

UCH-FC
DOC-EBE
JB7A
CA

**RECONSTRUCCIÓN FILOGENÉTICA DEL GÉNERO ENDÉMICO
LEUCOCORYNE (ALLIACEAE) Y SU CORRESPONDENCIA BIOGEOGRÁFICA
CON LA ARIDIZACIÓN DE LA ZONA MEDITERRÁNEA ÁRIDA Y SEMIÁRIDA
DE CHILE**

Tesis

entregada a la

Universidad de Chile

en cumplimiento parcial de los requerimientos

para optar al grado de

Doctor en Ciencias con mención en Ecología y Biología Evolutiva

Facultad de Ciencias

Por

Paola Alejandra Jara Arancio

2010



Director de tesis: Dra. Mary Kalin Arroyo

Cotutores: Dr. Luis Felipe Hinojosa

Dr. Marco Méndez

FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACIÓN
TESIS DOCTORAL

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

PAOLA ALEJANDRA JARA ARANCIO

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Doctor en Ciencias con mención en Ecología y Biología Evolutiva, en el examen de Defensa de Tesis rendido el día 28 de mayo del 2010.

Director de tesis: Dra. Mary Kalin Arroyo

Cotutores: Dr. Luis Felipe Hinojosa

Dr. Marco Méndez

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Alberto Veloso

Dr. Claudio Latorre

Dr. Sylvain Faugeron

Dr. Francisco Squeo



The right side of the page contains several handwritten signatures in black and blue ink, each positioned above a horizontal dotted line. A circular stamp is located on the right side, containing the text: "FACULTAD DE CIENCIAS", "BIBLIOTECA CENTRAL", and "U. DE CHILE".



Agradecimientos

Deseo agradecer en primer lugar a Dios y al Padre Waldo por estar siempre a mi lado. También a mi madre Giaela a mi tía Gina y a mi hermano Rodrigo por confiar en mí y apoyarme en todo momento, brindándome su gran cariño y amor.

Agradezco a mis tutores, que con sus sabios consejos me han ayudado a ser un mejor profesional.

Doy gracias a mis amigos y compañeros que me apoyaron en todo momento y compartieron los buenos y malos momentos durante mi carrera universitaria.

De igual forma al apoyo brindado por CONICYT, al otorgarme la beca de tesis doctoral y apoyo de tesis, al Instituto de Ecología y Biodiversidad y a la Iniciativa Científica Milenio.

Gracias.....

ÍNDICE DE MATERIAS



• Lista de Tablas	viii
• Lista de Figuras	x
• Resumen	xvii

• Capítulo I

- Introducción General	01
- Hipótesis	11
- Estructura de la Tesis	14
- Referencias	15
- Tablas y figuras	27

• Capítulo II

"Reconstrucción filogenética del género endémico <i>Leucocoryne</i> Lindl. (Alliaceae) y su correspondencia biogeográfica con la aridización de la zona Mediterránea Árida y Semiárida de Chile"	37
---	-----------

- Resumen	37
- Introducción	38



- Métodos	41
- Resultados	49
- Discusión	54
- Referencias	58
- Tablas y figuras	68

• **Capítulo III**

**“Citogenética comparada en el género endémico de Chile *Leucocoryne*
Lindl. (Alliaceae)”**

- Resumen	80
- Introducción	81
- Métodos	83
- Resultados	86
- Discusión y Conclusiones	87
- Referencias	91
- Tablas y figuras	96

• **Capítulo IV**

- Discusión y Conclusiones generales	109
- Referencias	129
- Tablas y figuras	137

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1. Sitios de colecta de los individuos de cada taxon del género *Leucocoryne* y de las especies que se utilizaron como grupo externo.

Tabla 2.1. Sitios de colecta de los individuos de cada taxon del género *Leucocoryne* y de las especies que se utilizaron como grupo externo.

Tabla 3.1. Sitios de colecta de los individuos de cada taxon del género *Leucocoryne* y de las especies que se utilizaron como grupo externo.

Tabla 3.2. Características cromosómicas de los taxa del género *Leucocoryne* y las dos especies consideradas como grupo externo. LTCR%: longitud total cromosómica relativa, A_1 : índice de asimetría intracromosomal, A_2 : índice de asimetría intercromosomal, LPC/LPL: relación de longitud relativa de brazo corto/brazo largo. (SD: desviación estándar).

Tabla 3.3. Características cromosómicas y cariotipo de los taxa del género *Leucocoryne*. Pc: par cromosómico, PC: posición del centrómero, LBL%: longitud relativa brazo largo, LBC%: longitud relativa brazo corto y IC%: índice relativo centromérico.

Tabla 3.4a. Matriz de diferencias cromosómicas a nivel de longitud relativa cromosómica por par cromosómico, entre taxa con número cromosómico haploide

de $n = 5$. **A:** *L. aff. vittata*, **B:** *L. vittata*, **C:** *L. purpurea*, **D:** *L. macropetala*, **E:** *L. conferta*, **F:** *L. angustipetala*. Los asteriscos (*) indican pares de taxa que presentan diferencias significativas a nivel de pares cromosómicos ($p < 0,05$). Los pares 3 y 4 no presentaron diferencias significativas entre taxa, según criterio de Bonferroni.

Tabla 3.4b. Matriz de diferencias cromosómicas a nivel de longitud relativa cromosómica por par cromosómico, entre taxa con número cromosómico haploide de $n = 9$. **G:** *L. violacescens*, **H:** *L. talinensis*, **I:** *L. pauciflora*, **J:** *L. odorata*, **K:** *L. narcissoides*, **L:** *L. ixioides*, **M:** *L. dimorphopetala*, **N:** *L. coquimbensis* var. *alba*, **O:** *L. alliacea*, **P:** *L. appendiculata*, **Q:** *L. coquimbensis* var. *coquimbensis*. Los asteriscos (*) indican pares de taxa que presentan diferencias significativas a nivel de pares cromosómicos ($p < 0,05$). Los pares 1, 3, 4, 5, 6 y 7 no presentaron diferencias significativas entre taxa, según criterio de Bonferroni.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1a. Historia taxonómica del género *Leucocoryne* desde 1823 a la fecha. La coloración verde muestra los taxa que se consideraron en este estudio. La coloración blanca corresponde a taxa no reconocidos por ser sinonimias y la coloración amarilla muestra la asociación entre taxa y autores y/o descriptores.

Figura 1.1b. Taxa no considerados en este estudio. Estos taxa fueron citados en Zuloaga et al. 2008, descritos por Ravenna y publicados en Onira (revista personal Ravenna) entre el 2000 y 2004. Los ejemplares de estos taxa no se encuentran disponibles en herbarios nacionales (HULS, HMNH y HCONC) y su ubicación no está claramente descrita. *L. volkmanni*, es el único espécimen no descrito por Ravenna.

Figura 1.2. Distribución latitudinal del género *Leucocoryne* y su correspondencia geográfica con la ubicación del "Hotspot" de Biodiversidad de Chile Central.

Figura 1.3. Distribución latitudinal de taxa del género *Leucocoryne* por Regiones Administrativas chilenas. La coloración roja destaca la Región de Coquimbo (IV Región) que presenta el mayor porcentaje de taxa del género en estudio.

Figura 1.4. Distribución altitudinal de taxa del género *Leucocoryne*, dividido en dos zonas: (a) Costera/Valle intermedio (0 a < 1000 m. s. n. m.) y (b) Cordillerana \geq 1000 m. s. n. m.

Figura 1.5. Hábito de individuos del género *Leucocoryne* (A). Estructuras florales a nivel de estambres y estaminodios presentes en 15 taxa del género *Leucocoryne* (B) y en *L. narcissoides* y *L. dimorphopetala* (C).

Figura 1.6. Diecisiete taxa estudiados en esta tesis del género *Leucocoryne* (grupo interno).

Figura 1.7. Ocho taxa pertenecientes a la familia Alliaceae y Amaryllidaceae consideradas en esta tesis como grupos externos.

Figura 2.1. Distribución geográfica de 17 taxa del género *Leucocoryne*.

Figura 2.2. Árbol de consenso estricto de 100 árboles con el mismo valor de parsimonia (517 pasos), basado en secuencias de rDNA de la región ITS, para 17 taxa del género *Leucocoryne*. Los valores de bootstrap para el análisis de Parsimonia y Máxima Verosimilitud se muestran sobre cada nodo en orden respectivo. Los números romanos representan los tres principales linajes del género *Leucocoryne* (I, II y III). La letra A y B, muestran los linajes dentro del linaje III. Líneas negras muestran el grupo externo y gris el grupo interno.

Figura 2.3. Árbol filogenético de Inferencia Bayesiana, basado en secuencias de rDNA de la región ITS, para 17 taxa del género *Leucocoryne* (Alliaceae). Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan nodos < a 0.9 de soporte. Los números romanos representan los tres principales linajes del género *Leucocoryne* (I, II y III). La letra **A** y **B**, muestran los linajes dentro del linaje III. Líneas negras muestran el grupo externo y gris el grupo interno.

Figura 2.4. Estimación de tiempos de divergencia basado en secuencias de rDNA de la región ITS para *Leucocoryne*, con estadística Bayesiana (promedio y desviación estándar) y método de Neighbor-joining con distancia p respectivamente, expresados en millones de años (Ma). La altura actual de los hábitat de los taxa se representan en círculos de color: blanco (cordillera ≥ 1000 m. s. n. m.), blanco/negro (valle intermedio $> 500 < a 1000$ m. s. n. m.), negro (litoral costero ≤ 500 m. s. n. m.). Los números romanos representan los tres principales linajes en el género *Leucocoryne* (I, II y III). La letra **A** y **B**, muestran los linajes dentro del linaje III.

Figura 2.5 a y b. Estados ancestrales de los taxa de *Leucocoryne* a partir de secuencias de rDNA de la región ITS y ubicación altitudinal, mediante análisis de Máxima Verosimilitud (**A**) y Parsimonia (**B**). La coloración de las líneas determina la posible localización altitudinal de los taxa ancestrales: negro (litoral costero \leq

500 y/o valle intermedio > 500 < a 1000 m. s. n. m.), blanco (cordillera \geq 1000 m. s. n. m.) y ambos colores (ambiguo, puede habitar en ambas distribuciones altitudinales).

Figura 2.6. Árbol filogenético de Inferencia Bayesiana, basado en evidencia total para 17 taxa del género *Leucocoryne*. Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan nodos < a 0.9 de soporte. Los números romanos representan los tres principales linajes del género *Leucocoryne* (I, II y III). La letra **A** y **B**, muestran los linajes dentro del linaje III. Líneas negras muestran el grupo externo y gris el grupo interno.

Figura 3.1. Distribución geográfica de 17 taxa del género *Leucocoryne*.

Figura 3.2. Correlación entre índice de asimetría intracromosomal (A_1) e intercromosomal (A_2) de los taxa del género *Leucocoryne* (Alliaceae). **A**: taxa con juego cromosómico haploide $n = 9$, y **B**: taxa con juego cromosómico haploide de $n = 5$. Grupo externo: *Tb*: *Tristagma bivalve*, *Za*: *Zoellnerarium andinum*.

Figura 3.3. Cario-ideograma de 17 taxa del género *Leucocoryne* (Alliaceae). **A**: taxa con juego cromosómico haploide $n = 9$, y **B**: taxa con juego cromosómico haploide de $n = 5$. Cromosomas con el centrómero en la región: **t**: terminal, **st**: subterminal, **sm**: submedia y **m**: media.

Figura 4.1. Monofilia del género *Leucocoryne*, basado en datos de secuencias de rDNA de la región ITS para 17 taxa del género *Leucocoryne* (Alliaceae) utilizando Inferencia Bayesiana. Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan los nodos < a 0.9 de soporte. La línea doble muestra grupo monofilético *Leucocoryne*. Líneas negras muestran el grupo externo y gris el grupo interno.

Figura 4.2. Árbol filogenético de Inferencia Bayesiana, basado en secuencias de rDNA de la región ITS, para 17 taxa del género *Leucocoryne* (Alliaceae). Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo, los asteriscos representan los nodos < a 0.9 de soporte. Los números romanos representan los tres principales linajes (I, II y III). La letra **A** y **B**, muestran los linajes dentro del linaje III. Líneas negras muestran el grupo externo y gris el grupo interno.

Figura 4.3. Estimación de tiempos de divergencia basado en secuencias de rDNA de la región ITS para *Leucocoryne*, con estadística Bayesiana (promedio y desviación estándar) y método de Neighbor-joining con distancia *p* respectivamente, expresados en millones de años (Ma). La altura actual de los hábitat de los taxa se representan en círculos de color: blanco (cordillera ≥ 1000 m. s. n. m.), blanco/negro (valle intermedio $> 500 < a 1000$ m. s. n. m.), negro (litoral costero ≤ 500 m. s. n. m). Los números romanos representan los tres principales linajes (I, II y III). La letra **A** y **B**, muestran los linajes dentro del linaje III.

Figura 4.4 a y b. Estados ancestrales de los taxa de *Leucocoryne* a partir de secuencias de rDNA de la región ITS y ubicación altitudinal, mediante análisis de Máxima Verosimilitud (A) y Parsimonia (B). La coloración de las líneas determina la posible localización altitudinal de los taxa ancestrales: negro (litoral costero \leq 500 y/o valle intermedio $> 500 < a 1000$ m. s. n. m.), blanco (cordillera ≥ 1000 m. s. n. m.) y ambos colores (ambiguo, puede habitar en ambos sectores altitudinales).

Figura 4.5a. Cariotipos de los taxa del *Leucocoryne* con juego cromosómico haploide $n = 9$.

Figura 4.5b. Cariotipos de los taxa del *Leucocoryne* con juego cromosómico haploide $n = 5$.

Figura 4.6. Parte del árbol filogenético de Inferencia Bayesiana, basado en secuencias de rDNA de la región ITS, donde se muestra sólo el grupo monofilético *Leucocoryne*. Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan los nodos $< a 0.9$ de soporte. Los números cromosómicos haploides se encuentran asociados a los nombres de cada taxa.

Figura 4.7a. Representación de la variación de 19 caracteres morfológicos de los 17 taxa estudiados del género *Leucocoryne* generados a partir de los dos primeros ejes del análisis de PCA.

Figura 4.7b. Fenograma UPGMA, obtenido con distancia Euclídeana, que muestra las relaciones entre los 17 taxa estudiados del género *Leucocoryne*, utilizando 19 caracteres morfológicos. Línea punteada representa la distancia crítica de corte con percentil del 5%.

Figura 4.8a. Comparación entre *L. coquimbensis* var. *coquimbensis* y *L. coquimbensis* var. *alba* (A).

Figura 4.8b. Comparación entre *L. vittata* y *L. aff. vittata* (B).

Figura 4.9. Híbridos pertenecientes a la zona de conexión de las poblaciones simpátricas de *L. purpurea* y *L. coquimbensis* var. *coquimbensis*, donde se forman enjambres híbridos entre parentales. Los números cromosómicos de los híbridos mostrados corresponde a $2n = 14, 16, 22$ y 23 (material de Moreno et al. en preparación).

RESUMEN

Leucocoryne Lindl. (Alliaceae) es un género endémico a Chile que habita entre 20° y 37°S, concentrando su riqueza de especies en la zona Mediterránea árida y semiárida (29° a 38°S). Se estudiaron 17 taxa, conformados por 14 especies, dos variedades y una afinidad. En este estudio se plantea que los eventos de aridización, habrían provocado el origen y la alta diversificación de los taxa del género *Leucocoryne* a nivel de la Zona Mediterránea Árida y Semiárida de Chile y que habría influenciado en la ubicación altitudinal del ancestro del género en estudio. Adicionalmente, desde el punto de vista sistemático y por diferencias morfológicas a nivel de caracteres florales se cuestiona la monofilia del género *Leucocoryne*. Para resolver estas interrogantes se realizó inicialmente un estudio citogenético para descartar la presencia de híbridos entre los 17 taxa estudiados. Se evaluaron las relaciones filogenéticas de los taxa del género *Leucocoryne*, basado en datos de secuencias de DNA plastidial (cpDNA) y DNA nuclear ribosomal (rDNA), se realizó una estimación de tiempos de divergencia de los taxa utilizando reloj molecular, se realizaron análisis de evidencia total (datos morfológicos/citogenéticos/moleculares) y se determinó la posible ubicación altitudinal (tierras bajas y altas) del ancestro del género *Leucocoryne*. Los resultados determinaron que *Leucocoryne* es un grupo monofilético que está conformado por tres principales linajes, y que diverge de la familia Alliaceae a inicios del Mioceno temprano. La primera divergencia dentro de *Leucocoryne* corresponde a Mioceno superior (10.9 Ma) implicando una correspondencia entre aridización y la evolución de estos taxa con distribución árida-semiárida. La

posible ubicación altitudinal del ancestro de *Leucocoryne*, correspondería a un origen en tierras bajas, que presentó dos focos de diversificación, el linaje I (Mioceno superior) colonizaría tierras altas asociado a la incipiente Cordillera de Los Andes, separándose de los linajes II y III los cuales habrían evolucionado en el valle y costa de Chile centro-norte.

CAPÍTULO I

RECONSTRUCCIÓN FILOGENÉTICA DEL GÉNERO ENDÉMICO *LEUCOCORYNE* (ALLIACEAE) Y SU CORRESPONDENCIA BIOGEOGRÁFICA CON LA ARIDIZACIÓN DE LA ZONA MEDITERRÁNEA ÁRIDA Y SEMIÁRIDA DE CHILE

INTRODUCCIÓN

La zona occidental de la Cordillera de los Andes de Chile-Perú y el área costera entre las montañas y el Océano Pacífico se encuentran aisladas climática y biogeográficamente de otras regiones de Sudamérica. La diversidad ambiental que surge de este aislamiento, favorece el desarrollo de una exclusiva variedad de flora, la cual se produciría entre otros factores por la variación latitudinal de la aridez y un elevado incremento en las alturas que alcanzan Los Andes con respecto al océano. Por ejemplo, a los 18,21°S la elevación se incrementa aproximadamente 3970 m en 80 km (Veloso & Arroyo 1982). El norte de Chile (18 a 25 °S) es una región hiperárida y árida, siendo el desierto de Atacama uno de los más secos del mundo (Rech et al. 2010). La zona de Chile central (29 a 38°S) se caracteriza por un clima Mediterráneo, con sequía estival y temperaturas moderadas en torno a los 14°C; elevada riqueza de especies (3892 de plantas vasculares) y altos niveles de endemismo (50,3%, Arroyo et al. 2004). Además, desde tiempos históricos, esta región se encuentra sometida a fuertes presiones

antrópicas (Arroyo et al. 1995; Squeo et al. 2001). Basado en estas características la región de Chile central fue considerada como uno de los 34 "Hotspots" mundiales de biodiversidad (Arroyo et al. 1999, Myers et al. 2000, Arroyo et al. 2004, Mittermeier et al. 2004).

En el extremo norte del Hotspot de Chile Central se ubica una zona de irregulares precipitaciones invernales denominada por di Castri & Hajek (1976) como Región Árida. Esta región coincide con la Región Administrativa de Coquimbo (29° y 32° 10 S) (Novoa & López 3001), la cual presenta una alta diversidad y endemismo de plantas relacionados con la alta heterogeneidad ambiental y topográfica de la zona. A su vez, la Región posee refugios de cima de cerros y un límite norte y sur del rango de distribución geográfica de algunas especies vegetales (Squeo et al. 2001). Varios autores sostienen que la alta diversidad de especies en las zonas áridas se relaciona con la fragmentación del hábitat debido a limitaciones de humedad, diversidad local del terreno y tipo de suelo (Stebbins 1952, Lewis 1966, Axelrod 1972). Lewis (1962) propone que la alta diversidad en zonas áridas se debe a la extinción local de las poblaciones con sobrevivencia de ciertos individuos por selección catastrófica o a la subsistencia de individuos con una reorganización cromosómica diferente a la de sus parentales. De acuerdo con lo anterior, estudios filogenéticos moleculares recientes han mostrado que muchas de las especies en las zonas áridas de Sud África son el producto de una especiación rápida (Richardson et al. 2001, Klak et al. 2004, Linder & Hardy 2004) y que existe una gran diversidad morfológica en linajes cercanos (Klak et al. 2004). De igual forma, taxa que habitan Chile, como

Heliotropium s. *Cochranea* (Luebert & Wen 2008), *Tropaeolum* s. *Chilensia* (Hershkovitz et al. 2006b), *Malesherbiaceae* (Gengler-nowak 2003), *Chaetanthera* (Hershkovitz et al 2006a), *Schizanthus* (Pérez et al 2006), *Chuquiraga* (Ezcurra 2002), *Nolana* (Tu et al. 2008), *Gypothamnium* (Luebert et al 2009), *Oxyphyllum* (Luebert et al. 2009), entre otros, se han originado y divergido producto de la aridización de las zonas donde habitan. Hay que destacar que en zonas donde la aridización está influenciando el crecimiento vegetal, pueden surgir diferentes tipos de especiación, dentro de los cuales se destacan: (a) especiación reductiva (Mayr 1963, Wiley 1981) fusión de dos especies que evolucionaban en forma independiente y ocurre entre ellas un fenómeno de integración producto de una hibridación. La hibridación es un fenómeno común en muchos grupos de plantas siendo entre el 50% y 80% de las angiospermas de origen híbrido (Heiser 1949), (b) especiación aditiva (Mayr 1963, Wiley 1981) aumenta la diversidad de especies. Este proceso de especiación se puede generar producto de diferentes modelos: (1) Especiación alopátrica, a partir de un solo linaje y producto de procesos de disyunción geográfica, se generan linajes que evolucionarán en forma independiente, (2) especiación parapátrica, linajes de gran distribución que mantienen flujo génico sólo en zonas de contacto, (3) especiación peripátrica, un pequeño grupo de individuos diverge de una gran población adquiriendo barreras reproductivas, un ejemplo es efecto fundador, (4) especiación simpátrica, especiación entre individuos que ocupan un mismo territorio, donde se pueden desarrollar varios fenómenos simpátricos, destacando alguno de ellos: reproducción asexual (clones); autofertilización (endogamia), aislamiento reproductivo (barreras postcigóticas May 1942), reorganizaciones cromosómicas

(poliploidía, muy común en helechos y angiospermas (Goldblatt 1979) donde destaca la autoploidía y la aloploidía).

Las condiciones de aridez en la zona norte de Chile, específicamente en el Desierto de Atacama (18° y 26°S) (Rech et al. 2010) que incorpora áreas de Perú y norte de Chile, y parte este de la Cordillera de Los Andes, se retrotraen al Jurásico superior (150 Ma) donde el escenario climático era árido y semiárido producto de condiciones atmosféricas asociadas a la rama descendente de la Celda de Hadley y la presencia de aguas ascendentes frías costeras generadas por la ancestral Corriente de Humboldt (Hartley et al 2005). Entre el Paleoceno-Eoceno, y desde los 33°S hasta el extremo sur del continente, mediante estudios de flora fósil se determinó un aumento en las temperaturas y precipitaciones medias anuales que convirtieron el territorio a condiciones climáticas tropicales y subtropicales (Hinojosa 2005). Tal condición ambiental fue corroborada por modelos paleovegetacionales del sur de sudamérica que muestran el desarrollo de una Paleoflora Neotropical (Hinojosa & Villagrán 1997, Troncoso & Romero 1998). En el Eoceno inferior a medio, ocurre un descenso de las temperaturas y de las precipitaciones medias anuales que coincide con el desarrollo de una Paleoflora Mixta (Hinojosa & Villagrán 1997, Romero 1978, 1986; Troncoso & Romero 1998). Entre el Eoceno-Oligoceno, ocurre un abrupto descenso de las temperaturas y de las precipitaciones medias anuales, lo cual concuerda con el descenso de las temperaturas oceánicas (Zachos et al. 1993). El descenso de las temperaturas oceánicas sería una consecuencia de la separación de Australia y Sudamérica, comienzo de las glaciaciones en la Antártica del este y aumento del gradiente

ecuador-polo (Dingle et al. 1998, Flohn 1984, Hinojosa & Villagrán 1997, Villagrán & Hinojosa 1997, Zachos et al. 2001). A partir del Mioceno superior las condiciones de aridez se ven incrementadas en el territorio chileno, producto de la formación de la Diagonal Árida de Sudamérica, la cual se habría establecido durante el Plioceno-Pleistoceno, constituyendo según algunos autores, uno de los eventos más significativos en la historia de la vegetación del cono sur de Sudamérica (Schmithüsen 1956; Hinojosa & Villagrán 1997; Villagrán & Hinojosa 1997). La Diagonal Árida es una franja continua de clima árido (con precipitaciones menores a 300 mm anuales) que atraviesa el continente en sentido NW-SE (abarca el norte de Chile y el sureste de Argentina). En Chile, aísla la región de bosques subtropicales y templados lluviosos de los semidesiertos y desiertos hiperáridos del norte de Chile, constituyendo una verdadera barrera para la dispersión de especies de bosque a lo largo del territorio chileno. La formación de la Diagonal Árida se encuentra íntimamente ligada a varios factores donde destaca (i) el levantamiento de la Cordillera de los Andes y su efecto de sombra de lluvia a los vientos húmedos del este y oeste, lo cual ha tenido una influencia de gran envergadura en los patrones atmosféricos y transporte de humedad en Sudamérica desde el Mioceno superior (Strecker 2007). El levantamiento de los Andes Centrales a su condición actual se retrotrae a 15 Ma (Alpers & Brimhall 1998, Vandervoort et al 1995) aunque evidencia paleobotánica sugiere que ocurrió hace 10 Ma (Gregory-Wodzicki 2000), (ii) al aguzamiento del gradiente de temperatura ecuador polo, evento asociado a la formación de hielo Antártico Oeste (iii) vigorización de la corriente fría de Humboldt, la cual se intensificó entre 15 y 2,5 Ma (Flower & Kennett 1994, Ibaraki 1997), (iv) intensificación del Anticiclón

Subtropical del Pacífico Sur, e (v) inicio de las glaciaciones continentales en la Patagonia (Villagrán & Hinojosa 2005). La posición constante del centro de la Diagonal Árida de Sudamérica durante los períodos glaciales del Cuaternario, sumada a los repetidos avances de glaciares andinos y procesos periglaciales asociados, habrían contribuido a determinar los actuales patrones generales de distribución de la flora del sur de Sudamérica (Hinojosa & Villagrán 1997; Villagrán & Hinojosa 1997).

Estudios recientes sobre la hiperaridez del Desierto de Atacama, revelan que el levantamiento andino fue sólo uno de los factores y no el preponderante en gestar la transición entre aridez e hiperaridez (precipitación anual media: aridez: $\leq 50\text{mm}$ e hiperaridez $\leq 5\text{ mm}$) (Garreaud et al. 2010). Una de las causas de las condiciones de aridez del Desierto de Atacama es la ubicación en el límite este del Pacífico Subtropical. El Anticiclón Subtropical del Pacífico Sur, impide la llegada de vientos húmedos del oeste y conduce los vientos secos del Ecuador a lo largo de la costa, favoreciendo el transporte de aguas frías de latitudes más altas, y un constante estrato nuboso (Takahashi & Battisti 2007) que genera un enfriamiento a nivel de la troposfera que provoca sequedad en la zona (Wang et al. 2004; Takahashi & Battisti 2007). Estudios sobre la transición de aridez a hiperaridez del Desierto de Atacama, revelan que hace -8 Ma , se redujo los niveles de sedimentación producto de un descenso de las precipitaciones (Tosdal et al. 1984, García & Herail 2005, Farías et al. 2005, Riquelme et al. 2007). Hartley & Chong 2002 y Hartley 2003, muestran en análisis de sedimentación y estratigrafías, a

nivel de la zona preandina del norte de Chile, que la hiperaridez tiene un inicio más reciente, entre -6 a 3 Ma. Reich et al. (2009) postula, por análisis de depósitos de cobre en el Precordillera y región costera a los 23°S, que la hiperaridez de Atacama sería -1,5 Ma. Estas dataciones, sugieren que la transición entre la aridez e hiperaridez en el norte de Chile, no serían directamente producto del levantamiento andino, el cual, a su condición actual se retrotrae hace 15 Ma (Alpers & Brimhall 1998, Vandervoort et al 1995) o 10 Ma (Gregory-Wodzicki 2000). Por lo cual, los Andes tendrían mayor influencia en la zona occidental de la cordillera aumentando las precipitaciones (Strecker et al. 2007). Postulados sobre hiperaridez del norte de Chile, que afectó los niveles de precipitación y humedad del Desierto de Atacama, podrían estar asociados, en ausencia de el levantamiento andino, a un enfriamiento en el Plioceno de la superficie del mar de la costa de Chile norteño y Perú meridional (Kennett, 1977, Zachos et al. 2001) o a las condiciones del efecto Niño en el Pacífico tropical alrededor 3 Ma (Federov et al. 2006, Ravelo et al. 2004). Si consideramos que las montañas costeras de Chile son niebla dependientes, donde la topografía costera intercepta la nubosidad (Garreaud 2008) el efecto Niño sería preponderante, pues se asocia a aumentos de precipitaciones pero disminuye drásticamente las condiciones brumosas costeras, en cambio La Niña, se asocia a disminución de las precipitaciones, con aumento de la frecuencia de neblina costera. Por lo cual, el efecto Niño, podría estar gatillando condiciones de aridez en zonas muy localizadas que son altamente influenciadas por la nubosidad costera.

En este estudio se plantea que la intensificación de la aridización, sería la principal causal de la alta diversificación de taxa con distribución en la zona Mediterránea Árida y Semiárida de Chile. Para poder dilucidar esta problemática se utilizará como modelo de estudio el género endémico *Leucocoryne*, perteneciente al grupo de las Monocotyledoneae, al orden Liliales, de la familia Alliaceae, que presenta una gran diversidad de especies y habita en zonas áridas y semiáridas de Chile.

La historia taxonómica del género *Leucocoryne* en la flora chilena se inicia con Hooker (1823), quien describe el espécimen tipo denominándolo *Brodiaea*. Fue Lindley (1830) quien lo nombra por primera vez como *Leucocoryne*. Desde 1823 a la fecha, varios autores han discutido la taxonomía de las entidades que conforman el género (Hooker & Arnott 1841, Gay 1853, Philippi 1857, Philippi 1860, Fuentes 1945, Uphof 1947, Muñoz 1960, Muñoz 1966, Zoëllner 1972, Ravenna 1973, 1978, 2000, Marticorena & Quezada 1985, Grau 1991, Rahn 1998, Muñoz & Moreira 2000, Riedemann 2002, Mansur et al. 2002, Mansur & Cisterna 2005, Zuloaga et al. 2008). Actualmente el número de taxa reconocido para el género varía entre 12 y 47 taxa (Philippi 1857, Zoëllner 1972, Ravenna 1973, Marticorena & Quezada 1985, Muñoz & Moreira 2000, Rahn 1998, Riedemann 2002, Mansur et al. 2002, Mansur & Cisterna 2005, Zuloaga et al. 2008) (Fig. 1.1 a y b). Los problemas en la caracterización de taxa del género *Leucocoryne*, se relacionan principalmente con la gran variación morfológica a nivel intra e interpoblacional, que ha llevado a varios autores a reconocer taxa que en la actualidad no son válidos (Muñoz & Moreira 2000, Mansur et al. 2002). Para este

trabajo hemos considerado 17 taxa, conformados por 14 especies (*L. alliacea* Miers ex Lindl., *L. angustipetala* Gay, *L. appendiculata* Phil., *L. conferta* Zöellner, *L. dimorphopetala* (Gay) Rav., *L. ixioides* (Hook) Lindl., *L. macropetala* Phil., *L. narcissoides* Phil., *L. odorata* Lindl., *L. pauciflora* Phil., *L. purpurea* Gay, *L. talinensis* Mansur, *L. violacescens* Phil. y *L. vittata* Rav.), dos variedades (*L. coquimbensis* F. Phil var. *coquimbensis*., *L. coquimbensis* F. Phil. var. *alba* Zöellner) y una afinidad (*L. aff. vittata* Rav.¹) (Fig. 1.1a). Se descartaron del estudio seis taxa por ser sinonimias (*L. gayi*, *L. montana*, *L. oxipetala*, *L. foetida*, *L. incrassata* y *L. connivens*) (Fig. 1.1a) y no fueron considerados 31 taxa publicados en Zuloaga et al. 2008, todos descritos por Ravenna y publicados en Onira (revista personal de Ravenna²) entre el 2000 y 2004. *L. volkmanni*, es el único no descrito por Ravenna. Los ejemplares de estos taxa no se encuentran disponibles en herbarios nacionales³ (HULS, HMNHN y HCONC) y su ubicación no está claramente descrita (Fig. 1.1b).

Leucocoryne Lindl. de la familia Alliaceae (Muñoz y Moreira 2000), es un género endémico a Chile que se distribuye entre los 20° y 37°S de Chile (Fig. 1.2), con una mayor riqueza de taxa en la zona Mediterránea Árida y Semiárida de las Regiones de Coquimbo, con 14 taxa (82,35%); Valparaíso, con siete taxa (41,18%) y Metropolitana, con cinco taxa (29,41%) (Fig. 1.3) (Zöellner 1972, Navas 1973, Hoffmann 1978, Ravenna et al. 1998, Muñoz & Moreira 2000, Squeo et al. 2001, Mansur et al. 2002, datos de herbario 2008: HULS, HMNHN, HCON). Altitudinalmente, *Leucocoryne* se distribuye entre los 0 a 2500 m. s. n. m. Este gradiente se puede subdividir en dos zonas que clasificamos como (a) zona

¹ *L. aff. vittata* Rav. es un taxa no reconocido formalmente pero descrito en Muñoz M (HMNHN).

² Revista Onira, publicación personal de Ravenna. 9

³ Herbario personal de Ravenna prohíbe la entrada. No acceso a ejemplares descritos por Ravenna.

costera/ valle intermedio 0 a < 1000 m. s. n. m., contiendo 16 taxa (94,12%) y (b) zona occidental de la Cordillerana de los Andes \geq 1000 m. s. n. m., con 2 taxa (11,76%) (Fig. 1.4). Morfológicamente los taxa del género se caracterizan por presentar bulbos tunicados, seis lacinias en dos series, tres estambres fértiles adheridos a la pared del tubo y tres estaminodios finos. Sólo en *L. dimorphopetala* y *L. narcissoides*, no se cumplen todas estas condiciones pues presenta seis estambres fértiles y tres estaminodios engrosados (Fig. 1.5). Varios autores postulan que las angiospermas han evolucionado desde flores poliándricas a policíclicas, disminuyendo a través del tiempo el número de verticilos desde flores policíclicas a monocíclicas (Ronse De Craene & Smets 1987, 1993, 1998, 2001; Ronse De Craene et al. 2003, Friedman 2004). El género *Leucocoryne* fue considerado como un potencial modelo de estudio, debido a que presenta una distribución que permite corroborar hipótesis acerca de la evolución de la flora en la zona Mediterránea Árida y Semiárida de Chile, existe un amplio número de muestras herborizadas en diferentes herbarios nacionales y el extranjero, su floración se produce entre septiembre/octubre en forma masiva cuando hay precipitaciones, lo cual permite realizar experimentos en terreno y laboratorio sin problemas, las especies crecen en lugares de fácil acceso, existe una colección importante de individuos de diferentes especies que han sido mantenidos en jardín común desde aproximadamente 12 años, y por ser un género con potencial económico.

En consideración a lo planteado anteriormente se formularon las siguientes interrogantes:

(a) ¿*Leucocoryne*, tal como está constituido actualmente, corresponde a un grupo monofilético?

(b) ¿La evolución del género y su diversidad, se relacionan directamente con la aridización de la zona donde habita?

(c) ¿Cuál es el posible origen altitudinal (costero/valle intermedio o cordillerano) del ancestro del género *Leucocoryne*?

De acuerdo a las preguntas señaladas se postulan las siguientes hipótesis generales:

Hipótesis

HIPÓTESIS I. Dado que *L. dimorphopetala* y *L. narcissoides* presenta caracteres diferentes a nivel de estambres y estaminodios, con respecto a los demás taxa del género *Leucocoryne*, entonces el género *Leucocoryne* no sería monofilético.

HIPÓTESIS II. El origen y la divergencia del género *Leucocoryne* se asociarían directamente con la aridización de su hábitat.

HIPÓTESIS III. La ubicación altitudinal del posible ancestro del género *Leucocoryne* es cordillerana (> 1000 m.s.n.m.).

Para resolver las interrogantes descritas en este estudio se establecieron las relaciones filogenéticas existentes entre taxa del género *Leucocoryne*, y se relacionaron con los periodos de aridización e intensificación de la aridización de las zonas donde habita, basado en datos de secuencias de DNA plastidial (cpDNA) de la región trnF-trnL y DNA nuclear ribosomal (rDNA) de la región ITS, contemplando la estimación de tiempos de divergencia de taxa utilizando reloj molecular y análisis de reconstrucción de caracteres para determinar la posición geográfica (costa/valle intermedio o cordillerano) del ancestro del género *Leucocoryne*. Paralelamente a los análisis moleculares se realizaron estudios citogenéticos para determinar la presencia de híbridos o poliploides entre los 17 taxa utilizados en este estudio. Esta determinación se efectuó debido a que en *Leucocoryne* ha sido descrito la presencia de hibridación entre especies o poliploidía (Moreno et al. preparación, Salas & Mansur 2004) lo cual podría alterar los resultados de los análisis filogenéticos con caracteres moleculares. Además, se realizaron análisis de evidencia total, para lo cual se utilizaron caracteres moleculares de rDNA y cpDNA (capítulo II en esta tesis), 12 caracteres citogenéticos (capítulo III en esta tesis) y 19 caracteres morfológicos que no presentan plasticidad fenotípica o es muy baja; eliminado aquellos que presentaban gran plasticidad fenotípica como longitud y ancho hoja, diámetro y largo bulbo, largo del pedúnculo floral, entre otros.

Se recolectaron muestras de los 17 taxa considerados en este estudio, donde se encuentran 14 especies (*L. alliacea* Miers ex Lindl., *L. angustipetala* Gay, *L. appendiculata* Phil., *L. conferta* Zöellner, *L. dimorphopetala* (Gay) Rav., *L. ixioides* (Hook) Lindl., *L. macropetala* Phil., *L. narcissoides* Phil., *L. odorata* Lindl., *L. pauciflora* Phil., *L. purpurea* Gay, *L. talinensis* Mansur, *L. violacescens* Phil. y *L. vittata* Rav.), dos variedades (*L. coquimbensis* var. *coquimbensis* F. Phil., *L. coquimbensis* var. *alba* Zöellner) y una afinidad (*L. aff. vittata* Rav.). (Fig. 1.6, Tabla 1.1). De cada uno de ellos, se utilizaron individuos pertenecientes a dos poblaciones de localidades aisladas entre sí. Para la reconstrucción filogenética se utilizaron como grupos externos los géneros *Nothoscordum*, *Tristagma*, *Zoellnerallium* y *Miersia*, de la familia Alliaceae (Zöellner 1972; Navas 1973; Hoffmann 1978; Ravenna et al. 1998; Muñoz & Moreira 2000; Mansur et al 2002). Además se consideraron *Phycella bicolor* (Ruiz et Pav.) Herb. y *Rhodophiala phycelloides* (Herb.) Hunz. de la Familia Amarydillaceae (Fig. 1.7, Tabla 1.1). Los grupos externos fueron seleccionados por presentar bulbos tunicados, por estudios morfológicos que determinan cercanía con *Leucocoryne* (Zöellner 1972; Navas 1973; Hoffmann 1978; Ravenna et al. 1998; Muñoz & Moreira 2000; Mansur et al 2002) y por estudios filogenéticos previos (Janssen T & Bremer K 2004).

Estructura de la Tesis

Esta tesis es presentada en formato de manuscritos, contemplando: (a) **Capítulo I**, Introducción general, (b) **Capítulo II**, Manuscrito 1, titulado "Reconstrucción filogenética del género endémico *Leucocoryne* Lindl. (Alliaceae) y su correspondencia biogeográfica con la aridización de la zona Mediterránea Árida y Semiárida de Chile". En este manuscrito se determinan las relaciones filogenéticas de taxa del género *Leucocoryne*, se evalúa la monofilia del grupo, se establece la fecha posible del origen y máxima diversificación de taxa, se analiza las posibles relaciones de la diversificación de taxa con el incremento de la aridez de la zona donde habita, se establece el posible origen altitudinal (costero/valle intermedio o cordillerano) del ancestro de *Leucocoryne* y se realiza un estudio de evidencia total con caracteres moleculares, citogenéticos y morfológicos con la finalidad de obtener señales secundarias que no se evidencian en análisis morfológicos, (b) **Capítulo III**, Manuscrito 2, titulado "Citogenética comparada en el género endémico de Chile *Leucocoryne* Lindl. (Alliaceae)". En este manuscrito se describen las características citogenéticas existentes entre taxa del género *Leucocoryne* y se muestran sus cariotipos, y (d) **Capítulo IV**, Conclusión General de los resultados obtenidos, en la cual se incorpora una síntesis de este estudio.

REFERENCIAS

- ALPERS CN & GH BRIMHALL (1988) Middle Miocene climatic change in the Atacama Desert, northern Chile: evidence from supergene mineralization at La Escondida. *Geological Society of America Bulletin* 100: 1640-1656.
- ARROYO MTK, PH ZELDER & MD FOX (1995) Ecology and biogeography of Mediterranean ecosystems in Chile, California, and Australia. Editorial Springer-Verlag, New York. 445 pp.
- ARROYO MTK, JR ROZZI, J SIMONETTI, JA MARQUET & M SALABERRY (1999) Central Chile. En RA Mittermeier, N Myers, P Robles-Gil, & CG Mittermeier (Eds.) Hotspots. earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. CEMEX-Agrupación Sierra Madre, México. 161-171 pp.
- ARROYO MTK, PA MARQUET, C MARTICORENA, JA SIMONETTI, L CAVIERES, FA SQUEO & R ROZZI (2004) Chilean winter rainfall-Valdivian forests. En: RA Mittermeier, PR Gil, M Hoffmann, J Pilgrim, T Brooks, CG Mittermeier, J Lamoreux & GAB da Fonseca (Eds.) Hotspots revised: earth's biologically wealthiest and most threatened ecosystems. CEMEX-Agrupación Sierra Madre, México. 99-103 pp.
- AXELROD DI (1972) Edaphic aridity as a factor in angiosperm evolution. *American Naturalist* 106: 311-320.
- DI CASTRI F & ER HAJEK (1976) Bioclimatología de Chile. Editorial Universidad Católica de Chile, Chile. 163 pp.

- EZCURRA C (2002) Phylogeny, morphology, and biogeography of *Chuquiraga*, an Andean-Patagonian genus of Asteraceae-Barnadesioideae. *The Botanical Review* 68(1): 153-170.
- FARÍAS M, R CHARRIER, D COMTE, J MARTINOD & G HÉRAIL (2005) Late Cenozoic deformation and uplift of the western flank of the Altiplano: evidence from the depositional, tectonic, and geomorphologic evolution and shallow seismic activity (northern Chile at 19°30'S). *Tectonics* 24(4): TC4001.
- FEDEROV AV, PS DEKENS, M MCCARTHY, AC RAVELO, PB DEMENOCAL, M BARREIERO, RC PACANOWSKI & S PHILANDER (2006) The Pliocen paradox (Mechanism for a permanent El Niño). *Science* 312: 1485-1489.
- FRIEDMAN WE, RC MOORE & MD PURUGGANAN (2004) The evolution of plant development. *American Journal of Botany* 91(10): 1726-1741.
- FLOHN H (1984) Climate evolution in the southern hemisphere and equatorial region during the late Cenozoic. En Vogel JC (Ed) *Late Cainozoic palaeoclimates of the Southern Hemisphere*. A. A. Balkema, Rotterdam. 5-20 pp.
- FLOWER BP & JP KENNETT JP (1994) The middle Miocene climatic transition: East Antarctic ice sheet development, deep ocean circulation, and global carbon cycling. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 108: 537-555.
- FUENTES F (1945) Índice y comentario sobre las Liliáceas Chilenas. *Boletín del Museo de Historia Natural* 9: 105-126.

- GARCIA M & G HERAIL (2005) Fault-related folding, drainage network evolution and valley incision during the Neogene in the Andean Precordillera of Northern Chile. *Geomorphology* 65: 279-300.
- GARREAUD R, J BARICHIVICH, DA CHRISTIE & A MALDONADO (2008) Interannual variability of the coastal fog at Fray Jorge relict forests in semiarid Chile. *Journal of Geophysical Research* 113: 1-16.
- GARREAUD RD, A MOLINA & M FARIAS (2010) Andean uplift, ocean cooling and Atacama hyperaridity: A climate modeling perspective. *Earth and Planetary Science Letters* 292: 39-50.
- GAY C (1853) *Flora Política de Chile*. *Botanica* 6: 107-135.
- GENGLER-NOWAK K (2002) Reconstruction of the biogeographical history of *Malesherbiaceae*. *The Botanical Review* 68(1): 171-188.
- GOLDBLATT P (1979) Polyploidy in angiosperms: Monocotyledons. En Lewis WH (Eds.) *Polyploidy: Biological relevance*. Plenum Press, NY. 367 pp.
- GRAU J (1991) Eine neue art der gattung *Leucocoryne* (Alliaceae) aus mittelchile. *Mitt. Botan Staatssamml, München* 30: 431-437.
- GREGORY- WODZICKI KM (2000) Uplift history of the Central and Northern Andes: A review. *Geological Society of America Bulletin* 112: 1091-1105.
- HARTLEY A & G CHONG (2002) Late Pliocene age for the Atacama Desert: implications for the desertification of western South America. *Geology* 30: 43-46.
- HARTLEY A (2003) Andean uplift and climate change. *Journal Geological Society* 160: 7-10.

- HARTLEY A, G CHONG, J HOUSTON & AE MATHER (2005) 150 million years of climatic stability: evidence from the Atacama Desert, Northern Chile. *Journal of the Geological Society* 162: 421-424.
- HEISER CB JR. (1949) Natural hybridization with particular reference to introgression. *Botanical Review* 15: 645-687.
- HERSHKOVITZ MA, MTK ARROYO, C BELL & LF HINOJOSA (2006a) Phylogeny of *Chaetanthera* (Asteraceae: Mutisieae) reveals both ancient and recent origins of the high elevation lineages. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 41: 594-605.
- HERSHKOVITZ MA, CC HERNÁNDEZ-PELLICER & MTK ARROYO (2006b) Ribosomal DNA evidence for the diversification of *Tropaeolum* sect. *Chilensia* (Tropaeolaceae). *Plant Systematics and Evolution* 260(1): 1-24.
- HINOJOSA LF & C VILLAGRÁN (1997) Historia de los bosques del sur de Sudamérica, I: Revisión de los antecedentes geológicos, climáticos y paleobotánicos Terciarios del sur de Sudamérica. *Revista Chilena de Historia Natural* 70: 225-239.
- HINOJOSA LF (2005) Cambios climáticos y vegetacionales inferidos a partir de paleofloras cenozoicas del sur de Sudamérica. *Revista Geológica de Chile* 32(1): 95-115.
- HOFFMANN A (1978) Flora silvestre de Chile. Zona central. Ediciones Fundación Claudio Gay, Santiago. 225 pp.
- HOOKER WJ (1823) *Brodiaea ixioides*. En Zoëllner O (Ed.) El género *Leucocoryne*. *Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso* 5: 9-83.

- HOOKER WJ & GAW WALKER-ARNOTT (1841) The botany of Capt. Beechey's voyage to the Pacific and Bering Strait 94: 1-486.
- IBARAKI M (1997) Closing of the Central American seaway and Neogene coastal upwelling along the Pacific coast of South America. *Tectonophysics* 281: 99-104.
- JANSSEN T & K BREMER (2004) The age of major monocot groups inferred from 800+ *rbc/L* sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society* 146: 385-398.
- KLAK C, G REEVES, T HEDDERSON (2004) Unmatched tempo of evolution in Southern African semi-desert ice plants. *Nature* 427: 63-65.
- KENNETT JP (1977) Cenozoic evolution of Antarctic glaciation, the circum-Antarctic Ocean, and their impact on global paleoceanography. *Journal of Geophysical Research* 82(27): 3843-3860.
- LEWIS H (1962) Catastrophic selection as a factor in speciation. *Evolution* 16: 257-271.
- LEWIS H (1966) Speciation in flowering plants. *Science* 152: 167-172.
- LINDLEY J (1830) Edwards's Botanical Register, London. 1293-1294 pp.
- LINDER HP & CR HARDY (2004) Evolution of the species-rich Cape flora. *The Royal Society* 359: 1623-1632.
- LUEBERT F & J WEN (2008) Phylogenetic analysis and evolutionary diversification of *Heliotropium* Sect. *Cochranea* (Heliotropiaceae) in the Atacama Desert (2008) *Systematic Botany* 33(2): 390-402.
- LUEBERT F, J WEN & MO DILLON (2009) Systematic placement and biogeographical relationships of the monotypic genera *Gypothamnium* and

- Oxyphyllum* (Asteraceae: Mutisioideae) from the Atacama Desert. Botanical Journal of the Linnean Society 159: 32-51.
- MANSUR L, O ZÖELLNER & P RIEDEMANN (2002) *Leucocoryne* un género nativo chileno y su uso como planta de jardín. Edición Reimco Limitada, Chile. 50 pp.
- MANSUR L & MA CISTERNA (2005) *Leucocoryne talinensis* (Alliaceae), a new species from Chile. Novon 15: 324-326.
- MARTICORENA C & M QUEZADA (1985) Catálogo de la flora vascular de Chile. Gayana (Botánica) 42: 1-152.
- MAY E (1942) Systematic and the origin of species. Columbia University Press, New York.
- MAY E (1963) Animal species and evolution. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts: Belknap Press.
- MITTERMEIER RA, PR GIL, M HOFFMANN, J PILGRIM, T BROOKS, CG MITTERMEIER, J LAMOREUX & GAB DA FONSECA (2004) Hotspots revisited: earth's biologically wealthiest and most threatened ecosystems. CEMEX- Agrupación Sierra Madre, México. 640 pp.
- MORENO R, P-JARA-ARANCIO, G ARANCIO, P JARA-SEGUEL & C PALMA-ROJAS (en preparación) Enjambre híbrido entre dos especies del género *Leucocoryne* (Alliaceae), una hipótesis sobre su origen.
- MUÑOZ C (1960) Las especies de plantas descritas por RA Philippi en el Siglo XIX. Ediciones de la Universidad de Chile, Santiago. 36 – 41 pp.
- MUÑOZ C (1966) Sinopsis de la flora chilena, clave para la identificación de familias y géneros. Ediciones de la Universidad de Chile, Chile. 500 pp.

- MUÑOZ M & A MOREIRA (2000) Géneros endémicos Monocotiledóneas, Chile. Museo Nacional de Historia Natural. [www. Mnhn.cl/apuntes/botanica/príncipealbot.htm](http://www.Mnhn.cl/apuntes/botanica/príncipealbot.htm).
- MYERS N, RA MITTERMEIER, CG MITTERMEIER, GAB DA FONSECA & J KENT (2000) Biodiversity hotspots for conservation priority. *Nature* 403: 853-858.
- NAVAS L (1973) Flora de la Cuenca de Santiago de Chile. Tomo III. Ediciones de la Universidad de Chile, Santiago, Chile. 507 pp.
- NOVOA JE & D LÓPEZ (2001) IV Región: El escenario geográfico. En Squeo FA, G Arancio & JR Gutiérrez (Eds.) Libro Rojo de la Flora Nativa y de los sitios prioritarios para su conservación: Región de Coquimbo. Ediciones Universidad de La Serena, Chile. 372 pp.
- PEREZ F, MKT ARROYO, R MEDEL & M HERSHKOVITZ (2006) Ancestral reconstruction of flower morphology and pollination systems in *Schizanthus* (Solanaceae). *American Journal of Botany* 93(7): 1029- 1038.
- PHILIPPI RA (1857) *Plantarum novarum Chilensium*. Centuria quinta. *Linnaea* 29: 48-95.
- PHILIPPI RA (1860) *Die Wueste Atacama*. Editorial Halle Eduard Anton. 51-52 pp.
- RAHN K (1998) Alliaceae. The families and genera of vascular plants. En Kubitzki K (Ed.) *Flowering Plants-Monocotyledons, Lillanae (except Orchidaceae)*. Springer-Verlag, Berlin. 70-78 pp.
- RAVELO A, D ANDREASEN, M LYLE, A LYLE & M WARA (2004) Regional climate shifts caused by gradual global cooling in the Pliocene epoch. *Nature* 429: 263-267.

- RAVENNA PF (1973) Estudios sobre Alliaceae. Noticiero Mensual del Museo Nacional de Historia Natural 200: 3-6.
- RAVENNA PF (1978) Studies in the Alliaceae II. Plant Life 34: 130-151.
- RAVENNA PF, S TEILLIER, J MACAYA, R RODRÍGUEZ & O ZOELLNER (1998) Categorías de conservación de plantas bulbosas nativas de Chile. Boletín del Museo Nacional de Historia Natural 47: 47-68.
- RAVENNA PF (2000) New or noteworthy *Leucocoryne* species (Alliaceae) II. Onira Botanical Leaflets 6(5): 24-30.
- RECH AJ, BS CURRIE, ED SHULLENBERGER, SP DUNAGAN, TE JORDAN, N BLANCO, AJ TOMLINSON, HD ROWE & J HOUSTON (2010) Evidence for the development of the Andean rain shadow from a Neogene isotopic record in the Atacama Desert, Chile. Earth and Planetary Science Letters 292: 371-382.
- REICH M, C PALACIOS, G VARGAS, S LUO, EM CAMERON, MI LEYBOURNE, MA PARADA, A ZÚÑIGA & C YOU (2009) Supergene enrichment of copper deposits since the onset of modern hyperaridity in the Atacama Desert, Chile. Mineralium 44(5): 1432-1866.
- RICHARDSON JE, FM WEITZ, MF FAY, QCB CRONK, HP LINDER, G REEVES & MW CHASE (2001) Rapid and recent origin of species richness in the Cape flora of South Africa. Nature 412: 181-183.
- RIEDEMANN P (2002) Descripción del género *Leucocoryne* seleccionados para el paisajismo. En Mansur L, O Zöellner & P Riedemann (Eds.) *Leucocoryne* un género nativo chileno y su uso como planta de jardín. Edición Reimco Limitada, Chile. 50 pp.

- RIQUELME R, G HÉRAIL, J MARTINOD, R CHARRIER & J DARROZES (2007) Late Cenozoic geomorphologic signal of Andean forearc deformation and tilting associated with the uplift and climate changes of the Southern Atacama Desert (26°S–28°S). *Geomorphology* 86(3-4): 283-306.
- ROMERO EJ (1978) Paleoecología y paleofitogeografía de las talofloras del Cenofítico de Argentina y áreas vecinas. *Ameghiniana* 15(1-2): 209-227.
- ROMERO EJ (1986) Paleogene phytogeography and climatology of South America. *Annals of Missouri Botanical Garden* 73: 449-461.
- RONSE DE CRAENE LP & EF SMETS (1987) The distribution and the systematic relevance of the androecial characters oligomery and polymery in the Magnoliophytina. *Nordic Journal of Botany* 7: 239–253.
- RONSE DE CRAENE LP & EF SMETS (1993) The distribution and systematic relevance of the androecial character polymery. *Botanical Journal of the Linnean Society* 113: 285–350.
- RONSE DE CRAENE LP & EF SMETS (1998) Notes on the evolution of androecial organisation in the Magnoliophytina. *Acta Botánica* 111: 77–86.
- RONSE DE CRAENE LP & EF SMETS (2001) Staminodes: their morphological and evolutionary significance. *The Botanical Review* 67: 351–402.
- RONSE DE CRAENE LP (2003) The evolutionary significance of homeosis in flowers: a morphological perspective. *International Journal of Plant Sciences* 164(5): 225–235.
- SCHMITHÜSEN J (1956) Die räumliche Ordnung der chilenischen vegetation. *Bommer Geographische Abhandlungen* 17: 1-86.

- SQUEO FA, G ARANCIO & JR GUTIÉRREZ (2001) Libro Rojo de la flora nativa y de los sitios prioritarios para su conservación: Región de Coquimbo. Ediciones Universidad de La Serena, Chile. 372 pp.
- STEBBINS GL (1952) Aridity as a stimulus to evolution. *American Natural* 86: 33-44.
- STRECKER MR, RN ALONSO, B BOOKHAGEN, B CARRAPA, GE HILLEY, ER SOBEL & MH TRAUTH (2007) Tectonics and climate of the Southern Central Andes. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 35: 747-787.
- TAKAHASHI K & D BATTISTI (2007) Processes controlling the mean tropical Pacific precipitation pattern. *J. Climate* 20: 3434- 3451.
- TOSDAL RM, AH CLARK & E FARRAR (1984) Cenozoic polyphase landscape and tectonic evolution of the Cordillera Occidental, southern Peru. *Geol. Soc. Am. Bull.* 95: 1318-1332.
- TU T, MO DILLOND, H SUN & J WEN (2008) Phylogeny of *Nolana* (Solanaceae) of the Atacama and Peruvian deserts inferred from sequences of four plastid markers and the nuclear LEAFY second intron. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49(2): 561-573.
- TRONCOSO A & EJ ROMERO (1998) Evolución de las comunidades florísticas en el extremo sur de Sudamérica durante el Cenofítico. En Fortunato R & N Bacigalupo (Eds.) *Proceedings of the VI Congreso Latinoamericano de Botánica. Monographs in Systematic Botany, Missouri Botanical Garden*, 68: 149-172.
- UPHOF JCT (1947) *Leucocoryne*. *Herbetia* 12: 52-56.

- VANDERVOORT DS, TE JORDAN, PK ZEITLER & RN ALONSO (1995) Chronology of internal drainage development and uplift, southern Puna plateau, Argentine central Andes. *Geology* 23: 145-148.
- VELOSO A & MTK ARROYO (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 (1997) Historia de los bosques del sur de Sudamérica II: Análisis fitogeográfico. *Revista Chilena de Historia Natural* 70: 241-267.
- VILLAGRÁN C & HINOJOSA LF (2005) Esquema biogeográfico de Chile. En Llorente J & JJ Morrone (Eds.) *Regionalización Biogeográfica en Iberoamérica y tópicos afines*. Ediciones de la Universidad Nacional Autónoma de México, México. 551-577 pp.
- WANG Y, S XIE, H XU & B WANG (2004) Regional model simulations of marine boundary layer clouds over the Southeast Pacific off South America. Part I: Control experiment. *Mon. Weather Rev.* 132: 274-296.
- WILEY EO (1981) *Phylogenetics. The theory and practice of phylogenetic systematics*. John Wiley & Sons, New York 439 pp.
- ZACHOS J, K LOHMANN K & S WISE (1993) Abrupt climate change and transient climates Turing the Paleogene: A marine perspective. *Journal of Geology* 1: 191-213.

ZACHOS J, M PAGANI, L SLOAN, E THOMAS & K BILLUPS (2001) Trends, rhythms and aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science* 292: 686-693.

ZOELLNER O (1972) El género *Leucocoryne*. *Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso* 5: 9-83.

ZULOAGA FO, O MORRONE, ML BELGRADO (2008) Catálogo de las plantas vasculares del cono sur (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay) Editorial Missouri Botanical Garden Press. Iboda, Conicet Ancefn. 983 pp.

Taxa A	1823	1826	1830	1831	1839	1843	1853	1853	1857	1870	1895	1947	1972	1978	2001	2002-5	2000-4	2008
	Hooker	Miers	Bertero	Lindley	Dietrich	Kunth	Gay	Philippi	Philippi	Baker	Philippi	Uphof	Zoellner	Ravenna	Muñoz	Mansur	Ravenna	Zuloaga
<i>L. ixiooides</i> (Hook.) Lindl.																		
<i>L. alliacea</i> Miers ex Lindl.	B. ixiooides		A. ornithogalooides															
<i>L. odorata</i>		alliooides angustiter	odorum							ixiooides		ixiooides						
<i>L. angustipetala</i>																		
<i>L. purpurea</i> Gay										ixiooides v purp		ixiooides						
<i>L. macropetalata</i> Philp.																		
<i>L. narcissoides</i>										ixiooides		ixiooides						
<i>L. gayi</i> Phil.																		
<i>L. montana</i> Philp.																		
<i>L. pauciflora</i>																		
<i>L. oxipetala</i> Phil.																		
<i>L. appendiculata</i> Phil.																		
<i>L. violascens</i> Phil.																		
<i>L. foetida</i> Phil.																		
<i>L. incrassata</i> Phil.																		
<i>L. connivens</i> Phil.																		
<i>L. coquimbensis</i> F. Phil. var. <i>coquimbensis</i>																		
<i>L. coquimbensis</i> F. Phil. var. <i>alba</i> Zoellner																		
<i>L. conferta</i> Zoellner																		
<i>L. dimorphopetalata</i> (Gay) Ravenna																		
<i>L. vittata</i> Ravenna																		
<i>L. aff. vittata</i> Ravenna																		
<i>L. talinensis</i> L. Mansus & M Cisterria																		

Figura 1.1a. Historia taxonómica del género *Leucocoryne* desde 1823 a la fecha. La coloración verde muestra los taxa que se consideraron en este estudio. La coloración blanca corresponde a taxa no reconocidos por ser sinonimias y la coloración amarilla muestra la asociación entre taxa y autores y/o descriptores.

Taxa B	2000-4	2008	2000-4	2008	2000-4	2008
	Ravenna	Zuloaga	Ravenna	Zuloaga	Ravenna	Zuloaga
<i>L. angusturae</i> Ravenna			<i>L. guillesoides</i> (Phil.) Ravenna		<i>L. quilimarina</i> Ravenna	
<i>L. arrayanensis</i> Ravenna			<i>L. inclinata</i> Ravenna		<i>L. rungensis</i> Ravenna	
<i>L. candida</i> Ravenna			<i>L. feucogyna</i> Ravenna		<i>L. simulans</i> Ravenna	
<i>L. codehuensis</i> Ravenna			<i>L. liliacea</i> Ravenna		<i>L. subulata</i> Ravenna	
<i>L. conconensis</i> Ravenna			<i>L. lurida</i> Ravenna		<i>L. taguataguensis</i> Ravenna	
<i>L. conostyla</i> Ravenna			<i>L. maulensis</i> Ravenna		<i>L. tricornis</i> Ravenna	
<i>L. coronata</i> Ravenna			<i>L. modesta</i> Ravenna		<i>L. unguifera</i> Ravenna	
<i>L. curacavina</i> Ravenna			<i>L. mollensis</i> Ravenna		<i>L. valparadisea</i> Ravenna	
<i>L. editiana</i> Ravenna			<i>L. pachystyla</i> Ravenna		<i>L. volkmanni</i> (Phil.) Traub	
<i>L. fragantissima</i> Ravenna			<i>L. porphyrea</i> Ravenna			
<i>L. fuscostriata</i> Ravenna			<i>L. praealta</i> Ravenna			

Figura 1.1b. Taxa no considerados en este estudio. Estos taxa fueron citados en Zuloaga et al. 2008, todos descritos por Ravenna y publicados en Onira (revista personal Ravenna) entre el 2000 y 2004. Los ejemplares de estos taxa no se encuentran disponibles en herbarios nacionales (HULS, HMNH y HCONC) y su ubicación no está claramente descrita por Ravenna. *L. volkmanni*, es el único espécimen no descrito por Ravenna.

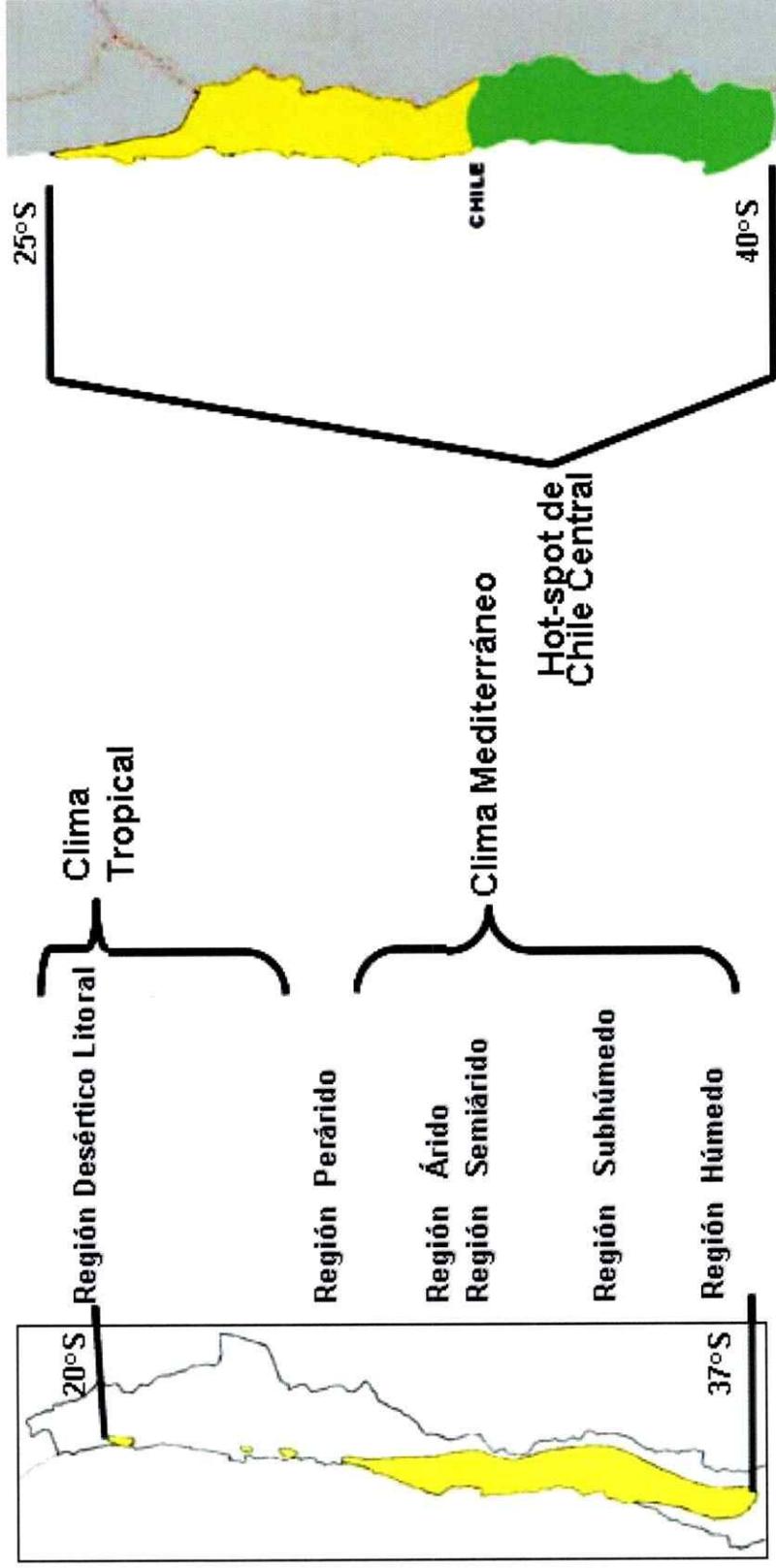


Figura 1.2. Distribución latitudinal del género *Leucocoryne* y su correspondencia geográfica con la ubicación del Hotspot de Biodiversidad de Chile Central.

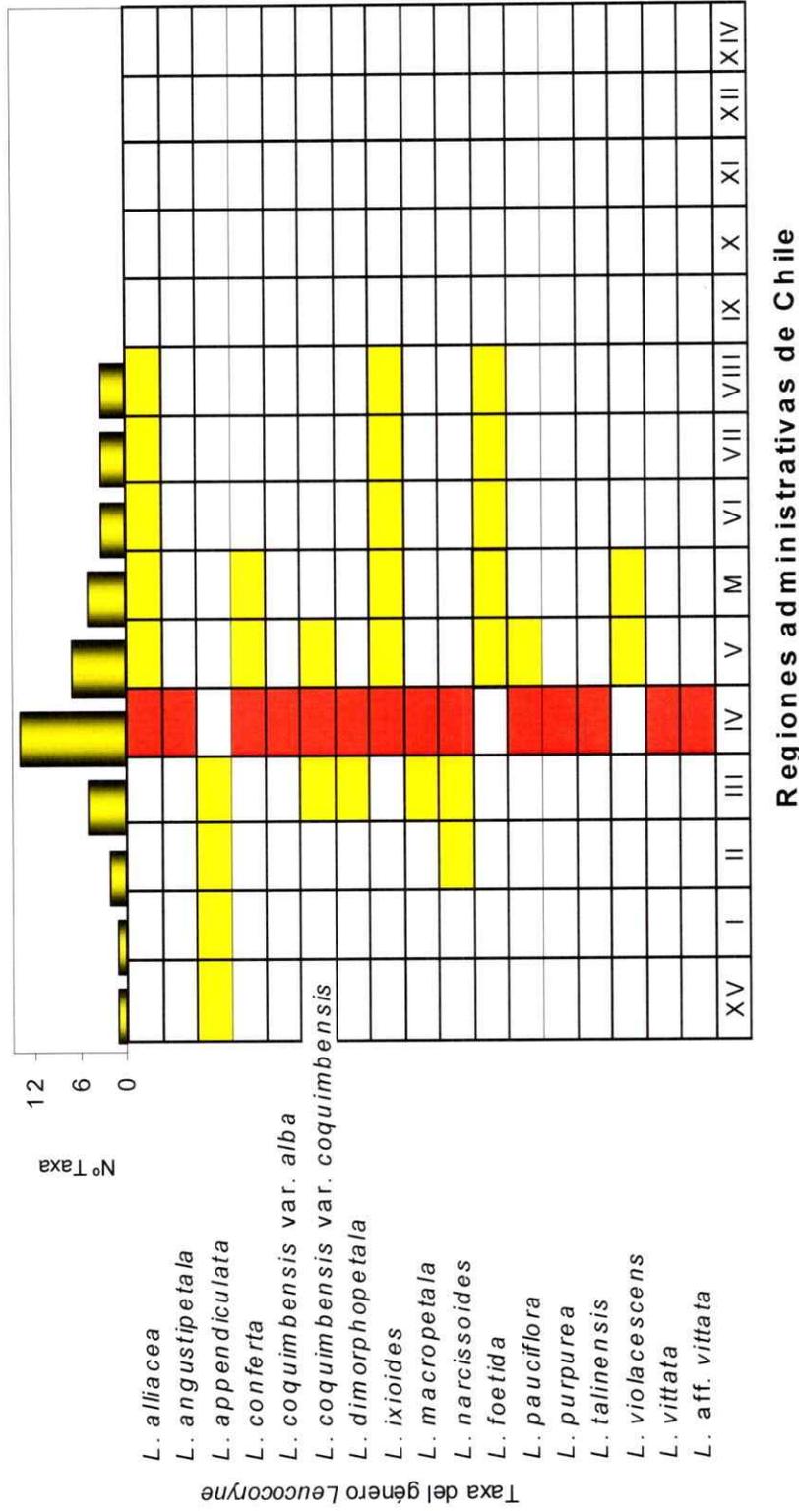


Figura 1.3. Distribución latitudinal de taxa del género *Leucocoryne* por Regiones Administrativas chilenas. La coloración roja destaca la Región de Coquimbo (IV Región) que presenta el mayor porcentaje de taxa del género en estudio.

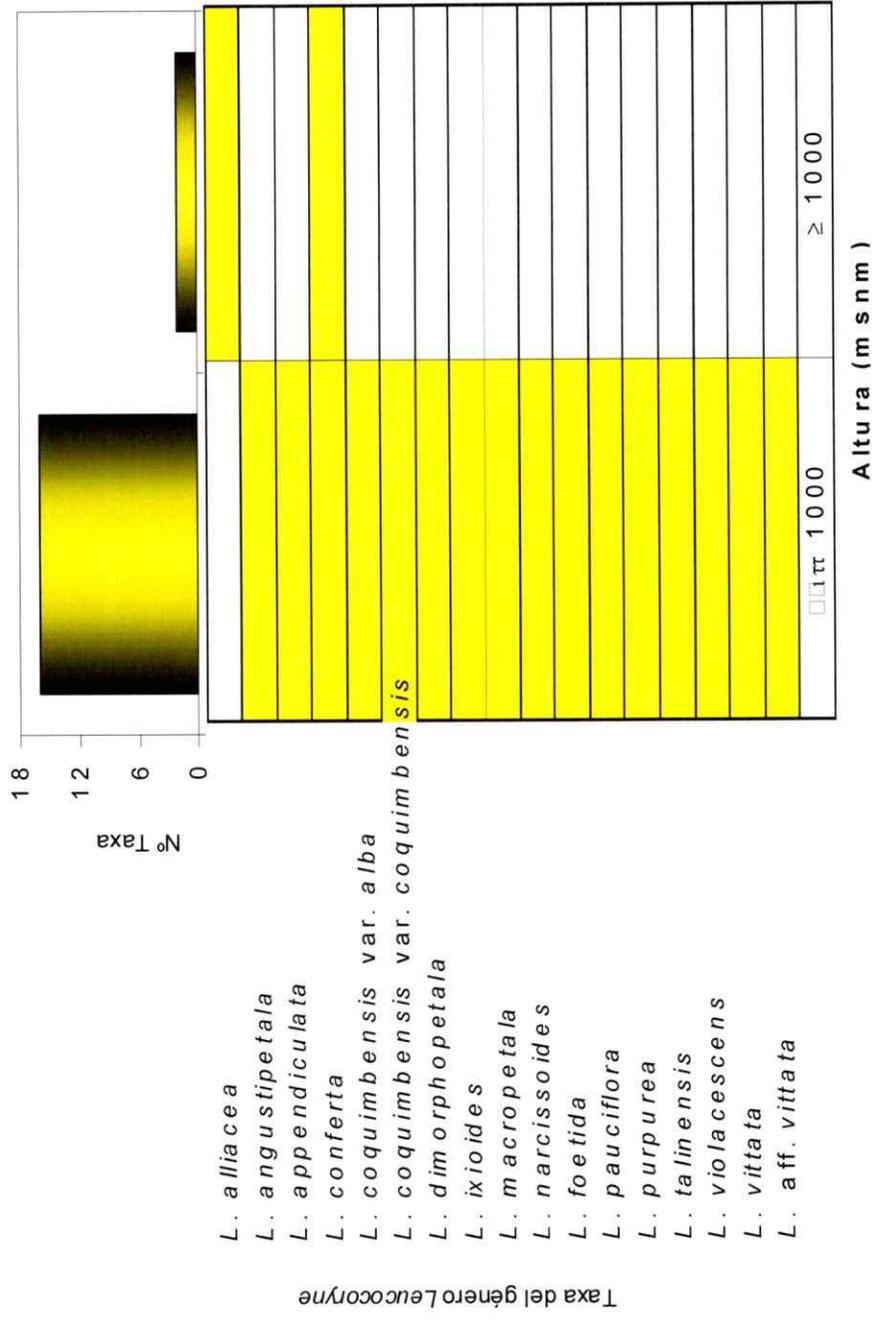


Figura 1.4. Distribución altitudinal de taxa del género *Leucocoryne*, dividido en dos zonas: (a) Costera/Valle intermedio (0 a 1000 m. s. n. m.) y (b) Cordillerana $\geq 1000</math> m. s. n. m.$

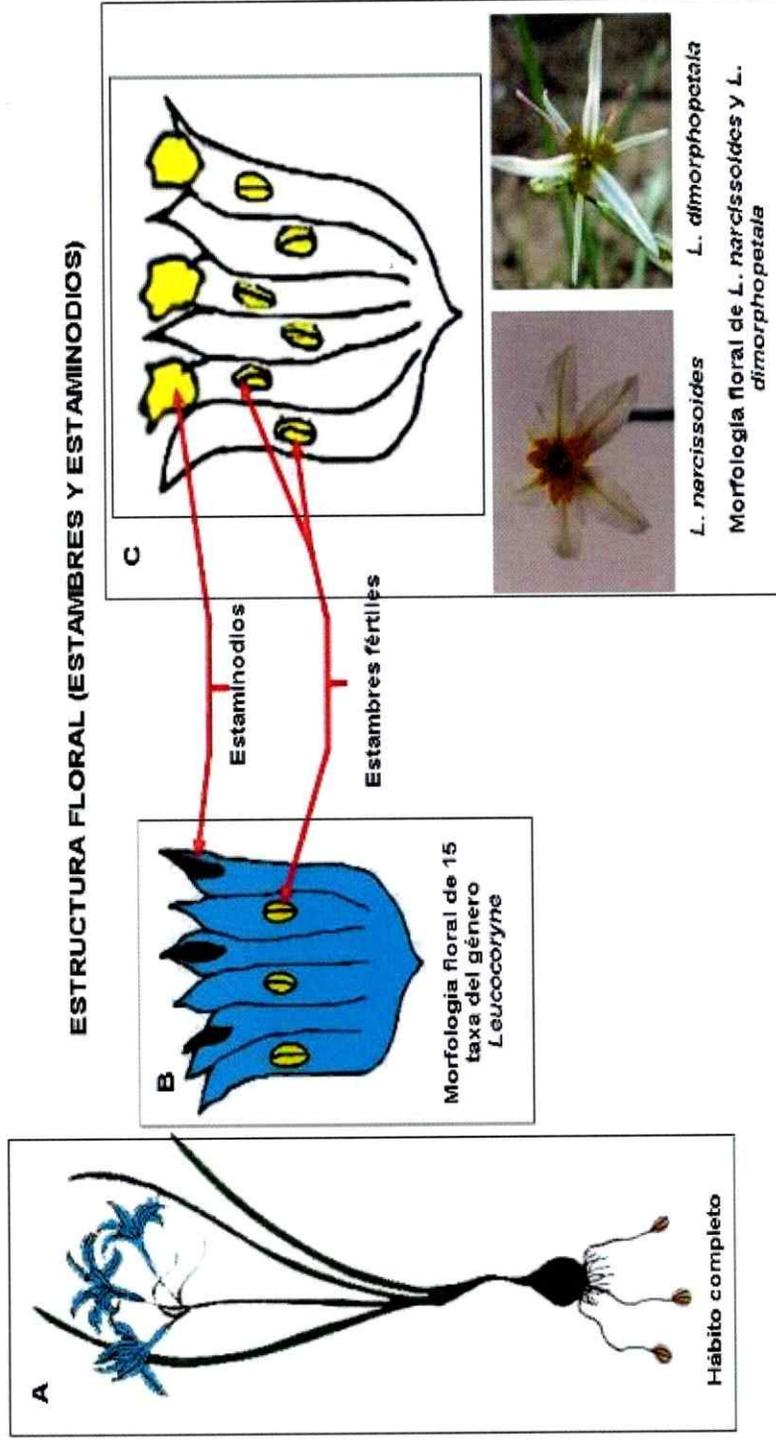


Figura 1.5. Hábito de individuos del género *Leucocoryne* (A). Estructuras florales a nivel de estambres y estaminodios presentes en 15 taxa del género *Leucocoryne* (B) y en *L. narcissoides* y *L. dimorphopetala* (C).

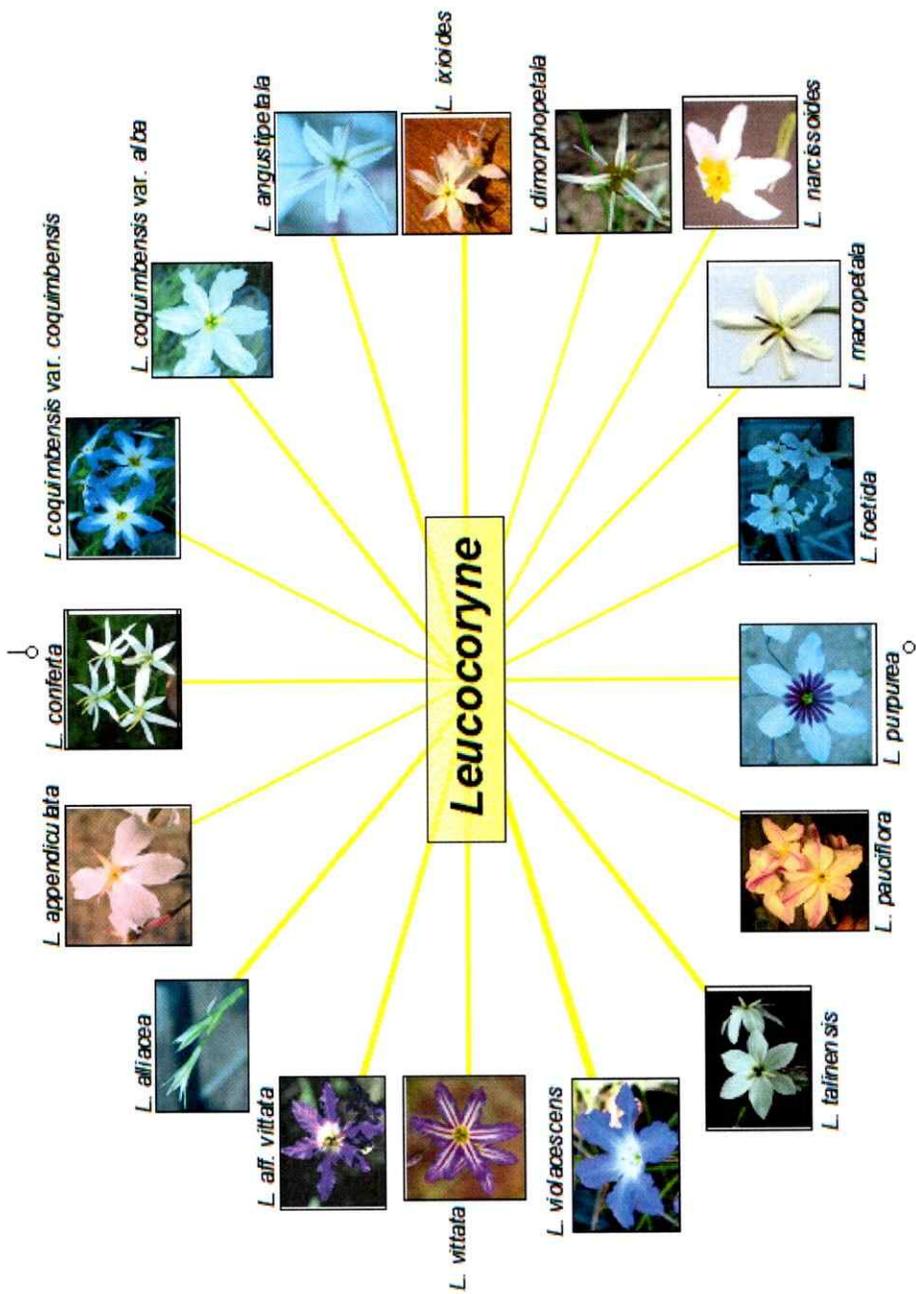


Figura 1.6. Diecisiete taxa estudiados en esta tesis del género *Leucocoryne* (grupo interno).

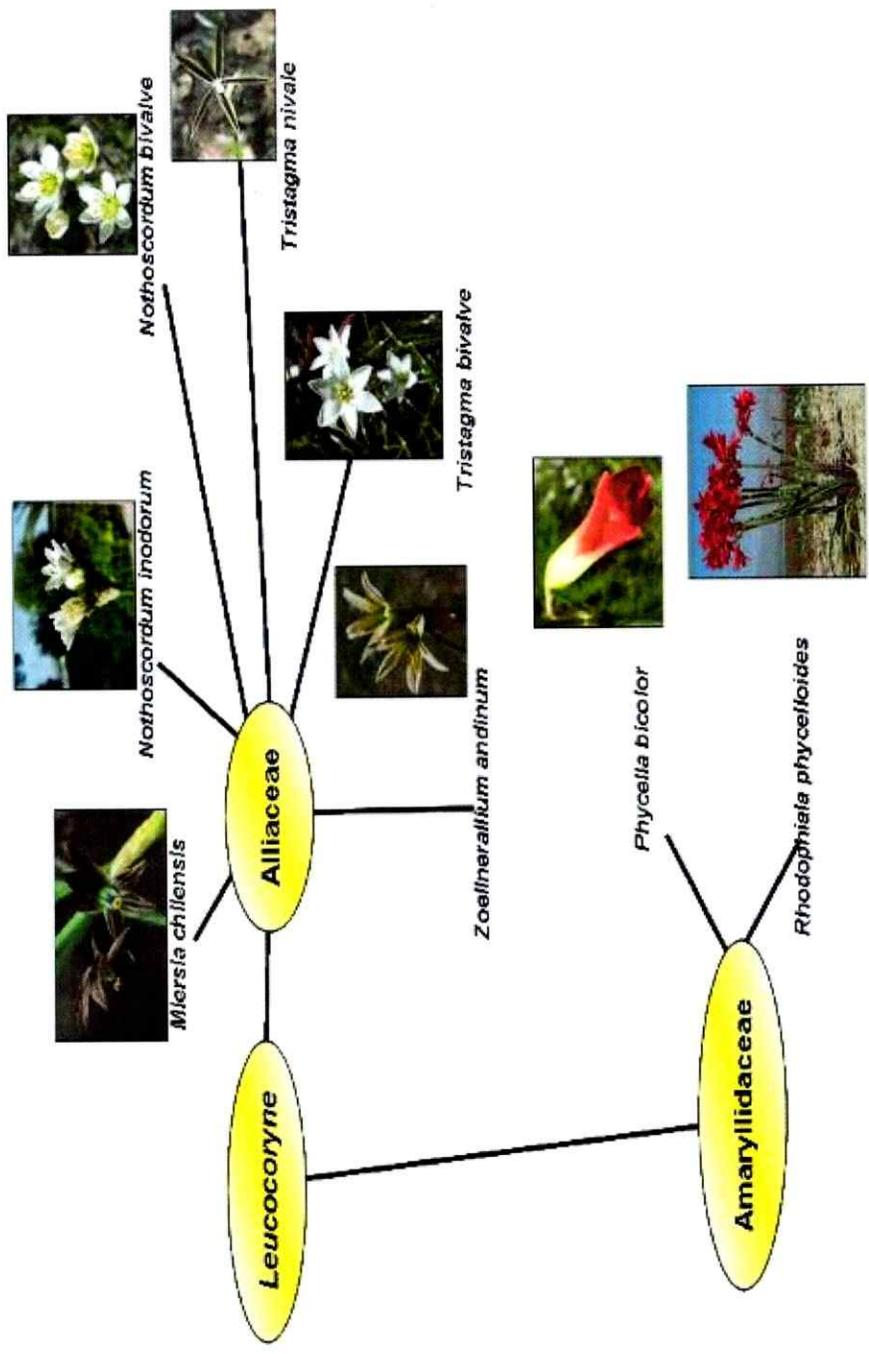


Figura 1.7. Ocho taxa pertenecientes a la familia Alliaceae y Amaryllidaceae consideradas en esta tesis como grupos externos.

Tabla 1.1. Sitios de colecta de los individuos de cada taxon del género *Leucocoryne* y de las especies que se utilizaron como grupo externo.

Grupo interno					
Taxa	Sitio de colecta	HULS	Taxa	Sitio de colecta	HULS
<i>L. alliacea</i> Miers ex Lindl.	Farellones (33°20'S - 70°19'W; 2700 msnm)	6298	<i>L. macropetalata</i> Phil.	Cerro Grande (29°56'S - 71°13'W; 520 msnm)	6283
<i>L. alliacea</i> Miers ex Lindl.	León muerto (29°20'S - 70°39'W; 2770 msnm)	6299	<i>L. macropetalata</i> Phil.	Los Burros (27°54'S - 71°07'W; 50 msnm)	6282
<i>L. angustipetala</i> Gay	Tofo (28°58'S - 70°56'W; 730 msnm)	6295	<i>L. narcissoides</i> Phil.	Los Burros (27°54'S - 71°07'W; 50 msnm)	6281
<i>L. angustipetala</i> Gay	Domeyko (28°59'S - 70°56'W; 759 msnm)	6296	<i>L. narcissoides</i> Phil.	Paposo (25°00'S - 70°28'W; 50 msnm)	6280
<i>L. appendiculata</i> Phil.	Iquique (20°13'S - 70°09'W; 10 msnm)	6294	<i>L. foetida</i> Phil	Viña del Mar (33°31'S - 71°34'W; 150 msnm)	6300
<i>L. appendiculata</i> Phil.	Pan de Azúcar (26°08'S - 70°35'W; 510 msnm)	6293	<i>L. foetida</i> Phil	Valparaíso (33°02'S - 71°38'W; 150 msnm)	6301
<i>L. conferta</i> Zoëllner	Cuesta Cavilolén (31°46'S - 71°19'W; 700 msnm)	6292	<i>L. pauciflora</i> Phil.	Camino a Rapel (34°05'S - 71°32'W; 70 msnm)	6279
<i>L. coquimbensis</i> Phil. var. <i>coquimbensis</i>	Tongoy (30°15'S - 71°30'W; 40 msnm)	6291	<i>L. purpurea</i> Gay	Guanaqueros (30°12'S - 71°26'W; 100 msnm)	6276
<i>L. coquimbensis</i> Phil. var. <i>coquimbensis</i>	Panul (30°00'S - 71°24'W; 100 msnm)	6290	<i>L. purpurea</i> Gay	Quebrada las Vacas (32°42'S - 71°13'W; 200 msnm)	6277
<i>L. coquimbensis</i> Phil. var. <i>alba</i> Zoëllner	Panul (30°00'S - 71°24'W; 100 msnm)	6289	<i>L. talinensis</i> Mansur	Colecta planta tipo (30°49'S - 71°33'W; 355 msnm)	6278
<i>L. coquimbensis</i> Phil. var. <i>alba</i> Zoëllner	Juan Soldado (29°40'S - 71°18'W; 300 msnm)	6288	<i>L. violacescens</i> Phil.	Amolana (31°12'S - 71°37'W; 200 msnm)	6278
<i>L. dimorphopetalata</i> (Gay) Rav.	Freitina (28°31'S - 70°04'W; 100 msnm)	6287	<i>L. violacescens</i> Phil.	Alcones (30°48'S - 71°33'W; 250 msnm)	6275
<i>L. dimorphopetalata</i> (Gay) Rav.	Sauce Pérez (28°40'S - 71°06'W; 607 msnm)	6286	<i>L. vittata</i> Rav.	Chigualoco (31°46'S - 71°30'W; 15 msnm)	6275
<i>L. ixioides</i> (Hook) Lindl.	El Manzano (33°41'S - 71°09'W; 175 msnm)	6285	<i>L. vittata</i> Rav.	Los Vilos (31°54'S - 71°31'W; 15 msnm)	6303

<i>L. ixiooides</i> (Hook) Lindl.	msnm) Quebrada las Vacas (32°42'S - 71°13'W; 200 msnm)	6284	<i>L. aff. vittata</i> Rav.	Las Palmas (31°16'S - 71°35'W; 248 msnm)	6297
-----------------------------------	--	------	-----------------------------	---	------

Grupo Externo familia Amaryllidaceae

<i>Phycella bicolor</i> (Ruiz et Pav.) Herb.	Quebrada las Vacas (32°42'S - 71°13'W; 200 msnm)	<i>Rhodophiala phycelloides</i> (Herb.) Hunz.	Quebrada las Vacas (32°42'S - 71°13'W; 200 msnm)
<i>Phycella bicolor</i> (Ruiz et Pav.) Herb.	Punta Teatinos (29°49'S - 71°17'W; 70 msnm)	<i>Rhodophiala phycelloides</i> (Herb.) Hunz.	Cerro Grande (29°56'S - 71°15'W; 380 msnm)

Grupo Externo familia Alliaceae

<i>Miersia chilensis</i> Lindl.	Caimanes (31°56'S - 71°40'W; 550 msnm)	<i>Tristagma nivale</i> Poeppig	Farellones (33°20'S - 70°19'W; 2700 msnm)
<i>Nothoscordum bivalve</i> (L.) Britton	Pichidangui (32°08'S - 71°32'W; 25 msnm)	<i>Tristagma bivalve</i> (Lindl.) Traub	Lagunilla (30°10'S - 71°23'W; 45 msnm)
<i>Nothoscordum inodorum</i> (Soland. Ex Alton) Nichols.	La Serena (29°54'S - 71°15'W; 90 msnm)	<i>Tristagma bivalve</i> (Lindl.) Traub	Quebrada las Vacas (32°42'S - 71°13'W; 200 msnm)
<i>Nothoscordum inodorum</i> (Soland. Ex Alton) Nichols.	Coquimbo (29°57'S - 71°20'W; 45 msnm)	<i>Zoelinerarium andinum</i> (Poepp.) Crosa	Farellones (33°20'S - 70°19'W; 2700 msnm)

CAPÍTULO II

RECONSTRUCCIÓN FILOGENÉTICA DEL GÉNERO ENDÉMICO *LEUCOCORYNE* LINDL. (ALLIACEAE) Y SU CORRESPONDENCIA BIOGEOGRÁFICA CON LA ARIDIZACIÓN DE LA ZONA MEDITERRÁNEA ÁRIDA Y SEMIÁRIDA DE CHILE

RESUMEN

Leucocoryne Lindl. (Alliaceae) es un género endémico a Chile que habita entre 20° y 37°S, concentrando su riqueza de especies en la zona Mediterránea árida y semiárida (29° a 38°S). Se estudiaron 17 taxa, conformados por 14 especies, dos variedades y una afinidad. En este estudio se plantea que los eventos de aridización, habrían provocado el origen y la alta diversificación de los taxa del género *Leucocoryne* a nivel de la Zona Mediterránea Árida y Semiárida de Chile y que habría influenciado en la ubicación altitudinal del ancestro del género en estudio. Adicionalmente, desde el punto de vista sistemático y por variabilidad morfológica a nivel de estambres entre los taxa del grupo en estudio, se cuestiona la monofilia del género *Leucocoryne*. Para resolver estas interrogantes se evaluó las relaciones filogenéticas de los taxa del género *Leucocoryne*, utilizando datos de secuencias de DNA plastidial (cpDNA) y DNA nuclear ribosomal (rDNA). Se realizó una estimación de tiempos de divergencia de los taxa utilizando reloj molecular. Se determinó la posible ubicación altitudinal (tierras bajas y altas) del

ancestro del género *Leucocoryne*. Los resultados determinaron que *Leucocoryne* es un grupo monofilético, conformado por 17 taxa, que diverge de la familia Alliaceae a inicios del Mioceno temprano. La primera divergencia dentro de *Leucocoryne* corresponde a Mioceno superior (10.9 Ma) sugiriendo una correspondencia entre las condiciones de aridez con la evolución de estos taxa con distribución árida-semiárida. Tomando en cuenta toda la evidencia, la posible ubicación altitudinal del ancestro de *Leucocoryne*, correspondería a un origen en tierras bajas, que presentó dos focos de diversificación, el linaje I (Mioceno superior) colonizaría tierras altas asociado a la incipiente Cordillera de Los Andes, separándose de los linajes II y III los cuales habrían evolucionado en el valle y costa de Chile centro-norte.

INTRODUCCIÓN

Las condiciones de aridez en la zona norte de Chile, específicamente en el Desierto de Atacama (18° y 26°S) (Rech et al. 2010) se retrotraen al Jurásico superior (150 Ma) donde el escenario climático era árido y semiárido producto de condiciones atmosféricas asociadas a la rama descendente de la Celda de Hadley, el efecto continentalidad y la presencia de aguas ascendentes frías costeras generadas por la ancestral Corriente de Humboldt (Hartley et al 2005). En el Mioceno superior las condiciones de aridez fueron incrementadas, debido a la formación de la Diagonal Árida de Sudamérica, la cual esta directamente relacionada con el levantamiento andino, y se habría establecido durante el Plioceno-Pleistoceno, constituyendo uno de los eventos más significativos en la

historia de la vegetación del cono sur de Sudamérica (Schmithüsen 1956; Hinojosa & Villagrán 1997; Villagrán & Hinojosa 1997). Aunque, otros estudios revelan que el levantamiento andino no sería el principal factor de la hiperaridez del norte de Chile, pues este retrotrae hace 15 Ma (Alpers & Brimhall 1998, Vandervoort et al 1995) o 10 Ma (Gregory-Wodzicki 2000). Lo cual se contrapone, a dataciones de la transición entre aridez/hiperaridez del Desierto de Atacama (Garreaud et al. 2010), que ocurrió hace ~8 Ma (Tosdal et al. 1984, García & Herail 2005, Fariás et al. 2005, Riquelme et al. 2007), entre ~6 a 3 Ma (Hartley & Chong 2002 y Hartley 2003), o -1.5 Ma (Reich et al. 2009).

En este estudio se plantea que los eventos de aridización habrían provocado la alta especiación de taxa con distribución en zonas áridas y que estos taxa habrían estado sometidos a diferentes mecanismos de especiación reductiva (Mayr 1963, Wiley 1981) o aditiva (Mayr 1963, Wiley 1981). Como modelo de estudio se utilizó el género endémico *Leucocoryne*, que presenta una alta diversidad de especies y habita zonas áridas y semiáridas de Chile. *Leucocoryne* Lindl., es un género endémico a Chile de 17 taxa, de la familia Alliaceae (Muñoz y Moreira 2000) que se distribuye entre los 20° y 37°S de Chile, con una mayor riqueza de taxa en la zona Mediterránea árida y semiárida (Zöellner 1972, Navas 1973, Hoffmann 1978, Ravenna et al. 1998, Muñoz & Moreira 2000, Squeo et al. 2001, Mansur et al. 2002, datos de herbario 2008: HULS, HMNHN, HCON). Altitudinalmente, presenta una distribución que va desde los 0 a 2500 m.s.n.m. comprendiendo dos rangos de distribución: zona costera/ valle intermedio 0 a <

1000 m. s. n. m., contiendo 16 taxa (94,12%) y zona occidental de la Cordillerana de los Andes \geq 1000 m. s. n. m., con dos taxa (11,76%) hasta los 2500 m.s.n.m. (Fig. 2.1).

En este estudio se pretende clarificar las relaciones filogenéticas entre los taxa del género *Leucocoryne* y entre estos y algunos representantes de la familia Alliaceae. Además, se plantea que (i) dado que *L. dimorphopetala* y *L. narcissoides* presenta caracteres diferentes a nivel de estambres y estaminodios, con respecto a los demás taxa del género *Leucocoryne*, entonces el género *Leucocoryne* no sería monofilético, (ii) el origen y la divergencia del género *Leucocoryne* se asociarían directamente con la aridización de su hábitat y (iii) la ubicación altitudinal del posible ancestro del género *Leucocoryne* es cordillerana ($>$ 1000 msnm). Para evaluar estas hipótesis se utilizaron las siguientes aproximaciones: (i) estimar las relaciones filogenéticas de los taxa del género *Leucocoryne*, basado en datos de secuencias de cpDNA (región trnF-trnL) y rDNA (región ITS), (ii) estimación de tiempos de divergencia de los taxa utilizando reloj molecular, (iii) reconstrucción de la posible ubicación altitudinal (tierras bajas: costa/valle intermedio o altas: cordillera) del ancestro del género *Leucocoryne* y (iv) análisis de evidencia total con datos moleculares, morfológicos y citogenéticos.

¹ *L. aff. vittata* Rav. es un taxa no reconocido formalmente pero descrito por Muñoz M (HMNH).

² Revista Onira, publicación personal de Ravenna.

³ Herbario personal de Ravenna prohíbe la entrada. No acceso a ejemplares descritos por Ravenna. 40

METODOLOGÍA

Selección de los grupos interno y externo

Para conformar el grupo interno se recolectaron de cada uno de las 13 taxa del género *Leucocoryne* dos individuos provenientes de dos poblaciones. En el caso de *L. conferta*, *L. pauciflora*, *L. aff. vittata*, sólo se recolectaron muestras de una localidad debido a que no se encontraron más poblaciones en condiciones naturales (Tabla 2.1). En este estudio los grupos externos fueron elegidos en base a tres criterios: (i) presencia de bulbos tunicados, (ii) estudios morfológicos que determinan que *Nothoscordum*, *Tristagma* y *Zoellnerallium* son los géneros más cercanos a *Leucocoryne* (Zöellner 1972; Navas 1973; Hoffmann 1978; Ravenna et al. 1998; Muñoz & Moreira 2000; Mansur et al 2002), y (iii) estudios filogenéticos basados en el DNA plastidial (cpDNA) *rbcL*, que determinan que el grupo hermano de la familia Alliaceae es la familia Amaryllidaceae (Janssen T & Bremer K (2004). Por lo cual, los taxa seleccionados como grupo externo son especies de la familia Alliaceae (*Miersia chilensis* Lindl., *Nothoscordum inodorum* (Soland. ex Aiton) Nichols., *Nothoscordum bivalve* (L.) Britton, *Tristagma bivalve* (Lindl.) Traub, *Tristagma nivale* Poeppig, *Zoellnerarium andinum* (Poepp.) Crosa) y de la familia Amaryllidaceae (*Phycella bicolor* (Ruiz et Pav.) Herb. y *Rhodophiala phycelloides* (Herb.) Hunz.) (Tabla 2.1). Los taxa analizados del género *Leucocoryne* fueron identificados siguiendo los estudios taxonómicos para el género de Philippi 1857; Zöellner 1972; Ravenna 1973; Marticorena & Quezada 1985; Muñoz & Moreira 2000; Rahn 1998; Riedemann 2002; Mansur et al. 2002, Zuloaga et al. 2008. Para

la recolección de las muestras de *Leucocoryne* se seleccionaron poblaciones aisladas entre si (Tabla 2.1, Fig. 2.1). Debido a que los taxa de este género presentan principalmente reproducción vegetativa por bulbilllo (Zöellner 1972, Mansur et al. 2002) se recolectaron bulbos adultos que evidenciaron generación de escape en la temporada de colecta (peso bulbo mayor a 0,3 gr., Kim et al. 1998) con una separación mínima entre ellos de 30 a 50 metros, que fueron preservados en bolsas de papel en cámara climática a 25°C. El único taxa no recolectado en terreno fue *L. talinensis* (Mansur et al. 2002) del cual sólo se obtuvieron semillas proporcionadas por Mauricio Cisterna (uno de los descriptores de la especie; Mansur & Cisterna 2005). Las muestras recolectadas se encuentran depositadas en el herbario de la Universidad de La Serena (HULS).

Extracción, amplificación y secuenciación de DNA

El DNA genómico fue extraído de muestras de tejido foliar, según protocolos establecidos para el Kit de extracción de DNA Qiagen. Mediante la técnica de reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) fue amplificada la zona del DNA plastidial (cpDNA) ubicada en la región espaciadora trnL-F y una zona del DNA nuclear ribosomal (rDNA) del espaciador transcriptor interno ITS. En el caso de la región trnL-F se utilizaron los partidores trnL-c (5'-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3') (Taberlet et al. 1991) y trnL-f (5'-ATTTGAACTGGTGACACGAG-3') (Taberlet et al. 1991). Para ITS, se utilizaron los partidores ITS1 (5'-TCCGTGGTGAACCTGCGG-3') (White et al. 1990) e ITS4-1 (5'-CCTCCGCCTTATTGATATG-3') (White et al. 1990). La reacción de PCR se

llevó a cabo en un volumen final de 30 μL , el cual contiene 8 μL de ADN (1 ng/ μl), 10,1 μL de agua destilada, 3 μL de MgCl_2 (25 mM), 3 μL de buffer (10X PCR), 3 μL de mezcla de dNTPs (1 mM), 1,2 μL de cada partidor (10 μM) y 0,5 μL de Taq Polimerasa (1U/ μL). La amplificación se ejecutó en un termociclador Mastercycler gradient (Eppendorf). El DNA fue inicialmente desnaturalizado a 45 s a 97°C, se corrieron 26 ciclos de amplificación, que contemplan la etapa de desnaturalización de 30 s a 96°C, alineamiento (annealing) de 30 s a 53°C, con cambios de temperatura de 1 grado por segundo. La extensión o elongación es de 2 min 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 Bromuro de Etidio (10 mg/ml) 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 fueron enviadas a purificar y secuenciar a Macrogen (Corea).

Edición y alineación de secuencias

Las secuencias de las dos hebras de DNA, para los análisis de cpDNA y rDNA, fueron editadas y alineadas en el programa BioEdit versión 7.0 (Hall 1999) y revisadas por inspección ocular y comparadas con los cromatogramas en cada par de secuencia, para verificar la edición y reemplazar las bases ambiguas en el programa Chromas Pro 2.33 (2003-2008 Technelysium Pty Ltd). Con el fin de

comprobar la correspondencia de las secuencias obtenidas de taxa vegetales del mismo grupo de estudio o de grupos cercanos se realizaron "blast" (comparación de similitud) para todas las secuencias en la página de "National Center for Biotechnology Information" (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Se utilizaron todos los individuos recolectados para realizar los análisis filogenéticos, determinando agrupaciones por taxa. En correspondencia a los resultados obtenidos, donde en la topologías encontradas se agruparon todos los individuos de un taxon y considerando el tiempo de ejecución computacional de los análisis, se seleccionó un individuo por taxa, el cual fue asignado como representante de cada taxon para todos los análisis realizados en este estudio. Adicionalmente, se evaluó el índice de saturación en las secuencias. Para ello se comparó el índice de saturación esperado (asumiendo saturación) con el índice de saturación observado en el programa DAMBE4.5.27 (Xia et al. 2001).

Análisis filogenético

El análisis filogenético fue realizado mediante tres diferentes aproximaciones algorítmicas: Parsimonia, Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana. En los análisis de reconstrucción filogenética, los nucleótidos faltantes "gaps" en el alineamiento no fueron considerados. 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 et al. (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 taxa 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 un 75%. En los análisis de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana se obtuvo inicialmente el modelo de evolución más apropiado, este análisis se llevo a cabo en el programa MrModeltest versión 2.2 (Nylander 2004). Los análisis de Máxima Verosimilitud fueron realizados en PAUP* versión 4.0 (Swofford 2003). Se realizó un bootstrap no paramétrico de 500 replicas para estimar la robustez de la reconstrucción filogenética. En ambos casos se consideró un nodo bien soportado por sobre 70% de valor de bootstrap (Hillis & Bull 1993). El análisis de Inferencia Bayesiana fue realizado en el programa MrBayes versión 3.0B4 (Ronquist & Huelsenbeck 2003). Cada simulación de cadenas de Markov utilizando el método de Montecarlo (MCMC) fue hecho por duplicado. Se corrieron 5.0×10^6 generaciones con cuatro cadenas de Markov (una fría y tres calientes). 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 fueron muestreados 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 95% (Ronquist & Huelsenbeck 2003).

Estimación de los tiempos de divergencia

Las estimaciones de los tiempos de divergencia se calcularon asumiendo Reloj Molecular. La calibración se realizó a partir de la tasa evolutiva de otros taxa vegetales herbáceos determinados en el estudio de Richardson et al. (2001b) para los análisis de rDNA de la región ITS (espaciador transcriptor interno) mediante inferencia Bayesiana utilizando el programa Beast versión 1.4.8 (Drummond & Rambaut 2007). Esta medida se aplicó debido a la falta de registros fósiles de taxa del género *Leucocoryne*, pues es una bulbosa que degenera rápidamente. Además, en registros polínicos no se ha logrado determinar taxonómicamente a nivel de géneros y el tipo polínico Liliflorae corresponde a una asociación amplia de geófitas (Maldonado & Villagrán 2006). Adicionalmente, para cotejar los valores obtenidos en cada nodo, se aplicó el método de Neighbor-joining, utilizando el modelo nucleotídico de distancia p , este análisis se realizó en el programa Mega versión 3.8., Kumar S et al. 2004). En ambos análisis de tiempo de divergencia sólo se consideraron las secuencias obtenidas para los taxa del grupo interno y externo de rDNA utilizando la región ITS. Esta última determinación radica en la escasa resolución y bajos apoyos de bootstrap y credibilidad en los nodos resueltos con cpDNA.

Ubicación altitudinal (tierras bajas o altas) del ancestro del género *Leucocoryne*

Para poder determinar si el ancestro del género *Leucocoryne* habitaba tierras bajas (costa/valle intermedio) o altas (cordillera), se realizó una reconstrucción de los niveles de distribución altitudinal para cada taxa. Para este análisis se utilizó la topología generada en el análisis de Parsimonia y el de Máxima Verosimilitud y una matriz con los niveles de distribución altitudinal de los taxa. Los valores otorgados fueron binarios (0-1), siendo los 1000 m. s. n. m. el límite altitudinal de corte para: (i) tierras bajas: litoral costero/valle intermedio (0 a < 1000 m. s. n. m.) y (ii) tierras altas: cordillerano (\geq 1000 m. s. n. m.). *L. conferta* es el único taxa que se ubica en ambas zonas, en este caso fue codificado como incierto con un signo de interrogación (?). Los valores asignados para la distribución altitudinal fueron: *L. alliacea* de distribución cordillerana, *L. conferta* distribución ambigua y los 15 taxa restantes de distribución de litoral costero/valle intermedio. Se consideraron en este análisis todos los grupos internos utilizados en los estudios filogenéticos, los cuales se distribuyen bajos los 1000 m. s. n. m. en litoral costero/valle intermedio, con excepción de *T. nivale* y *Z. andinum* que habitan en zonas cordilleranas (\geq a 1000 m. s. n. m.). Este análisis se llevó a cabo en el programa Mesquite 2.5 (Maddison & Maddison 2008)

Análisis de evidencia total

Se realizó un análisis de evidencia total con 19 caracteres morfológicos con que presentan baja variación fenotípica (19) (número de flores, apertura floral, borde lacinias, forma lacinias, longitud lacinias, ancho lacinias, número de estambres fértiles, número de estambres infértiles, posición estambres fértiles, posición estambres infértiles, longitud del ovario, diámetro del ovario, longitud del estilo, diámetro del estilo, posición del gineceo, ápice del estaminodio, longitud de estambres, forma del estaminodio y longitud de la antera), citogenéticos (12) (capítulo III de esta tesis) y moleculares. Previo al análisis simultáneo se realizó un análisis de congruencia de los datos para evaluar su compatibilidad utilizando la Prueba de Partición Homogénea (Farris et al. 1994). Los caracteres morfológicos y citogenéticos fueron categorizados mediante la metodología de Thiele (1993), en el programa MorphoCode 1.1 (Maddison et al. 1997). Posteriormente fueron transformados de datos multiestados a datos binarios. Esta nueva matriz, con datos binarios morfológicos y citogenéticos, se incorporó a la matriz de datos moleculares y realizó un análisis de Inferencia Bayesiana en el programa MrBayes versión 3.0B4 (Ronquist & Huelsenbeck 2003) con los mismos parámetros ocupados en el descrito análisis de Inferencia Bayesiana. Para poder determinar si el análisis de evidencia total se ve afectado por incorporación de homoplasia por parte de caracteres citogenéticos y morfológicos, se mapearon los 19 caracteres morfológicos y los 12 citogenéticos en el programa MacClade 4 (Maddison & Maddison 2000) sobre la topología generada en el análisis de Inferencia con rDNA de la región ITS.

RESULTADOS

Secuencias

Se obtuvieron 785 caracteres nucleotídicos de rDNA para la región ITS y 839 de cpDNA para la región trnL-F de todos los integrantes del grupo interno del género *Leucocoryne* (17 taxa) (Tabla 2.1) y de ocho taxa representantes del grupo externo pertenecientes a la familia Alliaceae (*M. chilensis*, *N. inodorum*, *N. bivalve*, *T. bivalve*, *T. nivale* y *Z. andinum*) y Amaryllidaceae (*P. bicolor* y *R. phycelloides*).

Análisis filogenético

En los análisis de inferencia filogenética mediante el método de Parsimonia para rDNA, se utilizaron 785 caracteres nucleotídicos, de los cuales 294 sitios fueron informativos. Se evaluaron 516 árboles, se retuvieron 100 árboles con el mismo valor de parsimonia y con una longitud de 517 pasos, con valores de índice de consistencia (CI) de 0,79 y el índice de homoplasia (HI) de 0,21 y el índice de retención (RI) de 0,85 (Fig. 2.2). En el caso de los análisis de inferencia filogenética mediante el método de Parsimonia para cpDNA se utilizaron 839 caracteres nucleotídicos considerando grupo interno y externo, de los cuales 78 sitios fueron informativos. Se evaluaron 101 árboles, se retuvieron seis árboles con el mismo valor de parsimonia y con una longitud de 101 pasos. Los valores de índice de consistencia (CI) son 0,87 y del índice de homoplasia (HI) 0,13 y del índice de retención (RI) 0,90. Los resultados con cpDNA, no fueron considerados

en este documento debido a la escasa resolución filogenética obtenida, lo cual no tiene un aporte significativo en la resolución de las problemáticas planteadas. La topología obtenida con la región ITS presenta alta resolución y está fuertemente apoyada por los valores de bootstrap. Los análisis de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana, para ambas regiones en estudio (ITS y trnL-F) utilizaron el modelo de evolución de secuencias de TrN+G, seleccionado como óptimo por el criterio de información Akaike. Los resultados de ambos análisis no fueron congruentes debido a la escasa resolución y apoyo por los valores de bootstrap y credibilidad respectivamente en la región trnL-F. En cambio en los análisis mediante el método de Parsimonia (Fig. 2.2), Máxima Verosimilitud (Fig. 2.2) e Inferencia Bayesiana con la región ITS (Fig. 2.3) se obtuvo congruencia en los resultados, una buena resolución y máximos valores de apoyo de los nodos. La filogenia del género *Leucocoryne*, mostró la existencia de tres grandes linajes: el linaje I conformado por *L. alliacea* y *L. conferta*, mientras que el linaje II es representado por los taxa *L. dimorphopetala* y *L. narcissoides*, ambos linajes corresponden a grupos hermanos del linaje III. El linaje III, incluye a 13 taxa, el cual se subdivide en dos linajes menores (A y B). El grupo "A" conformado por *L. vittata*, *L. aff. vittata*, *L. ixioides*, *L. odorata* y *L. pauciflora*; y el grupo "B" compuesto por *L. violacescens*, *L. purpurea*, *L. coquimbensis* var. *coquimbensis*, *L. appendiculata*, *L. coquimbensis* var. *alba*, *L. macropetala*, *L. angustipetala* y *L. talinensis* (Fig. 2.3).

Estimación tiempos de divergencia

En el análisis el método Neighbor-joining, se obtuvo un valor absoluto de tiempo de divergencia en millones de años (Ma) para todos los nodos. En los análisis con estadística Bayesiana, se obtuvo el valor promedio de Ma y desviación estándar de cada nodo, dentro de los cuales, en la mayoría de los casos, los resultados con Neighbor-joining estaban contenidos. Además, los resultados obtenidos en ambos análisis son coherentes entre si, con excepción de un par de fechas donde los valores con el método Neighbor-joining, no son contenidos por los valores promedios y sus desviaciones estándar obtenidos con estadística Bayesiana. Por lo tanto, en las comparaciones de eventos asociados a las condiciones de aridez con los tiempos de divergencia de los taxa del género *Leucocoryne*, sólo utilizaremos los determinados con estadística Bayesiana. Los resultados estiman que al interior de la familia Alliaceae ocurren eventos de separación durante el Paleógeno (desde $30,95 \pm 6,12$ Ma). La separación de los linajes al interior del género *Leucocoryne* ocurren en el Neógeno: (a) separación de los linajes I y II en el Mioceno superior (entre $10,9 \pm 2,62$ y $7,45 \pm 2,02$ Ma respectivamente), (b) diversificación del linaje III ocurre en el Plioceno temprano ($3,75 \pm 1,10$ Ma). Posteriormente el linaje III diverge en los linajes "A y B"; siendo en el Plioceno medio ($2,7 \pm 0,85$ Ma) la divergencia al interior del linaje "B" y en el Pleistoceno ($1,45 \pm 0,74$ Ma) la divergencia al interior del linaje "A" (Fig. 2.4).

Ubicación altitudinal (tierras bajas o altas) del ancestro del género *Leucocoryne*

El análisis de reconstrucción de caracteres en la topología del análisis de Máxima Verosimilitud, determinó que la posición altitudinal del ancestro del grupo monofilético *Leucocoryne* es ambigua, es decir, podría haber habitado tanto tierras bajas (< 1000 m. s. n. m., costa/valle intermedio) como altas (\geq 1000 m. s. n. m., cordillerano). Sólo para el linaje I existe claridad en la posición altitudinal del ancestro, el cual se ubica en tierras altas. En cambio en los 15 taxa restantes la condición es ambigua (Fig. 2.5a). Para el análisis filogenético de Parsimonia (Fig. 2.5b) la posición del ancestro del grupo monofilético *Leucocoryne* también es ambigua, al igual que la posición del ancestro del linaje I. Para las 15 taxa restantes la posición del ancestro es de tierras bajas.

Análisis de evidencia total

La prueba de homogeneidad de particiones fue significativa tanto a nivel de combinación de genes (PAUP*: $p= 0.01$) entre rDNA/citogenéticos/morfológicos (PAUP*: $p= 0.01$) o entre cpDNA/citogenéticos/morfológicos (PAUP*: $p= 0.01$) por lo cual, no se pudieron realizar análisis de evidencia total utilizando el método de Parsimonia. El método de Inferencia Bayesiana no requiere la prueba de partición homogénea para realizar análisis de evidencia total con los tres tipos de caracteres utilizados en este estudio (moleculares/citogenéticos/morfológicos). Los

resultados obtenidos fueron congruentes con lo ya encontrado en los análisis filogenético de los caracteres moleculares con rDNA. Al comparar la resolución encontrada entre los análisis individuales y los de evidencia total, no existe un mayor aporte a la resolución de lo ya encontrado en análisis molecular, sólo existe una disminución en los valores de soporte de algunos nodos, debido a la incorporación de homoplasia proveniente de datos citogenéticos y morfológicos (Fig. 2.6). Los resultados del mapeo de caracteres morfológicos y citogenéticos en la filogenia de *Leucocoryne* con datos moleculares, mostró que los caracteres morfológicos y citogenéticos aumentaron el nivel de homoplasia en la filogenia. En efecto, sólo existen cuatro caracteres no homoplásicos de los 31 analizados (siendo estos apertura floral, el número de estambres fértiles, ápice de los estaminodios y forma del estaminodio) al interior del grupo de estudio.

DISCUSIÓN

Monofilia del género *Leucocoryne*

Después de realizado los estudios a nivel de rDNA, se determinó que *Leucocoryne* es un grupo monofilético (Fig. 2.2 y 2.3). La monofilia observada en *Leucocoryne* se corresponde con las características morfológicas y citogenéticas que presenta con respecto todos los taxa utilizados como grupo externo (*M. chilensis*, *N. inodorum*, *N. bivalve*, *T. bivalve*, *T. nivale*, *Z. andinum*, *P. bicolor* y *R. phycelloides*). Nuestro grupo en estudio presentan la sinapomorfía de tres estambres infértiles denominados estaminodios (Philippi 1857; Zoëllner 1972; Ravenna 1973; Marticorena & Quezada 1985; Muñoz & Moreira 2000; Rahn 1998; Riedemann 2002; Mansur et al. 2002) y números cromosómicos diferentes a los de los grupos externos ($2n = 10$ o $2n = 18$) (Zoëllner 1972; Crosa 1988; Araneda et al. 2004; Mansur & Cisterna 2005; capítulo III de esta tesis).

Historia filogenética del género *Leucocoryne*

Los análisis filogenéticos (Fig. 2.3) revelan que la separación de los taxa de la familia Amaryllidaceae utilizados en este estudio, ocurrió en el Cretácico tardío ($87,55 \pm 23,30$ Ma). Con respecto a los taxa utilizados en este estudio de la familia Alliaceae, se determinó que en el Oligoceno tardío ($30,95 \pm 6,12$ Ma) *Z. andinum*, el grupo hermano más cercano a *Leucocoryne*, se separa de los demás géneros

utilizados en este estudio de la familia Alliaceae. Durante el período Eoceno – Oligoceno el principal evento climático a nivel global corresponde a la caída abrupta de las temperaturas globales oceánicas producto del inicio de la glaciación Antártica (Zachos et al. 2001). La separación del género *Leucocoryne* dentro de la familia Alliaceae ocurre durante el Mioceno temprano ($23,1 \pm 5,94$ Ma) donde las condiciones ambientales eran semiáridas. Al interior del género *Leucocoryne*, los procesos de divergencia comienzan durante el Mioceno superior (entre $10,9 \pm 2,62$ y $7,45 \pm 2,02$ Ma) con la separación de los linajes I y II. La diversificación del linaje III ocurriría desde el Plioceno temprano ($3,75 \pm 1,10$ Ma), el cual se disocia en linaje “A y B” en el Plioceno medio ($2,7 \pm 0,85$ Ma) y en el Pleistoceno ($1,45 \pm 0,74$ Ma) respectivamente (Fig. 2.4).

La divergencia del género *Leucocoryne* de la familia Alliaceae, y su posterior diversificación interna, se pueden relacionar con los cambios geológicos y climáticos asociados al incremento de las condiciones de aridez en Chile centro-norte y norte (Mioceno superior, alrededor 10 y 5 Ma) cuando los Andes alcanzaron altitudes suficientes para generar un efectivo bloqueo a los vientos del este y aumenta la vigorización de la corriente fría de Humboldt y del Anticiclón Subtropical del Pacífico Sur (Garzzone et al. 2008). Aunque, publicaciones recientes postulan que el levantamiento andino no sería el factor preponderante de las condiciones de aridez del norte de Chile (Garreaud et al 2010). Estos autores sugieren que las condiciones de aridez de Chile norte/ central, están asociadas principalmente a la transición entre aridez/hiperaridez del Desierto de Atacama,

donde se han datado varios eventos de hiperaridez que no se corresponden con el levantamiento andino: ~8 Ma (Tosdal et al. 1984, García & Herail 2005, Farías et al. 2005, Riquelme et al. 2007), ~6 a 3 Ma (Hartley & Chong 2002, Hartley 2003) o ~1,5 Ma (Reich et al. 2009).

Actualmente las poblaciones del género en estudio, se distribuyen principalmente disyuntas, lo que podría sugerir que las poblaciones ancestrales habrían ocupado grandes extensiones territoriales, pero que las condiciones de aridez/hiperaridez las habrían disgregado, conformando un patrón de mosaico con poblaciones aisladas. La alta diversidad de especies se relaciona con la fragmentación del hábitat (Stebbins 1952, Lewis 1966, Axelrod 1972) o a extinciones locales por selección catastrófica o subsistencia de organismos con reorganizaciones cromosómicas diferentes a su parentales (Lewis 1962). Luego de realizar esta investigación, es posible sugerir que los posibles mecanismos de especiación ocurridos en *Leucocoryne* son especiación aditiva y reductiva.

Ubicación altitudinal (tierras bajas o altas) del ancestro del género *Leucocoryne*

El posible origen altitudinal (tierras bajas o altas) del ancestro del grupo monofilético *Leucocoryne* es ambigua (Fig. 2.5 a y b). El ancestro del género *Leucocoryne* podría haber habitado: (i) tierras bajas y que al incremento de la aridización durante el Mioceno superior (10.9 Ma), se habría refugiado en tierras

altas, tal como se describe para taxa del género *Chaethanthera* (Hershkovitz et al. 2006). Se ha postulado que estos taxa se refugiaron en tierras altas, por ser un hábitat donde existe menor estrés hídrico, debido a una disminución de la evapotranspiración como resultado de épocas de crecimiento de menor duración y menores temperaturas (Körner 1999). La segunda posibilidad (ii) correspondería a un ancestro habitando tierras altas desde sus inicios y que por disturbios ambientales y ecológicos ocurridos entre el Plioceno-Pleistoceno (Schmithüsen 1956; Simpson 1983; Arroyo et al. 1988; Hinojosa y Villagrán 1997; Villagrán & Hinojosa 1997; Gregory-Wodzicki 2000; Irigoyen et al. 2000; Hartley & Chong 2002; Giambiagi 2003; Hartley 2003; Farias et al. 2005) se habría producido una colonización de nuevos ambientes en dirección cordillera a costa, provocando especiación local. Ambas hipótesis aparecen menos parsimoniosas debido al mayor número de pasos que debiese seguir la evolución de *Leucocoryne* para dar cuenta de la elevada diversificación en la costa del género. Una tercera hipótesis (iii) plantea que el ancestro habitaba tierras bajas y que en el escenario de levantamiento andino, ocurren dos focos de diversificación en los taxa del género *Leucocoryne*, en la cual asociaría al linaje I (Mioceno superior) con el levantamiento de la incipiente Cordillera de Los Andes de los Linajes II y III los cuales habrían evolucionado en el valle y costa de Chile centro-norte. Al contrastar las hipótesis planteadas con los resultados obtenidos, se puede determinar que lo más parsimonioso es que los taxa que habitaban tierras bajas, se diocieran en dos focos de diversificación, dejando aisladas a las poblaciones de tierras altas con respecto a las de tierras bajas.

REFERENCIAS

- ALPERS CN & GH BRIMHALL (1988) Middle Miocene climatic change in the Atacama Desert, northern Chile: evidence from supergene mineralization at La Escondida. *Geological Society of America Bulletin* 100: 1640-1656.
- ARANEDA L, P SALAS & L MANSUR (2004) Chromosome numbers in the Chilean endemic genus *Leucocoryne* (Huilli). *Journal of the American Society for Horticultural Science* 129(1): 77-80.
- ARROYO MTK, FA SQUEO, JJ ARMESTO & C VILLAGRÁN (1988) Effects of aridity on plant diversity in the northern Chilean Andes: Results of a natural experiment. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 75: 55-78.
- AXELROD DI (1972) Edaphic aridity as a factor in angiosperm evolution. *American Naturalist* 106: 311-320.
- BROUGHTON RE, SE STANLEY & RT DURRETT (2000) Quantification of homoplasy for nucleotide transitions and transversions and a reexamination of assumptions in weighted phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 49: 617-627.
- CROSA O (1988) Los cromosomas de nueve especies del género chileno *Leucocoryne* Lindley, (Allieae – Alliacea). *Boletín de investigación* N° 17. Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Montevideo, Uruguay.
- DRUMMOND AJ & A RAMBAUT (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *Evolutionary Biology* 7: 214-221.

- EFRON B, E HALLORAN & S HOLMES (1996) Bootstrap confidence levels for phylogenetic trees. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93(14): 7085-7090.
- FARIAS M, R CHARRIER, A FOCK, D CAMPBELL, J MARTINOD & D COMTE (2005) Rapid late Cenozoic surface uplift of the central Chile Andes (33°-35°S). In: 6th International Symposium on Andean Geodynamics, Barcelona, Spain. 261-265 pp.
- FARÍAS M, R CHARRIER, D COMTE, J MARTINOD & G HÉRAIL (2005) Late Cenozoic deformation and uplift of the western flank of the Altiplano: evidence from the depositional, tectonic, and geomorphologic evolution and shallow seismic activity (northern Chile at 19°30'S). *Tectonics* 24(4): TC4001.
- FARRIS JS, M KÄLLERSJÖ, AG KLUGE & C BULT (1994) Testing significance of congruence. *Cladistics* 10: 315-319.
- FEDEROV AV, PS DEKENS, M MCCARTHY, AC RAVELO, PB DEMENOCAL, M BARREIERO, RC PACANOWSKI & S PHILANDER (2006) The Pliocen paradox (Mechanism for a permanent El Niño). *Science* 312: 1485-1489.
- FELSESTEIN J (1985) Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- FLOHN H (1984) Climate evolution in the southern hemisphere and ecuatorial region during the late Cenozoic. En Vogel JC (Ed) *Late Cainozoic palaeoclimates of the Southern Hemisphere*. A. A. Balkema, Rotterdam. 5-20 pp.

- GARCIA M & G HERAIL (2005) Fault-related folding, drainage network evolution and valley incision during the Neogene in the Andean Precordillera of Northern Chile. *Geomorphology* 65: 279-300.
- GARREAUD RD, A MOLINA & M FARIAS (2010) Andean uplift, ocean cooling and Atacama hyperaridity: A climate modeling perspective. *Earth and Planetary Science Letters* 292: 39-50.
- GARZIONE CN, GD HOKE, JC LIBARKIN, S WITHERS, B MACFADDEN, J EILER, P GHOSH & A MULCH (2008) Rise of the Andes. *Science* 320: 1304-1307.
- GIAMBIAGI LB (2003) Deformación cenozoica de la faja plegada y corrida del Aconcagua y Cordillera Frontal, entre los 33°30' y 33°45' S. *Revista de la Asociación Geológica Argentina* 58: 85-96.
- GREGORY- WODZICKI KM (2000) Uplift history of the Central and Northern Andes: A review. *Geological Society of America Bulletin* 112: 1091-1105.
- 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
- HARTLEY AJ & G CHONG (2002) Late Pliocene age for the Atacama Desert: implications for the desertification of western South America. *Geology* 30: 43-46.
- HARTLEY AJ (2003) Andean uplift and climate change. *Journal of the Geological Society* 160: 7-10.

- HARTLEY AJ, G CHONG, J HOUSTON & AE MATHER (2005) 150 million years of climatic stability: evidence from the Atacama desert, northern Chile. *Journal of the Geological Society* 162: 421-424.
- HERSHKOVITZ MA, MTK ARROYO, C BELL & LF HINOJOSA (2006) Phylogeny of *Chaetanthera* (Asteraceae: Mutisieae) reveals both ancient and recent origins of the high elevation lineages. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 41: 594-605.
- HILLIS DM & JJ BULL (1993) An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 42:182-192.
- HINOJOSA LF & C VILLAGRÁN (1997) Historia de los bosques del sur de Sudamérica, I: Revisión de los antecedentes geológicos, climáticos y paleobotánicos Terciarios del sur de Sudamérica. *Revista Chilena de Historia Natural* 70: 225-239.
- HOFFMANN A (1978) Flora silvestre de Chile. Zona central. Ediciones Fundación Claudio Gay, Santiago. 225 pp.
- IRIGOYEN MV, KL BUCHAN & RL BROWN (2000) Magnetostratigraphy of Neogene Andean foreland-basin strata, Lat 33°S, Mendoza Province, Argentina. *Geological Society of America Bulletin* 112: 803-816.
- JANSSEN T & K BREMER (2004) The age of major monocot groups inferred from 800+ *rbcL* sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society* 146: 385-398.

- JARA PA, G ARANCIO, R MORENO & MR CARMONA (2006) Factores abióticos que influyen la germinación de seis especies herbáceas de la zona árida de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 79:309-319.
- KIM H, K OHKAWA & E NITTA (1998) Effects of bulbs weight on the growth and flowering of *Leucocoryne coquimbensis* F. Phil. *Acta Horticulturae* 454: 341-346.
- KÖRNER C (1999) *Alpine plant life: functional plant ecology of high mountain ecosystems*. Springer-Verlag, Berlin. 343 pp.
- KUMAR S, K TAMURA & M NEI (2004) MEGA3: Integrated Software for Molecular Evolutionary Analysis and Sequence Alignment *Briefings in Bioinformatics* 5: 150-163.
- LEWIS H (1962) Catastrophic selection as a factor in speciation. *Evolution* 16: 257-271.
- LEWIS H (1966) Speciation in flowering plants. *Science* 152: 167-172.
- MADDISON DR, DL SWOFFORD & WP MADDISON (1997) NEXUS: an extendible file format for systematic information. *Systematic Biology* 46: 590-621.
- MADDISON DR & WP MADDISON (2000) *MacClade version 4.0*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA.
- MADDISON WP & DR MADDISON (2008) Mezquite. <http://mesquiteproject.org/mesquite/mesquite.html>.
- MALDONADO A & C VILLAGRÁN (2006) Climate variability over the last 9900 cal yr BP from a swamp forest pollen record along the semiarid coast of Chile. *Quaternary Research* 66: 246-258.

- MANSUR L, O ZÖELLNER & P RIEDEMANN (2002) *Leucocoryne* un género nativo chileno y su uso como planta de jardín. Edición Reimco Limitada, Chile. 50 pp.
- MANSUR L & MA CISTERNA (2005) *Leucocoryne talinensis* (Alliaceae), a new species from Chile. *Novon* 15: 324-326.
- MARTICORENA C & M QUEZADA (1985) Catálogo de la flora vascular de Chile. *Gayana (Botánica)* 42: 1-152.
- MAY E (1963) *Animal species and evolution*. Harvad University Press, Cambridge, Massachusetts: Belknap Press.
- MUÑOZ M & A MOREIRA (2000) Géneros endémicos Monocotiledóneas, Chile. Museo Nacional de Historia Natural. [www. Mnhn.cl/apuntes/botanica/prncipealbot.htm](http://www.Mnhn.cl/apuntes/botanica/prncipealbot.htm).
- NAVAS L (1973) *Flora de la Cuenca de Santiago de Chile*. Tomo III. Ediciones de la Universidad de Chile, Santiago, Chile. 507 pp.
- NYLANDER JAA (2004) MR Modeltes. [http:// www.abc.se/~nylander/mrmodeltest2/mrmodeltest2.html](http://www.abc.se/~nylander/mrmodeltest2/mrmodeltest2.html)
- PHILIPPI RA (1857) *Plantarum novarum Chilensium*. Centuria quinta. *Linnaea* 29: 48-95.
- RAHN K (1998) *Alliaceae*. The families and genera of vascular plants. En Kubitzki K (Ed.) *Flowering Plants-Monocotyledons, Lillanae (except Orchidaceae)*. Springer-Verlag, Berlin. 70-78 pp.
- RAVELO A, D ANDREASEN, M LYLE, A LYLE & M WARA (2004) Regional climate shifts caused by gradual global cooling in the Pliocene epoch. *Nature* 429: 263-267.

- RAVENNA PF (1973) Estudios sobre Alliaceae. Noticiero Mensual del Museo Nacional de Historia Natural 200: 3-6.
- RAVENNA PF, S TEILLIER, J MACAYA, R RODRÍGUEZ & O ZOELLNER (1998) Categorías de conservación de plantas bulbosas nativas de Chile. Boletín del Museo Nacional de Historia Natural 47: 47-68.
- RECH AJ, BS CURRIE, ED SHULLENBERGER, SP DUNAGAN, TE JORDAN, N BLANCO, AJ TOMLINSON, HD ROWE & J HOUSTON (2010) Evidence for the development of the Andean rain shadow from a Neogene isotopic record in the Atacama Desert, Chile. Earth and Planetary Science Letters 292: 371-382.
- REICH M, C PALACIOS, G VARGAS, S LUO, EM CAMERON, MI LEYBOURNE, MA PARADA, A ZÚÑIGA & C YOU (2009) Supergene enrichment of copper deposits since the onset of modern hyperaridity in the Atacama Desert, Chile. Mineralium 44(5): 1432-1866.
- RICHARDSON JE, FM WEITZ, MF FAY, QCB CRONK, HP LINDER, G REEVES & MW CHASE (2001a) Rapid and recent origin of species richness in the Cape flora of South Africa. Nature 412: 181-183.
- RICHARDSON JE, RT PENNINGTON, TD PENNINGTON & PM HOLLINGSWORTH (2001b) Rapid diversification of a species-rich genus of neotropical rain forest trees. Science 293: 2242-2245.
- RIEDEMANN P (2002) Descripción del género *Leucocoryne* seleccionados para el paisajismo. En Mansur L, O Zöellner & P Riedemann (Eds.) *Leucocoryne* un género nativo chileno y su uso como planta de jardín. Edición Reimco Limitada, Chile. 50 pp.

- RIQUELME R, G HÉRAIL, J MARTINOD, R CHARRIER & J DARROZES (2007)
Late Cenozoic geomorphologic signal of Andean forearc deformation and
tilting associated with the uplift and climate changes of the Southern
Atacama Desert (26°S–28°S). *Geomorphology* 86(3-4): 283-306.
- RONQUIST F, JP HUELSENBECK (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic
inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572- 574.
- SCHMITHÜSEN J (1956) Die räumliche Ordnung der chilenischen vegetation.
Bommer Geographische Abhandlungen 17: 1-86.
- SIMPSON BB (1983) An historical phytogeography of the high Andean flora.
Revista Chilena de Historia Natural 56: 109-122.
- SQUEO FA, G ARANCIO & JR GUTIÉRREZ (2001) Libro Rojo de la flora nativa y
de los sitios prioritarios para su conservación: Región de Coquimbo.
Ediciones Universidad de La Serena, Chile. 372 pp.
- STEBBINS GL (1952) Aridity as a stimulus to evolution. *American Natural* 86: 33-
44.
- SWOFFORD DL (2003) PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony (* and
other methods). Version 4. Sinauer Associates, Inc., Publishers,
Sunderland, Massachusetts.
- TABERLET P L GIELLY, G PAUTOU & J BOUVET (1991) Universal primers for
amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant
Molecular Biology* 17: 1105-1105.
- THIELE K (1993) The holy grail of the perfect character: the cladistic treatment of
morphometric data. *Cladistics* 9: 275-304.

- TOSDAL RM, AH CLARK & E FARRAR (1984) Cenozoic polyphase landscape and tectonic evolution of the Cordillera Occidental, southern Peru. *Geol. Soc. Am. Bull.* 95: 1318–1332.
- VANDERVOORT DS, TE JORDAN, PK ZEITLER & RN ALONSO (1995) Chronology of internal drainage development and uplift, southern Puna plateau, Argentine central Andes. *Geology* 23: 145-148.
- VILLAGRÁN C & HINOJOSA LF (1997) Historia de los bosques del sur de Sudamérica II: Análisis fitogeográfico. *Revista Chilena de Historia Natural* 70: 241-267.
- WILEY EO (1981) *Phylogenetics. The theory and practice of phylogenetic systematics.* John Wiley & Sons, New York 439 pp.
- WHITE TJ, T BRUNS, S LEE, & J TAYLOR (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En Innis M, Gelfand S, Sinsky J & T White (Eds.) *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications.* Academic Press, San Diego. 315-322 pp.
- XIA X & Z XIE (2001) DAMBE: Software package for data analysis in molecular biology and evolution. *The Journal of Heredity* 92(4): 371-373.
- ZACHOS J, M PAGANI, L SLOAN, E THOMAS & K BILLUPS (2001) Trends, Rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science* 282: 686-693.
- ZOELLNER O (1972) El género *Leucocoryne*. *Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso* 5: 9-83.
- ZULOAGA FO, O MORRONE, ML BELGRADO (2008) Catálogo de las plantas vasculares del cono sur (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y

Uruguay) Editorial Missouri Botanical Garden Press. Iboda, Conicet Ancefn.

983 pp.

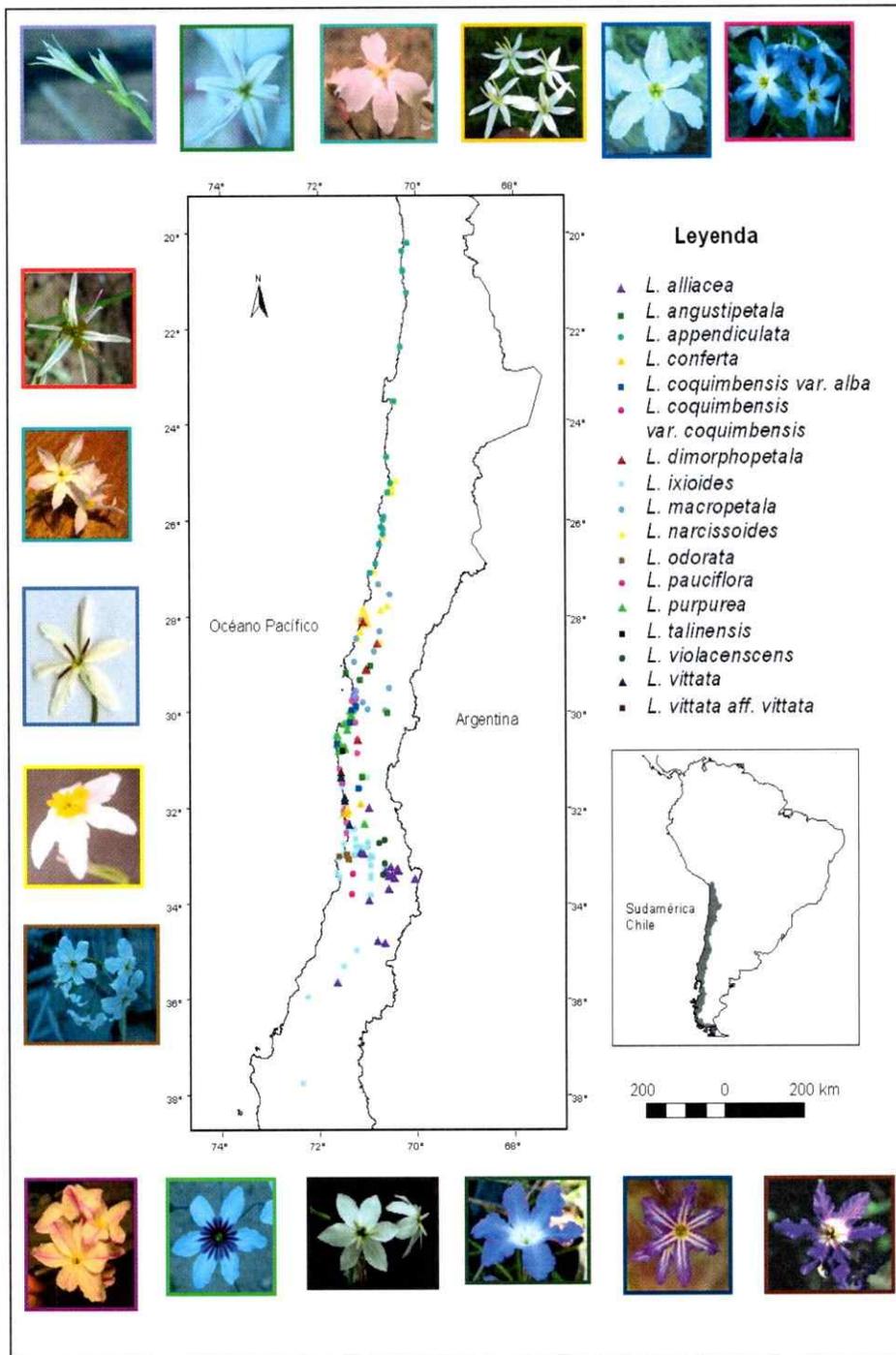


Figura 2.1. Distribución geográfica de 17 taxa del género *Leucocoryne*.

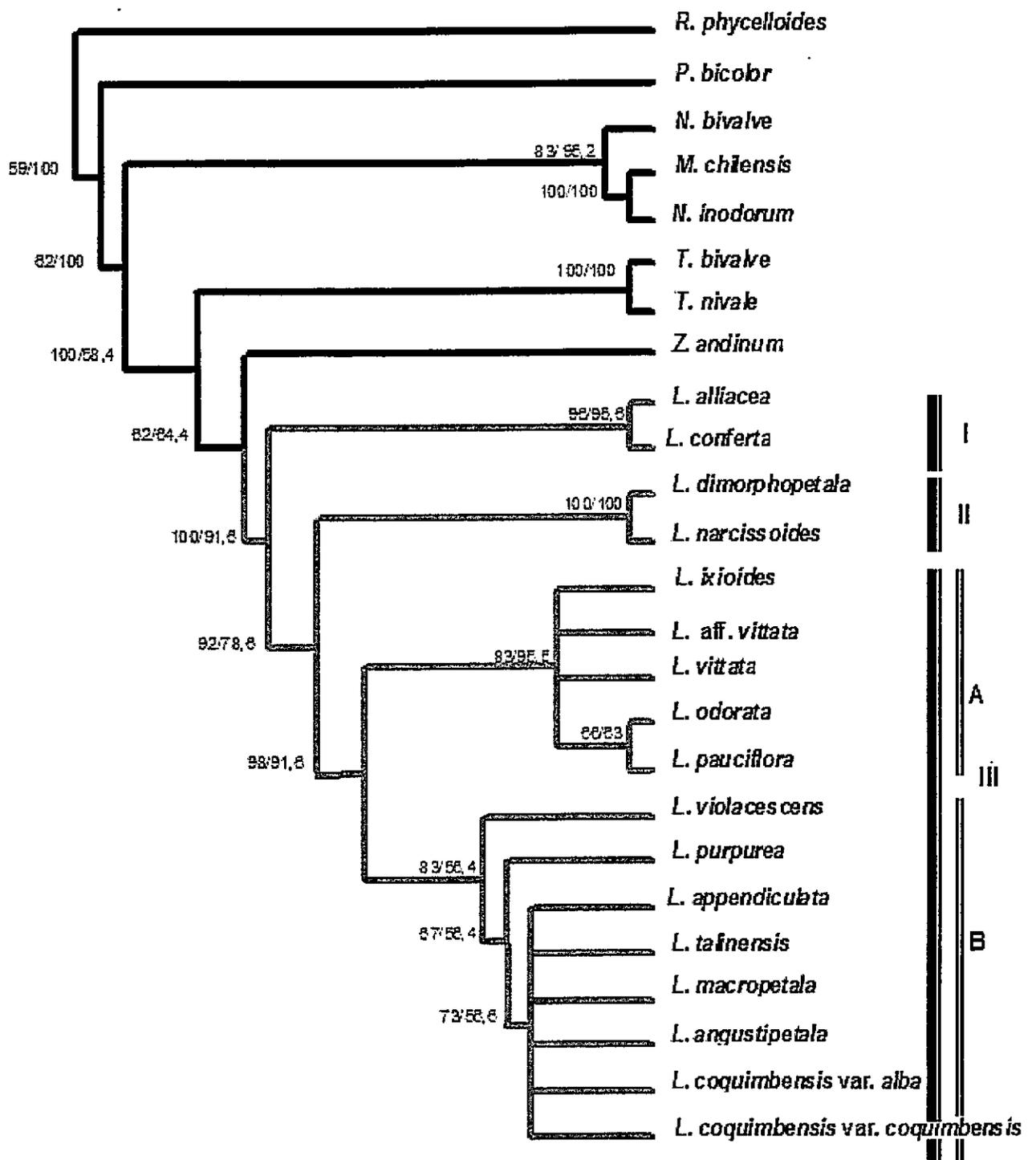


Figura 2.2. Árbol de consenso estricto de 100 árboles con el mismo valor de parsimonia (517 pasos), basado en secuencias de rDNA de la región ITS, para 17

taxa del género *Leucocoryne*. Los valores de bootstrap para el análisis de Parsimonia y Máxima Verosimilitud se muestran sobre cada nodo en orden respectivo. Los números romanos representan los tres principales linajes del género *Leucocoryne* (I, II y III). La letra A y B, muestran los linajes dentro del linaje III. Líneas negras muestran el grupo externo y gris el grupo interno.

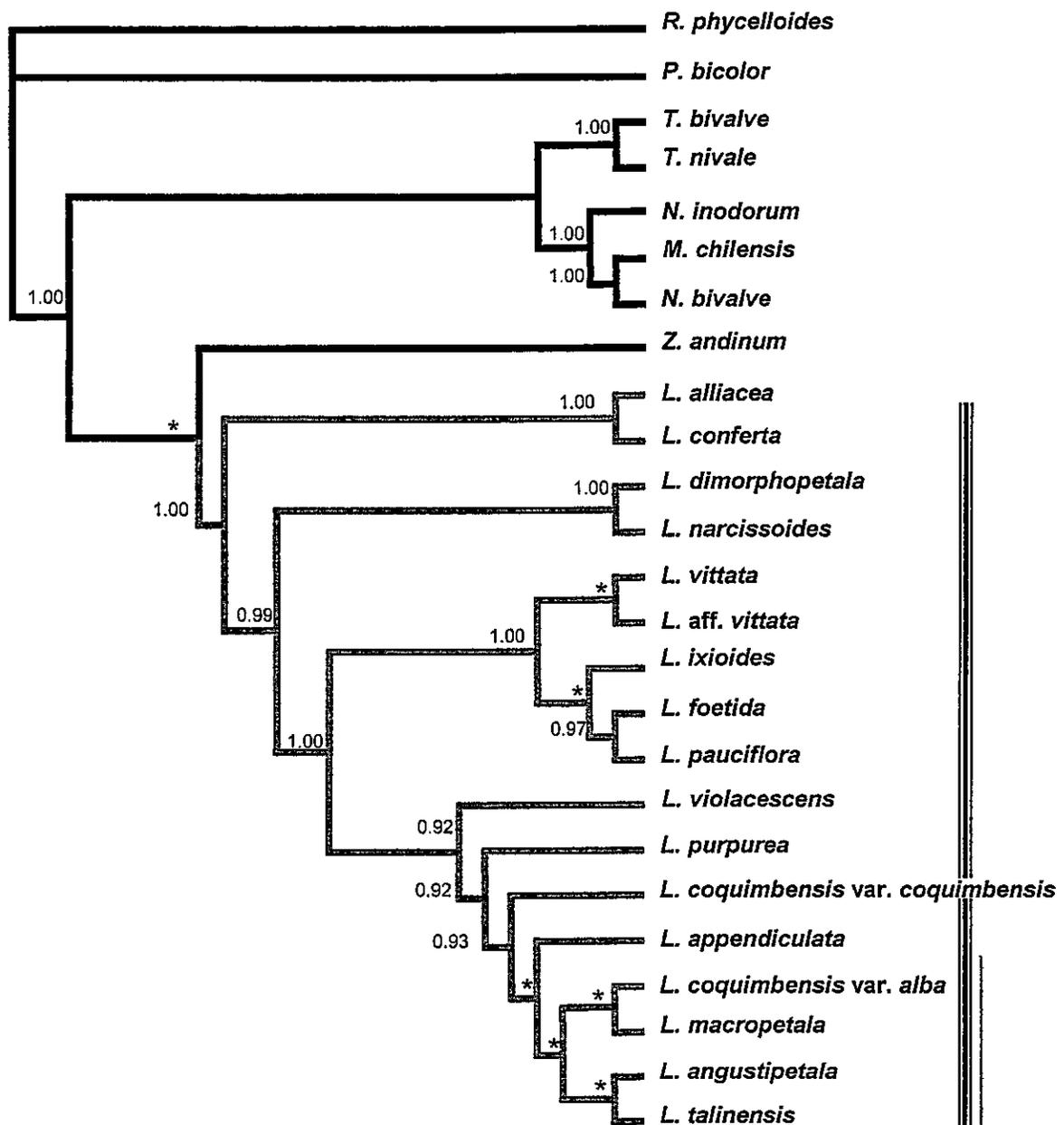


Figura 2.3. Árbol filogenético de Inferencia Bayesiana, basado en secuencias de rDNA de la región ITS, para 17 taxa del género *Leucocoryne* (Alliaceae). Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan

nodos < a 0.9 de soporte. Los números romanos representan los tres principales linajes del género *Leucocoryne* (I, II y III). La letra A y B, muestran los linajes dentro del linaje III. Líneas negras muestran el grupo externo y gris el grupo interno.

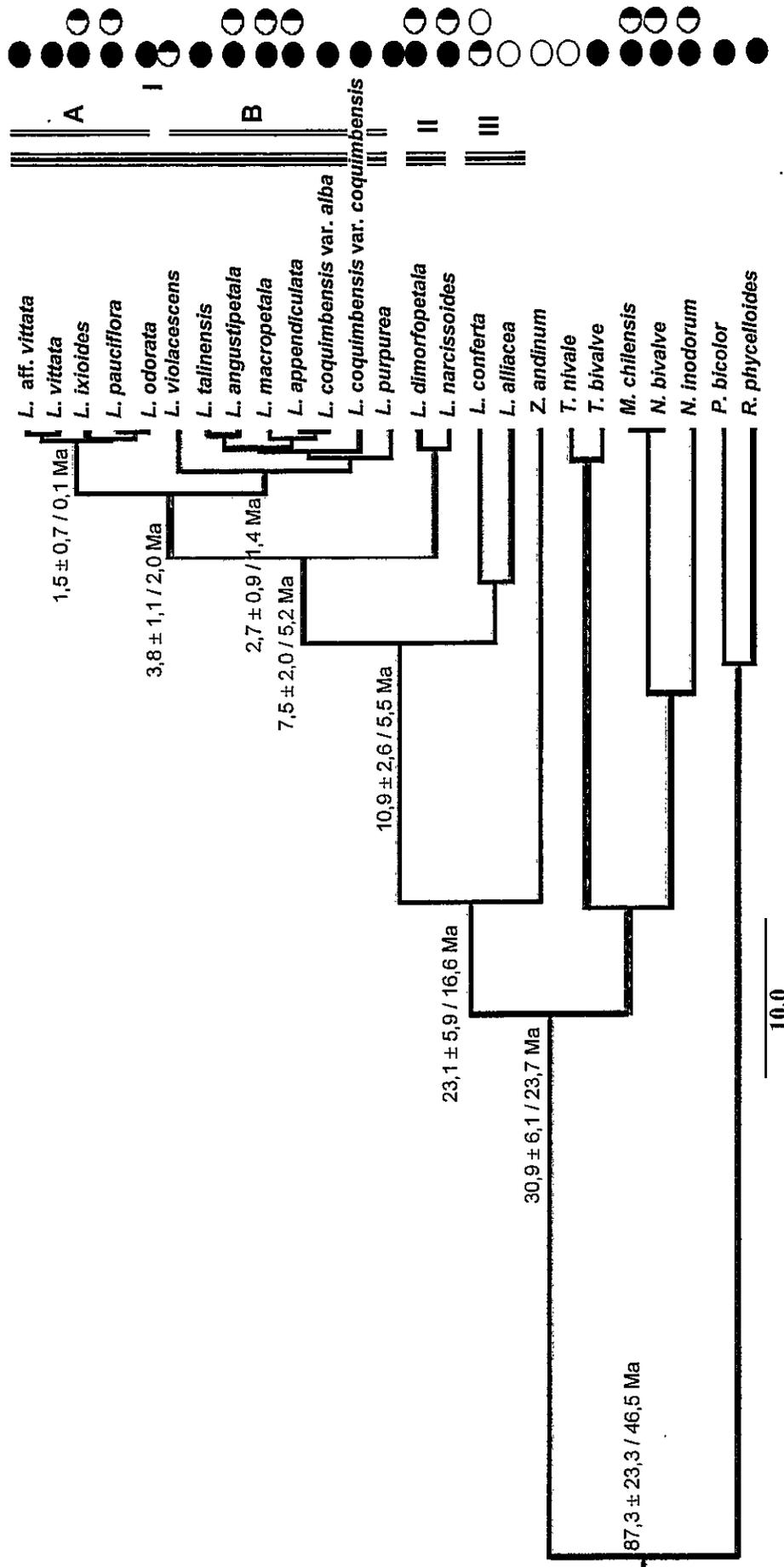


Figura 2.4. Estimación de tiempos de divergencia basado en secuencias de rDNA de la región ITS para *Leucocoryne*, con estadística Bayesiana (promedio y desviación estándar) y método de Neighbor-joining con distancia p respectivamente,

expresados en millones de años (Ma). La altura actual de los hábitat de los taxa se representan en círculos de color: blanco (cordillera ≥ 1000 m. s. n. m.), blanco/negro (valle intermedio $> 500 < a 1000$ m. s. n. m.), negro (litoral costero ≤ 500 m. s. n. m.). Los números romanos representan los tres principales linajes en el género *Leucocoryne* (I, II y III). La letra **A** y **B**, muestran los linajes dentro del linaje III.

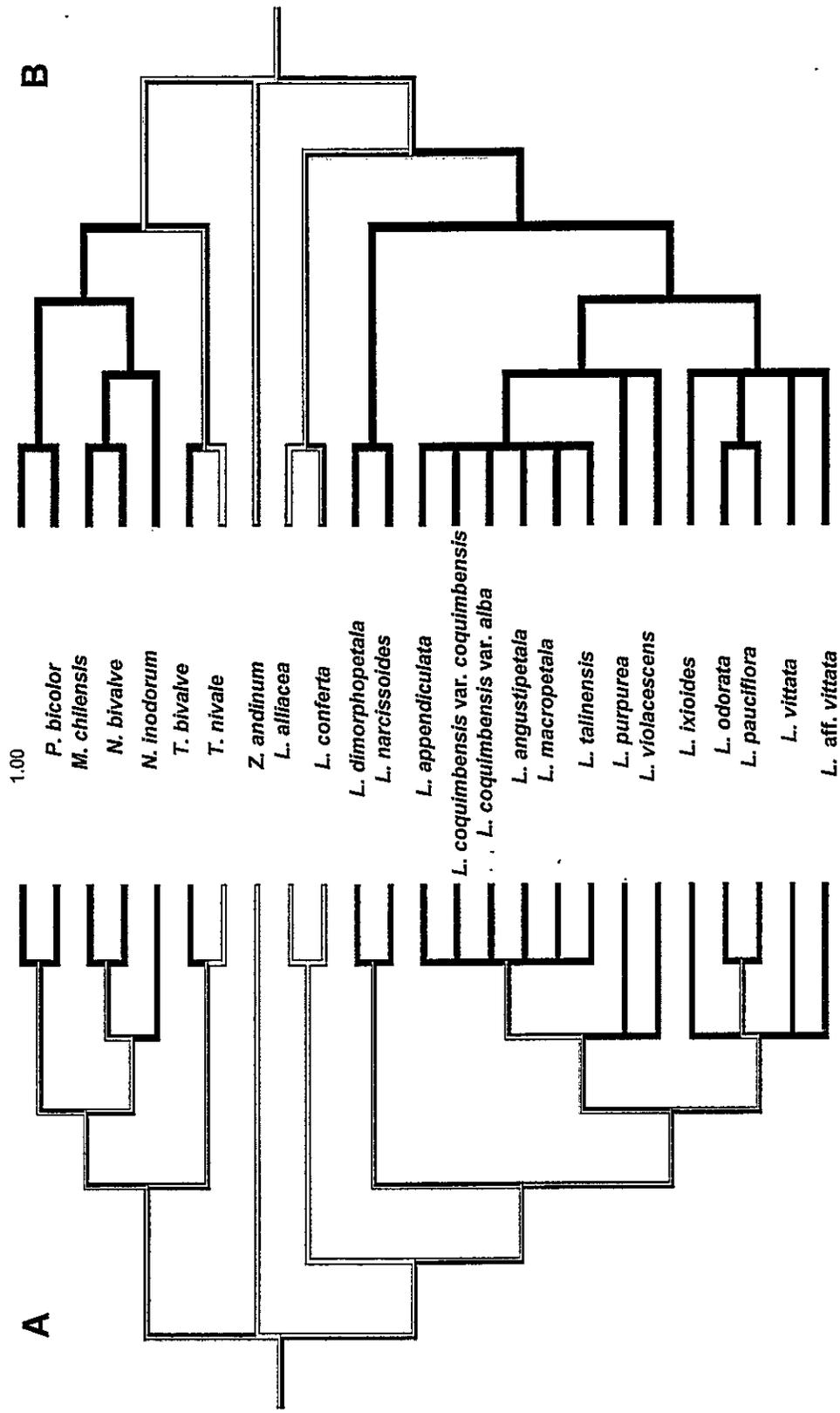


Figura 2.5 a y b. Estados ancestrales de los taxa de *Leucocoryne* a partir de secuencias de rDNA de la región ITS y ubicación altitudinal, mediante análisis de Máxima Verosimilitud (**A**) y Parsimonia (**B**). La coloración de las líneas determina la posible

localización altitudinal de los taxa ancestrales: negro (litoral costero ≤ 500 y/o valle intermedio $> 500 < a 1000$ m. s. n. m.), blanco (cordillera ≥ 1000 m. s. n. m.) y ambos colores (ambiguo, puede habitar en ambas distribuciones altitudinales).

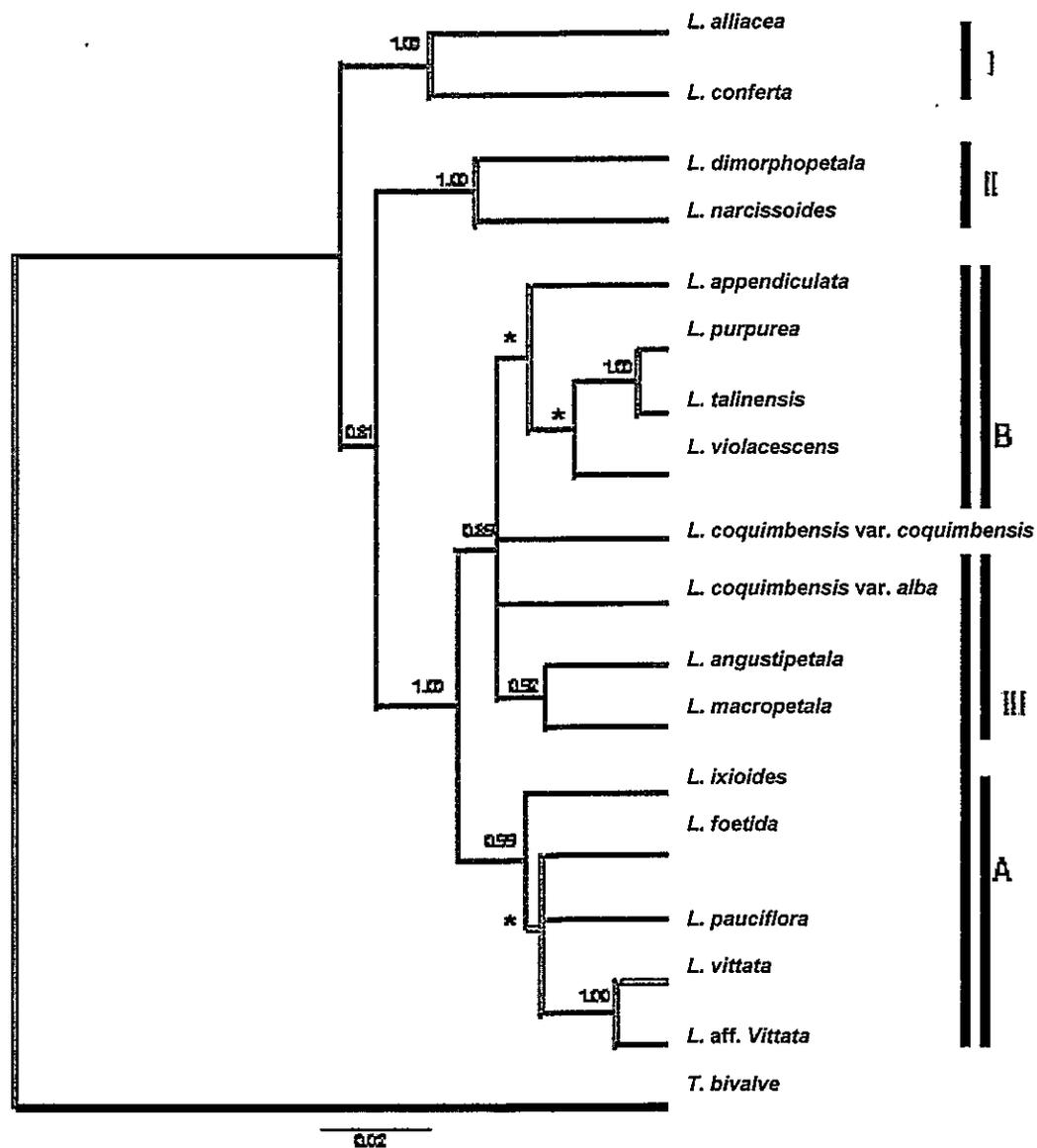


Figura 2.6. Árbol filogenético de Inferencia Bayesiana, basado en evidencia total para 17 taxa del género *Leucocoryne*. Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan nodos < a 0.9 de soporte. Los números romanos representan los tres principales linajes del género *Leucocoryne* (I, II y III). La letra A y B, muestran los linajes dentro del linaje III. Líneas negras muestran el grupo externo y gris el grupo interno.

Tabla 2.1. Sitios de colecta de los individuos de cada taxa del género *Leucocoryne* y de las especies que utilizamos como grupo externo.

Grupo Interno					
Taxa	Sitio de colecta	HULS	Taxa	Sitio de colecta	HULS
<i>L. alliacea</i> Miers ex Lindl.	Farellones (33°20'S - 70°19'W; 2700 msnm)	6298	<i>L. macropetalata</i> Phil.	Cerro Grande (29°56'S - 71°13'W; 520 msnm)	6283
<i>L. alliacea</i> Miers ex Lindl.	León muerto (29°20'S - 70°39'W; 2770 msnm)	6299	<i>L. macropetalata</i> Phil.	Los Burros (27°54'S - 71°07'W; 50 msnm)	6282
<i>L. angustipetalata</i> Gay	Tofo (28°58'S - 70°56'W; 730 msnm)	6295	<i>L. narcissooides</i> Phil.	Los Burros (27°54'S - 71°07'W; 50 msnm)	6281
<i>L. angustipetalata</i> Gay	Domeyko (28°59'S - 70°56'W; 759 msnm)	6296	<i>L. narcissooides</i> Phil.	Paposo (25°00'S - 70°28'W; 50 msnm)	6280
<i>L. appendiculata</i> Phil.	Iquique (20°13'S - 70°09'W; 10 msnm)	6294	<i>L. foetida</i> Phil	Víña del Mar (33°31'S - 71°34'W; 150 msnm)	6300
<i>L. appendiculata</i> Phil.	Pan de Azúcar (26°08'S - 70°35'W; 510 msnm)	6293	<i>L. foetida</i> Phil	Valparaíso (33°02'S - 71°38'W; 150 msnm)	6301
<i>L. conferta</i> Zoëllner	Cuesta Cavilolén (31°46'S - 71°19'W; 700 msnm)	6292	<i>L. pauciflora</i> Phil.	Camino a Rapel (34°05'S - 71°32'W; 70 msnm)	6279
<i>L. coquimbensis</i> Phil. var. <i>coquimbensis</i>	Tongoy (30°15'S - 71°30'W; 40 msnm)	6291	<i>L. purpurea</i> Gay	Guanaqueros (30°12'S - 71°26'W; 100 msnm)	6276
<i>L. coquimbensis</i> Phil. var. <i>coquimbensis</i>	Panul (30°00'S - 71°24'W; 100 msnm)	6290	<i>L. purpurea</i> Gay	Quebrada las Vacas (32°42'S - 71°13'W; 200 msnm)	6277
<i>L. coquimbensis</i> Phil. var. <i>alba</i> Zoëllner	Panul (30°00'S - 71°24'W; 100 msnm)	6289	<i>L. talinensis</i> Mansur	Colecta planta tipo (30°49'S - 71°33'W; 355 msnm)	
<i>L. coquimbensis</i> Phil. var. <i>alba</i> Zoëllner	Juan Soldado (29°40'S - 71°18'W; 300 msnm)	6288	<i>L. violascens</i> Phil.	Amolana (31°12'S - 71°37'W; 200 msnm)	6278

<i>L. dimorphopetala</i> (Gay) Rav.	Freirina (28°31'S - 70°04'W; 100 msnm)	6287	<i>L. violascens</i> Phil.	Alcones (30°48'S - 71°33'W; 250 msnm)	
<i>L. dimorphopetala</i> (Gay) Rav.	Sauce Pérez (28°40'S - 71°06'W; 607 msnm)	6286	<i>L. vittata</i> Rav.	Chigualoco (31°46'S - 71°30'W; 15 msnm)	6275
<i>L. ixioides</i> (Hook) Lindl.	El Manzano (33°41'S - 71°09'W; 175 msnm)	6285	<i>L. vittata</i> Rav.	Los Vilos (31°54'S - 71°31'W; 15 msnm)	6303
<i>L. ixioides</i> (Hook) Lindl.	Quebrada las Vacas (32°42'S - 71°13'W; 200 msnm)	6284	<i>L. aff. vittata</i> Rav.	Las Palmas (31°16'S - 71°35'W; 248 msnm)	6297

Grupo Externo familia Amaryllidaceae

<i>Phycella bicolor</i> (Ruiz et Pav.) Herb.	Quebrada las Vacas (32°42'S - 71°13'W; 200 msnm)		<i>Rhodophiala phycelloides</i> (Herb.) Hunz.	Quebrada las Vacas (32°42'S - 71°13'W; 200 msnm)	
<i>Phycella bicolor</i> (Ruiz et Pav.) Herb.	Punta Teatinos (29°49'S - 71°17'W; 70 msnm)		<i>Rhodophiala phycelloides</i> (Herb.) Hunz.	Cerro Grande (29°56'S - 71°15'W; 380 msnm)	

Grupo Externo familia Alliaceae

<i>Miersia chilensis</i> Lindl.	Caimanes (31°56'S - 71°40'W; 550 msnm)		<i>Tristagma nivale</i> Poeppig	Farellones (33°20'S - 70°19'W; 2700 msnm)	
<i>Nothoscordum bivalve</i> (L.) Britton	Pichidangui (32°08'S - 71°32'W; 25 msnm)		<i>Tristagma bivalve</i> (Lindl.) Traub	Lagunilla (30°10'S - 71°23'W; 45 msnm)	
<i>Nothoscordum inodorum</i> (Soland. Ex Aiton) Nichols.	La Serena (29°54'S - 71°15'W; 90 msnm)		<i>Tristagma bivalve</i> (Lindl.) Traub	Quebrada las Vacas (32°42'S - 71°13'W; 200 msnm)	
<i>Nothoscordum inodorum</i> (Soland. Ex Aiton) Nichols.	Coquimbo (29°57'S - 71°20'W; 45 msnm)		<i>Zoellnerium andinum</i> (Poepp.) Crossa	Farellones (33°20'S - 70°19'W; 2700 msnm)	

CAPÍTULO III

CITOGENÉTICA COMPARADA EN EL GÉNERO ENDÉMICO DE CHILE

LEUCOCORYNE Lindl. (ALLIACEAE)

RESUMEN

Leucocoryne Lindl. (Alliaceae) es un género endémico a Chile que se distribuye desde los 20° a los 37°S, con la mayor riqueza en la zona Mediterránea árida y semiárida (29° a 38°S). En este estudio se consideraron 17 taxa del género *Leucocoryne*, conformadas por 14 especies, dos variedades y una afinidad. El objetivo de este trabajo es describir la morfología cariotípica de las 17 taxa considerados del género. Los resultados determinaron que los taxa se subdividían en dos grupos correspondientes a sus números cromosómicos $2n = 18$ y $2n = 10$. Al interior de ambos grupos existe uniformidad en la morfología cariotípica de los taxa, con dos pares de cromosomas que presentan el centrómero en la región terminal o subterminal (t- st) y los restantes con el centrómero en la región media (m). La única excepción es *L. dimorphopetala*, que posee un par cromosómico con el centrómero en la región subterminal (st) y ocho con el centrómero en la región media (m). Los resultados obtenidos en el análisis de correlación entre niveles de asimetría intracromosómica (A_1) e intercromosómica (A_2) determinan la existencia de dos grupos, que se corresponden con los asociados al número cromosómico y a la longitud cromosómica relativa. Adicionalmente, el grupo con $n = 5$ duplica en

longitud cromosómica relativa total (LCRT%) al grupo con $n = 9$. La evidencia citogenética aquí presentada y basada en análisis cuantitativos de morfología de los cariotipos, sugiere que durante la evolución cromosómica de *Leucocoryne* habría ocurrido duplicación genómica (poliploidización) en formas ancestrales de los taxa $2n = 10$ para así dar origen al grupo $2n = 18$. Tal duplicación genómica sería adicional a la ocurrencia de re-arreglos cromosómicos que habrían generado cambios en la arquitectura nuclear tendiendo a un predominio de la metacéntrica (o simetría) cromosómica.

INTRODUCCIÓN

La historia taxonómica del género *Leucocoryne* en la flora chilena se inicia con Hooker (1823), quien describe el espécimen tipo denominándolo *Brodiaea*, pero fue Lindley (1830) quien lo nombra por primera vez como *Leucocoryne*. Desde 1823 a la fecha, varios autores han discutido la taxonomía de los taxa que conforman el género (Hooker & Arnott 1841, Gay 1853, Philippi 1857, Philippi 1860, Fuentes 1945, Uphof 1947, Muñoz 1960, Muñoz 1966, Zoëllner 1972, Ravenna 1973, 1978, 2000, Marticorena & Quezada 1985, Grau 1991, Rahn 1998, Muñoz & Moreira 2000, Riedemann 2002, Mansur et al. 2002, Mansur & Cisterna 2005, Zuloaga et al. 2008). Actualmente el número de taxa reconocido para el género varía entre 12 y 47 taxa (Philippi 1857, Zoëllner 1972, Ravenna 1973, Marticorena & Quezada 1985, Muñoz & Moreira 2000, Rahn 1998, Riedemann 2002, Mansur et al. 2002, Mansur & Cisterna 2005, Zuloaga et al. 2008). Los problemas en la caracterización de taxa del género *Leucocoryne*, se relaciona

principalmente con la gran variación morfológica a nivel intra e interpoblacional, y alto nivel de hibridación, que ha llevado a varios autores a reconocer taxa que en la actualidad no son válidos (Muñoz & Moreira 2000, Mansur et al. 2002). Para este trabajo se consideraron 17 taxa, abarcando 14 especies (*L. alliacea* Miers ex Lindl., *L. angustipetala* Gay, *L. appendiculata* Phil., *L. conferta* Zöellner, *L. dimorphopetala* (Gay) Rav., *L. ixioides* (Hook) Lindl., *L. macropetala* Phil., *L. narcissoides* Phil., *L. odorata* Lindl., *L. pauciflora* Phil., *L. purpurea* Gay, *L. talinensis* Mansur, *L. violacescens* Phil. y *L. vittata* Rav.*), dos variedades (*L. coquimbensis* F. Phil var. *coquimbensis*, *L. coquimbensis* F. Phil. var. *alba* Zöellner) y una afinidad (*L. aff. vittata* Rav.¹). Se descartaron del estudio seis taxa por ser sinonimias de otros taxa (*L. gayi*, *L. montana*, *L. oxipetala*, *L. foetida*, *L. incrassata* y *L. connivens*) y no fueron considerados 31 taxa publicados en Zuloaga et al. 2008, todos descritos por Ravenna y publicados en Onira² (revista personal de P. Ravenna) entre el 2000 y 2004. *L. volkmanni*, es el único no descrito por Ravenna. Los ejemplares de estos taxa no se encuentran disponibles en herbarios nacionales³ (HULS, HMNH y HCONC) y su ubicación no está claramente descrita.

Leucocoryne Lindl. es un género endémico a Chile, que pertenece al grupo de las Monocotyledoneae, al orden Liliales de la familia Alliaceae (Muñoz y Moreira 2000) que se distribuye entre los 20° y 37°S de Chile, con una mayor riqueza de taxa en la zona Mediterránea árida y semiárida de la Regiones administrativas de Coquimbo, con 14 taxa (82,35%); Valparaíso, con siete taxa (41,18%) y Metropolitana, con cinco taxa (29,41%) (Zöellner 1972, Navas 1973, Hoffmann 1978, Ravenna et al. 1998, Muñoz & Moreira 2000, Squeo et al. 2001,

¹ *L. aff. vittata* Rav. es un taxa no reconocido formalmente pero descrito en Muñoz M (HMNH).

² Revista Onira, publicación personal de Ravenna. 82

³ Herbario personal de Ravenna es prohibido la entrada. No accede a ejemplares descritos por Ravenna y guardados en su herbario personal.

Mansur et al. 2002, datos de herbario 2008: HULS, HMNHN, HCON). Altitudinalmente, *Leucocoryne* se distribuye entre los 0 a 2500 m. s. n. m. (Fig. 3.1). Este género presenta serios problemas taxonómicos, cuya resolución ha sido compleja dadas las ambigüedades existentes entre las propuestas, las que se han basado en diferentes criterios de clasificación morfológica. Sin embargo, a la fecha, no se han propuesto caracteres complementarios (i. e. cromosómicos, moleculares) que permitan ampliar los criterios de clasificación. En la actualidad, sólo se dispone de antecedentes cromosómicos para 10 especies: *L. alliacea*, *L. angustipetala*, *L. odorata*, *L. purpurea*, *L. coquimbensis* var. *alba*, *L. coquimbensis* var. *coquimbensis*, *L. ixioides*, *L. narcissoides*, *L. talinensis* y *L. violasceces* (Zöellner 1972, Crosa 1988, Araneda et al. 2004, Mansur & Cisterna 2005) que representa el 58% de los taxa considerados en este estudio. Sin embargo, las interpretaciones taxonómicas derivadas de ello son incompletas. Con el objetivo de aportar caracteres adicionales a la morfología clásicamente utilizada para la clasificación de las especies del género *Leucocoryne*, en este trabajo se describe la morfología cariotípica de 17 taxa del género.

METODOLOGÍA

Material de estudio

Se recolectaron muestras de dos poblaciones de 13 taxa del género *Leucocoryne* ubicados en localidades aisladas entre si. En el caso de *L. conferta*, *L. pauciflora*, *L. aff. vittata*, sólo se colectaron muestras de una localidad debido a

que no se encontraron más poblaciones en condiciones naturales (Tabla 3.1, Fig. 3.1). El único taxa no colectado en terreno fue *L. talinensis* del cual sólo se obtuvieron semillas proporcionadas por Mauricio Cisterna⁴. Debido a que los taxa de este género presentan principalmente reproducción vegetativa por bulbilllo (Zoellner 1972, Mansur et al. 2002) se recolectaron bulbos adultos que evidenciaron generación de escape en la temporada de colecta (peso bulbo mayor a 0,30 gr., Kim et al. 1998) con una separación mínima entre ellos de 30 a 50 metros. Todas las muestras fueron preservadas en bolsas de papel en cámara climática a 25°C. Además, se incorporaron como grupo externo muestras de dos especies de la familia Alliaceae: *Zoellnerarium andinum* (Lindl.) Traub y *Tristagma bivalve* (Lindl.) Traub. Según estudios moleculares recientes de la zona de DNA plastidial (región trnF-trnL, Taberlet et al. 1991) y DNA nuclear ribosomal (región ITS, White et al. 1990) descritos en el capítulo II de esta tesis, estos taxa pertenecen a los géneros filogenéticamente más cercanos a *Leucocoryne*. Los taxa analizados para el género fueron identificados siguiendo las descripciones taxonómicas de Philippi (1857), Zoellner (1972), Ravenna (1973), Marticorena & Quezada (1985), Muñoz & Moreira (2000), Rahn (1998), Riedemann (2002), Mansur et al. (2002) y Zuloaga et al. 2008.

Análisis citogenético

Se obtuvieron meristemas radiculares de todos los taxa de *Leucocoryne* y de los dos taxa usados como grupo externo. Sólo se utilizaron semillas en el caso de *L. talinensis*. Los meristemas radiculares fueron pretratados con colchicina al

⁴ Semillas entregadas por Cisterna M (coautor de trabajo de *L. talinensis* Mansur & Cisterna 2005)

0,05% (p/v) por 6 horas, a 25°C, fijados en etanol-ácido acético glacial (3:1 v/v) a 4°C, por 24 horas, almacenados en etanol 70% (v/v) a 4°C y teñidos mediante la reacción de Feulgen (Feulgen & Rossenberck 1924). Los cromosomas metafásicos se obtuvieron por aplastados de los meristemas radiculares. Las imágenes de las placas metafásicas se capturaron con un video-microscopio (Nikon Eclipse 400) conectado a un computador MS DOS mediante el programa Image-Pro Plus 4.0 (Media Cybernetics 1998). Se midieron entre cinco y 12 placas metafásicas utilizando el programa MicroMeasure 3.3 (Reeves 2001). En base a la posición del centrómero, se determinó la longitud del brazo largo y del brazo corto de cada par cromosómico. Las mediciones fueron expresadas como porcentaje de la longitud total del juego cromosómico haploide. Con estos valores se obtuvo la morfología cariotípica y se confeccionaron los cariotipos de acuerdo a las categorías cromosómicas propuestas por Levan et al. (1964). Se calcularon y graficaron los índices de asimetría intracromosómica (A_1) e intercromosómica (A_2) propuestas por Romero-Zarco (1986), se calculó la longitud cromosómica relativa total (LCRT%). Adicionalmente, se determinaron diferencias entre taxa, a nivel de longitud relativa de cada par cromosómicos, por medio de análisis de varianza de una vía de Kruskal-Wallis (no paramétrico) y criterio de Bonferroni. Para los pares con diferencias significativas ($p < 0,05$) se utilizó la prueba de comparaciones múltiples (a posteriori) de Dunn's (SigmaStat 3.1, Hilbe 2005).

RESULTADOS

Los estudios citogenéticos realizados en los taxa del género *Leucocoryne*, determinaron la existencia de dos grupos que presentan números cromosómicos de $2n = 18$ y $2n = 10$ respectivamente (Tabla 3.2 y 3.3). Los taxa con juego cromosómico haploide $n = 9$ son: *L. alliacea*, *L. appendiculata*, *L. coquimbensis* var. *coquimbensis*, *L. coquimbensis* var. *alba*, *L. dimorphopetala*, *L. ixioides*, *L. narcissoides*, *L. odorata*, *L. pauciflora*, *L. talinensis* y *L. violacescens*. Los taxa con juego cromosómico haploide $n = 5$ son: *L. angustipetala*, *L. conferta*, *L. macropetala*, *L. purpurea*, *L. vittata* y *L. aff. vittata*. Existe uniformidad en la morfología cromosómica para todos los taxa estudiados, con dos pares de cromosomas con el centrómero en la región terminal o subterminal (t-st) y las restantes con el centrómero en la región media (m). Una excepción es *L. dimorphopetala* que posee un cromosoma con el centrómero en la región subterminal (st) y ocho con el centrómero en la parte media (m), es decir el par ocho es un cromosoma metacéntrico y no telocéntrico o subtlocéntrico como en el resto de los taxa de *Leucocoryne* (Tabla 3.2 y 3.3). La correlación entre niveles de asimetría intracromosomal (A_1) e intercromosomal (A_2) es consistente con los dos grupos asociados a los números cromosómicos encontrados para los taxa del género: taxa con $2n = 18$ (grupo A) y taxa con $2n = 10$ (grupo B) (Fig. 3.2). Para determinar si estas diferencias entre grupo A y B son significativas se realizó un análisis de varianza multivariado (MANOVA) de una vía, utilizando la prueba de Wilks. Los resultados determinaron que existen diferencias significativas entre grupos, con valores de Lambda Wilks = 0,22305, $F(2, 151) = 262,98$, $p=0,00$.

Adicionalmente con los promedios de los valores relativos de brazo largo y brazo corto se construyó un cario-ideograma, donde se revela el mismo patrón encontrado en la gráfica de asimetría cromosómica, que demuestran que los grupos de $2n = 18$ y $2n = 10$ presentan diferentes longitudes relativas de brazos (con valores de Lambda Wilks = 0,00001, $F(2, 14) = 1032004$, $p=0,00$) (Fig. 3.3). Al comparar los taxa del género *Leucocoryne* con respecto a los grupos externos se observa una gran diferencia entre ellos principalmente determinada por la longitud cromosómica relativa total (LCRT%). Los análisis de asimetría A_1 y A_2 para todos los taxa del género *Leucocoryne* son mostrados en la Tabla 3.2. El taxon con mayor asimetría cromosómica para el grupo de $2n = 10$ es *L. conferta* y para el grupo de $2n = 18$ son *L. appendiculata* y *L. narcissoides*. La LCRT% (Tabla 3.2) para todos los taxa de juego cromosómico haploide $n = 9$ es de 11.15 ± 0.01 % y para el juego cromosómico haploide $n = 5$ es de 20.02 ± 0.01 %. Al comparar la LCRT% entre pares cromosómicos de cada taxa, reveló que no existen diferencias significativas entre ellos. Solo se encontraron diferencias entre par 1, 2 y 5 para set haploide = 5 (Tabla 3.4 a); y entre el par 2, 8 y 9 para set haploide = 9 (Tabla 3.4 b)

DISCUSIÓN

En este trabajo se describe por primera vez la morfología cariotípica de *L. appendiculata*, *L. conferta*, *L. dimorphopetala*, *L. macropetala*, *L. pauciflora* y *L. aff. vittata*. El resultado de este trabajo confirma el número cromosómico previamente descrito para *L. angustipetala*, *L. coquimbensis* var. *coquimbensis*, *L. ixioides*, *L.*

purpurea, *L. talinensis* y *L. violacescens* (Zöellner 1972, Crosa 1988, Araneda et al. 2004, Mansur & Cisterna 2005). En el caso de *L. alliacea* ($2n = 10$ (Crosa 1988)), *L. coquimbensis* var. *alba* ($2n = 14$ (Araneda et al. 2004)) y *L. odorata* ($2n = 10$ (Crosa 1988)) no existen correspondencias con lo encontrado en este trabajo. Todos estos taxa presentan valores de $2n = 18$. La discrepancia puede estar relacionada con la identificación incorrecta del material colectado y/o recolección de individuos de origen híbrido, que presentan características muy semejantes a la de los taxa tipo, por ejemplo Moreno y colaboradores (en preparación) describe la presencia de híbridos entre *L. coquimbensis* var. *coquimbensis* y *L. purpurea*, donde los híbridos tienen números cromosómicos intermedios ($2n = 14, 16, 22$ y 23) y su fenotipo es semejante a ambos parentales. La posibilidad de hibridación entre taxa pertenecientes al género *Leucocoryne* también fue propuesto por Salas & Mansur (2004) que determinan formación de híbridos de origen interespecífico. De igual manera, hibridación entre especies es mencionada para el género *Nothoscordum* (Crosa 1974). La hibridación es un fenómeno común en muchos grupos de plantas siendo entre el 50 y 80% de las angiospermas de origen híbrido (Heiser 1949).

Los resultados muestran semejanza en la morfología cariotípica para ambos grupos asociados al número cromosómico ($n = 9$ y $n = 5$), donde todos los taxa presentan dos pares de cromosomas con el centrómero en la región terminal o subterminal (t-st) y los restantes con el centrómero en la región media (m), con excepción de *L. dimorphopetala*, donde el par cromosómico número ocho presenta el centrómero en la región media, quedando entonces, sólo un par cromosómico

con el centrómero en la región subterminal y ocho con el centrómero en la región media. Las relaciones observadas en los índices de asimetría para el género (Fig. 3.2) se relacionan directamente con el número cromosómico y con la LCRT% de los taxa. Lo cual es confirmado al observar el cario-ideograma, donde se relevan diferencias significativas entre la longitud relativa promedio de los brazos cromosómicos con respecto al valor del juego cromosómico. Estas diferencias observadas entre la LCRT% podrían estar relacionadas con el contenido de DNA nuclear y no con la morfología cariotípica de cada taxon analizado, pues aunque *L. dimorphopetala* no presenta una semejanza en la morfología cariotípica con los demás taxa del género *Leucocoryne*, el valor de LCRT% no difiere del grupo a la que está incluida del juego cromosómico haploide de $n = 9$. Esta inferencia puede ser apoyada por estudios de Martínez & Ginzo (1985) quien sugiere que el aumento del contenido de DNA esta relacionado con el incremento del tamaño cromosómico. En estudios del género *Tradescantia* (Commelinaceae) la regresión entre el contenido de DNA y el tamaño cromosómico es significativa y positiva, de igual forma, Buitendijk & Ramanna (1996) y Sanso (2002) describen una relación entre variación de la longitud cromosómica en especies del género *Alstroemeria* (Alstroemeriaceae) con incrementos en contenido de DNA nuclear, sin estar relacionado significativamente con la morfología cariotípica.

La evidencia citogenética aquí presentada y basada en análisis cuantitativos de morfología de los cariotipos, sugiere que posiblemente durante la evolución cromosómica de *Leucocoryne* habría ocurrido duplicación genómica (poliploidización) en formas ancestrales de los taxa $2n = 10$ para así dar origen al

grupo $2n = 18$. Tal duplicación genómica sería adicional a la ocurrencia de arreglos cromosómicos que habrían generado cambios en la arquitectura nuclear tendiendo a un predominio de la metacentría (o simetría) cromosómica. Para poder comprobar estas hipótesis se pretenden desarrollar nuevos análisis de carácter específicos como bandas C y zonas NOR, que permitirán clarificar con mayor certeza las relaciones entre taxa.

REFERENCIAS

- ARANEDA L, P SALAS & L MANSUR (2004) Chromosome numbers in the Chilean endemic genus *Leucocoryne* (Huilli). *Journal of the American Society for Horticultural Science* 129(1): 77-80.
- BUITENDIJK J & M RAMANNA (1996) Giemsa C-banded karyotypes of eight species of *Alstroemeria* L. and some of their hybrids. *Annals of Botany* 78: 449-457.
- CROSA O (1974) Un híbrido natural en el género *Nothoscordum* (Liliaceae). *Boletín de la Sociedad de Argentina de Botánica* 15(4): 471-477.
- CROSA O (1988) Los cromosomas de nueve especies del género chileno *Leucocoryne* Lindley, (Allieae – Alliaceae). *Boletín de investigación* N° 17. Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Montevideo, Uruguay.
- FEULGEN R & H ROSSENBECK (1924) Mikroskopisch-chemischer nachweis einer nucleinsäure vom typus der thymonucleinsäure und darauf beruhende elektive Färbung von Zellkernen in mikroskopischen präparaten. *Hoppe-Seylers zeitschrift für physiologische Chemie* 135: 203-248.
- FUENTES F (1945) Índice y comentario sobre las Liliaceas Chilenas. *Boletín del Museo de Historia Natural* 9: 105-126.
- GAY C (1853) *Flora Política de Chile*. *Botanica* 6: 107-135.
- GRAU J (1991) Eine neue art der gattung *Leucocoryne* (Alliaceae) aus mittelchile. *Mitt. Botan Staatssamml, München* 30: 431-437.
- HEISER CB JR. (1949) Natural hybridization with particular reference to introgression. *Botanical Review* 15: 645-687.

- HILBE J (2005) SigmaStat 3.1. American Statistician 2: 187-191.
- HOFFMANN A (1978) Flora silvestre de Chile. Zona central. Ediciones Fundación Claudio Gay, Santiago. 225 pp.
- HOOKER WJ (1823) *Brodiaea ixioides*. En Zoëllner O (Ed.) El género *Leucocoryne*. Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso 5: 9-83.
- HOOKER WJ & GAW WALKER-ARNOTT (1841) The botany of Capt. Beechey's voyage to the Pacific and Bering Strait 94: 1-486.
- KIM H, K OHKAWA & E NITTA (1998) Effects of bulbs weight on the growth and flowering of *Leucocoryne coquimbensis* F. Phil. Acta Horticulturae 454: 341-346.
- LEVAN A, K FREDGA & SANDBERG AA (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52: 201-220.
- LINDLEY J (1830) Edwards's Botanical Register, London. 1293-1294 pp.
- MANSUR L, O ZÖELLNER & P RIEDEMANN (2002) *Leucocoryne* un género nativo chileno y su uso como planta de jardín. Edición Reimco Limitada, Chile. 50 pp.
- MANSUR L & MA CISTERNA (2005) *Leucocoryne talinensis* (Alliaceae), a new species from Chile. Novon 15: 324-326.
- MARTICORENA C & M QUEZADA (1985) Catálogo de la flora vascular de Chile. Gayana (Botánica) 42: 1-152.
- MARTÍNEZ & GINZO (1985) DNA content in *Tradescantia*. Can. Journal of Genetics and Cytology 27: 766-775.
- MEDIA CYBERNETICS (1998) <http://www.mediacy.com>

- MORENO R, P JARA-ARANCIO, G ARANCIO, P JARA-SEGUEL & C PALMA-ROJAS (en preparación) Enjambre híbrido entre dos especies del género *Leucocoryne* (Alliaceae), una hipótesis sobre su origen.
- MUÑOZ C (1960) Las especies de plantas descritas por RA Philippi en el Siglo XIX. Ediciones de la Universidad de Chile, Santiago. 36 – 41 pp.
- MUÑOZ C (1966) Sinopsis de la flora chilena, clave para la identificación de familias y géneros. Ediciones de la Universidad de Chile, Chile. 500 pp.
- MUÑOZ M & A MOREIRA (2000) Géneros endémicos Monocotiledóneas, Chile. Museo Nacional de Historia Natural. [www. Mnhn.cl/apuntes/botanica/príncipealbot.htm](http://www.Mnhn.cl/apuntes/botanica/príncipealbot.htm).
- NAVAS L (1973) Flora de la Cuenca de Santiago de Chile. Tomo III. Ediciones de la Universidad de Chile, Santiago, Chile. 507 pp.
- PHILIPPI RA (1857) Plantarum novarum Chilensium. Centuria quinta. *Linnaea* 29: 48-95.
- PHILIPPI RA (1860) Die Wueste Atacama. Editorial Halle Eduard Anton. 51-52 pp.
- RAHN K (1998) Alliaceae. The families and genera of vascular plants. En Kubitzki K (Ed.) Flowering Plants-Monocotyledons, Liliaceae (except Orchidaceae). Springer-Verlag, Berlin. 70-78 pp.
- RAVENNA PF (1973) Estudios sobre Alliaceae. *Noticiero Mensual del Museo Nacional de Historia Natural* 200: 3-6.
- RAVENNA PF (1978) Studies in the Alliaceae II. *Plant Life* 34: 130-151.
- RAVENNA PF, S TEILLIER, J MACAYA, R RODRÍGUEZ & O ZOELLNER (1998) Categorías de conservación de plantas bulbosas nativas de Chile. *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural* 47: 47-68.

- RAVENNA PF (2000) New or noteworthy *Leucocoryne* species (Alliaceae) II. Onira Botanical Leaflets 6(5): 24-30.
- REEVES (2001) <http://www.colostate.edu/Depts/Biology/Micromeasure>.
- RIEDEMANN P (2002) Descripción del género *Leucocoryne* seleccionados para el paisajismo. En Mansur L, O Zöllner & P Riedemann (Eds.) *Leucocoryne* un género nativo chileno y su uso como planta de jardín. Edición Reimco Limitada, Chile. 50 pp.
- ROMERO-ZARCO CR (1986) A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxon 35: 526-530.
- SALAS P & L MANSUR (2004) Gene flow between parents with different ploidy levels in a natural population of *Leucocoryne* Lindley. Journal of the American Society for Horticultural Science 129(6): 833-835.
- SANSO M (2002) Chromosome studies in Andean taxa of *Alstroemeria* (Alstroemeriaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 138:451-459.
- SQUEO FA, G ARANCIO & JR GUTIÉRREZ (2001) Libro Rojo de la flora nativa y de los sitios prioritarios para su conservación: Región de Coquimbo. Ediciones Universidad de La Serena, Chile. 372 pp.
- TABERLET P L GIELLY, G PAUTOU & J BOUVET (1991) Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. Plant Molecular Biology 17: 1105-1105.
- UPHOF JCT (1947) *Leucocoryne*. Herbetia 12: 52-56.
- WHITE TJ, T BRUNS, S LEE, & J TAYLOR (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En Innis M,

Gelfand S, Sinsky J & T White (Eds.) PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press, San Diego. 315-322 pp.

ZOELLNER O (1972) El género *Leucocoryne*. Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso 5: 9-83.

ZULOAGA FO, O MORRONE, ML BELGRADO (2008) Catálogo de las plantas vasculares del cono sur (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay) Editorial Missouri Botanical Garden Press. Ibadá, Conicet Anefn. 983 pp.

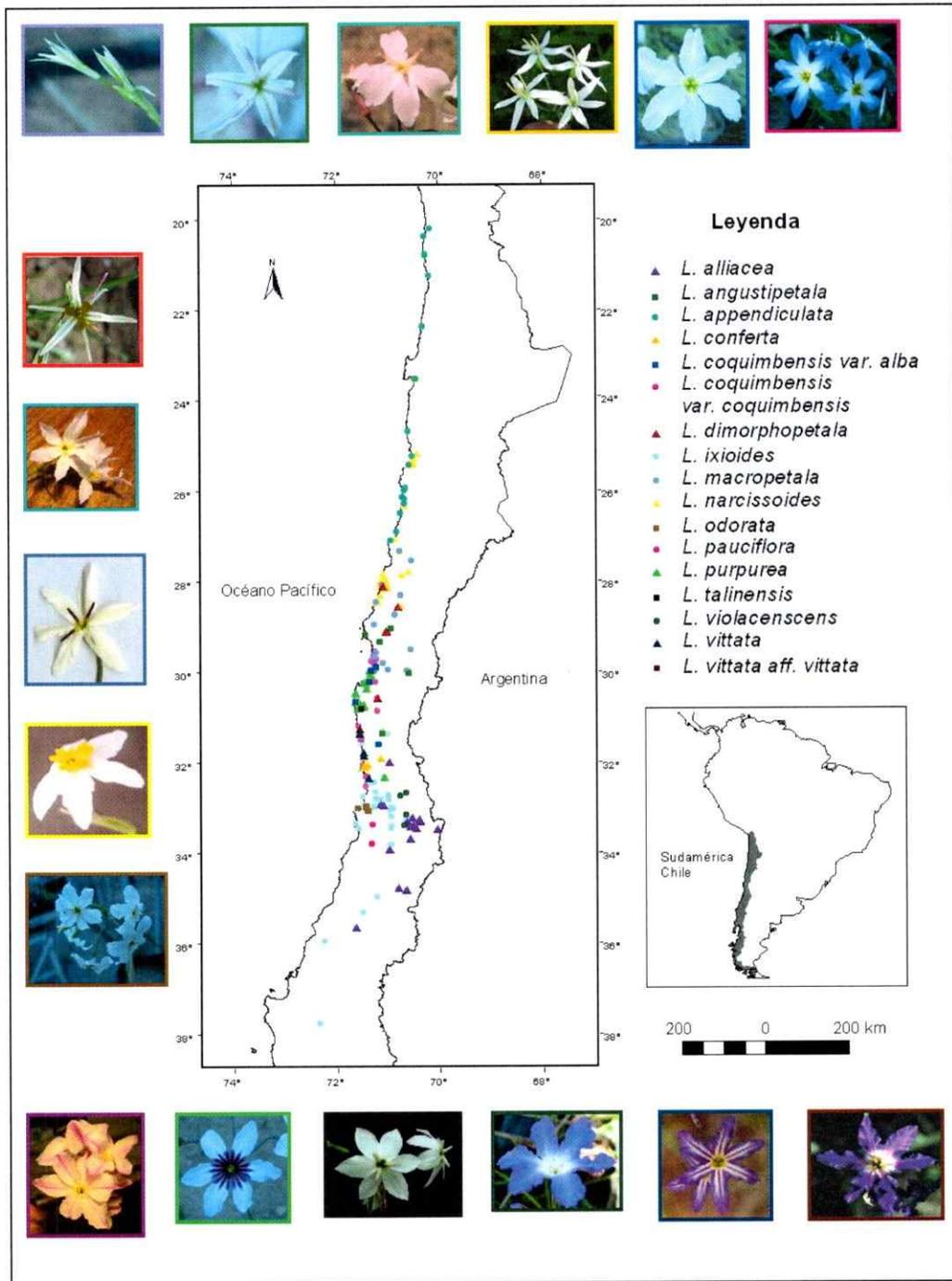


Figura 3.1. Distribución geográfica de 17 taxa del género *Leucocoryne*.

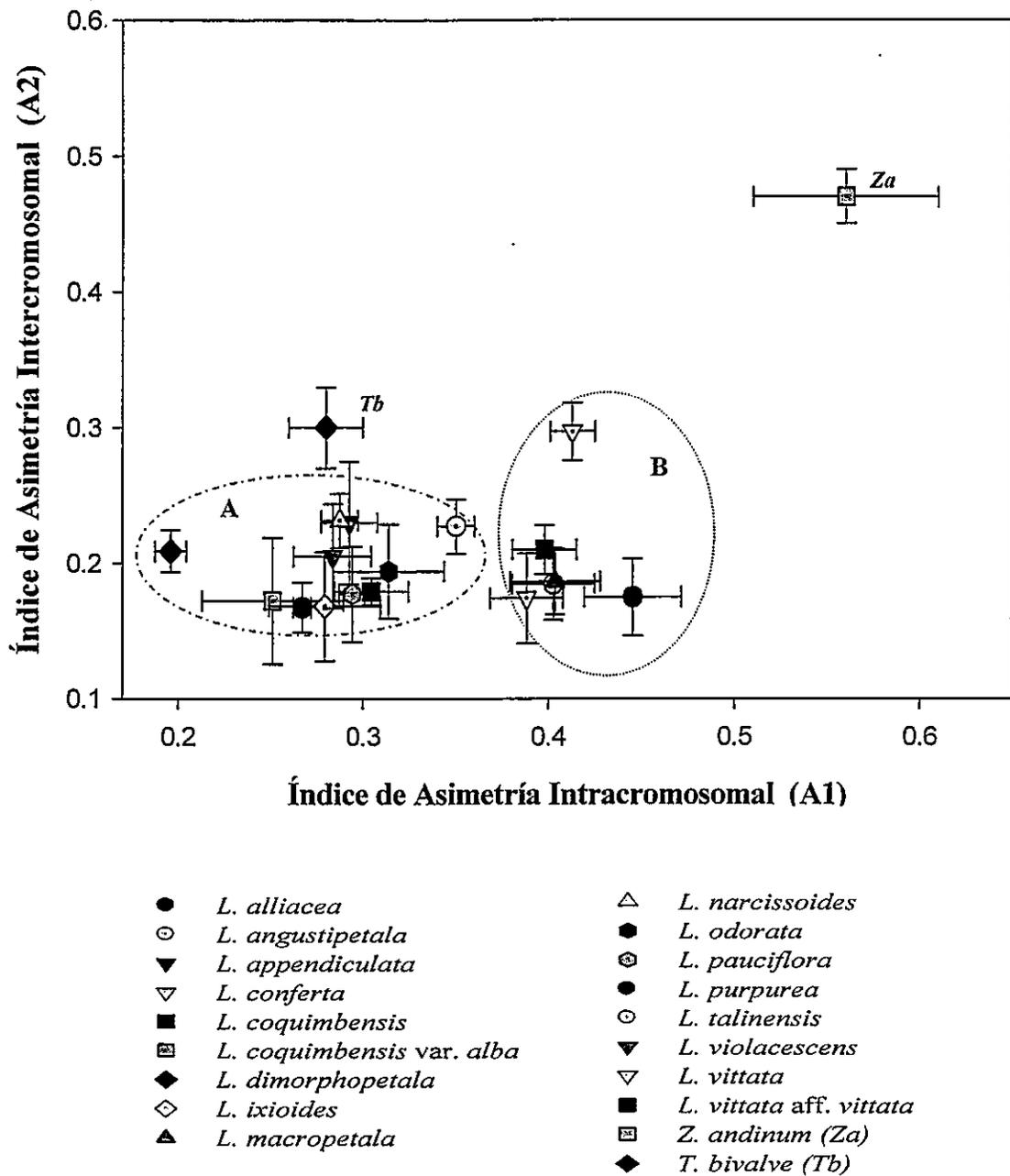
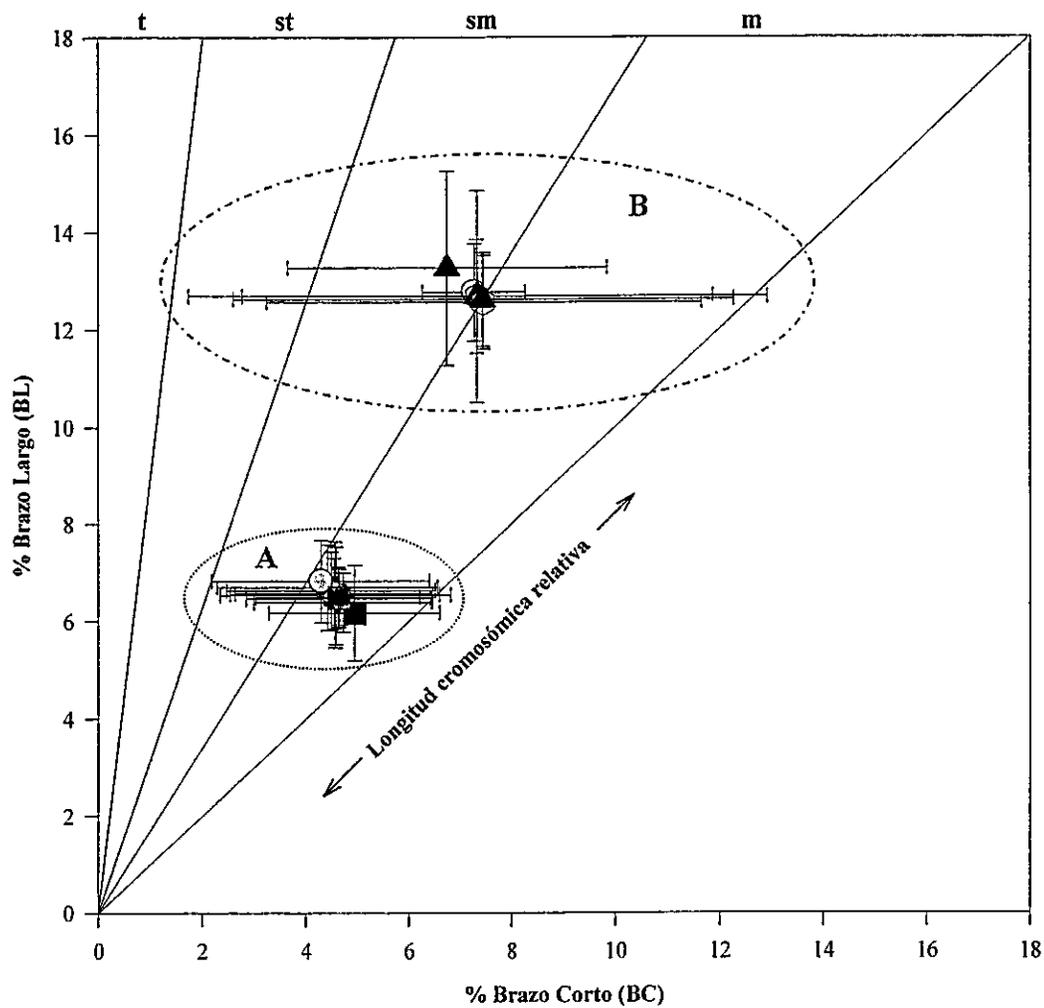


Figura 3.2. Correlación entre índice de asimetría intracromosomal (A_1) e intercromosomal (A_2) de los taxa del género *Leucocoryne* (Alliaceae). **A:** taxa con juego cromosómico haploide $n = 9$, y **B:** taxa con juego cromosómico haploide de $n = 5$. Grupo externo: *Tb*: *Tristagma bivalve*, *Za*: *Zoellnerarium andinum*.



- | | |
|---|---|
| ▲ <i>L. alliacea</i> | ▲ <i>L. macropetala</i> |
| ⊙ <i>L. angustipetala</i> | ○ <i>L. narcissoides</i> |
| ■ <i>L. appendiculata</i> | ■ <i>L. odorata</i> |
| ⬡ <i>L. conferta</i> | ⊗ <i>L. pauciflora</i> |
| ▲ <i>L. coquimbensis</i> var. <i>coquimbensis</i> | ▲ <i>L. purpurea</i> |
| ⊗ <i>L. coquimbensis</i> var. <i>alba</i> | ○ <i>L. talinensis</i> |
| ■ <i>L. dimorphopetala</i> | ■ <i>L. violacescens</i> |
| ⊙ <i>L. ixioides</i> | ⬡ <i>L. vittata</i> |
| | ▲ <i>L. vittata</i> aff. <i>vittata</i> |

Figura 3.3. Cario-ideograma de 17 taxa del género *Leucocoryne* (Alliaceae). **A:** taxa con juego cromosómico haploide $n = 9$, y **B:** taxa con juego cromosómico haploide de $n = 5$. Cromosomas con el centrómero en la región: **t:** terminal, **st:** subterminal, **sm:** submedia y **m:** media.

Grupo Externo familia Alliaceae

ristagma bivalve (Lindl.) Traub

Lagunilla (30°10'S - 71°23'W; 45 msnm)

Farellones (33°20'S - 70°19'W; 2700 msnm)

Zoellnerarum andinum (Poepp.)
Crosa

ristagma bivalve (Lindl.) Traub

Quebrada las Vacas (32°42'S - 71°13'W; 200 msnm)

Tabla 3.2. Características cromosómicas de los taxa del género *Leucocoryne* y las dos especies consideradas como grupo externo. L₁TCR%: longitud total cromosómica relativa, A₁: índice de asimetría intracromosomal, A₂: índice de asimetría intercromosomal, LPC/LPL: relación de longitud relativa de brazo corto/brazo largo. (SD: desviación estándar), IC% promedio índice centromérico.

Grupo de estudio												
Taxa con juego cromosómico haploide de nueve cromosomas												
Características Cariotípicas	<i>L. aliaceae</i>	<i>L. appendiculata</i>	<i>L. coquimbensis</i> var. <i>coquimbensis</i>	<i>L. coquimbensis</i> var. <i>alba</i>	<i>L. dimorphopetalata</i>	<i>L. ixioideis</i>	<i>L. narcissoides</i>	<i>L. odorata</i>	<i>L. pauciflora</i>	<i>L. talinensis</i>	<i>L. violacescens</i>	
Fórmula cariotípica	2 st + 7 m	2 st + 7 m	1 t + 1 st + 7 m	1 st + 1 sm + 7 m	1 st + 8 m	1 st + 1 sm + 7 m	1 t + 1 st + 7 m	2 t + 7 m	2 st + 7 m	1 t + 1 st + 7 m	1 st + 1 st + 7 m	
N° metafásicas	10	10	10	10	5	8	10	8	5	5	10	
L ₁ TCR (%) ± SD	11.11 ± 1.8	11.11 ± 2.5	11.11 ± 2.0	11.11 ± 1.8	11.11 ± 2.3	11.11 ± 1.8	11.11 ± 2.4	11.11 ± 2.0	11.11 ± 1.9	11.11 ± 2.3	11.11 ± 2.3	
Índice Asimetría A ₁	0.27 ± 0.0	0.29 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.25 ± 0.04	0.20 ± 0.01	0.28 ± 0.03	0.29 ± 0.01	0.31 ± 0.03	0.29 ± 0.01	0.35 ± 0.01	0.28 ± 0.03	
Índice Asimetría A ₂	0.17 ± 0.02	0.23 ± 0.05	0.18 ± 0.01	0.17 ± 0.05	0.21 ± 0.02	0.17 ± 0.04	0.23 ± 0.03	0.19 ± 0.03	0.18 ± 0.03	0.23 ± 0.02	0.20 ± 0.03	
LBC/LBL (%)	0.73 ± 0.0	0.71 ± 0.02	0.89 ± 0.01	0.75 ± 0.04	0.84 ± 0.07	0.72 ± 0.05	0.74 ± 0.02	0.69 ± 0.03	0.71 ± 0.01	0.62 ± 0.08	0.72 ± 0.03	
IC%	0.40 ± 0.13	0.32 ± 0.11	0.39 ± 0.15	0.41 ± 0.11	0.43 ± 0.11	0.40 ± 0.10	0.39 ± 0.16	0.30 ± 0.12	0.39 ± 0.13	0.38 ± 0.15	0.40 ± 0.13	
Grupo de estudio												
Taxa con juego cromosómico haploide de cinco cromosomas												
Características Cariotípicas	<i>L. angustipetala</i>	<i>L. conferta</i>	<i>L. macropetala</i>	<i>L. purpurea</i>	<i>L. vittata</i>	<i>L. aff. vittata</i>	<i>T. bivalve</i>	<i>Z. andinum</i>				
Fórmula cariotípica	2 st + 3 m	2 st + 3 m	2 st + 3 m	1 t + 1 st + 3 m	2 st + 3 m	2 st + 3 m	1 t + 3 m	1 t + 6 st + 1 sm + 4 m				
N° metafásicas	11	10	10	10	10	12	7	5				
L ₁ TCR (%) ± SD	20.00 ± 3.6	20.00 ± 5.9	20.00 ± 3.7	20.00 ± 3.4	20.00 ± 3.4	20.13 ± 4.2	25.00 ± 7.5	8.33 ± 3.9				
Índice Asimetría A ₁	0.40 ± 0.02	0.41 ± 0.01	0.40 ± 0.02	0.45 ± 0.03	0.39 ± 0.02	0.40 ± 0.02	0.28 ± 0.02	0.56 ± 0.05				
Índice Asimetría A ₂	0.18 ± 0.03	0.30 ± 0.02	0.19 ± 0.02	0.17 ± 0.03	0.17 ± 0.03	0.21 ± 0.02	0.30 ± 0.03	0.47 ± 0.02				
LBC/LBL (%)	0.60 ± 0.02	0.59 ± 0.01	0.60 ± 0.02	0.55 ± 0.03	0.61 ± 0.02	0.60 ± 0.02	0.72 ± 0.02	0.44 ± 0.05				
IC%	0.34 ± 0.18	0.32 ± 0.21	0.34 ± 0.18	0.38 ± 0.03	0.35 ± 0.16	0.37 ± 0.11	0.26 ± 0.16	0.38 ± 0.20				

Tabla 3.3. Características cromosómicas y cariotipo de los taxa del género *Leucocoryne*. Pc: par cromosómico, PC: posición del centrómero, LBL%: longitud relativa brazo largo, LBC%: longitud relativa brazo corto y IC%: índice relativo centromérico.

Taxa con juego cromosómico haplóide n = 9.

L. alliacea Miers ex Lindl.

Pc	PC	LBL%	LBC%	IC%
1	m	7.30 ± 0.40	6.90 ± 0.20	0.49 ± 0.01
2	m	6.71 ± 0.41	6.00 ± 0.27	0.47 ± 0.02
3	m	6.16 ± 0.27	5.62 ± 0.17	0.48 ± 0.01
4	m	6.21 ± 0.48	5.44 ± 0.27	0.47 ± 0.03
5	m	6.14 ± 0.26	5.22 ± 0.10	0.46 ± 0.02
6	m	5.79 ± 0.25	5.05 ± 0.29	0.47 ± 0.02
7	m	5.86 ± 0.45	4.57 ± 0.21	0.44 ± 0.03
8	st	7.46 ± 0.45	1.34 ± 0.20	0.15 ± 0.03
9	st	6.51 ± 0.25	1.72 ± 0.28	0.21 ± 0.04



L. appendiculata Phil.

Pc	PC	LBL%	LBC%	IC%
1	m	8.82 ± 0.50	6.84 ± 0.82	0.35 ± 0.14
2	m	7.31 ± 0.45	5.94 ± 0.37	0.37 ± 0.16
3	m	6.71 ± 0.27	5.55 ± 0.28	0.36 ± 0.17
4	m	5.99 ± 0.14	5.54 ± 0.28	0.38 ± 0.18
5	m	5.88 ± 0.43	5.07 ± 0.28	0.37 ± 0.18
6	m	5.52 ± 0.28	5.05 ± 0.22	0.38 ± 0.19
7	m	5.39 ± 0.38	4.81 ± 0.27	0.38 ± 0.19
8	st	7.16 ± 0.64	1.20 ± 0.16	0.13 ± 0.03
9	st	6.13 ± 0.50	1.08 ± 0.32	0.13 ± 0.05



L. coquimbensis var. *coquimbensis* F. Phil.

Pc	PC	LBL%	LBC%	IC%
1	m	7.90 ± 0.01	7.06 ± 0.04	0.47 ± 0.01
2	m	6.79 ± 0.02	5.32 ± 0.01	0.44 ± 0.02
3	m	6.58 ± 0.02	5.37 ± 0.03	0.45 ± 0.01
4	m	6.28 ± 0.01	5.27 ± 0.02	0.46 ± 0.04
5	m	6.13 ± 0.02	5.17 ± 0.03	0.46 ± 0.02
6	m	5.57 ± 0.01	5.16 ± 0.01	0.48 ± 0.03
7	m	5.65 ± 0.03	4.86 ± 0.04	0.46 ± 0.05
8	st	7.50 ± 0.04	1.22 ± 0.03	0.14 ± 0.01
9	t	7.19 ± 0.01	0.99 ± 0.01	0.12 ± 0.03



L. coquimbensis var. *alba* Zoëllner

Pc	PC	LBL%	LBC%	IC%
1	m	7.56 ± 0.45	6.97 ± 0.25	0.48 ± 0.02
2	m	6.53 ± 0.49	6.04 ± 0.51	0.48 ± 0.01
3	m	6.31 ± 0.38	5.75 ± 0.32	0.48 ± 0.02
4	m	6.08 ± 0.31	5.31 ± 0.27	0.47 ± 0.02
5	m	5.81 ± 0.30	5.07 ± 0.20	0.47 ± 0.02
6	m	5.64 ± 0.47	4.96 ± 0.17	0.47 ± 0.02
7	m	5.99 ± 0.80	4.47 ± 0.74	0.43 ± 0.06
8	sm	6.85 ± 0.27	2.39 ± 0.52	0.26 ± 0.05
9	st	6.70 ± 0.78	1.56 ± 0.46	0.19 ± 0.04



1 2 3 4 5 6 7 8 9

L. dimorphopetala (Gay) Rav.

Pc	PC	LBL%	LBC%	IC%
1	m	7.85 ± 0.64	6.68 ± 0.84	0.46 ± 0.03
2	m	7.40 ± 0.67	5.98 ± 0.26	0.45 ± 0.02
3	m	6.63 ± 0.40	5.78 ± 0.19	0.47 ± 0.02
4	m	6.17 ± 0.23	5.71 ± 0.19	0.48 ± 0.01
5	m	5.65 ± 0.15	5.35 ± 0.20	0.49 ± 0.01
6	m	5.51 ± 0.28	4.99 ± 0.18	0.48 ± 0.02
7	m	5.41 ± 0.12	4.73 ± 0.26	0.47 ± 0.01
8	m	4.83 ± 0.16	4.30 ± 0.38	0.47 ± 0.02
9	st	6.07 ± 0.67	0.95 ± 0.17	0.14 ± 0.03



1 2 3 4 5 6 7 8 9

L. ixioides (Hook) Lindl.

Pc	PC	LBL%	LBC%	IC%
1	m	7.48 ± 0.61	6.82 ± 0.68	0.48 ± 0.02
2	m	6.84 ± 0.65	5.81 ± 0.42	0.46 ± 0.02
3	m	6.77 ± 0.52	5.45 ± 0.29	0.45 ± 0.02
4	m	5.98 ± 0.22	5.18 ± 0.14	0.46 ± 0.02
5	m	6.11 ± 0.13	4.87 ± 0.42	0.44 ± 0.02
6	m	5.69 ± 0.37	4.71 ± 0.26	0.45 ± 0.03
7	m	5.77 ± 0.15	4.48 ± 0.31	0.44 ± 0.04
8	sm	7.05 ± 0.82	2.62 ± 0.20	0.27 ± 0.10
9	st	6.72 ± 0.41	1.64 ± 0.90	0.19 ± 0.08



1 2 3 4 5 6 7 8 9

L. narcissoides Phil.

Pc	PC	LBL%	LBC%	IC%
1	m	8.26 ± 0.43	6.13 ± 0.32	0.43 ± 0.02
2	m	7.45 ± 0.46	6.47 ± 0.24	0.46 ± 0.01
3	m	7.15 ± 0.46	6.02 ± 0.28	0.46 ± 0.02
4	m	6.14 ± 0.48	5.74 ± 0.46	0.48 ± 0.02
5	m	5.84 ± 0.48	5.49 ± 0.35	0.48 ± 0.02
6	m	5.44 ± 0.49	5.14 ± 0.12	0.49 ± 0.01
7	m	5.19 ± 0.48	4.73 ± 0.46	0.48 ± 0.03
8	st	6.45 ± 0.14	1.01 ± 0.02	0.14 ± 0.01
9	t	6.85 ± 0.07	0.50 ± 0.01	0.07 ± 0.01



1 2 3 4 5 6 7 8 9

L. odorata Lindl.

Pc	PC	LBL%	LBC%	IC%
1	m	7.86 ± 0.56	6.74 ± 0.49	0.38 ± 0.18
2	m	7.00 ± 0.74	5.81 ± 0.40	0.36 ± 0.17
3	m	6.43 ± 0.36	5.63 ± 0.42	0.36 ± 0.18
4	m	6.12 ± 0.31	5.32 ± 0.33	0.36 ± 0.18
5	m	6.06 ± 0.30	5.07 ± 0.35	0.35 ± 0.18
6	m	5.67 ± 0.25	4.96 ± 0.28	0.37 ± 0.19
7	m	5.94 ± 1.09	4.63 ± 0.29	0.34 ± 0.18
8	t	8.19 ± 0.61	0.94 ± 0.27	0.11 ± 0.02
9	t	6.95 ± 0.46	0.69 ± 0.14	0.09 ± 0.02

ולאנו אנו ר-לוקר

1 2 3 4 5 6 7 8 9

L. pauciflora Phil.

Pc	PC	LBL%	LBC%	IC%
1	m	7.88 ± 0.63	6.83 ± 0.52	0.46 ± 0.00
2	m	6.34 ± 0.27	5.50 ± 0.35	0.46 ± 0.02
3	m	6.54 ± 0.31	5.25 ± 0.22	0.45 ± 0.02
4	m	6.34 ± 0.20	5.34 ± 0.48	0.46 ± 0.03
5	m	6.46 ± 0.32	5.00 ± 0.31	0.44 ± 0.03
6	m	5.92 ± 0.13	5.38 ± 0.18	0.48 ± 0.01
7	m	5.52 ± 0.36	4.95 ± 0.30	0.47 ± 0.02
8	st	7.47 ± 0.66	1.21 ± 0.45	0.14 ± 0.06
9	st	6.62 ± 0.53	1.42 ± 0.32	0.18 ± 0.04

האלו רחמא לוקר-לולו

1 2 3 4 5 6 7 8 9

L. talinensis Mansur

Pc	PC	LBL%	LBC%	IC%
1	m	8.15 ± 0.07	6.97 ± 0.87	0.46 ± 0.03
2	m	7.74 ± 1.44	6.00 ± 0.26	0.45 ± 0.04
3	m	6.61 ± 0.99	5.56 ± 0.23	0.48 ± 0.04
4	m	5.94 ± 0.40	5.13 ± 0.26	0.46 ± 0.01
5	m	6.99 ± 1.71	4.86 ± 0.29	0.42 ± 0.07
6	m	5.79 ± 0.05	4.52 ± 0.73	0.45 ± 0.04
7	m	5.90 ± 1.58	3.73 ± 1.39	0.45 ± 0.15
8	st	7.39 ± 0.58	1.00 ± 0.13	0.12 ± 0.02
9	t	6.85 ± 0.41	0.89 ± 0.69	0.10 ± 0.06

ולנו ר-למא ר-לוקר

1 2 3 4 5 6 7 8 9

L. violascens Phil.

Pc	PC	LBL%	LBC%	IC%
1	m	7.84 ± 0.64	7.01 ± 0.37	0.47 ± 0.02
2	m	6.79 ± 0.35	6.11 ± 0.50	0.47 ± 0.02
3	m	6.45 ± 0.39	5.64 ± 0.20	0.47 ± 0.01
4	m	6.11 ± 0.38	5.35 ± 0.31	0.47 ± 0.03
5	m	6.09 ± 0.34	5.12 ± 0.26	0.46 ± 0.02
6	m	6.04 ± 0.81	4.72 ± 0.38	0.44 ± 0.04
7	m	6.78 ± 1.11	4.06 ± 0.82	0.38 ± 0.08
8	sm	6.12 ± 0.77	2.12 ± 0.71	0.25 ± 0.06
9	st	6.07 ± 1.06	1.60 ± 0.48	0.21 ± 0.07

ולאו ר-למא ר-לוקר

1 2 3 4 5 6 7 8 9

Taxa con juego cromosómico haplóide n = 5.

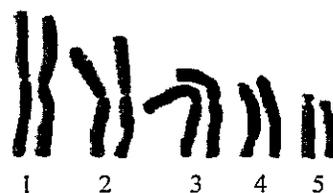
L. angustipetala Gay

Pc	PC	LBL%	LBC%	IC%
1	m	12.51 ± 0.57	11.43 ± 0.37	0.48 ± 0.01
2	m	12.04 ± 0.45	10.50 ± 0.32	0.47 ± 0.01
3	m	11.14 ± 0.84	9.87 ± 0.71	0.47 ± 0.03
4	st	14.57 ± 0.89	2.58 ± 0.47	0.15 ± 0.02
5	st	13.56 ± 0.74	1.95 ± 0.30	0.13 ± 0.02



L. conferta Zoëllner

Pc	PC	LBL%	LBC%	IC%
1	m	13.64 ± 0.51	12.38 ± 0.53	0.48 ± 0.01
2	m	12.52 ± 0.63	11.27 ± 0.46	0.47 ± 0.02
3	m	11.77 ± 0.62	10.42 ± 0.33	0.47 ± 0.02
4	st	15.66 ± 1.34	0.62 ± 0.20	0.04 ± 0.01
5	st	9.80 ± 0.99	1.92 ± 0.26	0.16 ± 0.02



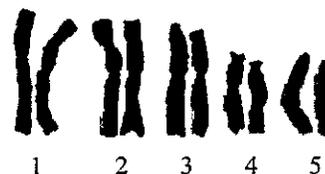
L. macropetala Phil.

Pc	PC	LBL%	LBC%	IC%
1	m	12.46 ± 0.31	11.53 ± 0.41	0.48 ± 0.01
2	m	12.03 ± 0.25	10.60 ± 0.66	0.47 ± 0.02
3	m	11.33 ± 0.69	9.66 ± 0.52	0.46 ± 0.02
4	st	14.37 ± 0.21	2.64 ± 0.64	0.15 ± 0.03
5	st	13.23 ± 0.75	2.15 ± 0.36	0.14 ± 0.02



L. purpurea Gay

Pc	PC	LBL%	LBC%	IC%
1	m	12.70 ± 1.21	11.13 ± 0.50	0.42 ± 0.05
2	m	11.85 ± 0.56	10.14 ± 0.58	0.38 ± 0.04
3	m	11.39 ± 0.35	10.01 ± 0.31	0.39 ± 0.06
4	st	16.36 ± 0.39	0.48 ± 0.13	0.37 ± 0.24
5	t	14.00 ± 0.80	1.94 ± 0.50	0.33 ± 0.18



L. vittata Rav.

Pc	PC	LBL%	LBC%	IC%
1	m	12.26 ± 0.56	10.86 ± 0.76	0.47 ± 0.02
2	m	11.85 ± 0.43	10.46 ± 0.31	0.47 ± 0.01
3	m	11.58 ± 0.75	10.15 ± 0.50	0.47 ± 0.02
4	st	13.86 ± 0.74	3.47 ± 0.88	0.20 ± 0.03
5	st	13.24 ± 0.45	2.27 ± 0.21	0.15 ± 0.01



L. aff. vittata Rav.

Pc	PC	LBL%	LBC%	IC%
1	m	12.92 ± 0.33	11.64 ± 0.68	0.46 ± 0.03
2	m	12.00 ± 0.31	10.82 ± 0.46	0.45 ± 0.03
3	m	11.39 ± 0.50	10.36 ± 0.28	0.45 ± 0.05
4	st	13.90 ± 0.46	2.23 ± 0.37	0.25 ± 0.16
5	st	12.87 ± 0.82	2.10 ± 0.39	0.25 ± 0.15



Tabla 3.4a. Matriz de diferencias cromosómicas a nivel de longitud relativa cromosómica por par cromosómico, entre taxa con número cromosómico haploide de $n = 5$. **A:** *L. aff. vittata*, **B:** *L. vittata*, **C:** *L. purpurea*, **D:** *L. macropetala*, **E:** *L. conferta*, **F:** *L. angustipetala*. Los asteriscos (*) indican pares de taxa que presentan diferencias significativas a nivel de pares cromosómicos ($p < 0,05$). Los pares 3 y 4 no presentaron diferencias significativas entre taxa, según criterio de Bonferroni.

		PAR 1						PAR 2						PAR 5					
		A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F
A								A						A					
B								B						B					
C								C						C					
D					*			D						D					
E		*	*			*		E	*	*			E	*	*				
F								F						F					

Tabla 3.4b. Matriz de diferencias cromosómicas a nivel de longitud relativa cromosómica por par cromosómico, entre taxa con número cromosómico haploide de $n = 9$. **G:** *L. violaceus*, **H:** *L. talinensis*, **I:** *L. pauciflora*, **J:** *L. odorata*, **K:** *L. narcissoides*, **L:** *L. ixioides*, **M:** *L. dimorphopetala*, **N:** *L. coquimbensis* var. *alba*, **O:** *L. alliacea*, **P:** *L. appendiculata*, **Q:** *L. coquimbensis* var. *coquimbensis*. Los asteriscos (*) indican pares de taxa que presentan diferencias significativas a nivel de pares cromosómicos ($p < 0,05$). Los pares 1, 3, 4, 5, 6 y 7 no presentaron diferencias significativas entre taxa, según criterio de Bonferroni.

	PAR 2									PAR 8									PAR 9															
	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	
G											G																							
H											H																							
I											I																							
J											J																							
K											K			*																				
L											L																							
M											M																							
N											N																							
O											O																							
P										*	P																							
Q											Q																							

CAPÍTULO IV

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En este estudio se planteó que los eventos de aridización del Sur de Sudamérica, y más específicamente en el lado oeste de la Cordillera de los Andes en Chile central y norte, habrían provocado el origen y diversificación de taxa del género *Leucocoryne* que se distribuyen en las zonas áridas y semiáridas de Chile centro-norte y norte. El desarrollo de la aridización de Sudamérica y posteriores glaciaciones durante el Terciario superior y Pleistoceno se habrían traducido en una mayor heterogeneidad ambiental, resultando en condiciones propicias para la especiación y la diversificación de taxa con distribución en regiones áridas y semiáridas. Como modelo de estudio de la evolución vegetal en estas zonas, se analizaron las relaciones filogenéticas, basadas en datos moleculares y de evidencia total (moleculares, citogenéticos y morfológicos) de 17 taxa del género *Leucocoryne* Lindl. Para determinar si los principales eventos de diversificación se asociaron con el tiempo de aridización de la zona donde habita el género en estudio, se estimaron los tiempos de divergencia de los linajes a través de reloj molecular. Complementariamente se determinó la posible posición altitudinal (tierras bajas o altas) del ancestro del género *Leucocoryne*, con el objeto de precisar las tendencias geográficas en la radiación del género.

Para obtener mayores luces sobre los procesos que gatillaron la especiación en *Leucocoryne*, adicionalmente, se realizaron estudios citogenéticos

que permitieron identificar la presencia de híbridos o poliploides entre los 17 taxa del género *Leucocoryne* estudiados. Esta determinación se efectuó debido a que en *Leucocoryne* ha sido descrito la presencia de hibridación entre especies o poliploidía (Moreno et al. preparación, Salas & Mansur 2004) lo cual podría alterar los resultados en los análisis filogenéticos con caracteres moleculares de existir evolución reticulada.

Finalmente, se examinó la monofilia del grupo debido a diferencias morfológicas a nivel de caracteres florales entre *L. dimorphopetala* y *L. narcissoides* y las 15 taxa restantes del género.

A partir de la reconstrucción filogenética del género *Leucocoryne* se sometieron a refutación las siguiente hipótesis: (i) dado que *L. dimorphopetala* y *L. narcissoides* presenta caracteres diferentes a nivel de estambres y estaminodios, con respecto a los demás taxa del género *Leucocoryne*, entonces el género *Leucocoryne* no sería monofilético, (ii) el origen y la divergencia del género *Leucocoryne* se asociarían directamente con la aridización de su hábitat y (iii) la ubicación altitudinal del posible ancestro del género *Leucocoryne* es cordillerana (> 1000 msnm).

A continuación se discuten los principales resultados y conclusiones obtenidos en esta tesis:

- **Monofilia del género *Leucocoryne***

Los estudios moleculares a nivel de rDNA, determinaron que *Leucocoryne* es un grupo monofilético (Fig. 4.1) que presenta el carácter sinapomórfico de tres estambres infértiles denominados estaminodios (Philippi 1857; Zoëllner 1972; Ravenna 1973; Marticorena & Quezada 1985; Muñoz & Moreira 2000; Rahn 1998; Riedemann 2002; Mansur et al. 2002) y números cromosómicos diferentes a los de los grupos externos ($2n = 10$ o $2n = 18$) (Zoëllner 1972; Crosa 1988; Araneda et al. 2004; Mansur & Cisterna 2005; capítulo III de esta tesis). Por lo tanto, estos resultados nos revelan que los caracteres morfológicos divergentes (seis estambres fértiles y tres estaminodios engrosados) que presentan *L. dimorphopetala* y *L. narcissoides*, que han provocado que muchos autores excluyan a ambas taxa del género *Leucocoryne*, no son de valor relevante en análisis citogenéticos y moleculares. Vale la pena reflexionar sobre el uso los caracteres florales en la taxonomía. Éstos han sido utilizados extensivamente por lo taxónomos porque se consideran caracteres poco expuestos a modificaciones medioambientales y menos susceptibles a una variación plástica (Stebbins 1950). El hecho que la posición y fertilidad de los estambres, no fueron caracteres discriminante a nivel de análisis citogenéticos y moleculares en el género *Leucocoryne*, estaría indicando que estas características florales en particular, si están sujetas a cambios evolutivos rápidos, y que la morfología floral, considerado desde la época de Linneo, como una fuente de caracteres muy conservadora que permitía discriminar entre taxa, no siempre sería un buen indicador. Al respecto, Hernández y colaboradores (1996) han documentado la existencia de diferencias

a nivel de número de estambres en dos poblaciones de *Drimys winteri*, que habitan zonas contiguas. Ellos atribuyen a esta diferencia a selección natural, que actúa sobre la variabilidad natural de las poblaciones, seleccionando a los genotipos mejor adaptados al medio local (Stebbins 1950, Heslop-Harrison 1964, Millanao 1984). Dado que este cambio ocurrió entre poblaciones de la misma especie, y análogamente, entre especies que actualmente se consideran como especies de *Leucocoryne*, se puede concluir que un cambio en el número de estambres es un paso evolutivamente relativamente simple.

- **Historia filogenética del género *Leucocoryne***

Los análisis filogenéticos (Fig. 4.2, 4.3) revelan que el género *Leucocoryne* diverge dentro de la familia Alliaceae durante el Mioceno temprano ($23,1 \pm 5,94$ Ma). La diversificación al interior de *Leucocoryne* comenzaría durante el Mioceno superior (entre $10,9 \pm 2,62$ y $7,45 \pm 2,02$ Ma) con la separación de los linajes I y II. La diversificación del linaje III ocurre en el Plioceno temprano ($3,75 \pm 1,10$ Ma) seguido por la divergencia de los linajes "A y B", siendo en el Plioceno medio ($2,7 \pm 0,85$ Ma) la divergencia en el linaje "B" y en el Pleistoceno ($1,45 \pm 0,74$ Ma) y la divergencia al interior del linaje "A" (Fig. 4.3). Luego de obtener los tiempos de origen de cada linaje, cabe examinar si la evolución del género *Leucocoryne* tiene relación directa con los cambios geológicos y climáticos asociados al desarrollo de las condiciones de aridez en Chile centro-norte y norte. De acuerdo con los

antecedentes, la aridización de la zona se debe a una combinación de factores que han tenido distintas dotaciones a lo largo del tiempo. Se piensa que los inicios del clima árido se retrotrae al menos al Mioceno superior (alrededor 10 y 5 Ma) cuando los Andes alcanzaron altitudes suficientes para generar un efectivo bloqueo a los vientos del este y aumenta la vigorización de la corriente fría de Humboldt y del Anticiclón Subtropical del Pacífico Sur (Garzzone et al. 2008). Este conclusión estaría corroborado por registros marinos que muestran que las temperaturas globales empiezan a descender aproximadamente a los 15 Ma (Zachos et al. 2001). Sin embargo, a este escenario general hay que agregar los antecedentes que dice relación con la transición entre aridez/hiperaridez del Desierto de Atacama. Estudios recientes revelan que el levantamiento andino fue sólo uno de los factores y no el preponderante en gestar esta transición, y que dicha transición ocurrió mucho más recientemente que el levantamiento de los Andes. Al respecto, estudios sobre diferentes factores ocurridos en el Desierto de Atacama, revelan que la transición entre aridez/hiperaridez presentan fechas posteriores al levantamiento andino. Por ejemplo, estudios de niveles de sedimentación producto de un descenso de las precipitaciones, revelan que esta condición de hiperaridez ocurrió hace -8 Ma (Tosdal et al. 1984, García & Herail 2005, Fariás et al. 2005, Riquelme et al. 2007). Hartley & Chong 2002 y Hartley 2003, determinan que la hiperaridez tiene un inicio más reciente, entre -6 a 3 Ma. Mientras Reich et al. (2009) postula, a raíz del análisis de depósitos de cobre en el Precordillera y región costera a los 23°S, que la hiperaridez del Desierto de Atacama se impuso tan recientemente como 1,5 Ma. Si bien, el levantamiento

andino provocó la aridización inicial, la hiperaridez en el norte de Chile, no sería directamente un producto del levantamiento andino. Independientemente de las últimas causas del desarrollo del clima hiperárido, nuestros resultados indican una correspondencia notable con el calendario de aridización y la radiación de *Leucocoryne*. Para el Mioceno superior se produce la primera divergencia dentro de *Leucocoryne* (10.9 Ma) implicando que ésta ocurrió poco tiempo después de la inserción inicial del clima árido. Por otra parte, hubo la separación y diversificación de varias linajes de *Leucocoryne* en el período correspondiente a la transición aridez/hiperaridez. En particular, observamos correspondencias en: (a) los linajes II y III ($7,45 \pm 2,02$ Ma / datación ~ 8 Ma), (b) divergencia de los linajes "A y B" ($3,75 \pm 1,10$ Ma / datación ~ 6 a 3 Ma), (c) divergencia al interior del linaje "B" ($2,7 \pm 0,85$ Ma / datación ~ 6 a 3 Ma) y, (d) al interior del linaje "A" ($1,45 \pm 0,74$ Ma / datación $\sim 1,5$ Ma). Entonces se puede concluir, que la diversificación de los taxa que habitan la zona costera y valle intermedio del género *Leucocoryne*, tiene una relación estrecha con la serie de eventos que culminó en el nivel de aridez actual que se observa en el área de estudio.

El periodo de divergencia de *Leucocoryne* corresponde con la diversificación de otros géneros asociados a clima árido en Chile, como son el caso de (i) *Chuquiraga*, en donde mediante estudios cladísticos entre 31 caracteres morfológicos, se determinó que el origen del género fue en el sur de América del Sur, contemplando dos principales radiaciones evolutivas que estuvieron asociadas a la elevación máxima de Los Andes a fines del Terciario y a

la hiperaridización y fluctuaciones climáticas del Pleistoceno y Holoceno (Ezcurra 2002), (ii) *Malesherbiaceae*, en donde estudios de rDNA utilizando la región ITS, muestran que la familia se originó en el Mioceno tardío o Plioceno temprano, cuando la región donde habita (Chile central y zona adyacente Argentina y costa del Perú desde la zona litoral hasta los 3770 m. s. n. m.) se volvió permanentemente árida (Gengler-Nowak 2002), (iii) *Chaetanthera*, en donde estudios de rDNA utilizando la región ITS, determinaron que el ancestro habitó tierras bajas y que al iniciarse la aridización y el aumento de las temperaturas en el Mioceno-Plioceno, se habría refugiado en tierras altas (Herskovitz et al. 2006a), (iv) *Tropaeolum* sección *Chilensia*, en donde estudios de rDNA de la región ITS, muestran que la divergencia de este grupo se asocia a la aridización de su entorno en el Mioceno medio (Herskovitz et al. 2006b), (v) *Heliotropium* sección *Cochranea*, a partir de datos de cpDNA y rDNA determinan que diverge entre el Mioceno-Plioceno (Luebert & Wen 2008), (vi) *Schizanthus*, a partir de cpDNA y rDNA, diverge en el Plioceno (Pérez et al 2006) y (vii) otros géneros, donde se utilizó regiones de cpDNA y rDNA, como *Nolana* (Tu et al. 2007), *Gyptothamnium* (Luebert et al. 2009) y *Oxyphyllum* (Luebert et al. 2009) aunque no consideran estimaciones del tiempo de divergencia, se asocia su divergencia a aridización de sus hábitat.

Es interesante destacar además, que el tiempo de origen y el patrón de diversificación en *Leucoryne* son similares a lo ocurrido en varios géneros de plantas en la costa occidental de Sudáfrica donde, en forma paralela, se desarrolló un clima árido. En el caso de Sudáfrica, la separación de la Antártica de

Sudamérica permitió la formación de la Corriente fría de Benguela (tal como ocurrió en el caso del Corriente de Humboldt) que se dirige al norte por la costa oeste de África, provocando alrededor de los 11 a 14 Ma atrás aridización en las región de Cabo en Sudáfrica (Axelrod & Raven 1978, Kennett 1980). Ejemplos de taxa que divergen en asociaciones con la aridización son: (i) *Phyllica*, en donde estudios de rDNA utilizando la región ITS revelan que el género se originó entre 12 a 15 Ma, ocurriendo una rápida diversificación al interior del grupo entre los 7 u 8 Ma (Richardson et al. 2001), y (ii) *Ehrharta*, en donde el análisis de rDNA (región ITS) y cpDNA (región trnL-F) muestra que presenta una rápida radiación entre 9,8 – 8,7 Ma (Verboom et al. 2003) Recientemente Klak y colaboradores (2004) han descrito para Sudáfrica, la máxima tasa de especiación considerando plantas y animales. El grupo Aizoaceae, es una suculenta que representa el 1,6 de las especies endémicas de Sudáfrica (40% de la flora de Sudáfrica es endémica) con una diversificación rápida y reciente entre 3,8 a 8,7 Ma, con tasas de diversificación entre 0,77 a 1,75 especies por Ma. Esta tasa de diversificación es considerada a la fecha, la más alta dentro de plantas y animales. En plantas, las familias de angiospermas presentan tasas de diversificación entre 0,12 y 0,39 especies por Ma (Eriksson & Bremer 1992), en el orden de angiospermas un máximo de 0,76 especies por Ma (Magallón et al. 2001) o en especies de las islas Hawaianas entre $0,56 \pm 0,17$ especies por Ma (Baldwin & Sanderson 1998). En Sudamérica el género *Astragalus*, presenta tasas de sustitución que varía entre $2,01 \pm 0,07$ a $2,07 \pm 0,14$ especies por Ma (Scherson et al. 2008). En animales las tasas de diversificación son para hexápodos de 0,05 especies por Ma (Mayhew

2002), caballos del Neógeno 0,5 a 1,4 especies por Ma (Hulbert 1993), o drosophilidios de las islas Hawaianas 1,21 especies por Ma (McCune 1997). En Australia, también existen eventos de divergencia a nivel de flora asociada con condiciones de aridez. Tal es el caso de Gnaphalieae, donde la divergencia masiva se corresponde con aumentos de la aridización en el continente australiano en el Mioceno (Bayer et al. 2002).

Un aspecto notable en el género *Leucocoryne* es la tendencia para grandes disyunciones entre las poblaciones de la misma especie. Esta tendencia se manifiesta especialmente en las 13 taxa del linaje III, especialmente en *L. apendiculata*, *L. narcissoides*, *L. dimorphopetala*, *L. vittata*, *L. macropetala* y *L. conferta*. Lo anterior sugiere, que éstas especies de *Leucocoryne* podrían haber ocupado extensiones territoriales más continuas en el pasado, pero que por intensificación de la aridez, se disgregaron, generando un patrón disyunto de pequeñas poblaciones. La situación que se observa actualmente dentro de estas especies nos ayuda entender los procesos de especiación que subyacen los patrones de diversificación reflejados en la filogenia del género. Varios autores sostienen que la alta diversidad de especies en las zonas áridas se relaciona con la fragmentación del hábitat debido a limitaciones de humedad, diversidad local del terreno y tipo de suelo (Stebbins 1952, Lewis 1966, Axelrod 1972). Lewis (1962) propone que la alta diversidad de especies en zonas áridas se debe a la extinción local de las poblaciones con sobrevivencia de ciertos individuos por un proceso que él denominó "selección catastrófica", seguido por su posterior aislamiento reproductivo. La selección catastrófica se trata de la subsistencia de poblaciones

con una reorganización cromosómica diferente a la de sus parentales. La alta divergencia de los taxa del linaje III de *Leucocoryne*, por ejemplo, podría deberse a factores asociados a la variación de las condiciones de aridez en la zona litoral. Los posibles mecanismos de especiación, que estarían interactuando en este escenario, son: (a) especiación alopátrica, por heterogeneidad ambiental, dejando un patrón poblacional de parches o mosaico. Lo anterior habría impedido el flujo génico, favoreciendo la evolución independiente de las poblaciones. El flujo génico entre poblaciones, habría disminuido principalmente, por falta de regeneración de nuevos individuos producto de cruzamientos interpoblacionales, debido a que sus semillas no lograrían germinar pues estas requieren altos niveles de humedad (Jara-Arancio et al. 2006) y por que las poblaciones no podrían haber recuperado su forma continua, debido a que la compactación del suelo árido disminuiría la reproducción vegetativa, (b) especiación peripátrica, donde pequeños grupos colonizaron nuevos territorios, y posteriormente quedaban aislados de la población de origen, debido a la aridización de las zonas de contacto, las que impidieron el flujo génico entre poblaciones. En ambos casos, se plantea que luego de formarse este mosaico poblacional, asociado a condiciones de aridez, se generaron extinciones locales que redujeron significativamente el número de poblaciones disyuntas. Esta reducción, se puede deber principalmente a que las poblaciones disyuntas presentaban pocos individuos, lo cual, las dejaba muy vulnerables a cuellos de botella por incrementos de la aridez, favoreciendo la acción de la deriva génica y del efecto antrópico.

Un factor relevante en la dinámica de especiación en *Leucocoryne* es el efecto del Oscilación del Sur El Niño "ENSO", en la zona costera. El Niño, apareció alrededor 3 Ma (Federov et al. 2006, Ravelo et al. 2004) precisamente cuando se registra una diversificación notable de especies del género *Leucocoryne* en el desierto costero. En los años Niña se disminuyen las precipitaciones, en tanto que se aumenta la nubosidad costera. Por lo contrario, los años Niño se asocian a aumentos de precipitaciones y disminución drástica de las condiciones de nubosidad costera, y por ende, de humedad. Los años Niña favorecerían la permanencia de poblaciones que viven en zonas donde se acumula abundante humedad, producto de la condensación de la nubosidad costera. En contraste, los años Niño tenderían a favorecer los cuellos de botella producto de la disminución de la humedad costera en ambientes ya hiperáridos. Cabe destacar que hoy día, este proceso esta siendo intensificado por el efecto antrópico, lo cual tiene en serio peligro de extinción varios taxa del género, destacando a *L. talinensis*, si es que ya no ha sido extinguida en forma natural.

La condición de aridez, no es el único factor que podría estar influenciando la especiación de los taxa de linaje III de *Leucocoryne*. Podemos citar otros factores como: (a) especiación reductiva, producto de la generación de híbridos a nivel interespecífico (entre cruces de algunas de taxa de *Leucocoryne*) o intergenérico (*Leucocoryne* con *Tristagama*) observados por Moreno et al. (preparación) y Salas & Mansur 2004. Moreno et al. (en preparación) ha descrito que posterior a la formación de híbridos entre *L. coquimbensis* y *L. purpurea*, la descendencia híbrida logra sobrevivir mediante propagación vegetativa por

bulbillos, formando sectores de enjambre híbrido en las zonas de contacto de ambas especies parentales, (b) especiación aditiva, donde se considerarán los siguientes mecanismos de especiación: (i) especiación simpátrica a nivel de reproducción asexual (clones). Varios autores han descrito que el principal mecanismo de propagación dentro de los taxa del género *Leucocoryne* es vegetativa mediante formación de bulbillos (Zöellner 1972, Ravenna et al. 1998, Muñoz & Moreira 2000, Mansur 2004). Este proceso, favorece la formación de clones idénticos a su parental de origen sin variabilidad genética entre ellos e impide el flujo génico entre poblaciones. Entre los taxa estudiados, la propagación sexual se ve significativamente disminuida por la falta de condiciones de humedad necesarias para la germinación de sus semillas (Jara-Arancio et al. 2006), y (ii) especiación simpátrica asociada a la poliploidía. Para el género en estudio, se ha descrito la existencia de poliploides, con reorganizaciones cromosómicas diferentes a la de sus progenitores (Moreno et al. preparación, Salas & Mansur 2004). Este fenómeno genera altos niveles de aislamiento reproductivo postcigoto con sus progenitores, generando en estas cruces individuos no viables (Köhler et al. 2009).

- **Ubicación altitudinal (tierras bajas o altas) del ancestro del género *Leucocoryne***

El origen altitudinal (tierras bajas o altas) del ancestro del grupo monofilético *Leucocoryne* resultó ambiguo (Fig. 4.4 a y b). Teniendo en cuenta la ya conocida temprana divergencia del género *Leucocoryne*, es decir con una cordillera que aún

no habría alcanzado mayores alturas, y tomando en cuenta las distribuciones actuales de las especies del género, resultó más parsimonioso concluir que el ancestro habitaba tierras de baja altura. Producto del gradual aumento en la altura de la cordillera y procesos afines, y sus efectos en el clima regional, se ha propuesto que se habrían producido dos focos de diversificación: (a) el linaje I (Mioceno superior) se habría refugiado en tierras altas para escapar de las condiciones de aridez. En lugares de altura, existe menor estrés hídrico, debido a una disminución de la evapotranspiración como resultado de épocas de crecimiento de menor duración y menores temperaturas (Körner 1999) y (b) los linajes II y III más recientes, habrían diversificado en el desierto costero, donde las condiciones de nubosidad costera determinan mayor humedad, de modo análogo a lugares de mayor altura en los Andes. Como regla general, se propone que este patrón estaría típico en taxa de la flora de Chile distribuidos principalmente en el Norte Chico y Norte Grande del país. De hecho, se observa nítidamente en *Chaetanthera* y *Malesherbiaceae* donde hay linajes que han colonizado los Andes, y otros relegados a la franja costera.

- **Filogenia molecular y citogenética**

En los resultados citogenéticos a nivel de número cromosómico se esperaba encontrar linajes con $2n = 18$ y $2n = 10$, lo cual sólo se corrobora en alguno de ellos (Fig. 4.5, 4.6). En el caso de conversión de número cromosómico de $2n = 10$ a $2n = 18$, se postula una hipótesis sobre la evolución cromosómica, que sugiere que habría ocurrido duplicación genómica (poliploidización) en formas

ancestrales de taxa $2n = 10$ para así dar origen al grupo $2n = 18$. Tal duplicación genómica sería adicional a la ocurrencia de re-arreglos cromosómicos que habrían generado cambios en la arquitectura nuclear tendiendo a un predominio de la metacentría (o simetría) cromosómica.

La duplicación cromosómica que postulamos es mediante aloploidía, donde se habrían formado híbridos entre taxa diferentes y posterior a ello el híbrido duplicaría sus cromosomas. Esta aloploidía permitiría obtener individuos con mayor vigor híbrido, otorgando propiedades de valor adaptativo (Grant 1989). Hay que recalcar que los taxa de *Leucocoryne* se reproducen principalmente mediante reproducción vegetativa vía la producción de bulbillos, lo cual favorecería el estabilización de los híbridos. Darlington (1965) postula que la propagación vegetativa favorece la supervivencia de individuos poliploides. Según Gustafsson (1946) la reproducción clonal reduce la recombinación genética, pero facilita en especies longevas, que producen muchos clones, la posibilidad de reproducción cruzada intraclonal, lo cual, eventualmente podría dar origen a semillas que formen derivados aloploidios fértiles. Con la información que disponemos de los análisis cromosómicos obtenidos en esta tesis, es imposible comprobar nuestros postulados, y determinar con seguridad si el paso de $2n = 10$ a $2n = 18$ es una duplicación con posterior reorganización cromosómica. Es necesario desarrollar nuevos análisis de carácter específicos como bandas C y zonas NOR, que permitirán clarificar con mayor certeza las relaciones cromosómicas entre taxa y hacer pruebas de fertilidad a los híbridos naturales. No obstante, un aspecto no esperado en nuestros resultados es la distribución de las

dotaciones cromosómicas en la filogenia. Las especies con $2n = 10$ y $2n = 18$ están repartidos en varios linajes, lo que sugiere múltiples apariciones de $2n = 18$. Sin embargo, es necesario desarrollar nuevos análisis de carácter específicos que permitirán clarificar con mayor certeza las relaciones cromosómicas entre taxa.

- ***L. coquimbensis* var. *alba* y *L. aff. vittata* se pueden considerar como nuevas especies para el género *Leucocoryne*?**

Antes de remitirnos a la problemática planteada a nivel de *L. coquimbensis* var. *alba* y *L. aff. vittata*, hay que considerar algunas definiciones de especie: (i) especie taxonómica: un grupo de individuos morfológicamente similares consistentes y persistentemente distintos y distinguibles por medios ordinarios (Cronquist 1978), (ii) especie biológica; un sistema de poblaciones naturales que pueden entrecruzarse y están reproductivamente aisladas de otros grupos (Dobzhansky 1937), y (iii) especie evolutiva; un linaje con relación ancestro descendiente que evoluciona separadamente de otros (Simpson 1951). Wiley (1978) sostiene que una especie evolutiva es un linaje de poblaciones de organismos, el cual mantienen su identidad en el proceso de la evolución.

Para dar mayores luces a este problema en el caso de los dos taxa mencionados, se realizó un análisis de agrupamiento y componentes principales (PCA) con los 19 caracteres morfológicos estudiados. Se construyó una matriz de datos con los valores promedios para cada taxa. En el análisis de agrupamiento se utilizó la distancia Euclidiana como la medida de la diferencia entre los taxa

estudiados y se aplicó el algoritmo UPGMA para construir un fenograma de similitud. El patrón de agrupamiento se validó mediante un procedimiento de aleatorización para definir los grupos estadísticamente significativos. El proceso de aleatorización, consistió en reasignar al azar los valores observados de las variables estandarizadas (remuestreo sin reemplazo) y con ello se recalculó la matriz de distancia Euclidea. El procedimiento se repitió 1000 veces y se construyó un histograma con todos los valores de distancias Euclideas recalculado. Se estimó la distancia Euclidea mínima esperada por azar como el percentil 5% de la distribución. Este valor se consideró como la distancia crítica o línea de corte para determinar los grupos estadísticamente significativos. En el análisis PCA se graficaron los primeros dos componentes y se calculó el porcentaje de la varianza total. El PCA (Fig. 4.7a) muestra que los tres primeros factores explican la mayor parte de la varianza total (58,8%), con valores de 25,2%, 20,5% y 13,1% respectivamente. El Eje 1, separa dos grandes grupos (A y B). El grupo A se subdivide en dos en el Eje 2. En el análisis de agrupamiento (Fig. 4.7b) se observan resultados semejantes con los encontrados en PCA. Si nos centramos en los taxa de interés, podemos observar que tanto en los análisis de *L. coquimbensis* var. *alba* con *L. coquimbensis* var. *coquimbensis* y en los de *L. vittata* con *L. aff. vittata*, sus distribuciones se encuentra entre los rangos de separación de otras taxa avaladas taxonómicamente como especies (Fig. 4.8 a y b). Lo cual, revela que a nivel de caracteres morfológicos los taxa de interés, presentarían características morfológicas lo suficientemente discrepantes para ser considerados especies diferentes y no afinidades o variedades.

Entonces si consideramos las definiciones de especies a nivel taxonómico, biológico y evolutiva y las contrastamos con los resultados obtenidos de diferentes análisis y lo descrito en literatura sobre los taxa del género *Leucocoryne*, podemos determinar lo siguiente para cada definición de especie: (i) especie taxonómica, si contrastamos esta definición con las características morfológicas propias de *L. coquimbensis* var. *alba* y *L. aff. vittata*, podemos determinar que ambas taxa presentan caracteres morfológicos diferentes a los demás taxa del género *Leucocoryne* a nivel de forma y coloración. Estas características les permiten diferenciarse morfológicamente de las demás especies del género en estudio, (ii) especie biológica, si asumimos que una especie biológica es aquella que no forma híbridos interespecíficos, porque está aislada reproductivamente de otros taxa, entonces los datos obtenidos por Moreno et al. (en preparación) y Salas y Mansur (2004) estarían reflejando que muchos de los taxa establecidos como especies actuales no serían especies, pues existirían recombinaciones interespecíficas (Fig. 4.9). Aunque, la hibridación es un fenómeno común en muchos grupos de plantas siendo entre el 50% y 80% de las angiospermas de origen híbrido (Heiser 1949), hay que destacar que la definición de especie biológica no permite la hibridación entre especies y (iii) especie evolutiva, si observamos los resultados filogenéticos se esperaría que *L. coquimbensis* var. *coquimbensis* formara parte del mismo clado que *L. coquimbensis* var. *alba*. En el caso de *L. vittata* y *L. aff. vittata* ambos son terminales de un mismo nodo, como lo son otros taxa como *L. alliacea* y *L. conferta* o *L. narcissoides* y *L. dimorphopetala*. Al considerar los datos cromosómicos, en ambos casos se presentan números cromosómicos iguales ($n = 9$, *L. coquimbensis* var. *coquimbensis* y *L. coquimbensis* var. *alba* y $n = 5$, *L. vittata*

y *L. aff. vittata*) y al comparar los pares cromosómicos no existen diferencias entre ellos respectivamente, de igual forma como en otros taxa del género *Leucocoryne*.

Teniendo en cuenta todos estos antecedentes recién mencionados, concluimos que *L. coquimbensis* var. *alba* y *L. aff. vittata* podrían considerarse como especies nuevas para el género. Aunque, para poder ser sugeridas como especies y no afinidad o variedad, se deben realizar nuevos análisis donde se incluya una clave taxonómica nueva para el género.

Sistemática molecular y taxonomía

Luego de realizar este estudio al interior del género *Leucocoryne*, donde fueron utilizados diferentes caracteres y análisis para poder resolver las interrogantes planteadas podemos destacar que sin la conjunción de diferentes aproximaciones no se habrían podido contestar las interrogantes planteadas. La sistemática molecular nos brindó la posibilidad de obtener información sobre las relaciones filogenéticas entre los taxa utilizados, determinar tiempos de divergencia, probar la monofilia del grupo y determinar la ubicación altitudinal del posible ancestro del género estudiado. Pero estos resultados no hubieran sido integradores de no haber considerado también caracteres morfológicos, citogenéticos y datos ecológicos de los taxa. En conjunto, toda la información permitió tener una visión más amplia de la historia del género en estudio.

En la actualidad, la taxonómica se basa en datos observables por el investigador (morfológicos, ecológicos) para poder clasificar a los organismos. Pero, con esta información, se pueden cometer algunos errores, por ejemplo como convergencia fenotípica, o determinar caracteres discriminatorios sin considerar la existencia de plasticidad fenotípica. En otras palabras, como el fenotipo es lo evaluado por el método taxonómico tradicional, puede tener algunas falencias debido a que el fenotipo es modulado por el ambiente. Por ejemplo, en nuestro estudio, diferencias como número o forma de los estambres, determinó que por la vía taxonómica, *L. dimorphopetala* y *L. narcissoides*, fueran clasificados en diferentes géneros, tan sólo por presentar esas características diferentes a los demás taxa del género *Leucocoryne*. En cambio, al realizar los estudios sistemáticos moleculares o análisis citogenéticos, se logró determinar que ambas taxa pertenecían al género en estudio, y que los caracteres discrepantes no los excluía del género en estudio.

En otras palabras, para analizar las relaciones entre individuos o sus características poblacionales, es imprescindible trabajar con diferentes aproximaciones que son complementarias y que pueden optimizar los resultados y dar respuestas más certeras a las preguntas planteadas. Por ejemplo, los resultados de análisis filogenéticos, tiempos de divergencia, método comparado o estudios biogeográficos entre otros, no tienen valor práctico, si no conocemos las características morfológicas, fisiológicas, ecológicas entre otras, de los individuos estudiados. Sin la conjunción de ambas líneas de investigación (sistemática

taxonómica y sistemática filogenética) no se podrían dar respuestas claras e integradoras a nuestras interrogantes.

REFERENCIAS

- ALPERS CN & GH BRIMHALL (1988) Middle Miocene climatic change in the Atacama Desert, northern Chile: evidence from supergene mineralization at La Escondida. *Geological Society of America Bulletin* 100: 1640-1656.
- ARANEDA L, P SALAS & L MANSUR (2004) Chromosome numbers in the Chilean endemic genus *Leucocoryne* (Huilli). *Journal of the American Society for Horticultural Science* 129(1): 77-80.
- ARROYO MTK, FA SQUEO, JJ ARMESTO & C VILLAGRÁN (1988) Effects of aridity on plant diversity in the northern Chilean Andes: Results of a natural experiment. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 75: 55-78.
- BALDWIN BG & MJ SANDERSON (1998) Age and rate of diversification of the Hawaiian silverswood alliance (compositae). *Proceedings of National Academy of Sciences* 95: 9402-9406.
- BAYER RJ, DG GREBER & NH BAGNALL (2002) Phylogeny of Australian Gnaphalieae (Asteraceae) Based on Chloroplast and Nuclear Sequences, the trnL Intron, trnL/trnF Intergenic Spacer, matK, and ETS. *Systematic Botany* 27(4): 801-814.
- CRONQUIST A (1978) Once again, what is a species? *Beltsville Symposium Agricultural. Research* 2: 3-20.
- CROSA O (1988) Los cromosomas de nueve especies del género chileno *Leucocoryne* Lindley, (Allieae – Alliaceae). *Boletín de investigación* N° 17. Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Montevideo, Uruguay.
- DARLINGTON CD (1965) *Cytology*. Churchill, Londres. 769 pp.

- DOBZHANSKY TH (1937) Genetics and the origin of species. Columbia University Press, New York. 364 pp.
- ERIKSSON O & B BREMER (1992) Pollination Systems, dispersal modes, lifeforms, and diversification rates in Angiosperm families. *Evolution* 46: 258-266.
- EZCURRA C (2002) Phylogeny, morphology, and biogeography of *Chuquiraga*, an Andean-Patagonian genus of Asteraceae-Barnadesioideae. *The Botanical Review* 68(1): 153-170.
- FARIAS M, R CHARRIER, A FOCK, D CAMPBELL, J MARTINOD & D COMTE (2005) Rapid late Cenozoic surface uplift of the central Chile Andes (33°-35°S). In: 6th International Symposium on Andean Geodynamics, Barcelona, Spain. 261-265 pp.
- FEDEROV AV, PS DEKENS, M MCCARTHY, AC RAVELO, PB DEMENOCAL, M BARREIRO, RC PACANOWSKI & S PHILANDER (2006) The Pliocen paradox (Mechanism for a permanent El Niño). *Science* 312: 1485-1489.
- GARCIA M & G HERAIL (2005) Fault-related folding, drainage network evolution and valley incision during the Neogene in the Andean Precordillera of Northern Chile. *Geomorphology* 65: 279-300.
- GARZIONE CN, GD HOKE, JC LIBARKIN, S WITHERS, B MACFADDEN, J EILER, P GHOSH & A MULCH (2008) Rise of the Andes. *Science* 320: 1304-1307.
- GENGLER-NOWAK K (2002) Reconstruction of the biogeographical history of Malesherbiaceae. *The Botanical Review* 68(1): 171-188.

- GIAMBIAGI LB (2003) Deformación cenozoica de la faja plegada y corrida del Aconcagua y Cordillera Frontal, entre los 33°30' y 33°45'S. *Revista de la Asociación Geológica Argentina* 58: 85-96.
- GIVNISH TJ & KJ SYSTMA (1997) *Molecular evolution and adaptive radiation*. New York, NY: Cambridge University Press.
- GRANT V (1989) *Especiación vegetal*. Editorial Limusa, México. 511 pp.
- GREGORY- WODZICKI KM (2000) Uplift history of the Central and Northern Andes: A review. *Geological Society of America Bulletin* 112: 1091-1105.
- GUSTAFSSON A (1946) Apomixis in higher plants. *Lunds Universitets Arsskrift* 42: 1-370.
- HARTLEY AJ & G CHONG (2002) Late Pliocene age for the Atacama Desert: implications for the desertification of western South America. *Geology* 30: 43-46.
- HARTLEY AJ (2003) Andean uplift and climate change. *Journal of the Geological Society* 160: 7-10.
- HERNANDEZ M, C DONOSO, M ROMERO (1996) Variación genecológica de dos poblaciones contiguas de *Drimys winteri* (Forst.). *Bosque* 17(2): 65-75.
- HERSHKOVITZ MA, MTK ARROYO, C BELL & LF HINOJOSA (2006a) Phylogeny of *Chaetanthera* (Asteraceae: Mutisieae) reveals both ancient and recent origins of the high elevation lineages. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 41: 594-605.

- HERSHKOVITZ MA, CC HERNÁNDEZ-PELLICER & MTK ARROYO (2006b) Ribosomal DNA evidence for the diversification of *Tropaeolum* sect. *Chilensia* (Tropaeolaceae). *Plant Systematics and Evolution* 260(1): 1-24.
- HESLOP-HARRISON J (1964) Forty years of Genecology. *Adv. Ecol. Res.* 2: 159-247.
- HINOJOSA LF & C VILLAGRÁN (1997) Historia de los bosques del sur de Sudamérica, I: Revisión de los antecedentes geológicos, climáticos y paleobotánicos Terciarios del sur de Sudamérica. *Revista Chilena de Historia Natural* 70: 225-239.
- HULBERT RC (1993) The rise and fall of an adaptative radiation. *Paleobiology* 19: 216-234.
- IRIGOYEN MV, KL BUCHAN & RL BROWN (2000) Magnetostratigraphy of Neogene Andean foreland-basin strata, Lat 33°S, Mendoza Province, Argentina. *Geological Society of America Bulletin* 112: 803-816.
- JARA PA, G ARANCIO, R MORENO & MR CARMONA (2006) Factores abióticos que influyen la germinación de seis especies herbáceas de la zona árida de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 79:309-319.
- KLAK C, G REEVES & T HEDDERSON (2004) Unmatched tempo of evolution in Southern African semi-desert ice plants. *Nature* 427: 63-65.
- KÖHLER C, OM SCHEID & A ERILOVA (2009) The impact of the triploid block on the origin and evolution of polyploid plants. *Trends in Genetics* 26(3): 142-148.
- KÖRNER C (1999) *Alpine plant life: functional plant ecology of high mountain ecosystems*. Springer-Verlag, Berlin. 343 pp.

- LUEBERT F & J WEN (2008) Phylogenetic analysis and evolutionary diversification of *Heliotropium* Sect. *Cochranea* (Heliotropiaceae) in the Atacama Desert (2008) *Systematic Botany* 33(2): 390-402.
- LUEBERT F, J WEN & MO DILLON (2009) Systematic placement and biogeographical relationships of the monotypic genera *Gypothamnium* and *Oxyphyllum* (Asteraceae: Mutisioideae) from the Atacama Desert. *Botanical Journal of the Linnean Society* 159: 32-51.
- MAGALLÓN S & MJ SANDERSON (2001) Absolute diversification rates in Angiosperm clades. *Evolution* 55: 1762-1780.
- MANSUR L, O ZÖELLNER & P RIEDEMANN (2002) *Leucocoryne* un género nativo chileno y su uso como planta de jardín. Edición Reimco Limitada, Chile. 50 pp.
- MANSUR L & MA CISTERNA (2005) *Leucocoryne talinensis* (Alliaceae), a new species from Chile. *Novon* 15: 324-326.
- MARTICORENA C & M QUEZADA (1985) Catálogo de la flora vascular de Chile. *Gayana (Botánica)* 42: 1-152.
- MAYHEW PJ (2002) Shifts in hexapod diversification and what Haldane could have said. *Proc. R. Soc. Lond. B* 269: 969-974.
- MILLANAO D (1984) Diferenciación genecológica de dos poblaciones de *Drimys winteri* Forst. (IX y X Región, Chile). Tesis Ingeniero Forestal, Fac. de Cs. Forestales, Universidad Austral de Chile, Valdivia, 74 pp.
- MORENO R, P JARA-ARANCIO, G ARANCIO, P JARA-SEGUEL & C PALMA-ROJAS (en preparación) Enjambre híbrido entre dos especies del género *Leucocoryne* (Alliaceae), una hipótesis sobre su origen.

- MUÑOZ M & A MOREIRA (2000) Géneros endémicos Monocotiledóneas, Chile. Museo Nacional de Historia Natural. [www. Mnhn.cl/apuntes/botanica/principealbot.htm](http://www.Mnhn.cl/apuntes/botanica/principealbot.htm).
- PEREZ F, MKT ARROYO, R MEDEL & M HERSHKOVITZ (2006) Ancestral reconstruction of flower morphology and pollination systems in *Schizanthus* (Solanaceae). *American Journal of Botany* 93(7): 1029- 1038.
- PHILIPPI RA (1857) *Plantarum novarum Chilensium. Centuria quinta. Linnaea* 29: 48-95.
- RAHN K (1998) Alliaceae. The families and genera of vascular plants. En Kubitzki K (Ed.) *Flowering Plants-Monocotyledons, Lillanae (except Orchidaceae)*. Springer-Verlag, Berlin. 70-78 pp.
- RAVELO A, D ANDREASEN, M LYLE, A LYLE & M WARA (2004) Regional climate shifts caused by gradual global cooling in the Pliocene epoch. *Nature* 429: 263-267.
- RAVENNA PF (1973) Estudios sobre Alliaceae. *Noticiero Mensual del Museo Nacional de Historia Natural* 200: 3-6.
- REICH M, C PALACIOS, G VARGAS, S LUO, EM CAMERON, MI LEYBOURNE, MA PARADA, A ZÚÑIGA & C YOU (2009) Supergene enrichment of copper deposits since the onset of modern hyperaridity in the Atacama Desert, Chile. *Mineralium* 44(5): 1432-1866.
- RIEDEMANN P (2002) Descripción del género *Leucocoryne* seleccionados para el paisajismo. En Mansur L, O Zöellner & P Riedemann (Eds.) *Leucocoryne un género nativo chileno y su uso como planta de jardín*. Edición Reimco Limitada, Chile. 50 pp.

- RIESEBERG L (1997) Hybrid origins of plants species. *Annual Review of Ecology and Systematics* 28: 359-389.
- RIQUELME R, G HÉRAIL, J MARTINOD, R CHARRIER & J DARROZES (2007) Late Cenozoic geomorphologic signal of Andean forearc deformation and tilting associated with the uplift and climate changes of the Southern Atacama Desert (26°S–28°S). *Geomorphology* 86(3-4): 283-306.
- RICHARDSON JE, FM WEITZ, MF FAY, QCB CRONK, HP LINDER, G REEVES & MW CHASE (2001) Rapid and recent origin of species richness in the Cape flora of South Africa. *Nature* 412: 181-183.
- SALAS P & L MANSUR (2004) Gene flow between parents with different ploidy levels in a natural population of *Leucocoryne* Lindley. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 129(6): 833-835.
- SCHERSON RA, R VIDAL & MJ SANDERSON (2008) Phylogeny, biogeography, and rates of diversification of new world *Astragalus* (Leguminosae) with an emphasis on South American radiations. *American Journal of Botany* 95(8): 1030-1039.
- SCHMITHÜSEN J (1956) Die räumliche Ordnung der chilenischen vegetation. *Bommer Geographische Abhandlungen* 17: 1-86.
- SIMPSON GG (1951) The species concept. *Evolution* 5: 285-298.
- SIMPSON BB (1983) An historical phytogeography of the high Andean flora. *Revista Chilena de Historia Natural* 56: 109-122.
- STEBBINS GL (1950) *Variation and Evolution in Plants*. Columbia Univ. Press, New York. 643 pp.

- TOSDAL RM, AH CLARK & E FARRAR (1984) Cenozoic polyphase landscape and tectonic evolution of the Cordillera Occidental, southern Peru. *Geol. Soc. Am. Bull.* 95: 1318–1332.
- TU T, MO DILLOND, H SUN & J WEN (2008) Phylogeny of *Nolana* (Solanaceae) of the Atacama and Peruvian deserts inferred from sequences of four plastid markers and the nuclear LEAFY second intron. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49(2): 561-573.
- VANDERVOORT DS, TE JORDAN, PK ZEITLER & RN ALONSO (1995) Chronology of internal drainage development and uplift, southern Puna plateau, Argentine central Andes. *Geology* 23: 145-148.
- VILLAGRÁN C & HINOJOSA LF (1997) Historia de los bosques del sur de Sudamérica II: Análisis fitogeográfico. *Revista Chilena de Historia Natural* 70: 241-267.
- VILLAGRÁN C & HINOJOSA LF (2005) Esquema biogeográfico de Chile. En Llorente J & JJ Morrone (Eds.) *Regionalización Biogeográfica en Iberoamérica y tópicos afines*. Ediciones de la Universidad Nacional Autónoma de México, México. 551-577 pp.
- WILEY EO (1978) The Evolutionary Species Concept Reconsidered. *Systematic Zoology* 27(1): 17-26.
- ZACHOS J, M PAGANI, L SLOAN, E THOMAS & K BILLUPS (2001) Trends, Rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science* 282: 686-693.
- ZOELLNER O (1972) El género *Leucocoryne*. *Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso* 5: 9-83.

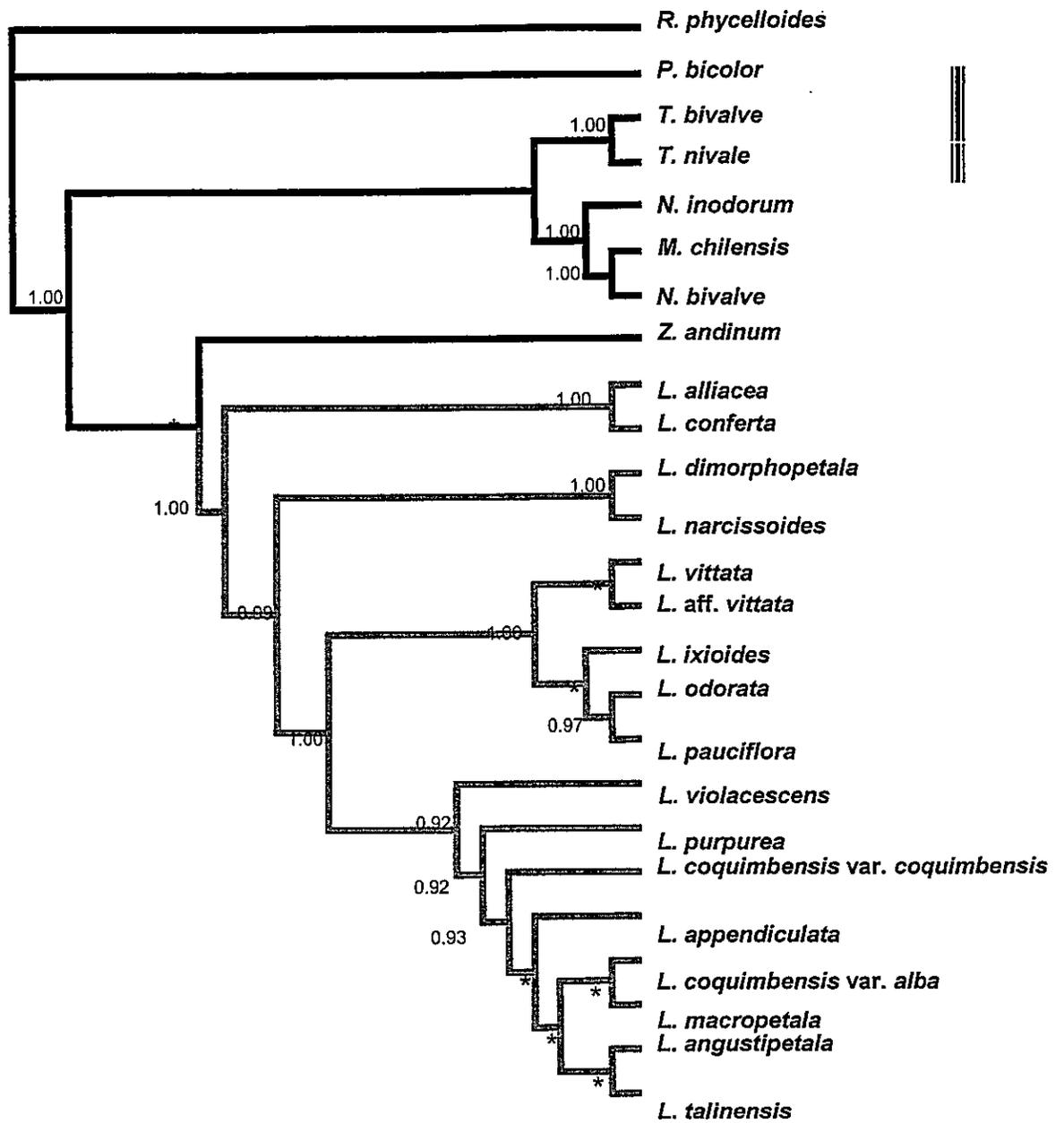


Figura 4.1. Monofilia del género *Leucocoryne*, basado en datos de secuencias de rDNA de la región ITS para 17 taxa del género *Leucocoryne* (Alliaceae) utilizando Inferencia Bayesiana. Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan los nodos < a 0.9 de soporte. La línea doble muestra

grupo monofilético *Leucocoryne*. Líneas negras muestran el grupo externo y gris el grupo interno.

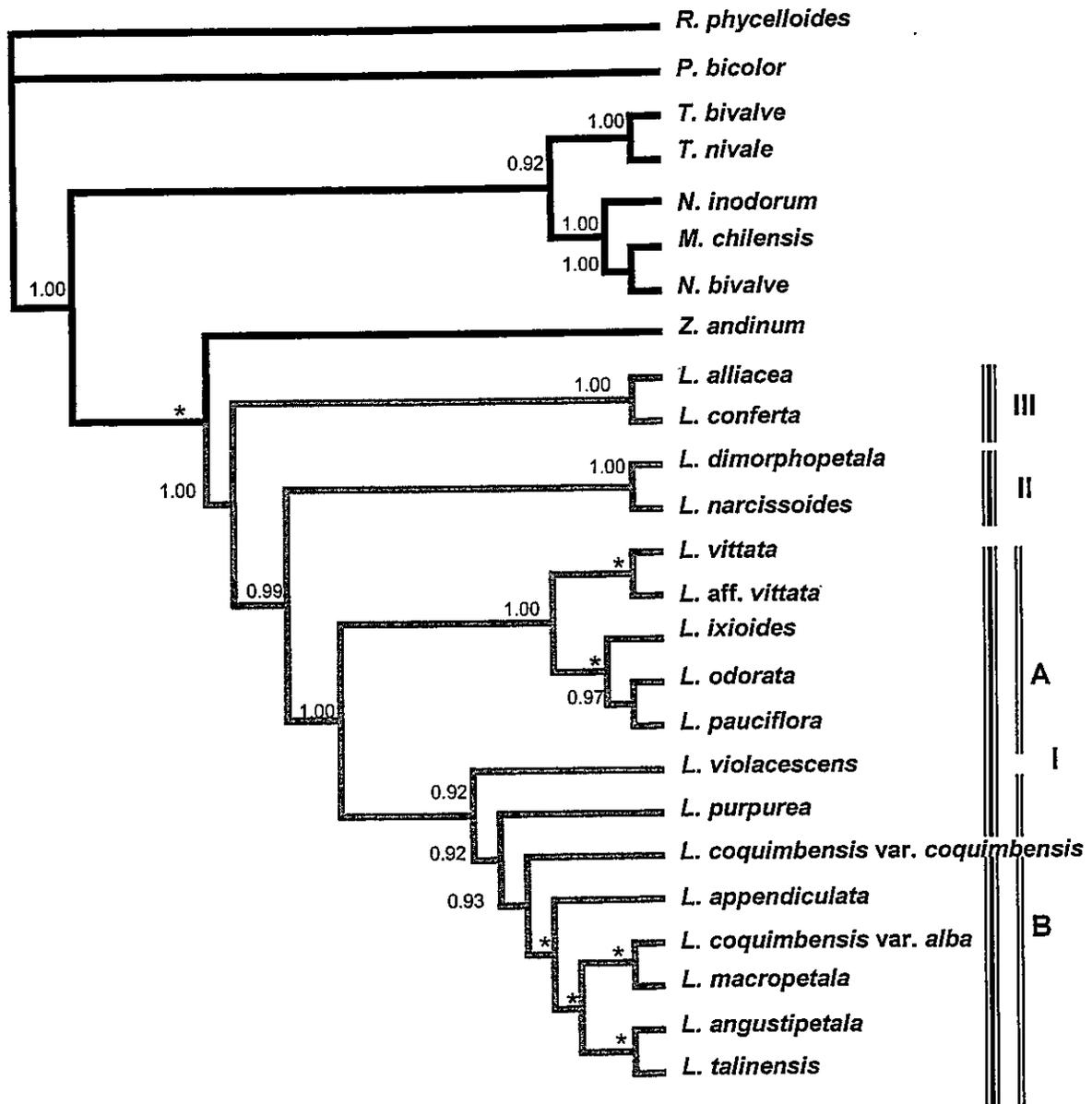


Figura 4.2. Árbol filogenético de Inferencia Bayesiana, basado en secuencias de rDNA de la región ITS, para 17 taxa del género *Leucocoryne* (Alliaceae). Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo, los asteriscos representan los nodos < a 0.9 de soporte. Los números romanos representan los tres principales linajes (I, II y III). La letra A y B, muestran los linajes dentro del linaje III. Líneas negras muestran el grupo externo y gris el grupo interno.

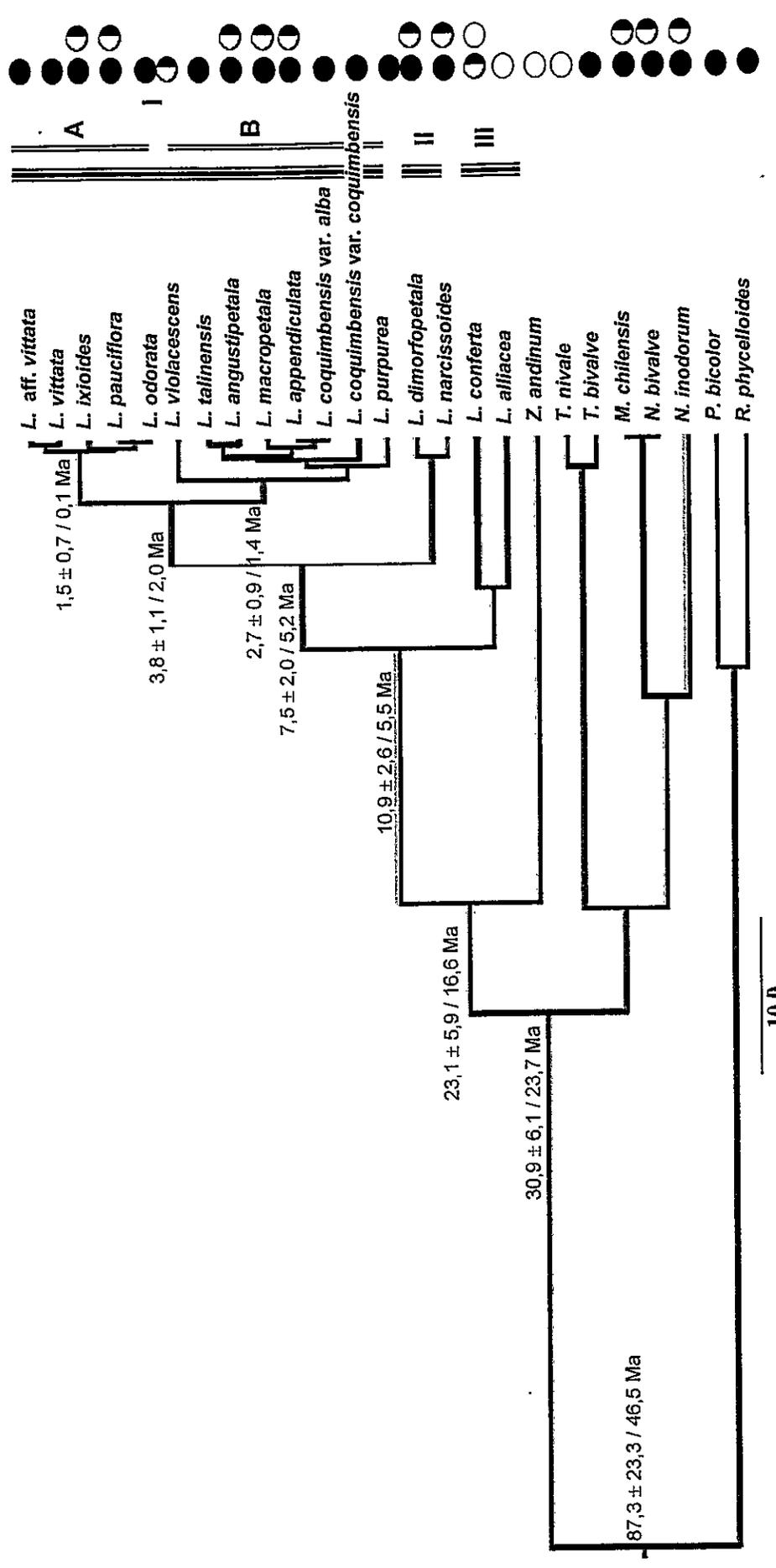


Figura 4.3. Estimación de tiempos de divergencia basado en secuencias de rDNA de la región ITS para *Leucocoryne*, con estadística Bayesiana (promedio y desviación estándar) y método de Neighbor-joining con distancia *p*

respectivamente, expresados en millones de años (Ma). La altura actual de los hábitat de los taxa se representan en círculos de color: blanco (cordillera ≥ 1000 m. s. n. m.), blanco/negro (valle intermedio $> 500 < a 1000$ m. s. n. m.), negro (litoral costero ≤ 500 m. s. n. m). Los números romanos representan los tres principales linajes (I, II y III). La letra **A** y **B**, muestran los linajes dentro del linaje III.

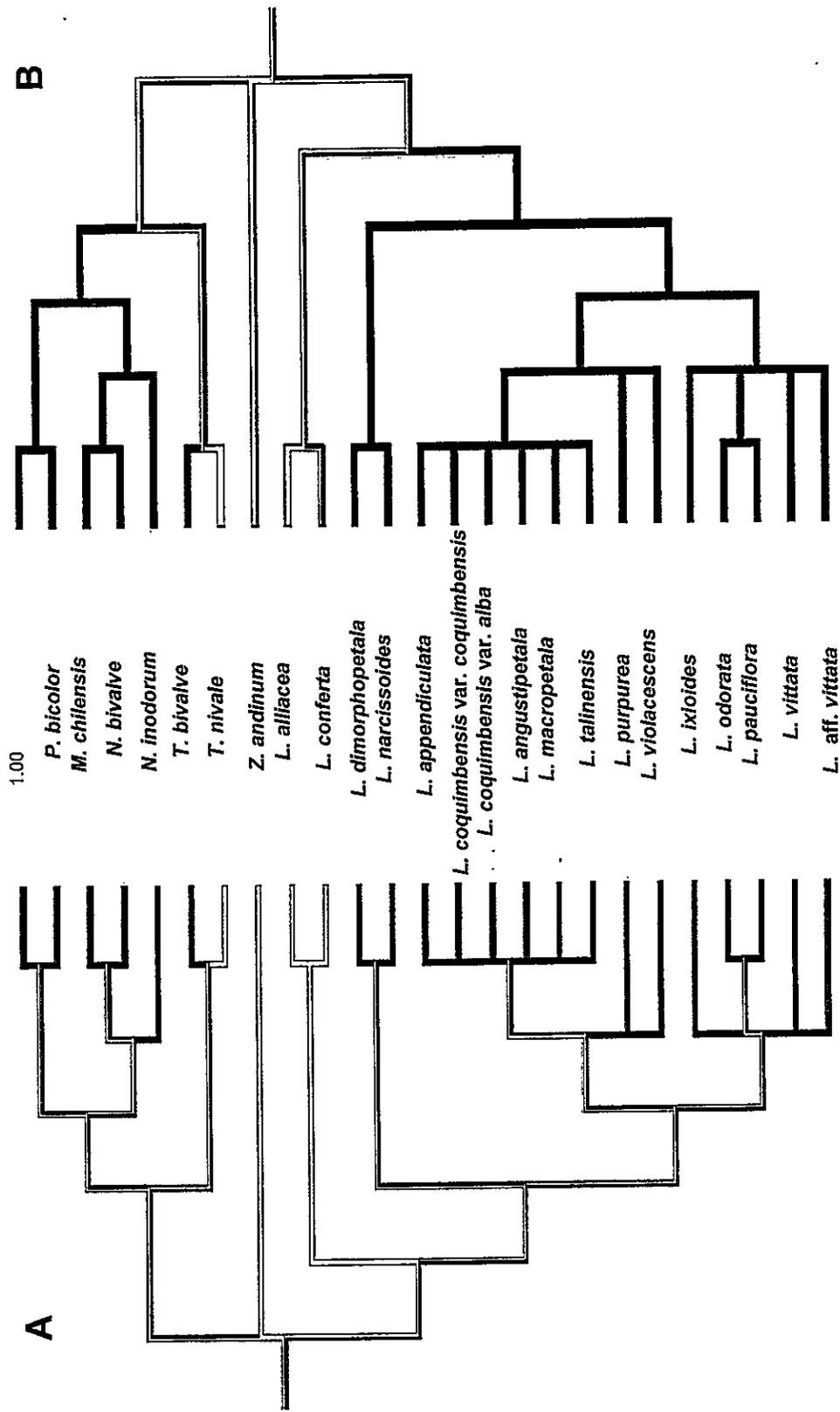


Figura 4.4 a y b. Estados ancestrales de los taxa de *Leucocoryne* a partir de secuencias de rDNA de la región ITS y ubicación altitudinal, mediante análisis de Máxima Verosimilitud (A) y Parsimonia (B). La coloración de las líneas

determina la posible localización altitudinal de los taxa ancestrales: negro (litoral costero ≤ 500 y/o valle intermedio > 500 < a 1000 m. s. n. m.), blanco (cordillera ≥ 1000 m. s. n. m.) y ambos colores (ambiguo, puede habitar en ambos sectores altitudinales).

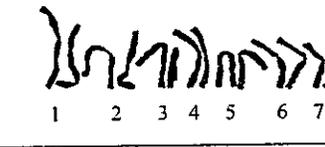
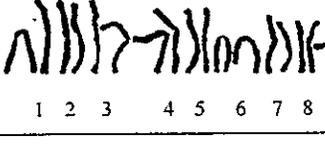
A: Taxa con juego cromosómico haploide n = 9		
<i>L. alliacea</i> Miers ex Lindl.	<i>L. appendiculata</i> Phil.	<i>L. coquimbensis</i> var. <i>coquimbensis</i> F. Phil.
		
<i>L. coquimbensis</i> var. <i>alba</i> Zoëllner	<i>L. dimorphopetala</i> (Gay) Rav.	<i>L. ixioides</i> (Hook) Lindl.
		
<i>L. narcissoides</i> Phil.	<i>L. odorata</i> Lindl.	<i>L. pauciflora</i> Phil.
		
<i>L. talinensis</i> Mansur	<i>L. violacescens</i> Phil.	
		

Figura 4.5a. Cariotipos de los taxa del *Leucocoryne* con juego cromosómico haploide n = 9.

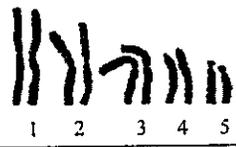
B: Taxa con juego cromosómico haploide n = 5		
<i>L. angustipetala</i> Gay	<i>L. conferta</i> Zoëllner	<i>L. macropetala</i> Phil.
		
<i>L. purpurea</i> Gay	<i>L. vittata</i> Rav.	<i>L. aff. vittata</i> Muñoz
		

Figura 4.5b. Cariotipos de los taxa del *Leucocoryne* con juego cromosómico haploide n = 5.

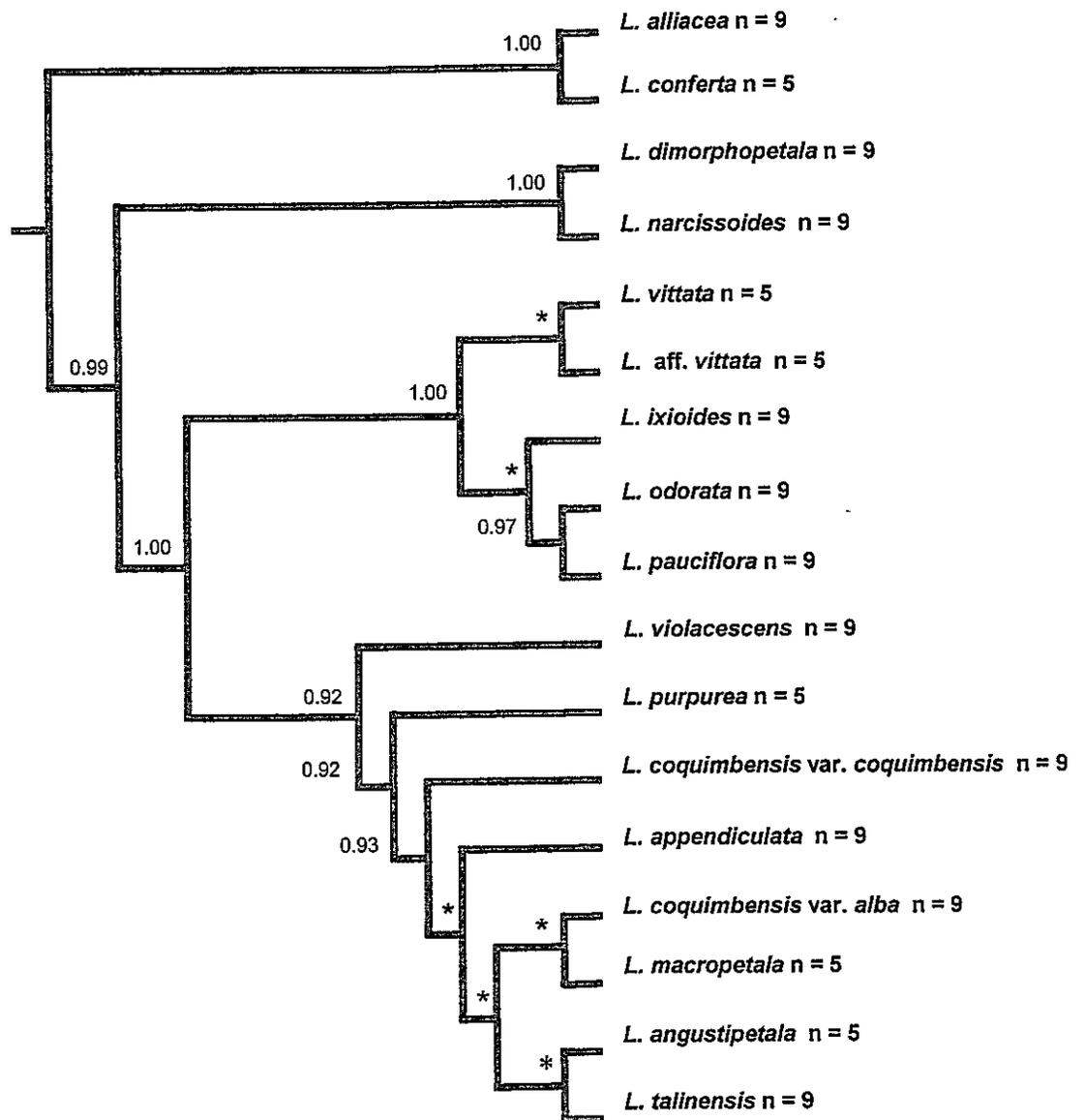


Figura 4.6. Parte del árbol filogenético de Inferencia Bayesiana, basado en secuencias de rDNA de la región ITS, donde se muestra sólo el grupo monofilético *Leucocoryne*. Los valores de credibilidad se muestran sobre cada nodo; los asteriscos representan los nodos < a 0.9 de soporte. Los números cromosómicos haploides se encuentran asociados a los nombres de cada taxa.

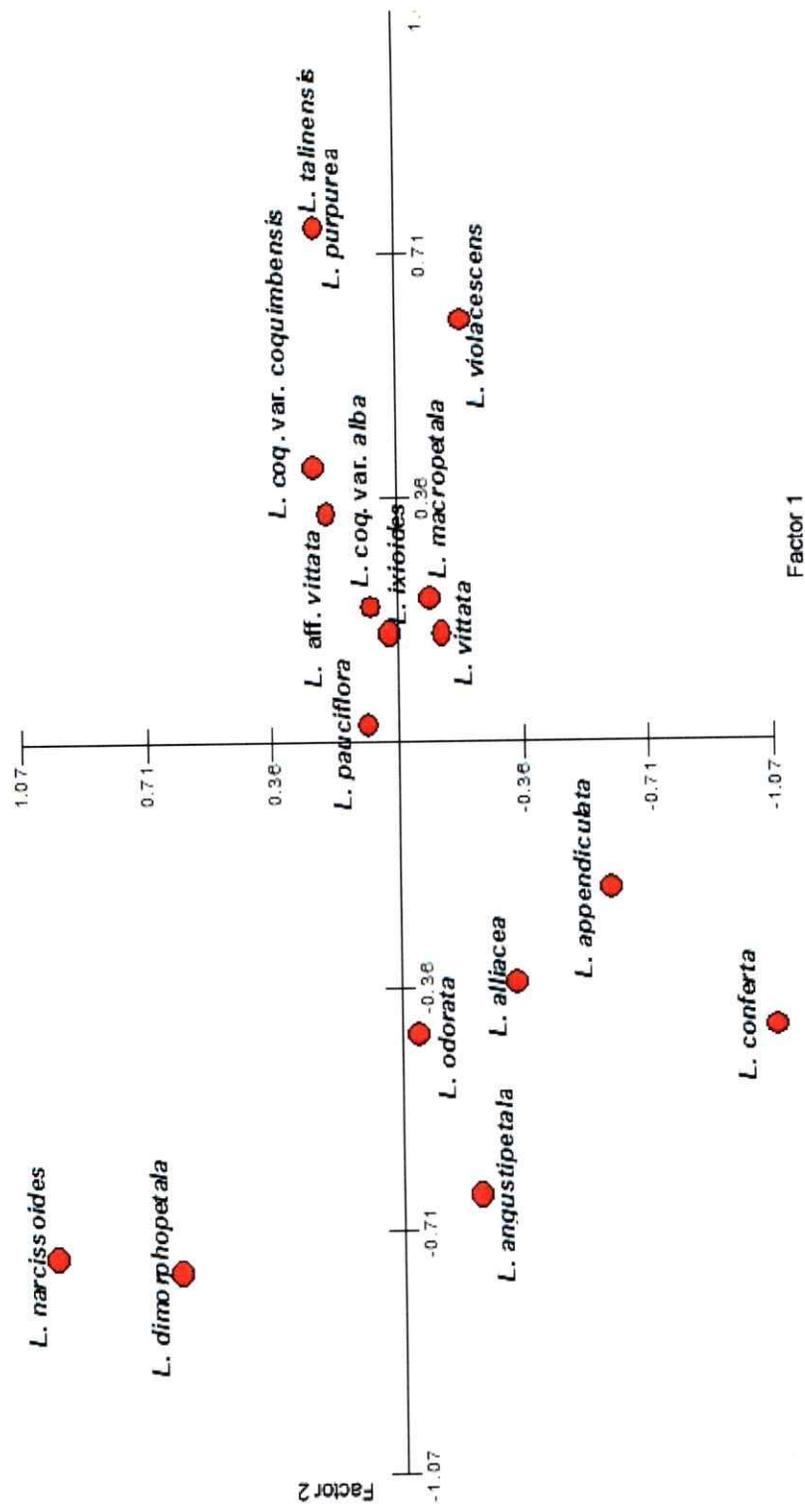


Figura 4.7a. Representación de la variación de 19 caracteres morfológicos de los 17 taxa estudiados del género *Leucocoryne* generados a partir de los dos primeros ejes del análisis de PCA.

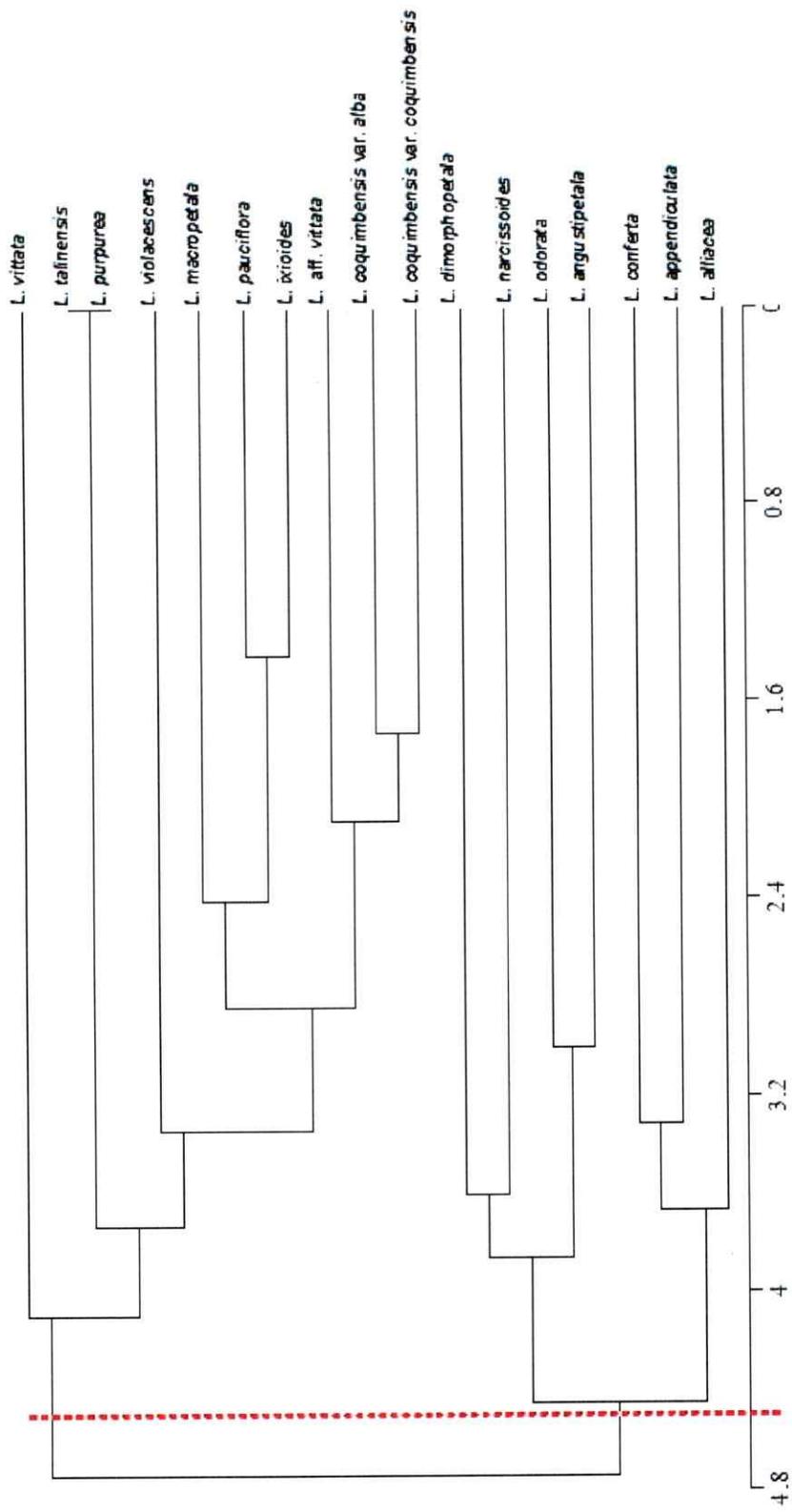


Figura 4.7b. Fenograma UPGMA, obtenido con distancia Euclidean, que muestra las relaciones entre los 17 taxa estudiados del género *Leucocoryne*, utilizando 19 caracteres morfológicos. Línea punteada representa la distancia crítica de corte con percentil del 5%.

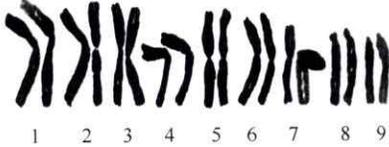
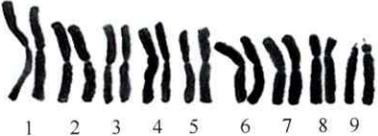
	<p>A</p> 
<i>L. coquimbensis</i> var. <i>coquimbensis</i>	<i>L. coquimbensis</i> var. <i>alba</i>
$2n = 18$	$2n = 18$
	

Figura 4.8a. Comparación entre *L. coquimbensis* var. *coquimbensis* y *L. coquimbensis* var. *alba* (A).

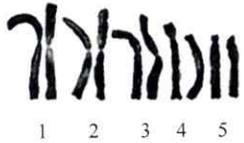
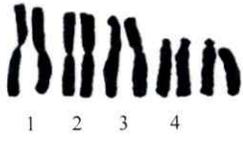
	<p style="text-align: right;">B</p> 
<p><i>L. vittata</i></p>	<p><i>L. aff. vittata</i></p>
<p>2n = 10</p>	<p>2n = 10</p>
	

Figura 4.8b. Comparación entre *L. vittata* y *L. aff. vittata* (B).

		
<i>L. purpurea</i>	H4	H1
		
H2	H3	<i>L. coquimbensis</i> var. <i>coquimbensis</i>

Figura 4.9. Híbridos pertenecientes a la zona de conexión de las poblaciones simpátricas de *L. purpurea* y *L. coquimbensis* var. *coquimbensis*, donde se forman enjambres híbridos entre parentales. Los números cromosómicos de los híbridos mostrados corresponde a $2n = 14, 16, 22$ y 23 (material de Moreno et al. en preparación).

Biografía



Paola Alejandra Jara Arancio, realizó sus estudios de pregrado en la Universidad de La Serena, donde obtuvo el título de Profesor de estado en Biología y Ciencias Naturales y el grado de Licenciado en Educación. Posteriormente en la misma casa de estudio obtuvo el grado de Magíster en Ciencias Biológicas, con mención en Ecología de Zonas Áridas.

El año 2002, llega a la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile a terminar su tesis de Magíster, y el año 2004 entra al programa de Doctor en Ciencias con mención en Ecología y Biología Evolutiva.

Actualmente es académica de la Universidad Andrés Bello y su línea de investigación se basa en el estudio multidisciplinario del reino vegetal.



"Acuña en tu alma la magia de soñar"