual) de *T. spinosum*- *T. benaventii* (perennes). De acuerdo con los antecedentes sobre las distribuciones de las especies de *Triptilion* entregados, al parecer la reversión en la forma de vida de anual a

perenne se produce con la adaptación a un clima y/o hábitats más húmedos en el sur de Chile central que en la Patagonia.

Considerando que los modelos de cambio climático (CC) predicen reducciones en la precipitación en Chile central, donde mayoritariamente se distribuye el género *Triptilion* (CONAMA, 2007) cabe preguntar cómo afectaría el cambio climático (CC) al género *Triptilion*. Marquet y colaboradores (2009) realizaron un análisis de la vulnerabilidad de la biodiversidad terrestre en la eco-región mediterránea, y evaluaron las medidas de adaptación frente a escenarios de CC. Específicamente estudiaron cómo afectaría el CC en los ecosistemas mediterráneos, y predicen que produce importantes modificaciones en los regímenes de lluvias, con reducciones que pueden llegar a un 40%. Si se incorporan los aumentos de temperatura y la subida de la isoterma cero, existiría una aridización de esta área. En general, los ecosistemas de Chile central son los más amenazados ya que serán los que sufrirían mayores cambios en su ubicación actual, desplazándose hacia zonas más australes y/o a mayores altitudes, lo que implica que las especies ligadas a dichos ecosistemas deberán migrar para acceder a las áreas geográficas donde se encuentran las condiciones climáticas que definen el ecosistema al que pertenecen. Específicamente, analizan el comportamiento de especies que habitan la zona mediterránea de Chile frente a dos posibles escenarios de CC, A2 y B2. A2: describe un mundo muy heterogéneo con crecimiento de población fuerte, desarrollo económico y tecnológico lento, B2: describe un planeta con una población intermedia y un crecimiento económico intermedio, más

orientada a las soluciones locales con la finalidad de alcanzar la sostenibilidad económica, social y medioambiental, (IPCC 2007). En este estudio se incluyen tres especies del género *Triptilion*. *T. capillatum*, en el peor escenario A2 y considerando dispersión limitada, su rango de distribución se reduciría en un 18%. La distribución de *T. cordifolium* en ambos escenarios A2 y B2 y considerando dispersión limitada, no se reduce. *T. spinosum* sería la especie que se ve más afectada en el peor escenario A2. Considerando dispersión limitada, su distribución se reduce en un 31%. Es importante señalar que el CC puede provocar la extinción, como se predice en el caso de *Nassauvia digitata* que actualmente se encuentra entre los 2000 -2700 msnm en Chile central (Marquet et al. 2009). Si bien los modelos sugieren que el género *Triptilion* será afectado por el CC, es probable que el linaje perdure en el tiempo.

Hasta la fecha, existen pocos estudios de reconstrucción filogenética de géneros que incorporan la flora del sur de Sudamérica. El presente estudio demuestra que la reconstrucción filogenética es una herramienta útil no sólo para dilucidar las relaciones entre taxa emparentados como *Triptilion* y *Nassauvia*, sino también para trazar la evolución de los linajes en relación a los cambios climáticos y vegetacionales del pasado, y de los cambios en rasgos de historia de vida que han ido acompañando dichos cambios.

REFERENCIAS

- ARROYO MTK, SQUEO F, ARMESTO J & VILLAGRÁN C. (1988) Effects of aridity on plant diversity in the northern Chile Andes: results of a natural experiment. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 75: 55-78.
- ARROYO MTK, CAVIERES L, MARTICORENA C & MUÑOZ-SCHICK M. (1995) Ecology and Biogeography of Mediterranean Ecosystems in Chile, California, and Australia. M.T.K. Arroyo, P.H. Zedler & M.D. Fox, eds, Springer-Verlag. New York 43-88
- ARROYO MTK, ROZZI R, SIMONETTI JA, MARQUET P & SALABERRY M. (1999) Central Chile. En RA Mittermeier, N Myers, C Goettsch Mittermeier & P Robles Gil (eds). *Hotspots: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecorregions*. pp 161 – 171. Cemex, México.
- ARROYO MTK, CHACÓN P & CAVIERES LA. (2006) Relationship between seed bank expression, adult longevity and aridity in species of *Chaetanthera* (Asteraceae) in central Chile. *Annals of Botany* 98: 591-600.
- BALDWIN BG (1992) Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: an example from the Compositae. *Molecular Phylogenetic and Evolution* 1: 3-16.
- BARREDA V & PALAZZESI L. (2007) Patagonian vegetation turnovers during the Paleogene–Early Neogene: origin of arid adapted floras. *The Botanical Review* 73: 31–50.

- BARREDA V, PALAZZESI L & TELLERÍA M. (2008) Fossil pollen grains of Asteraceae from the Miocene of Patagonia: Nassauviinae affinity Review of Palaeobotany and Palynology 151: 51–58
- BARREDA V, PALAZZESI L, TELLERÍA M, KATINAS L & CRISCI J. (2010a) Fossil pollen indicates an explosive radiation of basal Asteracean lineages and allied families during Oligocene and Miocene times in the Southern Hemisphere Review of Palaeobotany and Palynology 160: 102–110.
- BARREDA V, PALAZZESI L, TELLERÍA M, KATINAS L, CRISCI J, BREMER K PASSALIAR M, CORSOLINI R, RODRÍGUEZ BRIZUELA R & BECHIS F. (2010b) Eocene Patagonia Fossils of the Daisy Family Science 329: 1621.
- BENA G, LEJEUNE B, PROSPERI JM, & OLIVIERI I. (1998) Molecular phylogenetic approach for studying life-history evolution: the ambiguous example of the genus *Medicago* L. Proceedings of the Royal Society of London, series B 265: 1141–1151.
- BLISNIUK P, STERN L, CHAMBERLAIN C, IDLEMAN B & ZEITLER P. (2005) Climatic and ecologic changes during Miocene surface uplift in the Southern Patagonian Andes. Earth Planet Science Letters 230: 125–142.
- BROMHAM L & PENNY D. (2003) The modern molecular clock Nature Reviews Genetics 4: 216–224
- BROUGHTON RE, STANLEY SE & DURRETT RT. (2000) Quantification of homoplasy for nucleotide transitions and transversions and a reexamination of assumptions in weighted phylogenetic analysis. Systematic Biology 49: 617–627.

- CABRERA AL. (1982) Revisión del género *Nassauvia* (Compositae). *Darwiniana* 24 (1-4): 283-379.
- CONAMA. (2007) Estudio de la variabilidad climática en Chile para el siglo XXI. Santiago de Chile.
- CRISCI JV. (1974) A numerical taxonomic study of subtribe Nassauviinae (Compositae, Mutisieae). *Journal Arnold Arboretum*. 55: 568-610.
- CRISCI JV. (1980) Evolution in the subtribe Nassauviinae (Compositae, Mutisieae): a phylogenetic reconstruction. *Taxon* 29: 213-224.
- CRUZ-MAZO G, BUIDE ML, SAMUEL R & NARBO E. (2009) Molecular phylogeny of *Scorzoneroides* (Asteraceae): Evolution of heterocarpy and annual habit in unpredictable environments. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 53 835-847.
- DEVORE ML & STUESSY TF. (1995) The place and time of origin of the Asteraceae, with additional comments on the Calyceraceae and Goodeniaceae. *In*: Hind, D.J.N., Jeffrey, C. & Pope, G.V. (eds.), *Advances in Compositae Systematics*. Vol. 1. Royal Botanic Gardens, Kew. Pp. 23-40.
- DI CASTRI F & HAJEK E. (1976) *Bioclimatología de Chile*. Editorial Universidad Católica de Chile, Chile. 163 pp.
- DON D. (1832) *Triptilion*: 390. In *Descriptive Catalogue of Compositae contained in the herbarium of Dr. Gillies*. *The Philosophical Magazine Annals of Chemistry* 2.
- DRUMMOND AJ & RAMBAUT A. (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *Evolutionary Biology* 7: 214-221.

- EFRON B, HALLORAN E & HOLMES S. (1996) Bootstrap confidence levels for phylogenetic trees. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93: 7085-7090.
- EVANS M, HEARN DJ, HAHN W, SPANGLE J & VENABLE DL. (2005) climate and life-history evolution in evening primroses (oenothera, onagraceae): a phylogenetic comparative analysis. *Evolution* 59: 1914–1927.
- FARRIS JS, M KÄLLERSJÖ, KLUGE AG & BULT C. (1994) Testing significance of congruence. *Cladistics* 10: 315-319.
- FELSESTEIN J. (1985) Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- FREIRE SE, CRISCI JV & Katinas L. (1993) A cladistic analysis of *Nassauvia* Comm. ex Juss. (Asteraceae, Mutisieae) and related genera. *Botanical Journal of the Linnean Society* 112: 293–309.
- FUNK VA, BAYER RJ, KEELEY S, CHAN R, WATSON L, GEMEINHOLZER B, SCHILLING EE, PANERO JL, BALDWIN BG, GARCÍA-JACAS NT, SUSANNA A & JANSEN RK. (2005) Everywhere but Antarctica: using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae. *Biologiske Skrifter* 55: 343–373.
- HALL TA. (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95-98.

- HILLIS DM & BULL JJ. (1993) An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 42: 182-192.
- HINOJOSA LF, VILLAGRÁN C (1997) Historia de los bosques del sur de Sudamérica, I: Antecedentes paleobotánicos, geológicos y climáticos del Terciario del cono sur de América. *Revista Chilena de Historia Natural* 70: 225-239.
- IGLESIAS A, ARTABE AE & MOREL EM. (2011) The evolution of Patagonian climate and vegetation from the Mesozoic to the present. *Biological Journal of the Linnean Society*, 103: 409–422.
- IPCC. (2007) Cambio climático: Informe de síntesis. En RK Pachauri & A Reisinger (eds). Contribución de los grupos de trabajo I, II y III al Cuarto informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático IPCC. 104 p. Ginebra, Suiza.
- JAN BEN. (2006) DNeasy Plant Mini Kit and DNeasy Plant Maxi Kit. Handbook for DNA isolation from plant tissue.
- KANDUS P, MINOTTI P & MALVÁREZ AI. (2008) Distribution of wetlands in Argentina estimated from soil charts. *Acta Scientiarum Biological Sciences* 30: 403–409.
- KATINAS L, CRISCI JV & FREIRE SE. (1992) Revisión sistemática y análisis cladístico del género *Triptilion* Ruiz et Pavón (Asteraceae, Mutisieae). *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción* 63: 101-132.
- KATINAS L, CRISCI JV, SCHMIDT JABAILY RS, WILLIAMS C, WALKER J, DREW B, BONIFACINO JM & SYTSMA KJ. (2008a) Evolution of secondary heads in Nassauviinae (Asteraceae, Mutisieae). *American Journal of Botany* 95: 229-240.

- KATINAS L, PRUSKI J, SANCHO G & TELLERÍA MC. (2008b) The subfamily Mutisioideae (Asteraceae). *Botanical Review* 74:469–716.
- KAY K, WHITTALL J & HODGES S. (2006) A survey of nuclear ribosomal internal transcribed spacer substitution rates across angiosperms: an approximate molecular clock with life history effects. *Evolutionary Biology* 6: 36-44.
- KIM KJ & JANSEN RK. (1995) *ndhF* sequence evolution and the major clades in the sunflower family. *Proceeding of the National Academy of Sciences of United States of America* 92: 10379-10383.
- KIM HG, LOOCKERMAN DJ & JANSEN RK. (2002) Systematic Implications of *ndhF* Sequence Variation in the Mutisieae (Asteraceae). *Systematic Botany* 27: 598–609.
- KIM K, CHOI K & JANSEN RK. (2005) Two Chloroplast DNA Inversions Originated Simultaneously During the Early Evolution of the Sunflower Family (Asteraceae) *Molecular Biology and Evolution* 22: b1783–1792.
- LUNDBERG J & BREMER K. (2003) A phylogenetic study of the order Asterales using one morphological and three molecular data sets. *International Journal of Plant Sciences* 164: 553–578.
- MADDISON WP & MADDISON DR. (2008) Mezquite. <http://mesquiteproject.org/mesquite/mesquite.html>.
- MARANER F, STUESSY T, CRISCI J, SAMUEL R, CRAWFORD D, PANDEY A & MORT M. (2012) Molecular phylogeny of *Nassauvia* (Asteraceae, Mutisieae) based on nrDNA ITS sequences. *Plant Systematics and Evolution* 298: 399–408

- MARQUET P, ABADES S, ARMESTO J, BARRIA I, ARROYO MTK, CAVIERES L, GAJARDO R, GARÍN C, LABRA F, MEZA F, PLISCOFF P, PRADO C, RAMÍREZ DE ARELLANO P & VICUÑA S. (2009) Estudio de vulnerabilidad de la biodiversidad terrestre en la eco-región mediterránea, a nivel de ecosistemas y especies, y medidas de adaptación frente a escenarios de cambio climático. Centro de Cambio Global, CASEB, IEB. Santiago, Chile.
- MYERS N, MITTERMEIER RA, MITTERMEIER CG, DA FONSECA GAB & KENT J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853 – 858.
- NYLANDER JAA (2004) MR Modeltes <http://www.abc.se/~nylander/mrmodeltest2/mrmodeltest2.html>.
- RIVERO RM, KOJIMA M, GEPSTEIN A, SAKAKIBARA H, MITTLER H, GEPSTEIN S & BLUMWALD E (2007). Delayed leaf senescence induces extreme drought tolerance in a flowering plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 104: 19631-19636.
- RICHARDSON JE, WEITZ FM, FAY MF, CRONK QCB, LINDER HP, REEVES G & CHASE MW. (2001) Rapid and recent origin of species richness in the Cape flora of South Africa. *Nature* 412: 181-183
- RONQUIST F & HUELSENBECK JP. (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-574.
- SCHAFFER WM & GADGIL M. (1975) Selection for optimal life histories in plants. *in* M. Cody and J. Diamond, eds. *The ecology and evolution of communities*. Belknap, Cambridge, MA Pp. 142–157.

- SHAW J, LICKEY EB, SCHILLING E & SMALL RL. (2007) Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American Journal of Botany* 94: 275–288.
- SIMPSON B, ARROYO MTK, SIPE S, DIAS de MORAES M & McDILL J. (2009) Phylogeny and evolution of *Perezia* (Asteraceae: Mutisieae: Nassauviinae). *Journal of Systematics and Evolution* 47: 431–443.
- SQUEO FA, ARANCIO G & GUTIÉRREZ JR. (2008) "Libro Rojo de la Flora Nativa y de los Sitios Prioritarios para su Conservación: Región de Atacama". Ediciones Universidad de La Serena, La Serena. xvi + 456 pp.
- STEBBINS GL. (1957) Self fertilization and population variability in the higher plants. *American Naturalist* 91: 337–354.
- SWOFFORD DL. (2003) PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (* and other methods). Version 4. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts.
- TABERLET P, GIELLY L, PAUTOU G & BOUVET J. (1991) Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17: 1105-1105.
- TANK DC & OLMSTEAD RG. (2008) From annuals to perennials: phylogeny of subtribe Castillejinae (Orobanchaceae). *American Journal of Botany* 95: 608–625.

- VELOSO A & ARROYO MTK. (1982) Características del medio físico. En Veloso A & E Bustos (Eds.) El Ambiente Natural y las Poblaciones Humanas de los Andes del Norte Grande de Chile (Arica, Lat. 18° 28'S). Rostlac, Montevideo. 5-12 pp.
- VILLAGRÁN C & HINOJOSA LF. (2005) Regionalización biogeográfica en Iberoamérica y tópicos afines. Llorente Bousquets J, Morrone J (Eds.) Ediciones de la Universidad Nacional Autónoma de México, Jiménez Editores, México. Capítulo 33 pp. 551-577.
- WHITE TJ, BRUNS T, LEE S & TAYLOR J. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En Innis M, Gelfand S, Ninsky J, White T (Eds.) PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press, San Diego. 315-322 pp.
- ZACHOS J, PAGANI M, SLOAN L, THOMAS E & BILLUPS K. (2001) Trends, rhythms and aberrations in global climate 65 Ma to present. Science 292: 686-693.

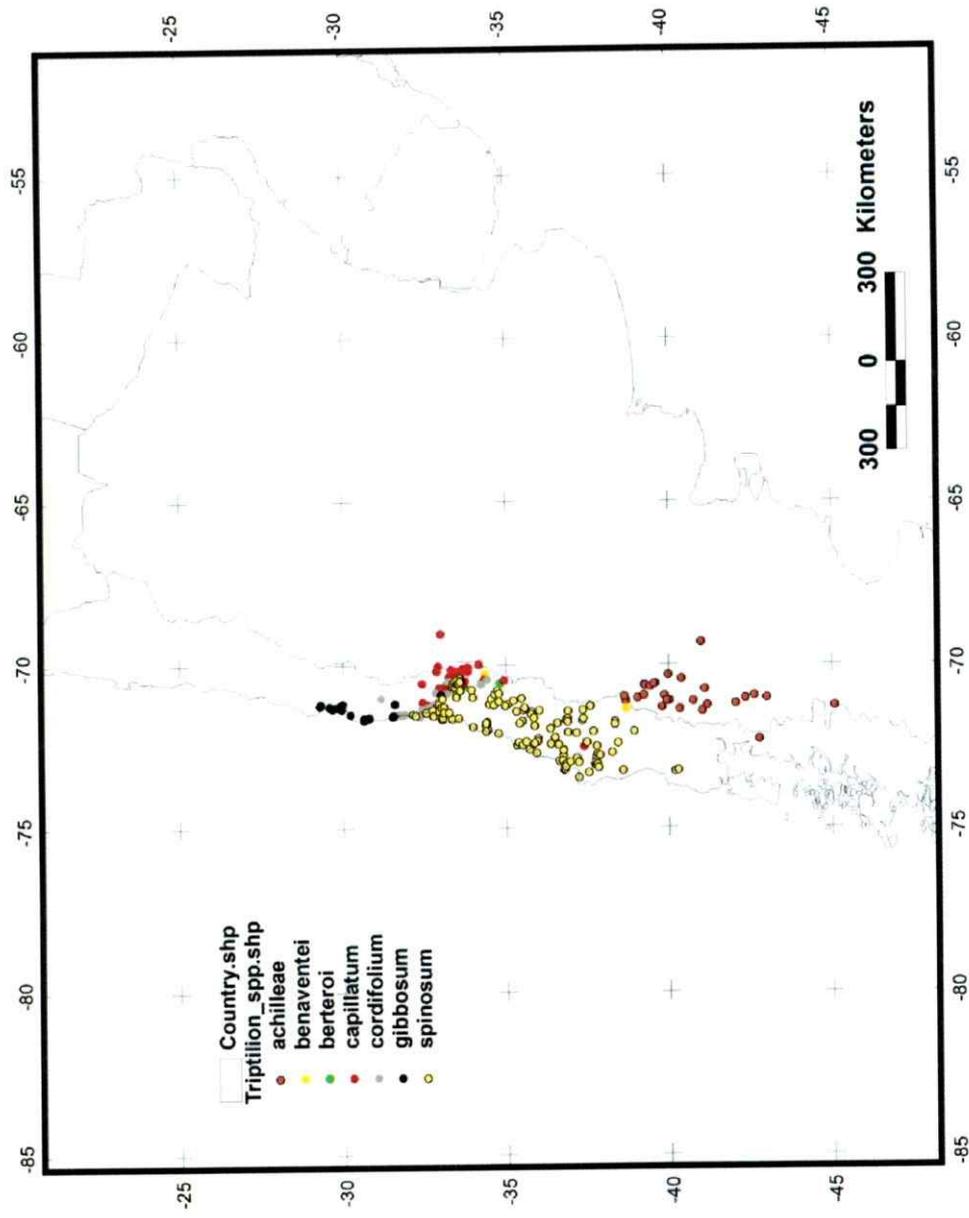


Figura 1. Distribución geográfica de las especies del género *Triptilion*.

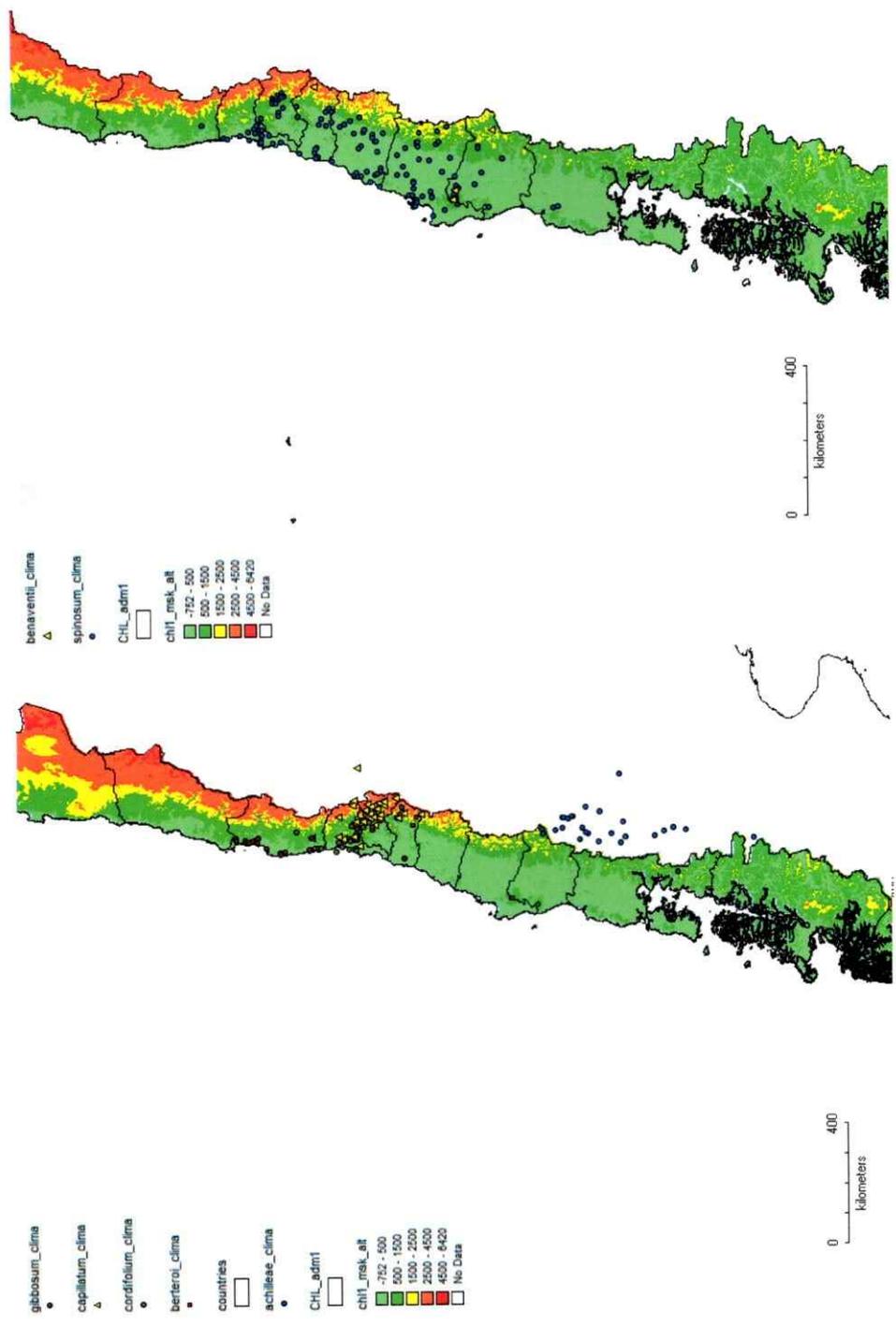
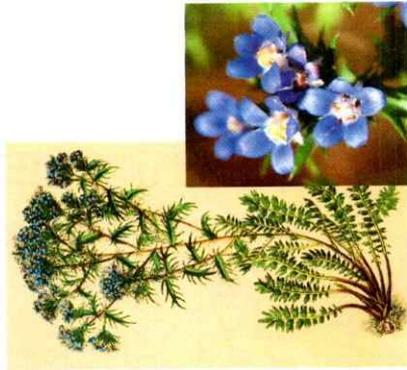


Figura 2. Mapa de distribución de las especies anuales del género *Triptilion* (izquierdo) y especies perennes del género *Triptilion* (derecha)



T. spinosum

<http://delta-inkeiv.com/angle/maages/xxvi/22.jpg>
<http://www.flickr.com/photos/fibn/3639294351/in/p1hotostream/>



T. berteroi

(Katinas, 1992)



T. cordifolium

(Katinas, 1992)



T. gibbosum

<http://farm3.static.flickr.co>
m/2681/4380244337_9fbb7d7b95.jpg



T. achilleae

(Katinas, 1992)



T. benaventii

(Katinas, 1992)



T. capillatum

<http://www.plantsystematics.org/images/m>
bonifa//Asteraceae_Triptilion_capillatum_5993.html

Figura 3. Grupo interno conformado por las siete especies del género *Triptilion*.

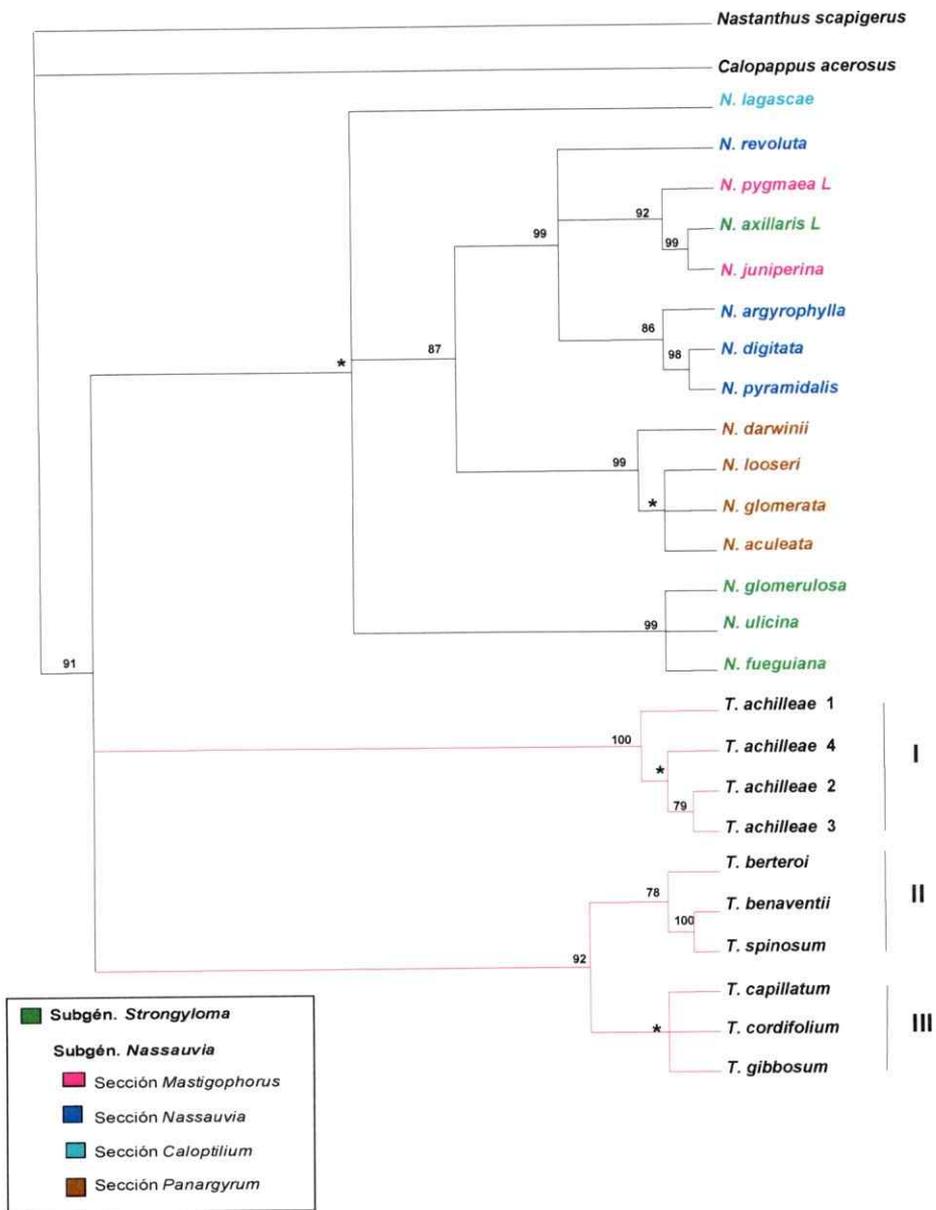


Figura 4. Árbol de consenso de 18 árbol con el mismo valor de parsimonia, basado en secuencias de rDNA de la región ITS, para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y como grupo externo 15 especies del género *Nassauvia*, una de *Calopappus*

y una de *Nastanthus*. Los valores de bootstrap se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan nodos < a 70% de soporte. Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La letra L que acompaña a algunas especies de *Nassauvia*, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. Líneas negras muestran el grupo externo y rojas el grupo interno.

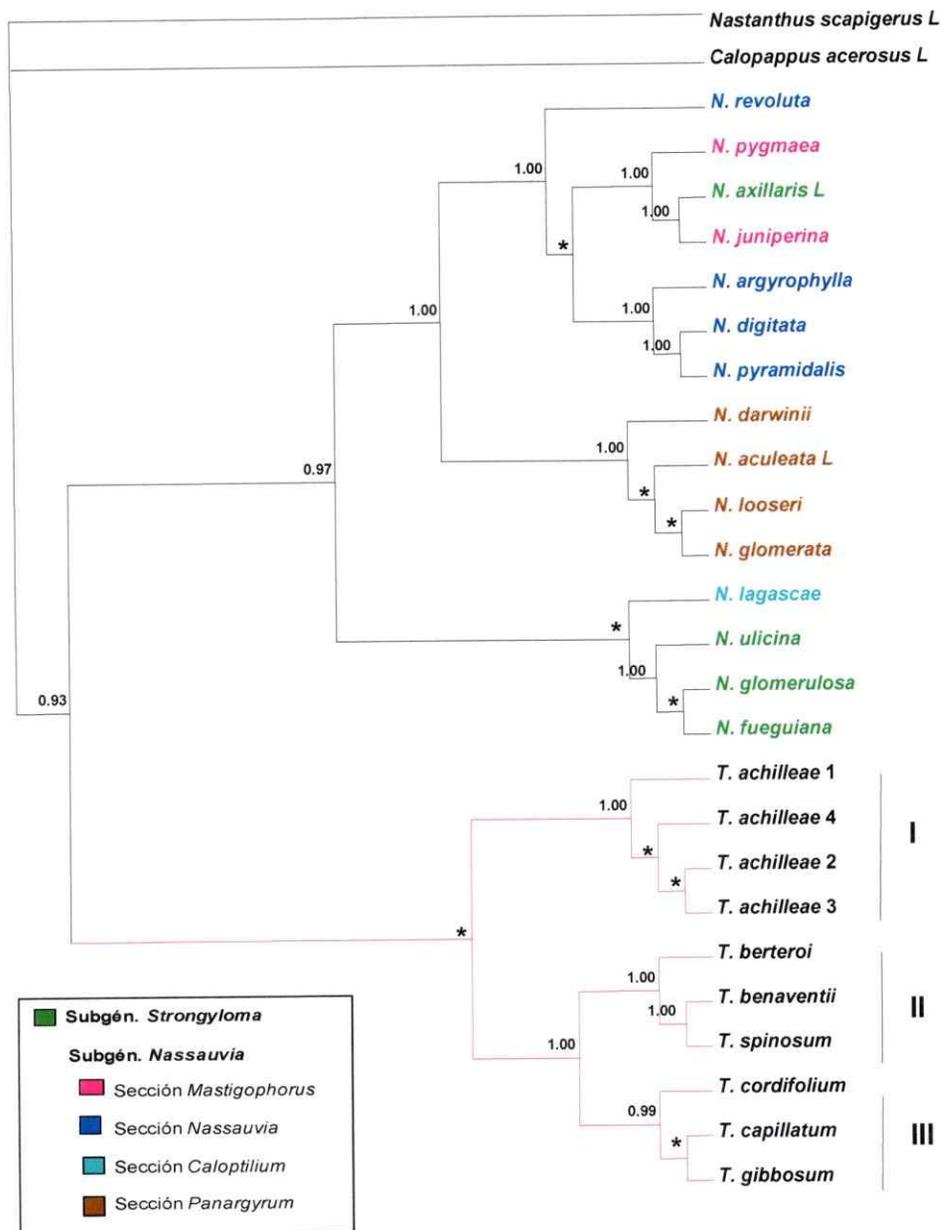


Figura 5. Árbol filogenético de inferencia bayesiana, basado en secuencias de rDNA de la región ITS, para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y como grupo

externo 15 especies del género *Nassauvia*, una de *Calopappus* y una de *Nastanthus*. Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan nodos < a 0.95 de soporte. Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La letra L que acompaña a algunas especies de *Nassauvia*, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. Líneas negras muestran el grupo externo y rojas el grupo interno.

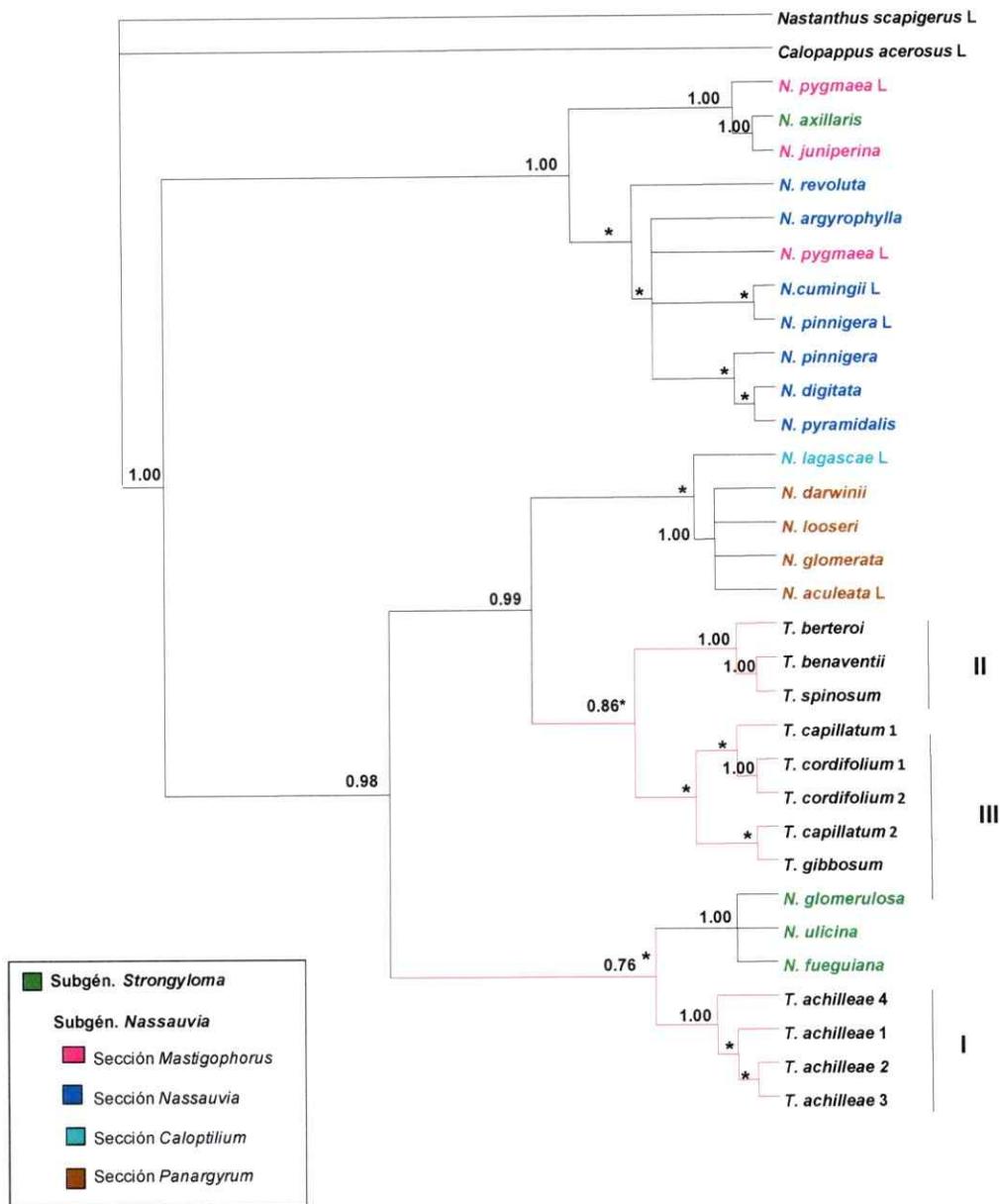


Figura 6. Árbol filogenético de inferencia bayesiana, mediante evidencia total (ITS, cpDNA de la región trnL-F y rpl32-trnLUAG) para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y como grupo externo 17 especies del género *Nassauvia*, una de

Calopappus y una de *Nastanthus*. Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La letra L que acompaña a algunas especies de *Nassauvia*, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. Líneas negras muestran el grupo externo y rojas el grupo interno. Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan nodos < a 0.95 de soporte.

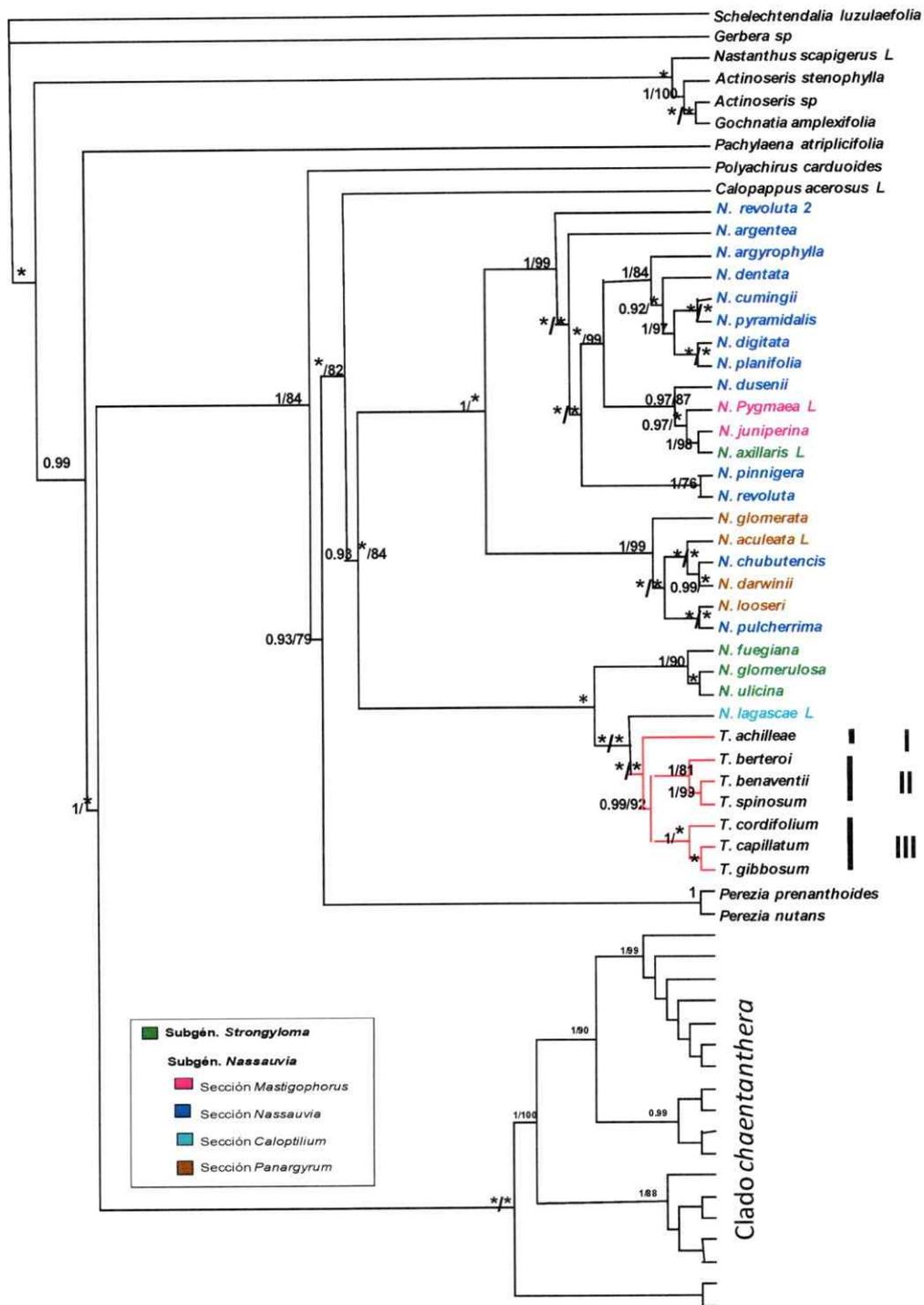


Figura 7. Árbol filogenético de inferencia bayesiana para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y 51 especies como grupo externo 23 especies del género *Nassauvia*, 16 especies del género *Chaetanthera* dos especies de *Perezia*, dos especies de *Actinoseris*, una especie de *Pachylaena*, una especie de *Gochnatia*, una especie de *Gerbera*, una especie de *Polyachyrus*, una especie de *Calopappus*, una especie de *Schelechtendalia* y una especie de *Nastanthus*. Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La letra L que acompaña a algunas especies, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. Líneas negras muestran el grupo externo y rojas el grupo interno. Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo para el análisis de Bayes/parsimonia; los asteriscos representan nodos < a 0.95 de soporte para el análisis Bayesiano y < a 70 para el caso de parsimonia.

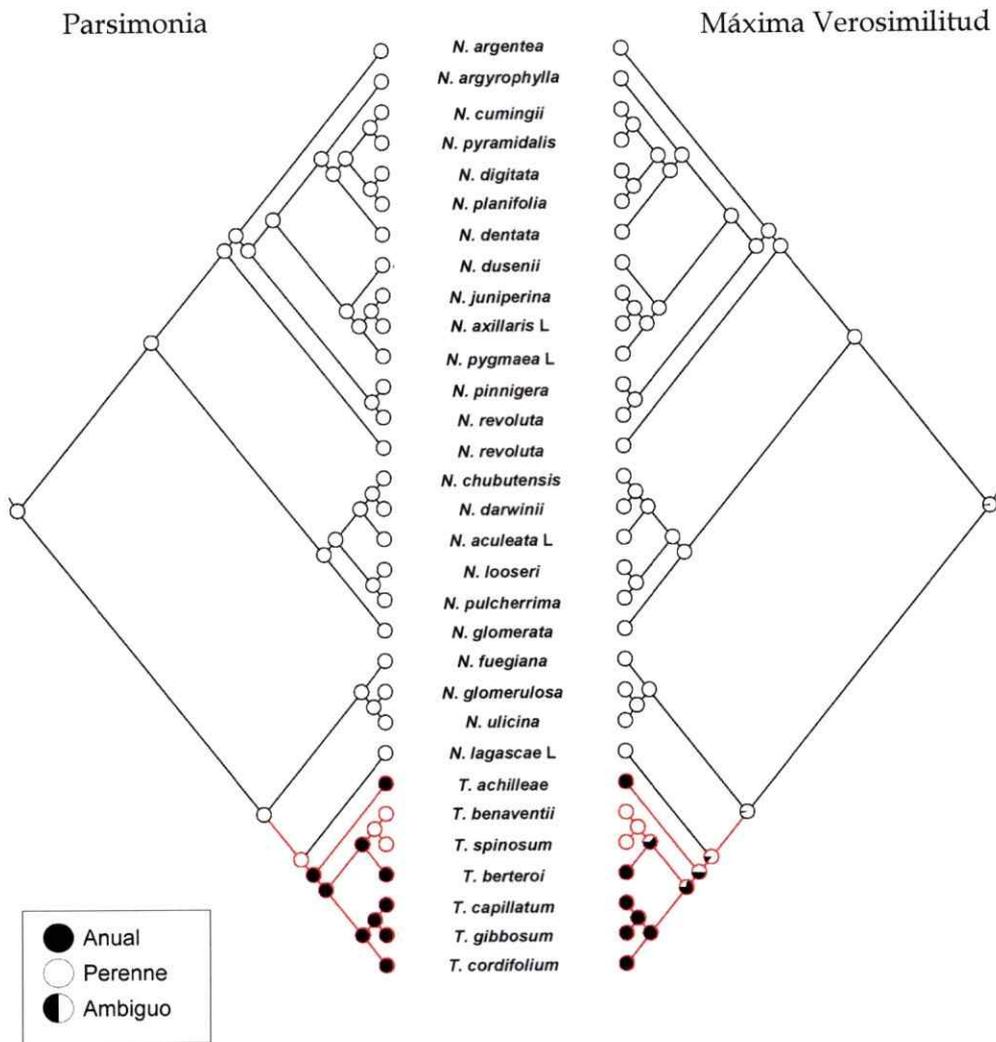


Figura 8. Estados ancestrales de la forma de vida de las siete especies de *Triptilion* (Asteraceae) y 15 especies del género *Nassauvia*, basado en topología de evidencia total y del rasgo de vida anual o perenne, mediante análisis de parsimonia (A) y máxima verosimilitud (B). La coloración de las circunferencias determina la forma de vida de las especies ancestrales. Ambiguo, indica que el ancestro pudo haber sido anual o perenne.

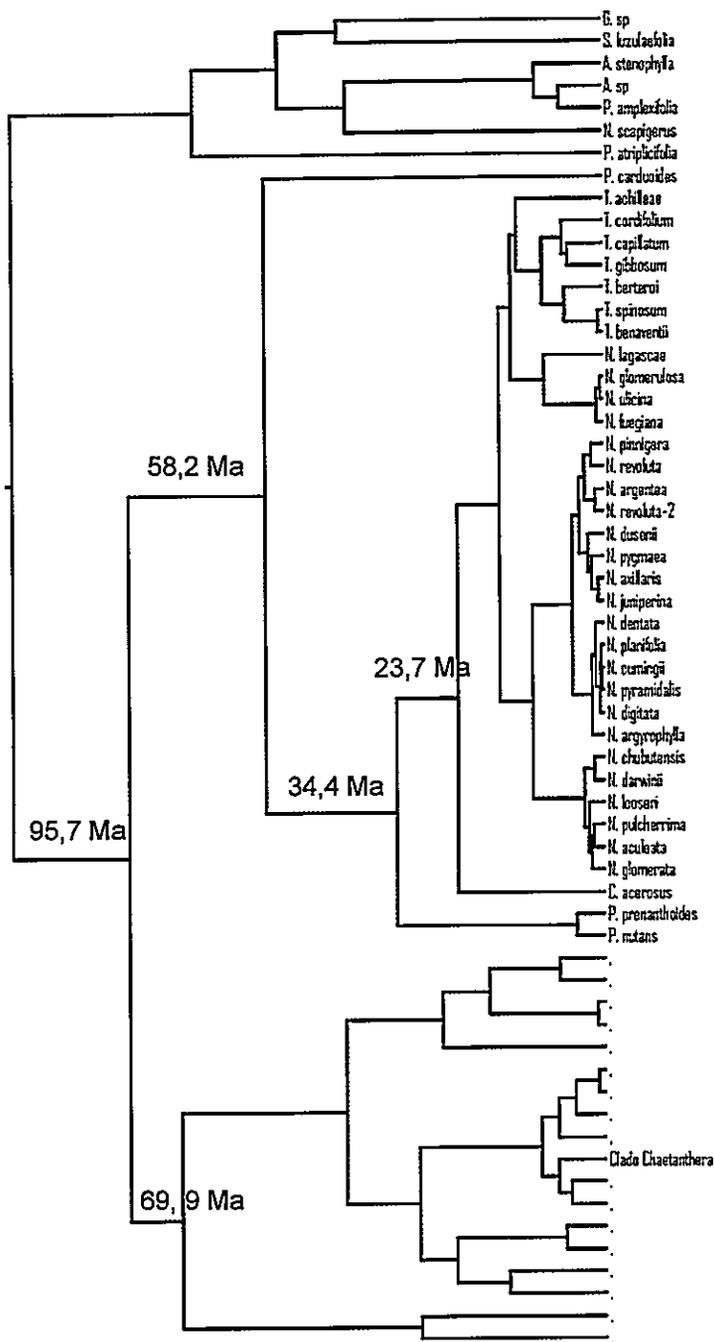


Figura 9-A

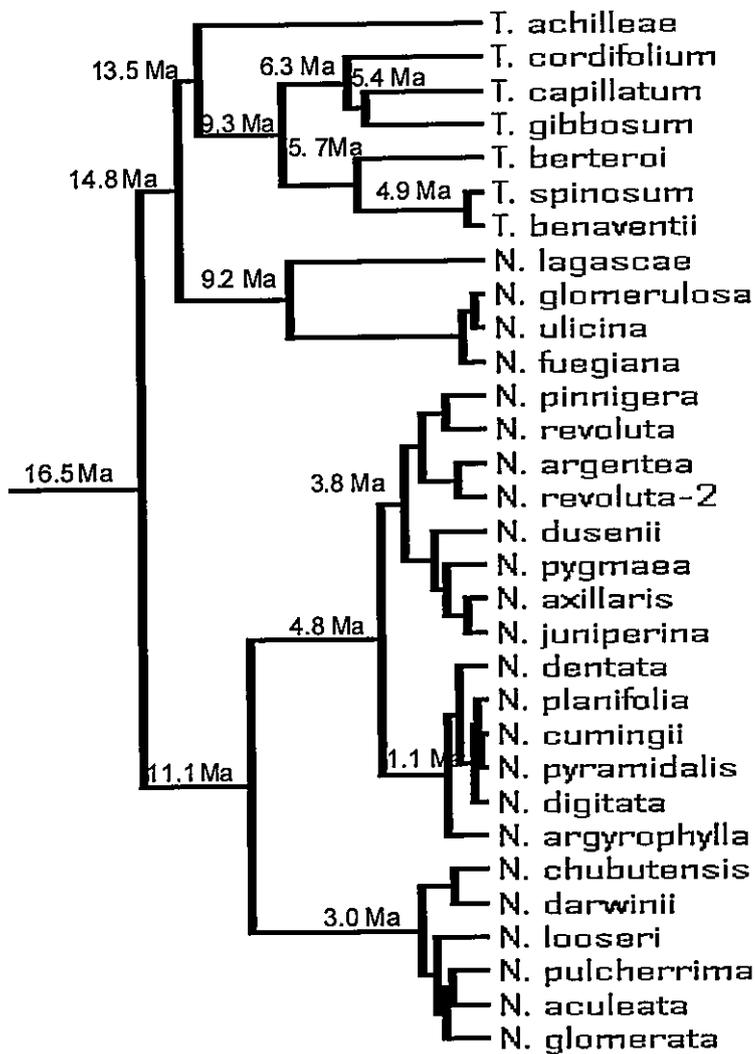


Figura 9-B

Figuras 9 A y B. Estimación de tiempos de divergencia basado en secuencias de rDNA de la región ITS, para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y como grupo externo 22 especies del género *Nassauvia*, 16 especies del género *Chaetanthera* dos especies de *Perezia*, dos especies de *Actinoseris*, una especie de

Pachylaena, una especie de *Schelechtendalia*, una especie de *Gochnatia*, una especie de *Gerbera*, una especie de *Polyachirus*, una especie de *Calopappus* y una especie de *Nastanthus*, utilizando estadística Bayesiana (promedio) expresados en millones de años (Ma).

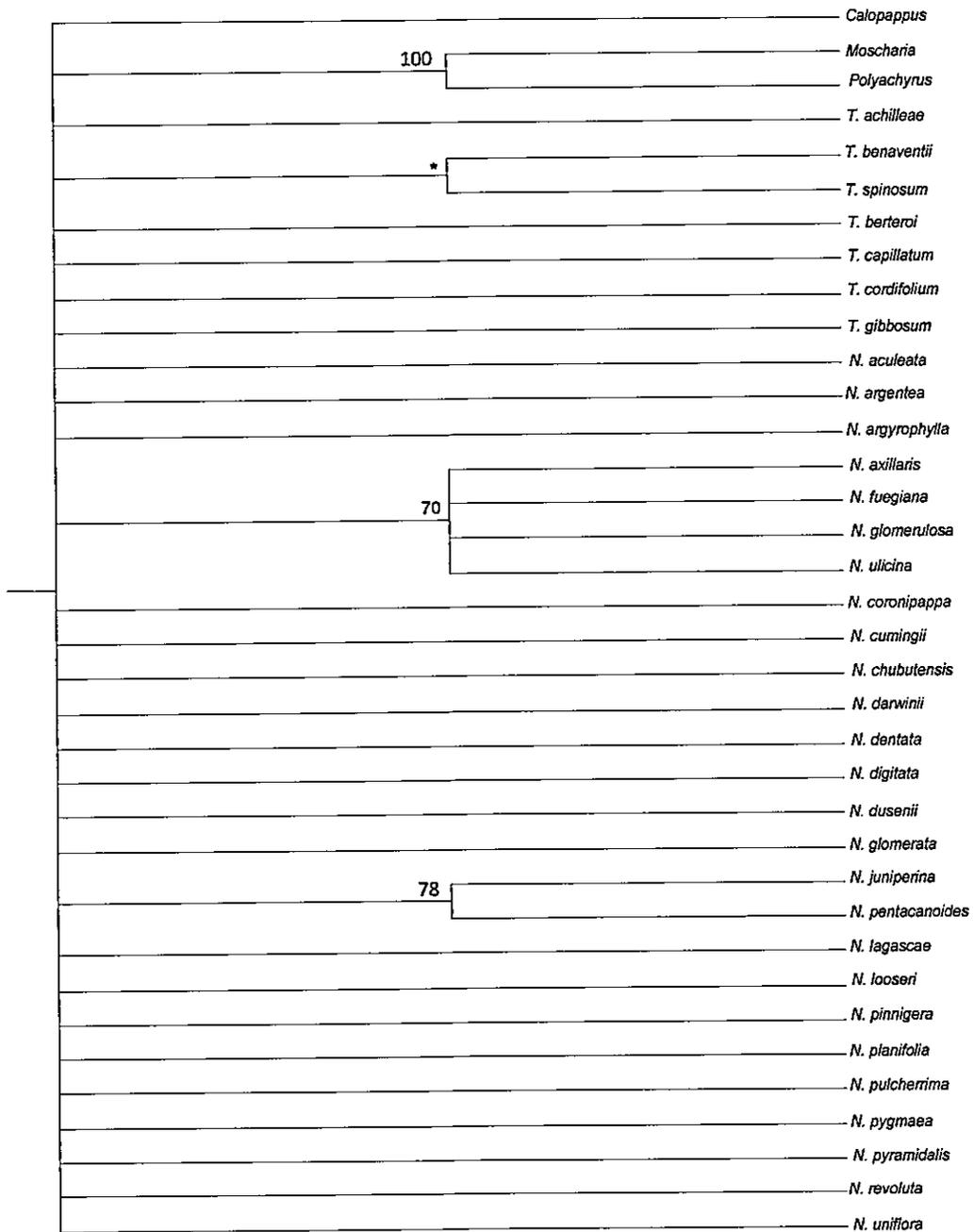


Figura 10. Árbol de consenso de 18 árbol con el mismo valor de parsimonia, basado en 19 caracteres morfológicos, para siete especies del género *Triptilion* y como grupo

externo 26 especies del género *Nassauvia*, (grupo interno) y considerado a nivel de género *Calopappus*, *Moscharia* y *Polyachyrus* (grupo externo).

Tabla 1. Especies del género *Nassauvia*.

Especie	Subgénero	Sección
<i>N. lagascae</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Caloptilium</i>
<i>N. argentea</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. argyrophylla</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. chubutensis</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. coronipappa</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. cumingii</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. dentata</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. digitata</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. dusenii</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. fatissima</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. magellanica</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. pinnigera</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. planifolia</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. pulcherrima</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. pyramidalis</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. ramosissima</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. revoluta</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. ruizii</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. sceptrum</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. serpens</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. sprengeloides</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>
<i>N. sublobata</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Nassauvia</i>

Especie	Subgénero	Sección
<i>N. ameghinoi</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Mastigophorus</i>
<i>N. gaudichaudii</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Mastigophorus</i>
<i>N. hillii</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Mastigophorus</i>
<i>N. juniperina</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Mastigophorus</i>
<i>N. pentacaenoides</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Mastigophorus</i>
<i>N. pygmaea</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Mastigophorus</i>
<i>N. aculeata</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Panargyrum</i>
<i>N. darwinii</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Panargyrum</i>
<i>N. glomerata</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Panargyrum</i>
<i>N. looseri</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Panargyrum</i>
<i>N. uniflora</i>	<i>Nassauvia</i>	<i>Panargyrum</i>
<i>N. axillaris</i>	<i>Strongyloma</i>	
<i>N. fuegiana</i>	<i>Strongyloma</i>	
<i>N. glomerulosa</i>	<i>Strongyloma</i>	
<i>N. maeviae</i>	<i>Strongyloma</i>	
<i>N. ulicina</i>	<i>Strongyloma</i>	

Tabla 2. Sitios de colecta de los individuos del género *Triptilion*.

Especie	Colector	Sitio de colecta	fecha	N° colector	Herbario
<i>Triptilion achilleae</i> 1, 2, 3	Vidal	Camino Licucura-Icalma	09/01/2010	S/N	SGO160727
<i>Triptilion achilleae</i> 4	Philipi	Pucaullu, Argentina	Enero 1887	S/N	SGO76683
<i>Triptilion benaventii</i>	Baeza	Parque Nacional Nahuelbuta, sector Coimallín	25/11/1987	S/N	CONC103120
<i>Triptilion berteroi</i>	Arroyo, Humaña, Pérez	Coya, lado Sur del Rio Pangal, oeste del Campamento Pangal	10/01/1999	99148	SGO161138
<i>Triptilion capillatum</i> 1	Arroyo	Cuesta Chacabuco	13/11/2010	28520	SGO161134
<i>Triptilion capillatum</i> 2	Arroyo, Humaña, Valdivia, McPherson	Parque Nacional La Campana Sector Loma La Culebra, ladera cerro El Roble	10/11/1999	994016	SGO161137
<i>Triptilion cordifolium</i> 1	Arroyo, Humaña, Valdivia	Cuesta de Zapata, Tunel Lo Prado	30/11/1999	995390	SGO161139
<i>Triptilion cordifolium</i> 2	Luck	Santiago, cerros de Renca	15/10/1961	S/N	CONC37258
<i>Triptilion gibbosum</i>	Vidal, Arroyo	Desde carretera norte-sur 19 km entrando camino Los Choros	20/09/2008	S/N	SGO160725
<i>Triptilion spinosum</i>	Arroyo	Víña Sta. Emiliana cerros del Norte	11/10/2008	28235	SGO161132

Tabla 3. Sitios de colecta de las especies utilizadas como grupo externo.

Especie	Colector	Sitio de colecta	fecha	N° colector	Herbario
<i>Nassauvia aculeata</i> 2	Vidal, Arroyo	Farellones	11/04/2010	S/N	SGO160731
<i>Nassauvia aculeata</i> 1	Vidal, Arroyo	Reserva Nacional Alto Bio-Bio	09/01/2020	S/N	SGO159014
<i>Nassauvia axillaris</i>	Vidal, Arroyo	La Parva	11/04/2010	S/N	SGO16732
<i>Nassauvia cumingii</i>	Vidal, Arroyo	Valle Nevado	11/04/2010	S/N	SGO160729
<i>Nassauvia lagascae</i>	Vidal, Arroyo	Valle Nevado	11/04/2010	S/N	SGO160728
<i>Nassauvia looseri</i>	Vidal, Arroyo	La Parva	11/04/2010	S/N	SGO160733
<i>Nassauvia pinnigera</i>	Arroyo, Humaña	Valle Nevado	Enero 2010	29066	SGO161133
<i>Nassauvia pigmaea</i>	Arroyo, Humaña	Cumbre S.O del cerro Balseira, Tierra del Fuego	21/02/1995	951319	SGO161131
<i>Nastanthus scapigerus</i>	Arroyo	Área del Complejo de Ski, Valle Nevado en los cerros	Enero 2011	28554	SGO161140
<i>Calopappus acerosus</i>	Vidal, Arroyo	Camino a Valle Nevado	11/04/2010	S/N	SGO160730

Tabla 4. Código de las secuencias obtenidas en GenBank

A- Código de las secuencias de grupo Externo Nassauvia, para ITS (rDNA)

B- Código de las secuencias de grupo Externo Nassauvia, para trnL-trnF (cpDNA)

A

Código	Especie
EU239264.1	<i>N. argyrophylla</i>
EU239265.1	<i>N. cumingii</i>
EU 239274.1	<i>N. pyramidalis</i>
EU239267.1	<i>N. pygmaea</i>
EU239270.1	<i>N. glomerata</i>
EU239271.1	<i>N. juniperina</i>
EU239272.1	<i>N. fuegiana</i>
EU239273.1	<i>N. axillaris</i>
EU239275.1	<i>N. looseri</i>
EU239278.1	<i>N. revoluta</i>
EU239279.1	<i>N. ulicina</i>
EU239280.1	<i>N. glomerulosa</i>
EU239283.1	<i>N. darwinii</i>
EU239284.1	<i>N. pinnigera</i>
EU239288.1	<i>N. lagascae</i>
EU239287.1	<i>N. digitata</i>

B

Código	Especie
EU 385092.1	<i>N. pygmaea</i>
EF530278.1	<i>N. axillaris</i>
EF530292.1	<i>N. argyrophylla</i>
EF530299.1	<i>N. revoluta</i>

A- **Tabla 5.** Código de secuencias obtenidas de GenBank, para ITS (rDNA), en la segunda parte del estudio (nueva evidencia).

Código	Especie
AF546085	<i>Actinoseris stenophylla</i>
AF546086	<i>Actinoseris sp.</i>
EU239276	<i>Calopappus acerosus</i>
DQ355905	<i>Chaetanthera acerosa</i>
DQ355910	<i>Chaetanthera apiculata</i>
DQ355887	<i>Chaetanthera ciliata</i>
DQ355859	<i>Chaetanthera glabrata</i>
DQ355906	<i>Chaetanthera aff. gnaphalioides</i>
DQ355855	<i>Chaetanthera limbata</i>
DQ355874	<i>Chaetanthera linearis var. linearis</i>
DQ355920	<i>Chaetanthera lycopodioides</i>
DQ355907	<i>Chaetanthera minuta</i>
DQ355844	<i>Chaetanthera moenchioides</i>
DQ355904	<i>Chaetanthera pentacaenoides</i>
DQ355903	<i>Chaetanthera pulvinata var. pulvinata-1</i>
DQ355918	<i>Chaetanthera pulvinata var. pulvinata-2</i>
DQ355916	<i>Chaetanthera pusilla</i>
DQ355899	<i>Chaetanthera revoluta</i>
DQ355912	<i>Chaetanthera stuebelii var. indet.</i>
AY504687	<i>Gerbera crocea</i>
AY914823	<i>Gerbera sp.</i>
AF546090	<i>Gochnatia amplexifolia</i>
EU239282	<i>N. aculeata</i>
EU239263	<i>N. argentea</i>
EU239264	<i>N. argyrophylla</i>
EU239273	<i>N. axillaris</i>
EU239268	<i>N. chubutensis</i>
EU239265	<i>N. cumingii</i>
EU239283	<i>N. darwinii</i>
EU239269	<i>N. dentata</i>

Código	Especie
EU239287	<i>N. digitata</i>
EU239266	<i>N. dusenii</i>
EU239272	<i>N. fuegiana</i>
EU239280	<i>N. glomerulosa</i>
EU239270	<i>N. glomerata</i>
EU239271	<i>N. juniperina</i>
EU239288	<i>N. lagascae</i>
EU239275	<i>N. looseri</i>
EU239284	<i>N. pinnigera</i>
EU239281	<i>N. planifolia</i>
EU239285	<i>N. pulcherrima</i>
EU239267	<i>N. pygmaea</i>
EU239274	<i>N. pyramidalis</i>
EU239277	<i>N. revoluta-1</i>
EU239278	<i>N. revoluta-2</i>
EU239279	<i>N. ulicina</i>
EF530250	<i>Pachylaena atriplicifolia</i>
FJ979670	<i>Perezia prenanthoides</i>
FJ979671	<i>Perezia nutans</i>
EU239289	<i>Polyachyrus carduoides</i>
AF412835	<i>Schlechtendalia luzulaefolia</i>
EU239286	<i>Triptilion spinosum</i>

Tabla 6. Caracteres y estados de caracteres morfológicos.

Nº	Carácter	0	1	2
1	Habito	herbácea	Arbustiva	
2	Forma de vida	perenne	Annual	
3	Hojas	entera	Partida	
4	forma foliar	ovada	Linear	
5	Aurículas	ausentes	Presentes	
6	Sección cruzada de la hoja	aplanada	Circular	
7	Hojas basales en roseta	presente	Ausente	
8	Filotaxys	extendida	Apiñada	
9	Tipo de inflorescencia	cimosa	Pseudocefalio	solitario
10	Nº de series del involucre	2	1	3
11	longitud de las brácteas involucreales	exteriores más largas que las internas	del mismo largo	
12	Nº de brácteas involucreales	más de 5	menos de 5	
13	tamaño del involucre	menos de 15mm	más de 17 mm	
14	Nº de flores por capitulo	5	1 a 2	
15	Color de la corola	blanco	azul violeta o rosado	
16	Cipsela pubescente	presente	Ausente	
17	forma del grano de polen	prolato - esférico	esférico -ovalado	
18	Papus plumoso	completamente plumoso	plumoso en la parte distal	
19	Duración del papus	persistente	Deciduo	

Tabla 7. Caracteres categorizados por especie.

SP	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
<i>Catopappus</i>	1	0	0	1	0	0	0	1	2	2	0	0	0	0	0	1	1	?	0
<i>Moscharia</i>	0	1	1	?	1	0	0	0	1	1	?	1	0	1	1	0	0	0	0
<i>Polyachyrus</i>	0	1	1	?	1	0	0	0	1	1	?	0	0	1	1	0	0	0	0
<i>T. achilleae</i>	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1
<i>T. benaventii</i>	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1
<i>T. berteroi</i>	0	1	0	1	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	1	0	1	1	0
<i>T. capillatum</i>	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1
<i>T. cordifolium</i>	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1
<i>T. gibbosum</i>	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1
<i>T. spinosum</i>	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1
<i>N. aculeata</i>	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
<i>N. argentea</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	?	1
<i>N. argyrophylla</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	?	1
<i>N. axillaris</i>	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	?	1
<i>N. coronipappa</i>	0	0	0	0	0	?	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	?	0
<i>N. cumingii</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	?	1
<i>N. chubutensis</i>	0	0	1	0	0	0	1	?	0	0	0	0	0	0	0	1	1	?	1
<i>N. danwinii</i>	0	0	0	1	0	0	1	?	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
<i>N. dentata</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	?	1
<i>N. digitata</i>	0	0	1	?	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	?	1
<i>N. dusenii</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	?	1
<i>N. fuegiana</i>	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	?	1
<i>N. glomerulosa</i>	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	?	1
<i>N. glomerata</i>	0	0	1	?	0	?	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	?	0
<i>N. juniperina</i>	0	0	0	1	0	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	1	1	?	1

Tabla 8: Descripción del grupo es estudio (grupo interno)

especie	Descripción
<i>T. achilleae</i>	Hierba anual, 5-50 cm. de tallos delgados y flores blancas. Se encuentra en suelo arenoso y se distribuye en cordilleras bajas del sur de Chile, provincia de Malleco (38° a 39° S, 70° a 72° O), y en Argentina en el Oeste de Patagonia, Neuquén, Río Negro, Chubut y Santa Cruz (39° a 45° S, 69° a 71° O).
<i>T. benaventii</i>	Hierba perenne, 30-50 cm. de tallos simples y flores blancas. Se distribuye en la provincia de Malleco al norte de la Región de la Araucanía (34° a 38° S, 71° a 73° O), en terrenos cenagosos y a orillas de arroyos.
<i>T. berteroi</i>	Hierba anual pequeña, 5-20 cm. de flores azules. Se distribuye en montañas rocosas de las provincias de Santiago, Cachapoal, Colchagua, Cauquenes y Bio- Bio (32° a 37° S, 70° a 73° O).
<i>T. capillatum</i>	Hierba anual, 5-20 cm. de flores blancas. Se distribuye en terrenos arenoso-gravoso con vegetación tipo chaparral las cordilleras bajas de las provincias del Limarí, Choapa, Los andes, Quillota Santiago, Chacabuco, Cachapoal y Cauquenes desde los 450 hasta los 2200 msm. (32° a 34° S, 69° a 71° O).
<i>T. cordifolium</i>	Hierba anual, 5-40 cm. de flores blancas. Se puede encontrar en dunas o en cerros de las provincias del Limarí, Choapa, Petorca, Quillota, Santiago, Chacabuco y Cachapoal (30° a 34° S, 70° a 71° O).
<i>T. gibbosum</i>	Hierba anual pequeña, 3-17 cm. de flores blancas. Se distribuye en terreno semiárido matorral y pastizal desde la provincia del Elqui hasta la de San Felipe de Aconcagua (26° a 34° S, 71° O).
<i>T. spinosum</i>	Hierba perenne, 15-60 cm. de tallos simples y flores azules. Se encuentra en el borde de bosque esclerófilo, desde la provincia de Limarí hasta la provincia de Valdivia (32° a 38° S, 70° a 73° O).

Anexo

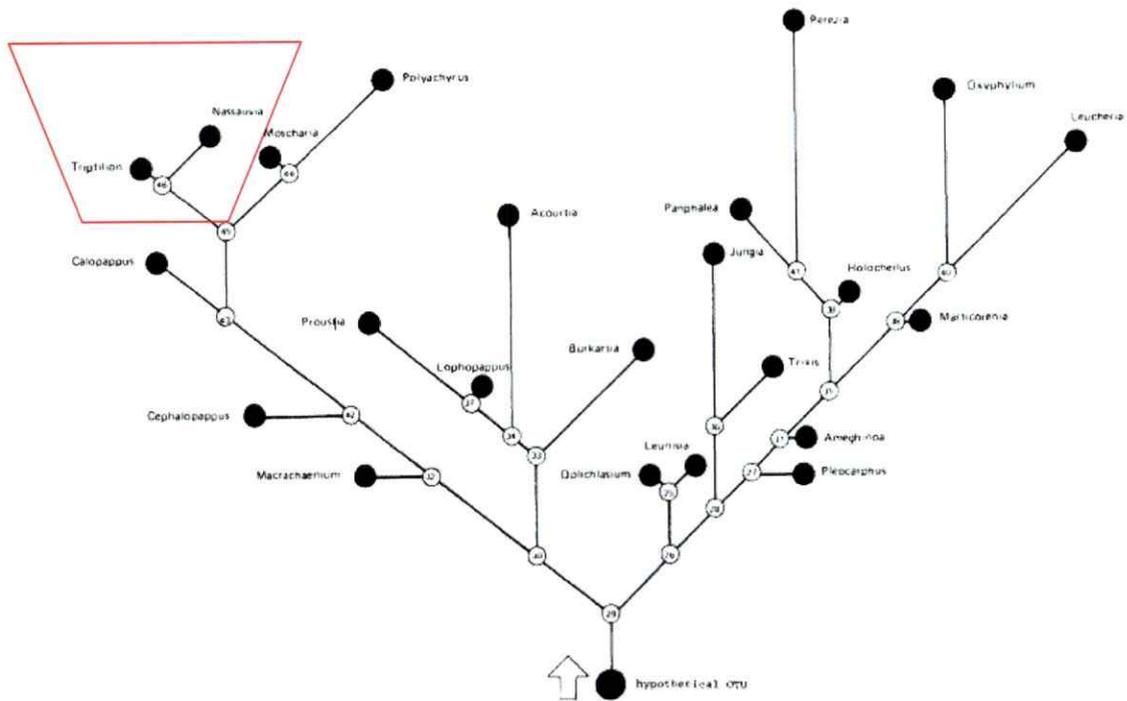


Figura 1. hipótesis filogenéticas de las relaciones de la subtribu Nassauviinae (Crisci, 1980)

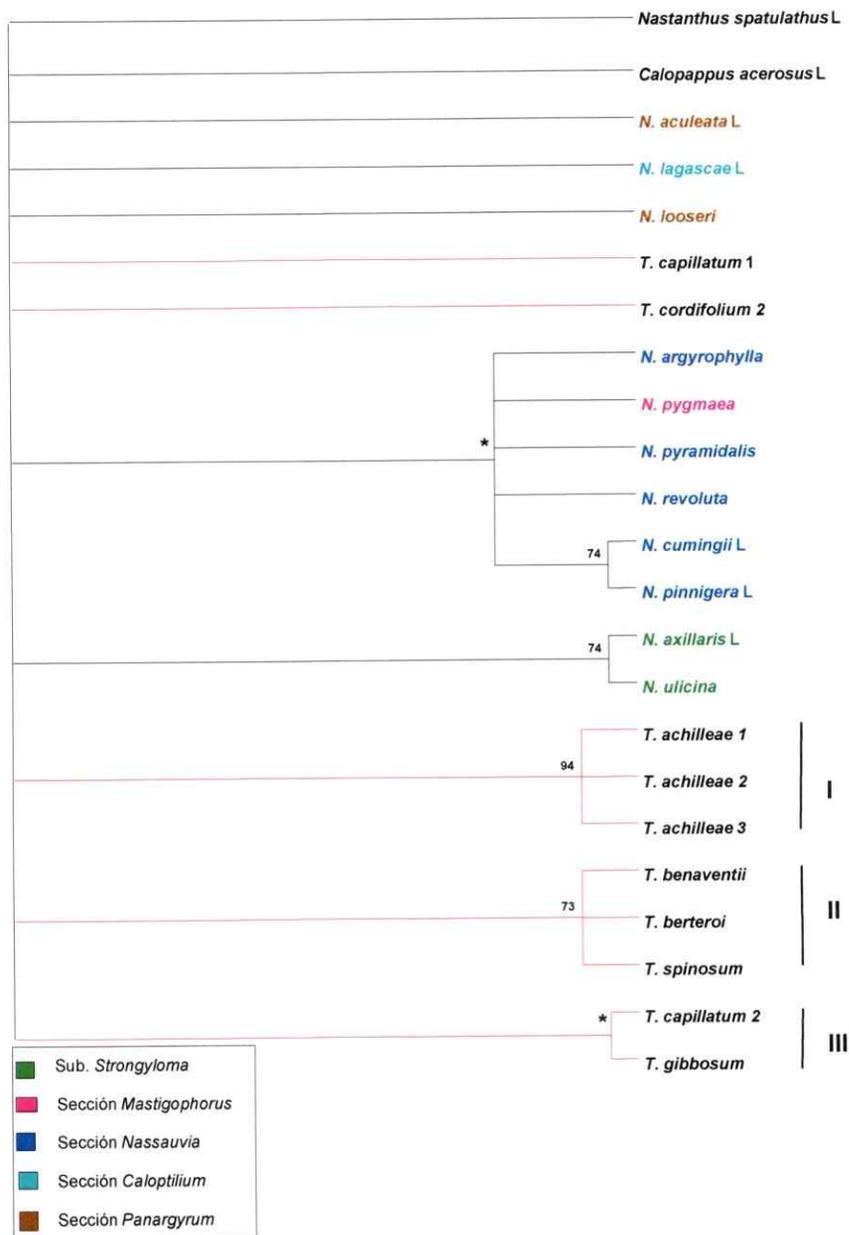


Figura 2. Árbol de consenso de 85 árbol con el mismo valor de parsimonia, basado en secuencias de cpDNA de la región trnL-F, para siete especies del género *Triptilium* (grupo

interno) y como grupo externo 11 especies del género *Nassauvia*, una de *Calopappus* y una de *Nastanthus*. Los valores de bootstrap se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan nodos < a 70% de soporte. Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La letra L que acompaña a algunas especies de *Nassauvia*, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. Líneas negras muestran el grupo externo y rojas el grupo interno.

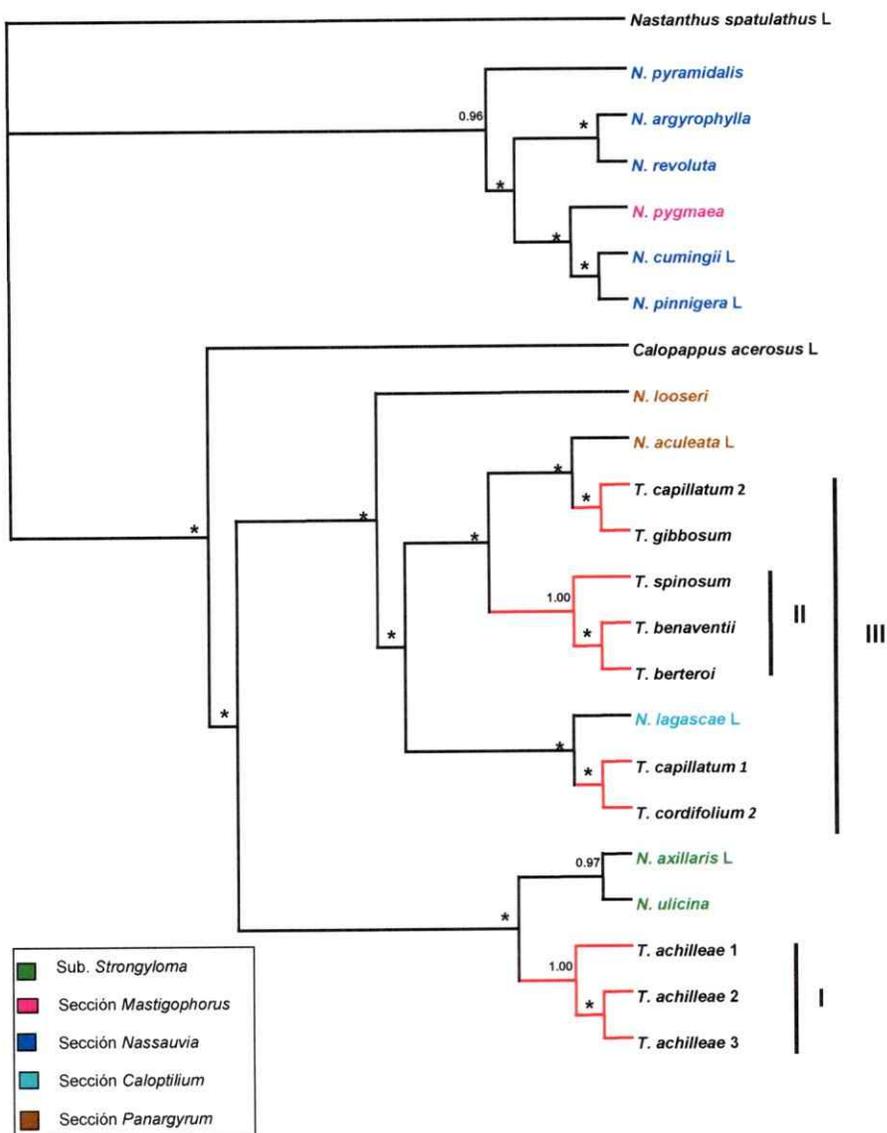


Figura 3. Árbol filogenético de inferencia bayesiana, basado en secuencias de cpDNA de la región trnL-F, para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y como grupo externo 11 especies del género *Nassauvia*, una *Calopappus* y una *Nastanthus*. Los

valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan nodos < a 0.95 de soporte. Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La letra L que acompaña a algunas especies de *Nassauvia*, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. Líneas negras muestran el grupo externo y rojas el grupo interno.

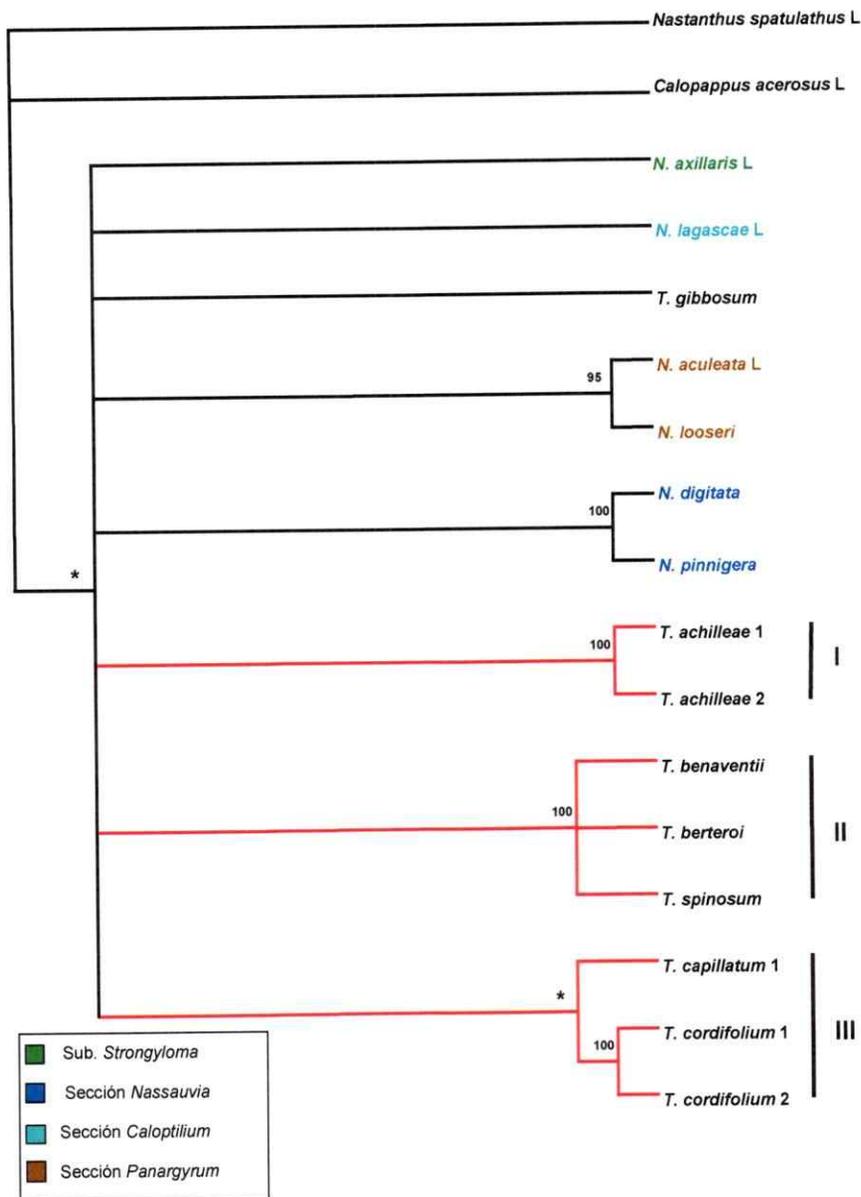


Figura 4. Árbol de consenso de un árbol, basado en secuencias de cpDNA de la región rpl32-trnLUAG, para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y como grupo externo seis especies del género *Nassauvia*, una de *Calopappus* y una de *Nastanthus*.

Los valores de bootstrap se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan nodos < a 70% de soporte. Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La letra L que acompaña a algunas especies de *Nassauvia*, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. La letra L que acompaña a algunas especies de *Nassauvia*, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. Líneas negras muestran el grupo externo y rojas el grupo interno.

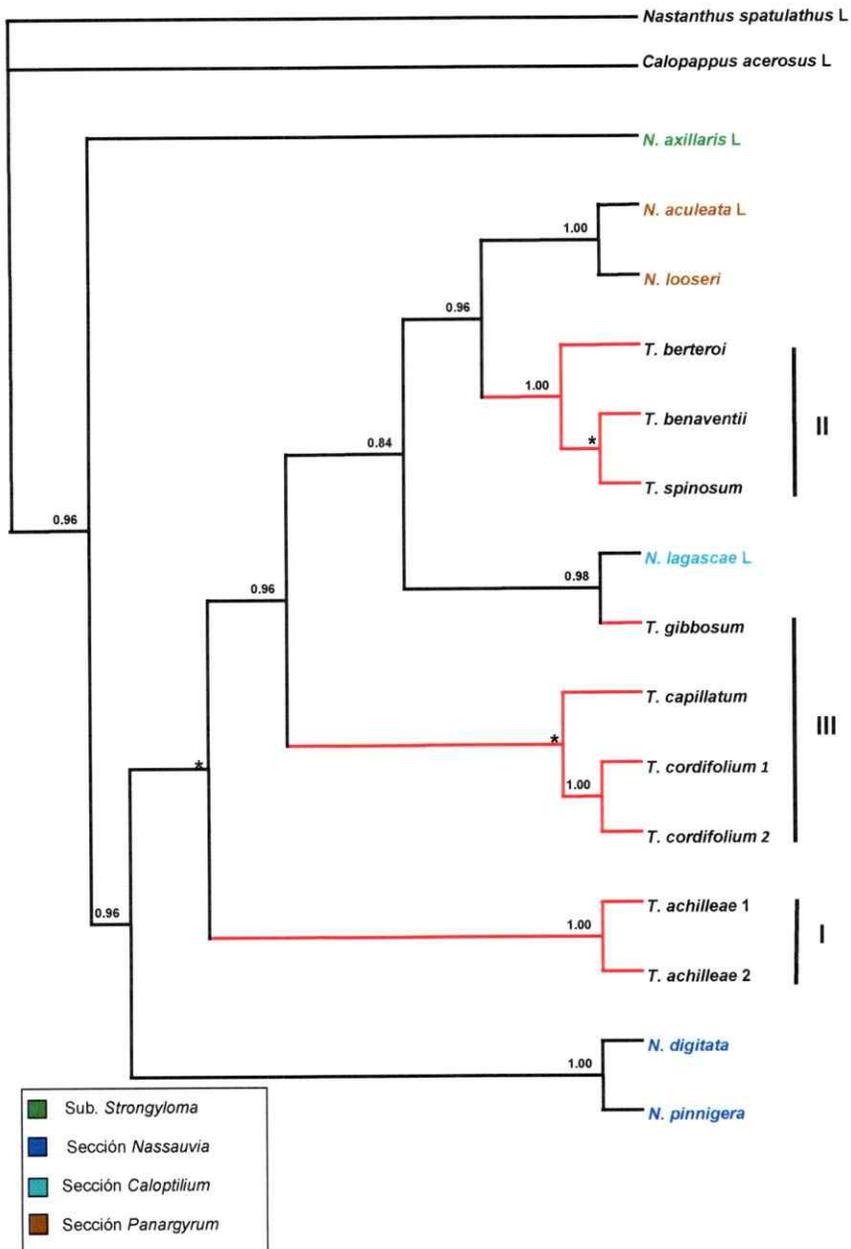


Figura 5. Árbol filogenético de inferencia bayesiana, basado en secuencias de cpDNA de la región rpl32-trnLUAG, para siete especies del género *Triptilion* (grupo interno) y como

grupo externo seis especies del género *Nassauvia*, una de *Calopappus* y una de *Nastanthus*. Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan nodos < a 0.95 de soporte. Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*. La letra L que acompaña a algunas especies de *Nassauvia*, indica que esas secuencias se obtuvieron en el laboratorio. Líneas negras muestran el grupo externo y rojas el grupo interno.

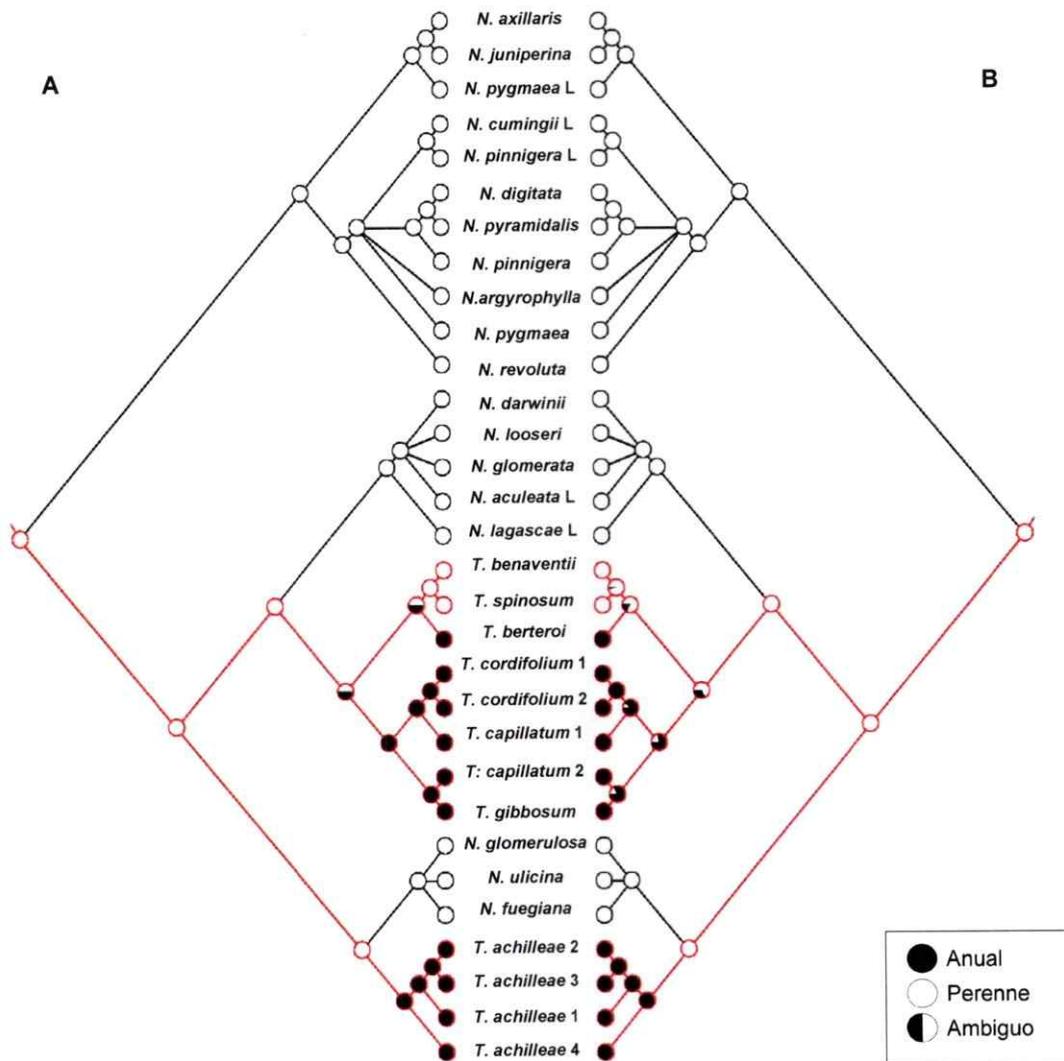


Figura 6. Estados ancestrales de la forma de vida de las siete especies de *Triptilion* (Asteraceae) y 15 especies del género *Nassauvia*, basado en topología de evidencia total y del rasgo de vida anual o perenne, mediante análisis de parsimonia (A) y máxima verosimilitud (B). La coloración de las circunferencias determina la forma de vida de las especies ancestrales. Ambiguo, indica que el ancestro pudo haber sido anual o perenne.

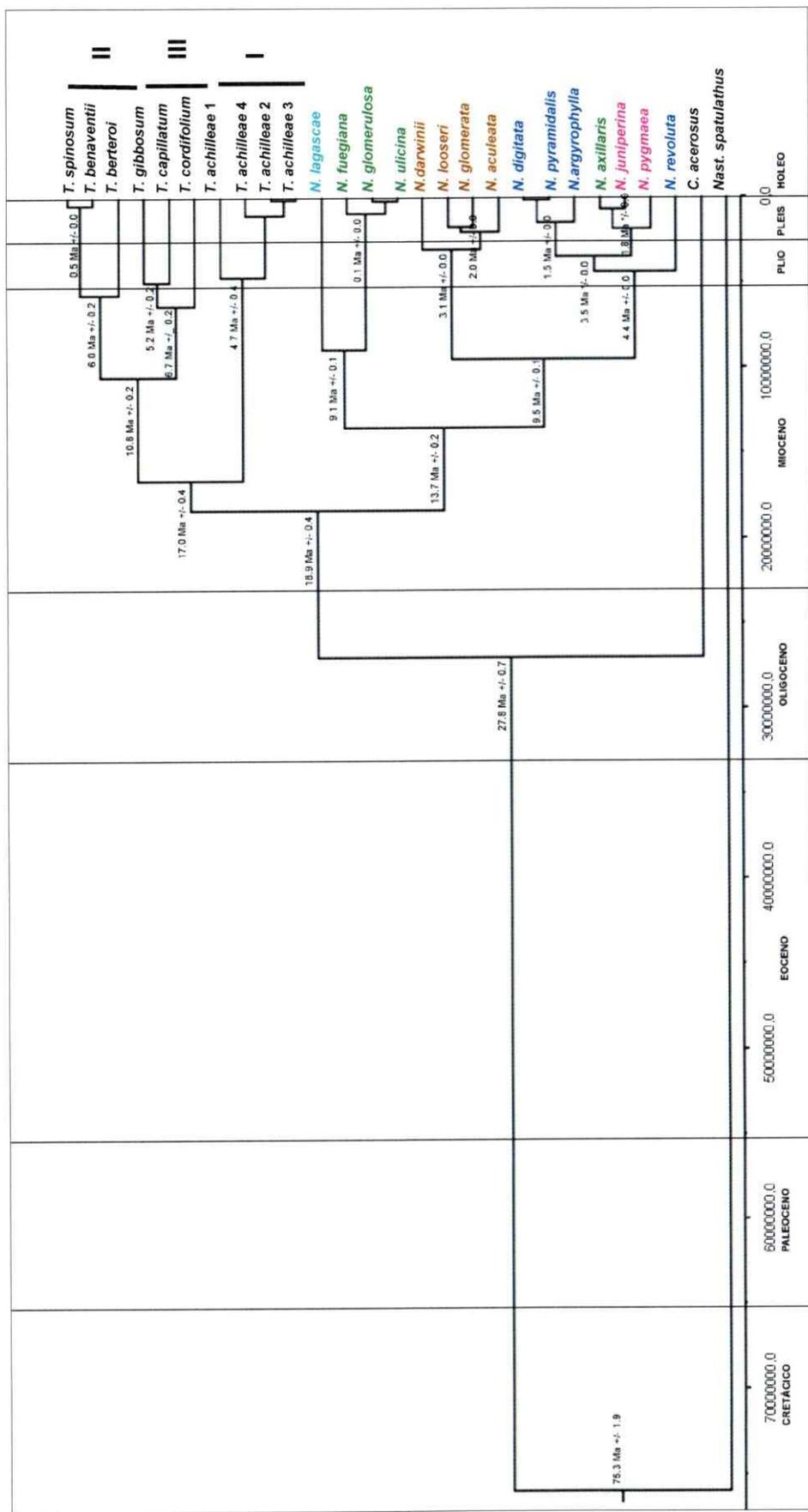


Figura 7. Estimación de tiempos de divergencia basado en secuencias de rDNA de la región ITS, para siete especies del género *Triptilium* (grupo interno) y como grupo externo 15 especies del género *Nassauvia*, una de *Calopappus* y una de

Nastanthus, utilizando estadística Bayesiana (promedio y desviación estándar) expresados en millones de años (Ma). Los números romanos muestran los tres principales linajes del género *Triptilion*: I: *T. achilleae*, II: *T. berteroi*, *T. benaventii* y *T. spinosum*, III: *T. capillatum*, *T. cordifolium* y *T. gibbosum*.