

TESIS DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ESTUDIO MORFOLÓGICO Y FILOGENÉTICO DEL GÉNERO SUDAMERICANO
QUINCHAMALIUM (SCHOEPFIACEAE)**

por

MSc. Rita M. Lopez Laphitz

**Directora: Dra. Romina Vidal Russell
Co-Directora: Dra. Cecilia Ezcurra**

**Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente
INIBIOMA, CONICET-Universidad Nacional del Comahue**



**FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS, EXACTAS Y NATURALES
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CORDOBA
2015**

COMISIÓN ASESORA

Dra. Romina Vidal Russell, INIBIOMA, CONICET-Universidad Nacional del Comahue.

Dra. Cecilia Ezcurra, INIBIOMA, CONICET-Universidad Nacional del Comahue.

Dra. Alicia N. Sérsic, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba.

Dra. Estrella Urtubey, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata.

DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

Lugar y Fecha:

Calificación:

TRIBUNAL

Firma:..... Aclaración:.....

Firma:..... Aclaración:.....

Firma:..... Aclaración:.....

A mi familia, en especial a mi media naranja

A mis directoras, Romina y Cecilia (Dra. Ezcurra!), por la confianza depositada en mí y su apoyo incondicional a lo largo de todo este trabajo.

A mis compañeras del Departamento de Botánica, Martina, Carolina y Ariana, por “bancarme” en la oficina cuando trabajo en el laboratorio.

A Estrella Urtubey y Alicia Sérsic, quienes formaron parte de mi comisión asesora, por sus valiosas sugerencias durante la elaboración de la tesis.

A Estrella Urtubey, a los revisores anónimos del trabajo enviado al Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica, y al editor Diego Gutierrez, por prestar su tiempo y buena voluntad en la discusión de problemas nomenclaturales y por sus valiosos comentarios.

A los curadores y personal de los distintos herbarios citados, por facilitar la consulta y envío de ejemplares.

A CONICET por la beca Doctoral otorgada.

A ANPCyT-FONCyT, CONICET y a la Universidad Nacional del Comahue por los subsidios de investigación: CONICET PIP 0357 y CONICET PIP 112-200901-00282, FONCYT PICT 1036 y PICT 01467, UNComahue PIN B180 y UnComahue PIN B149.

A docentes y personal de la UNComahue y de la UNCórdoba.

A mi familia, especialmente a mis hijos por su especial paciencia, y en especial al amor incondicional de mi Leandro.

A partir de la presente Tesis Doctoral, se publicaron y se espera publicar el siguiente listado de trabajos:

1. Rita M. Lopez Laphitz, C. Ezcurra y R. Vidal-Russell. 2015. Revisión taxonómica del género sudamericano *Quinchamalium* (Schoepfiaceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 50 (2): 235-246.
2. Rita M. Lopez Laphitz, C. Ezcurra y R. Vidal-Russell. 2015. Morphological Variation in *Quinchamalium* (Schoepfiaceae) is Associated with Climatic Patterns along its Andean Distribution. *Systematic Botany*. 40 (4): xx-xx. En prensa.
3. Rita M. Lopez Laphitz, C. Ezcurra y R. Vidal-Russell. Lineage divergence and biogeography in *Quinchamalium chilense* (Schoepfiaceae) within the Andean region. En preparación.
4. Romina Vidal-Russell, V. Sosa y R. M. Lopez Laphitz. Monofilia de la familia Schoepfiaceae (Santalales). En preparación.

Índice de figuras	4
Índice de tablas	8
Resumen	10
Summary.....	12
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL, OBJETIVOS E HIPÓTESIS	14
1.1. Introducción a la familia Schoepfiaceae y al género <i>Quinchamalium</i>	15
1.2. Problemática general	19
1.2.1. Delimitación de unidades taxonómicas	19
1.2.2. Conceptos de especie utilizados en esta tesis	19
1.2.2.1. Concepto de especie morfológico.....	20
1.2.2.2. Concepto de especie filogenético	21
1.2.2.3. Concepto de especie unificado sensu de Queiroz.....	21
1.2.3. Importancia de esta tesis.....	22
1.3. Objetivos e hipótesis.....	23
1.3.1. Objetivo general	23
1.3.2. Objetivos específicos.....	24
1.3.3. Hipótesis	24
CAPÍTULO 2: ANÁLISIS MULTIVARIADO DE LOS CARACTERES MORFOLÓGICOS DEL GÉNERO <i>QUINCHAMALIUM</i>	25
Resumen	26
2.1. Introducción.....	27
2.2. Materiales y métodos.....	31
2.2.1. Material de herbario y viajes de colección	31
2.2.2. Selección de caracteres	31
2.2.3. Análisis. Heterostilia	34
2.2.4. Análisis. Dos especies hipótesis: <i>Q. chilense</i> y <i>Q. parviflorum</i>	35
2.2.4.1. Exploración gráfica de la variación de los caracteres morfológicos: histogramas y boxplots	36
2.2.4.2. Análisis estadísticos univariados	36
2.2.4.3. Análisis de Componentes Principales.....	36
2.2.4.4. Análisis multivariado Discriminante	37
2.2.5. Distribución geográfica y variación climática.....	38
2.2.5.1. Mapa de distribución de <i>Q. chilense</i> y <i>Q. parviflorum</i>	38

2.2.5.2. Análisis de los patrones de variación climática en <i>Quinchamalium</i>	38
2.2.5.3. Análisis de factores climáticos en la variación morfológica	39
2.3. Resultados.....	39
2.3.1. Heterostilia.....	39
2.3.2. Dos especies hipótesis	40
2.3.2.1. Dos especies hipótesis: <i>Q. chilense</i> y <i>Q. parviflorum</i> : Histogramas y Boxplots.....	40
2.3.2.2. Dos especies hipótesis: <i>Q. chilense</i> y <i>Q. parviflorum</i> : Análisis estadísticos univariados.....	44
2.3.2.3. Dos especies hipótesis: <i>Q. chilense</i> y <i>Q. parviflorum</i> : Análisis de los Componentes Principales	46
2.3.2.4. Dos especies hipótesis: <i>Q. chilense</i> y <i>Q. parviflorum</i> : Análisis multivariado discriminante	48
2.3.3. Distribución geográfica y variación climática y morfológica	49
2.3.3.1. Mapa de distribución de <i>Q. chilense</i> y <i>Q. parviflorum</i>	49
2.3.3.2. Estudio de los patrones de variación climática en relación a la variación morfológica de <i>Quinchamalium</i>	50
2.3.3.3. Variación Morfológica, Geografía y Clima.....	54
2.4. Discusión y conclusiones a partir de los análisis morfológicos	56
CAPÍTULO 3: REVISIÓN TAXONÓMICA Y DE LA NOMENCLATURA	60
Resumen	61
3.1. Introducción.....	62
3.1.1. Historia taxonómica del género <i>Quinchamalium</i>	62
3.1.2. Revisiones recientes	64
3.2. Materiales y métodos.....	66
3.3. Resultados.....	67
3.3.1. Descripción del género y la especie	67
3.3.2. Nomenclatura de la especie: lista de sinónimos	67
CAPÍTULO 4: ANÁLISIS FILOGENÉTICOS CON DATOS MOLECULARES.....	81
Resumen	82
4.1. Introducción.....	84
4.2. Materiales y métodos.....	86
4.2.1. Material de estudio	86

4.2.2. Selección de marcadores moleculares	86
4.2.3. Obtención de secuencias moleculares	86
4.2.4. Procesamiento de las secuencias	88
4.2.5. Análisis de los datos	88
4.2.5.1. Máxima Parsimonia.....	89
4.2.5.2. Búsqueda de modelos de sustitución de nucleótidos.....	89
4.2.5.3. Máxima verosimilitud.....	89
4.2.5.4. Inferencia Bayesiana.....	90
4.2.5.5. Relación entre las características morfológicas y climáticas de los ejemplares y la filogenia.....	90
4.3. Resultados.....	90
4.3.1. Características moleculares	90
4.3.2. Análisis filogenéticos de marcadores moleculares individuales	91
4.3.2.1 Marcador nuclear: ITS.....	91
4.3.2.2. Marcador del cloroplasto: espaciador <i>trnL-F</i>	93
4.3.2.3. Marcador del cloroplasto: espaciador <i>atpB-rbcL</i>	95
4.3.3. Análisis filogenéticos de marcadores moleculares concatenados	98
4.3.3.1. Análisis concatenando de las matrices del cloroplasto (<i>trnL-F+atpB-rbcL</i>).....	98
4.3.3.2. Análisis concatenado de todas las matrices moleculares (<i>ITS+trnL-</i> <i>F+atpB-rbcL</i>)	99
4.3.4. Relación entre la filogenia y las características morfológicas y climáticas	102
4.3.4.1. Caracterización de la morfología de los linajes.....	102
4.3.4.2. Caracterización climática de los linajes.....	103
4.4. Discusión y conclusiones a partir de los análisis filogenéticos moleculares.....	105
CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES GENERALES.....	109
5.1. Estudio morfológico	110
5.2. Descripción taxonómica	112
5.3. Análisis filogenéticos	112
5.4. Consideraciones finales	113
5.5. Perspectivas futuras	114
Referencias bibliográficas	116
Apéndice 1	125
Apéndice 2.....	127

Índice de figuras

- Figura 1: Variación morfológica en plantas de *Quinchamalium*. A. Bariloche, Argentina.
 B. Papos, Chile. C. Portillo, Chile. D. Huasco, Chile. Fotografías por: C. Calviño y
 R. Vidal Russell..... 17
- Figura 2: Lámina de *Q. gracile* Brong. Duperrey, Voy. Monde, Phan. 231. t. 52A. (1826).28
- Figura 3: Heterostilia en *Quinchamalium chilense* (de Rivero *et al.* 1987). Izquierda:
 esquema de flores maduras de *Quinchamalium*. *a*: morfotipo THRUM; *b*: morfotipo
 PIN. Derecha: relación entre el crecimiento de la flor y largo del estilo/estambre de
 cada morfotipo (señalado con flechas negras)..... 30
- Figura 4: Partes florales de *Quinchamalium* que se incluyeron en el análisis morfológico.
 Izquierda, flor. Derecha, corte longitudinal del tubo floral, extraído el cálculo.
 LARPER: Longitud del perigonio. ANCPER: Ancho del perigonio. LARLOB:
 Longitud del lóbulo. ANCLOB: Ancho del lóbulo. LARCAL: Longitud del cálculo.
 LARDIEN: Longitud del diente del cálculo. LARFIL: Longitud del filamento.
 LARFILIB: Longitud de la parte libre del filamento. LARNECT: Longitud del
 nectario. LARANT: Longitud de la antera. ANCANT: Ancho de la antera. LAREST:
 Longitud del estilo. Dibujo de C. Ezcurra tomado de las ilustraciones de Pilger (1935)
 y Rivero *et al.* (1987)..... 32
- Figura 5: BoxPlots que representan los rangos de variación del porcentaje entre largo del
 estilo y largo del perigonio de los dos morfotipos de flores, longistilas (PIN) y
 brevistilas (THRUM). En el eje y se grafica la longitud del estilo dividida por la
 longitud del perigonio X 100..... 35
- Figura 6: Relación entre el largo del perigonio (LARPER) y la longitud del estilo
 (LAREST) en flores de *Quinchamalium*. Los 156 puntos representan las 156 plantas
 medidas. Círculos vacíos: plantas longistilas; cruces: plantas brevistilas. 40
- Figura 7: Histograma de los valores del largo del perigonio de las 156 plantas medidas.... 41
- Figura 8: Box plots de las 4 variables morfológicas vegetativas visualizando la diferencias
 entre las dos especies hipótesis. Primera fila de izq. a der.: ALTAL (carácter 1) y
 LAR/ANCHOJ (character 4). Segunda fila de izq. a der.: LARHOJ (carácter 2) y
 ANCHOJ (carácter 3). 42
- Figura 9: Box plots de 12 de las variables morfológicas reproductivas visualizando las
 diferencias entre las dos especies hipótesis. Primera fila de izq. a der.: LARPER
 (carácter 5), ANCPER (carácter 6) y LARLOB (carácter 7). Segunda fila de izq. a

der.: ANCLOB (carácter 8), LARCAL (carácter 9) y LARDIEN (carácter 10).
 Tercera fila de izq. a der.: LARFIL (carácter 11), LARFILIB (carácter 12) y
 LARNECT (carácter 13). Cuarta fila de izq. a der.: LARANT (carácter 14),
 ANCANT (carácter 15), LAREST (carácter 16). Quinta fila: LARPER/LAREST
 (carácter 17)..... 43

Figura 10: Gráficos de los dos primeros ejes y el porcentaje explicado del ordenamiento
 obtenido a partir del análisis de componentes principales (ACP) de la morfología de
 ejemplares de las dos especies hipótesis (*Q. chilense*, *Q. parviflorum*) utilizando tanto
 caracteres vegetativos como reproductivos. El valor de la componente de cada eje se
 muestra entre paréntesis. En el gráfico de la derecha las flechas indican la
 contribución de las variables originales a cada eje (Tabla 4). Las abreviaturas de cada
 carácter se corresponden con las de la Tabla 2..... 46

Figura 11: Gráfico de las dos funciones canónicas (primero y segundo eje canónicos) del
 análisis discriminante obtenido a partir de los 7 caracteres vegetativos y reproductivos
 preseleccionados para *Q. chilense* y *Q. parviflorum*. Los círculos representan los
 centroides de las especies. 48

Figura 12: Mapa de distribución de las dos especies hipótesis: *Q. chilense* (círculos) y *Q.*
parviflorum (triángulos). 50

Figura 13: Caracterización ambiental de las especies hipótesis: Análisis de las
 componentes principales de las variables climáticas para los ejemplares de cada una
 de las especies hipótesis (*Q. chilense* y *Q. parviflorum*). La varianza explicada por
 cada componente se muestra entre paréntesis. Las flechas del gráfico de la derecha
 indican la contribución de las variables originales en cada eje (Tabla 8). 53

Figura 14: Relación entre la morfología de la planta y el clima. Círculos llenos: *Q.*
parviflorum; círculos vacíos: *Q. chilense*. El eje *y* representa el PC1 de la variación
 morfológica, y está dominado por el tamaño de la flor y la longitud del tallo (Tabla 5
 con los valores de contribución). El eje de las *x* representa el PC2 de la variación
 climática, el cual esta resumiendo principalmente las variables relacionadas a la
 precipitación (Tabla 8 con los valores de contribución). La línea representa la línea de
 tendencia que mejor ajusta a una regresión (pendiente = 0,32, $r^2 = 0,08$, $p = 0,0014$). 54

Figura 15: Relación entre la morfología de la planta y el clima. Círculos llenos: *Q.*
parviflorum, círculos vacíos: *Q. chilense*. El eje *y* representa el PC2 de la variación
 morfológica, y está dominado por la forma de la hoja y el morfotipo floral (Tabla 5

con los valores de contribución). El eje de las x representa el PC2 de la variación climática, el cual está explicado principalmente por la temperatura (Tabla 8 con los valores de contribución). La línea representa la línea de tendencia que mejor ajusta a una regresión (pendiente = 0.11, $r^2 = 0,03$; $p = 0,04^*$). 55

Figura 16: Flores longistilas de *Q. chilense*. Se observa la variación del color de las flores según el estado fenológico. Las flores son protándricas. Flores amarillas con presentación de polen y estilo poco desarrollado; flores con centro rojo con anteras sin polen y estilo con máximo desarrollo. 72

Figura 17: Lámina 142, Lamarck (1793). Neotipo para la especie única reconocida en este estudio: *Quinchamalium chilense*. 73

Figura 18: Árbol de consenso de mayoría del 50% del análisis bayesiano a partir de la región de ADN nuclear ITS. Los números sobre las ramas corresponden a los valores de probabilidad posterior bayesiana y bootstrap de verosimilitud respectivamente, y debajo, a valores bootstrap de parsimonia. Los valores <50% se identifican con guión. Los taxones terminales indican haplotipos (Q. ch.: *Q. chilensis*). Los números entre paréntesis indican el número de individuos para cada haplotipo. 93

Figura 19: Árbol de consenso de mayoría del 50% obtenido a partir del análisis bayesiano a partir de la región de ADN del cloroplasto el espaciador *trnL-trnF*. Los números sobre las ramas corresponden a los valores de probabilidad posterior bayesiana y bootstrap de verosimilitud respectivamente, y debajo, a valores de bootstrap de parsimonia. Los valores <50% se identifican con guión. Los taxones terminales indican haplotipos (Q. ch.: *Q. chilensis*). Los números entre paréntesis indican el número de individuos para cada haplotipo. 95

Figura 20: Árbol de consenso de mayoría del 50% a partir del análisis bayesiano a partir de la región de ADN cloroplasto, el espaciador *atpB-rbcL*. Los números sobre las ramas corresponden a los valores de probabilidad posterior bayesiana y bootstrap de verosimilitud respectivamente, y debajo a valores de bootstrap de parsimonia. Los valores <50% se identifican con guión. Los taxones terminales indican haplotipos (Q. ch.: *Q. chilensis*). Los números entre paréntesis indican el número de individuos para cada haplotipo. 97

Figura 21: Árbol de consenso de mayoría del 50% a partir del análisis bayesiano a partir del ADNcp, *trnL-F* y *atpB-rbcL*. Los números sobre las ramas corresponden a los valores de probabilidad posterior bayesiana, bootstrap verosimilitud respectivamente,

y debajo valores bootstrap de parsimonia. Los valores <50% se identifican con guión. Los taxones terminales indican individuos (Q. ch.: *Q. chilensis*). Los números entre paréntesis indican al número de ADN genómico asignado (e.g. 001). 99

Figura 22: Árbol de consenso de mayoría del 50% a partir del análisis bayesiano en base al ADNcp, *trnL-F*, *atpB-rbcL* y de la región ITS de ADNnr. Los números sobre las ramas corresponden a los valores de probabilidad posterior bayesiana y bootstrap de verosimilitud respectivamente, y debajo, a valores de bootstrap de parsimonia. Los valores <50% se identifican con guión. Los taxones terminales indican individuos (Q. ch.: *Q. chilensis*). Los números entre paréntesis indican al número de ADN genómico asignado (e.g. 001). 101

Figura 23: Caracterización morfológica de los linajes: Análisis de las componentes principales de las variables morfológicas para 156 individuos identificando los clados obtenidos de la filogenia del marcador ITS (Montaña, Bosque subandino y Norte; Fig. 19). El valor de contribución a la varianza de cada componente se muestra entre paréntesis para cada eje. Las flechas del gráfico de la derecha indican la contribución de las variables originales en cada eje (Tabla 5; Capítulo 2). 102

Figura 24: Caracterización ambiental de los linajes: Análisis de las componentes principales de las variables climáticas para 156 individuos, identificando a los principales clados en la filogenia del marcador ITS (Montaña, Bosque subandino y Norte). El valor de contribución a la varianza de cada componente se muestra entre paréntesis en cada eje. Las flechas del gráfico de la derecha indican la contribución de las variables originales en cada eje (Tabla 8; Capítulo 2). 103

Figura 25: Distribución de *Quinchamalium chilense* mostrando un patrón geográfico de los tres linajes filogenéticos. 105

Figura 26: *Quinchamalium chilense* Lam. a, estambre visto de frente. b, flor. c, ovario. d, corte de la flor y del tubo expandido. e, cálculo en forma de copa. f, corte longitudinal del ovario ínfero. g, embrión visto desde otro perfil. h, fruto en el “cáliz-copa”. i, sección longitudinal de la semilla, mostrando al embrión. (de Pilger 1930).126

Índice de tablas

Tabla 1: Especies de <i>Quinchamalium</i> reconocidas hasta 2014 y su distribución según Brako y Zarucchi (1993), Zuloaga <i>et al.</i> (2009), y Jørgensen <i>et al.</i> (2014).....	17
Tabla 2: Caracteres incluidos en los análisis estadísticos morfométricos univariados y multivariados (ANOVAs, ACP y Discriminante). Las unidades de medidas están expresadas entre paréntesis. La segunda columna es la sigla de cada variable usada dentro de las matrices de datos.	33
Tabla 3: Diferencias morfológicas (17 caracteres) entre las especies hipótesis. Para cada especie se indican los promedios calculados para cada carácter + el error estándar y en la línea inferior entre paréntesis, sus rangos (Mín-Máx). Niveles de significancia: $p < 0.01$ indicado con *. Excepto por la ALTTAL que está en cm, el resto de las variables están indicadas en mm.	45
Tabla 4: Autovalores correspondientes a los dos primeros ejes del ACP de morfología con sus significancias.	47
Tabla 5: Contribución de cada variable a los dos primeros ejes del ACP de morfología que explican el 55.5% de la variación. En negrita las variables con contribuciones mayores a 0,6.	47
Tabla 6: Matriz de clasificación obtenida del análisis discriminante para las dos especies hipótesis.	49
Tabla 7: Coeficientes de correlación de Pearson entre una selección de variables morfológicas y climáticas. Niveles de significancia: $p < 0.01$. El asterisco demarca significancia.	52
Tabla 8: Contribución de cada variable a los dos primeros ejes del ACP de clima que explican el 65,7% de la variación. En negrita las variables que más contribuyen a cada eje.	53
Tabla 9: Secuencias de los primers utilizados para la reacción de PCR y secuenciación. ...	87
Tabla 10: Características del alineamiento de las cuatro regiones que se utilizaron para el estudio de los niveles de polimorfismo y divergencia entre haplotipos (obtenidos después de colapsar las secuencias en Fa-Box).....	91
Tabla 11: ANOVAs de las variables climáticas y morfológicas entre los linajes filogenéticos. Para cada uno se indican los promedios calculados para cada carácter + el error estándar y en la línea inferior entre paréntesis, sus rangos (Mín.-Máx.). Los	

asteriscos denotan diferencias significativas (ANOVA; $p < 0,05$). Los superíndices indican los grupos que se forman a partir de los test de Tukey..... 104

Resumen

Quinchamalium (Schoepfiaceae) es un género de hierbas hemiparásitas de raíz que presenta una distribución geográfica de gran amplitud a lo largo de los Andes, desde Perú hasta el centro-sur de Chile y Argentina. Los catálogos actuales de plantas vasculares de diferentes regiones de Sudamérica reconocen 21 especies en el género. Sin embargo, los límites taxonómicos de estas especies son poco claros. Aunque algunos estudios regionales han utilizado tanto caracteres vegetativos como reproductivos en la confección de claves para diferenciar las especies, no existen análisis detallados morfométricos que apoyen su delimitación. Por otro lado, los estudios filogenéticos que han incluido al género *Quinchamalium* han resuelto relaciones filogenéticas a niveles taxonómicos de orden y de familia, sin incluir relaciones filogenéticas infragenéricas. Por último, tampoco existen estudios del género que relacionen la variación morfológica con la distribución geográfica y el clima con el fin de identificar grupos taxonómicos.

De este modo, la primer parte de esta tesis (Capítulo 1) plantea cómo los límites morfológicos pocos claros, la ineficacia de caracteres diagnósticos para la identificación de las especies actualmente aceptadas, la regionalidad de los trabajos taxonómicos que incluyen al género y la inexistencia de estudios moleculares a nivel infragenérico, son algunos aspectos que revelan la necesidad de una revisión de la taxonomía del género *Quinchamalium*. Por otro lado, el estudio de la filogenia de *Quinchamalium* también es clave para comprender la historia evolutiva de este género en Sudamérica e interpretar la importancia de los Andes en los procesos de diversificación del mismo. Así, los objetivos planteados para esta tesis fueron estudiar la morfología, revisar la taxonomía y reconstruir la filogenia del género endémico sudamericano *Quinchamalium*.

El primer objetivo (Capítulo 2) se abordó mediante la identificación de caracteres diagnósticos para el reconocimiento de morfoespecies en base a análisis estadísticos univariados y multivariados de características vegetativas y florales de ejemplares de herbario. Consecuentemente, se planteó la existencia de dos especies hipótesis (*Q. chilense* y *Q. parviflorum*) sobre la base del largo del perigonio. En primera instancia se observó una distribución bimodal de este carácter, sin embargo los resultados de los análisis estadísticos multivariados (Análisis de las Componentes Principales: ACP, y Análisis Discriminante: AD) no dieron diferencias significativas para la delimitación de las dos especies hipótesis. De esta manera se resolvió la existencia de una sola morfoespecie: *Q. chilense*. En relación a esto, se estudiaron los patrones geográficos y climáticos asociados

con la gran variación morfológica de la especie. Este capítulo concluye que *Q. chilense*, una sola especie polimórfica y extendida, muestra un continuo en su variación morfológica debido ya sea a variación genotípica o a plasticidad fenotípica en respuesta a factores ambientales asociados con la latitud y el clima.

El segundo objetivo (Capítulo 3) comprendió el estudio de descripciones, nomenclatura y material de herbario de la totalidad del género en toda su distribución para aclarar la taxonomía del mismo. Como resultados del análisis morfométrico del capítulo anterior y del estudio de las diagnósticos, el material y los tipos nomenclaturales, 28 nombres de especies o de taxones infraespecíficos del género *Quinchamalium* fueron reducidos a la sinonimia de *Q. chilense* por primera vez. Además, se incluyó la lectotipificación de 13 nombres y la neotipificación de uno. En conclusión, este capítulo aporta un tratamiento taxonómico actualizado del género monoespecífico *Quinchamalium* en donde se brinda una descripción detallada de características morfológicas vegetativas y reproductivas para *Q. chilense*, con información sobre su ambiente, fenología y distribución geográfica.

Para el abordaje del último objetivo (Capítulo 4), se reconstruyó una filogenia molecular utilizando marcadores del ADN del cloroplasto (los espaciadores *trnL-trnF* y *atpB-rbcL*) y del ADN nuclear (región ITS). Se resolvieron las relaciones infragenéricas en *Quinchamalium* y se identificaron tres linajes principales con alto soporte y con patrones geográficos diferenciados en latitud y elevación (clados "Norte", "Bosque subandino" y "Montaña"). Los linajes se relacionaron con el clima y en menor medida con la morfología a través de análisis multivariados (ACP). En el caso de la morfología, los clados Norte y Bosque subandino, en general con hojas relativamente más angostas y de regiones de menores precipitaciones, tendieron a separarse del clado Montaña, generalmente con hojas más anchas y de regiones de mayores precipitaciones. Así, las filogenias moleculares obtenidas en este trabajo permiten identificar diferentes grupos monofiléticos asociados a un patrón geográfico y climático. A partir del análisis se concluye que esta divergencia molecular probablemente muestre una etapa temprana en la diferenciación de especies, reflejando cada linaje una especie incipiente o críptica que no ha sido posible distinguir en base a la morfología.

Summary

Quinchamalium (Schoepfiaceae) is a genus of root hemiparasitic herbs that has a wide-ranging geographical distribution along the Andes from Peru to the south-central Chile and Argentina. Currently, catalogs of vascular plants from different regions of South America recognize 21 species in the genus. However, taxonomic boundaries of these species are unclear. Although some regional studies have used both vegetative and reproductive characters in taxonomic keys to differentiate the species, there are no detailed morphometric analyses to support their clear delimitation. On the other hand, phylogenetic studies of the genus *Quinchamalium* have resolved phylogenetic relationships at taxonomic levels of order and family, not including infrageneric phylogenetic relationships. Finally, there are no studies of the genus linking morphological variation with the geographical location and climate in order to identify taxonomic groups.

The first objective was to address the identification of diagnostic characters for recognizing morphospecies based on univariate and multivariate statistical analysis. Consequently, it was suggested the existence of two hypothetical species (*Q. chilense* and *Q. parviflorum*) based on the length of the floral tube. Primarily a bimodal distribution of this character was observed, however the results of the multivariate statistical analysis showed no significant statistical support for the delimitation of these two hypothetical species. Thus, it was concluded the existence of a single morphospecies: *Q. chilense*.

As consequence of the morphological study, 28 names of species or infraspecific taxa were reduced to synonymy of *Q. chilense* for the first time. Then a taxonomic treatment of the monospecific genus *Quinchamalium* was presented, including lectotypification of 13 names and one name was neotypified. Furthermore, for the only morphospecies it was provided with a description with vegetative and reproductive morphology, and its geographical distribution. Besides, geographic and climatic patterns were studied with morphological variation. To conclude, *Q. chilense* is one polymorphic and widespread species, that shows a continuous variation in morphological whether due to genotypic variation or phenotypic plasticity in response to environmental factors associated with latitude and climate.

Finally, a molecular phylogeny was reconstructed using chloroplast DNA (spacers *trnL-trnF* and *atpB-rbcL*) and nuclear DNA (ITS region). The result was the identification of three main lineages that correspond to three different geographic areas. This well supported molecular divergence probably shows an early stage of differentiation of

incipient or cryptic species that have not been possible to distinguish based on morphology.

**CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL,
OBJETIVOS E HIPÓTESIS**

1.1. Introducción a la familia Schoepfiaceae y al género *Quinchamalium*

Las plantas parásitas son aquellas que establecen una conexión haustorial con una planta hospedadora, de la que obtienen agua y nutrientes. Se agrupan en hemiparásitas, las que tienen la capacidad de fotosintetizar, y holoparásitas, las que no lo hacen (Kuijt, 1969). En las angiospermas el parasitismo evolucionó al menos en doce linajes independientes, incluyendo el de las Santalales. El orden Santalales abarca 20 familias, de las cuales solo tres no son parásitas (subrayadas), y únicamente una es holoparásita (Balanophoraceae), siendo hemiparásitas las restantes: Octoknemaceae, Coulaceae, Strombosiaceae, Erythropalaceae, Ximeniaceae, Aptandraceae, Olacaceae, Misodendraceae, Schoepfiaceae, Amphorogynaceae, Opiliaceae, Loranthaceae, Nanodeaceae, Thesiaceae, Santalaceae, Viscaceae, Cervantesiaceae, Comanadraceae, Strombosiaceae y Balanophoraceae (Nickrent *et al.* 2010).

Estudios recientes en la filogenia del orden Santalales han mostrado que el género *Schoepfia* Schreb. tiene alto soporte tanto molecular como morfológico para formar su propia familia: Schoepfiaceae Blume (Malécot and Nickrent 2008, Malécot *et al.* 2004). Asimismo, análisis moleculares de cinco genes incluyendo dos genes nucleares (SSUrADN, LSUrADN) y tres genes del cloroplasto (*matK*, *rbcL*, *trnL-F*) confirmaron la posición de *Schoepfia*, junto a *Quinchamalium* Juss. y *Arjona* Cav., en un clado con alto soporte (Vidal-Russell 2007, Vidal-Russell y Nickrent 2008, Der y Nickrent 2008, Nickrent *et al.* 2010), conformando la familia Schoepfiaceae con estos tres géneros. Además, Vidal-Russell y Nickrent (2008) mostraron la temprana divergencia del género *Quinchamalium* del clado compuesto por *Schoepfia* y *Arjona*. Este nuevo ordenamiento difiere de la clasificación tradicional, la cual posicionaba a *Quinchamalium* y *Arjona* en la familia Santalaceae R.Br. (Pilger 1935, Dawson 1944, Kuijt y Hansen 2014). La asociación de *Arjona* y *Quinchamalium* con *Schoepfia* nunca había sido tratada anteriormente, aunque las similitudes de estos géneros con *Schoepfia* y su potencial relación fueron tempranamente sugeridas por Van Tieghem (1896) pero no adoptadas posteriormente.

Mientras que *Schoepfia* se distribuye en América tropical y Asia (Heide-Jorgensen 2008), *Arjona* y *Quinchamalium* son dos géneros endémicos de América del Sur, mayormente andinos. La extensión que alcanza *Quinchamalium* en Sudamérica va de los 7,1° S (Cajamarca, Perú) a los 50,4° S (Santa Cruz, Argentina) y entre los 65,89° O

(Mendoza, Argentina) a los 78,79° O (La Libertad, Perú). Además, *Quinchamalium* habita un amplio rango de altitud que varía con la latitud en la cordillera de los Andes (0-3.800 m s.n.m.; Zuloaga *et al.* 2009). La amplia distribución geográfica del género lo hace especialmente adecuado para estudiar su variación morfológica en relación con el ambiente (Fig. 1). En general, el género se encuentra en una gran variedad de suelos pobres de laderas asoleadas, en sitios abiertos rocosos y en suelos arenosos (Dawson 1984). Además, el área de distribución de *Quinchamalium* abarca las siguientes provincias fitogeográficas del dominio Andino-Patagónico (Cabrera y Willink 1980): de las Yungas, Puneña, del Desierto, Chilena, Subantártica, Patagónica y Altoandina. En Argentina se ha reportado en los Andes desde Mendoza hasta Santa Cruz, y en Chile se distribuye desde Antofagasta a Aysén (II a XI región; Zuloaga *et al.* 2009). Se lo ha citado para Bolivia (Hoffman 1998, Jørgensen *et al.* 2014), y en Perú se extiende a varios departamentos (Brako y Zarucchi 1993, Ulloa Ulloa 2006). En la Tabla 1 se detalla la distribución de las especies actualmente reconocidas de *Quinchamalium* (Brako y Zarucchi, 1993; Zuloaga *et al.*, 2009, Jørgensen *et al.* 2014).



Figura 1: Variación morfológica en plantas de *Quinchamalium*. A. Huasco, Chile. B. Paposo, Chile. C. Portillo, Chile. D. Bariloche, Argentina. Fotografías por: C. Calviño, R. Vidal Russell y R. Lopez Laphitz.

Tabla 1: Especies de *Quinchamalium* reconocidas en 2014 y su distribución según Brako y Zarucchi (1993), Zuloaga *et al.* (2009), y Jørgensen *et al.* (2014).

<i>Nro.</i>	<i>Especie</i>	<i>Autor</i>	<i>Año de descripción</i>	<i>Distribución</i>
1	<i>Q. andinum</i>	Philippi	1857	Chile (Región V, VIII, X)
2	<i>Q. bracteosum</i>	Philippi	1857	Chile (Región X)
3	<i>Q. brevistaminatum</i>	Pilger	1930	Perú (Dpto. Lima)
4	<i>Q. carnosum</i>	Philippi	1857	Chile: Región (II, III)

ESTUDIO MORFOLÓGICO Y FILOGENÉTICO DEL GÉNERO *QUINCHAMALIUM*

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL, OBJETIVOS E HIPÓTESIS

<i>Nro.</i>	<i>Especie</i>	<i>Autor</i>	<i>Año de descripción</i>	<i>Distribución</i>
5	<i>Q. chilense</i>	Molina	1782	Argentina (Chubut, Jujuy, Mendoza, Neuquén, Río Negro, Santa Cruz) Bolivia (Dptos. Cochabamba, La Paz, Oruro, Potosí) Chile (Región I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, RME)
6	<i>Q. elongatum</i>	Pilger	1930	Perú (Dpto. Ancash)
7	<i>Q. excrescens</i>	Philippi	1857	Chile (Región II, III, IV, V)
8	<i>Q. fructiculosum</i>	Steudel	1821-1824	Chile (Región VIII)
9	<i>Q. hopii</i>	Pilger	1930	Perú (Dpto. Arequipa)
10	<i>Q. linarioides</i>	Philippi	1857	Chile (Región VII)
11	<i>Q. linifolium</i>	Meyen	1878	Chile (Región VII, VIII)
12	<i>Q. litorale</i>	Philippi	1864	Chile (Región V)
13	<i>Q. lomae</i>	Pilger	1930	Perú (Dpto. Arequipa)
14	<i>Q. parviflorum</i>	Philippi	1857	Chile (Región IV, VII, RME)
15	<i>Q. pratense</i>	Philippi	1857	Chile (Región VIII)
16	<i>Q. procumbens</i>	Ruiz y Pavón	1799	Perú (Dptos. Ancash, Apurímac, Arequipa, Cajamarca, Cuzco, Lima, La Libertad, Moquegua, Tacna)
17	<i>Q. purpureum</i>	Philippi	1857	Chile (Región VII)
18	<i>Q. tarapacatum</i>	Philippi	1891	Chile (Región I)
19	<i>Q. thesioides</i> var <i>thesioides</i>	Philippi	1860	Chile (Región II)
20	<i>Q. thesioides</i> var <i>flaccidum</i>	Philippi	1860	Chile (Región II)
21	<i>Q. stuebelii</i>	Hieronymus	1896	Perú (Dpto. Puno)

1.2. Problemática general

1.2.1. Delimitación de unidades taxonómicas

Actualmente se reconocen 21 especies de *Quinchamalium* en toda Sudamérica (Brako y Zarucchi 1993, Zuloaga *et al.* 2009, Jøregensen *et al.* 2014; Tabla 1). Sin embargo, muchas de éstas presentan límites poco claros (Dawson 1944). Algunas de estas especies han sido tratadas en Floras regionales (Dawson 1984, Muñoz-Schick 1980, Ulibarri 1994), sin embargo no hay estudios en donde se incluyan a todas las especies reconocidas. Esto implica que en general no existen descripciones comparables ni tampoco claves que permitan la identificación de las mismas. Las especies reconocidas en la actualidad muchas veces se conocen solamente por sus descripciones originales, realizadas en su mayoría durante el siglo XIX (Tabla 1). Estas descripciones ofrecen un alto grado de conflicto cuando nos enfrentamos al material a determinar debido a la gran similitud morfológica entre muchas de ellas. La mayoría de las diferencias son en base a caracteres morfológicos cuantitativos muy variables y además se usan caracteres descriptivos poco claros en la delimitación de especies. En los casos en donde se han propuesto claves para la identificación de las especies de *Quinchamalium*, la misma es exclusivamente para una determinada región (centro de Chile: Navas 1976; Argentina: Dawson 1944) o el carácter diferencial seleccionado como diagnóstico y utilizado en la clave ha sido erróneo (Zoellner y Pinto 1989) por no permitir la determinación de grupos más o menos homogéneos de ejemplares. Por lo tanto, las dificultades con las que nos enfrentamos actualmente para delimitar especies en *Quinchamalium* son, por un lado la falta de caracteres diferenciales en las descripciones originales, y por el otro la falta de límites morfológicos claros para la separación de especies. En conclusión, todo esto lleva a la pregunta: ¿Cuántas especies existen realmente en el género *Quinchamalium*?

1.2.2. Conceptos de especie utilizados en esta tesis

Actualmente existen varios trabajos de compilación de conceptos de especies. Por ejemplo, Wilkins (2002) reunió 26 conceptos. De todos aquellos conceptos mencionados en estos trabajos, muchos de ellos son incompatibles entre sí, de manera que pueden implicar resultados diferentes en la clasificación del mismo taxón.

Uno de los conceptos mayormente sostenido por los sistemáticos ha sido el concepto biológico de especie, en el cual se define a la especie como a un grupo de poblaciones entre las que existe intercambio genético y que están aisladas

reproductivamente de otros grupos similares (Mayr, 1942). Sin embargo, éste es un concepto teórico ya que el aislamiento reproductivo y la cantidad de flujo génico son a veces difíciles de determinar en la práctica. Además, la hibridación es muy común entre especies de plantas, lo que muestra que en ellas las barreras de aislamiento reproductivo se rompen fácilmente y con frecuencia (Grant 1989). La apomixis también es común en plantas, por lo que a veces se producen clones reproductivamente aislados de otras poblaciones pero que pertenecen a la misma especie (Stuessy 1990).

Teniendo en cuenta estas dificultades, esta tesis basará sus análisis, discusiones y conclusiones taxonómicas basándose principalmente en otros dos conceptos de especie: morfológico y filogenético. A continuación se definen ambos conceptos.

1.2.2.1. Concepto de especie morfológico

La información sobre comportamiento reproductivo es insuficiente para aplicar el concepto biológico de especie en plantas, por lo que usualmente los taxónomos vegetales utilizan el concepto morfológico para definir especies. La morfoespecie, la especie linneana y la especie fenética se corresponden con esta noción. La idea principal de este concepto se enfoca en que la especie es un grupo de entidades con discontinuidades morfológicas visibles, capaces de definirla. Esta concepción generalmente parte de la premisa de que la discontinuidad que se encuentra entre especies refleja límites biológicos que corresponden a aislamiento y divergencia genética (*e.g.* Stuessy 1990).

Este concepto ha sido ampliamente utilizado en la práctica en la sistemática de las plantas vasculares, ya que en la mayoría de los grupos las correlaciones entre caracteres morfológicos han sido útiles para la identificación de taxones (Stuessy 1990). Existen variantes según qué autor lo ha definido, como por ejemplo Cronquist (1978) se refiere a la especie como “al grupo más pequeño el cual es consistente y permanentemente diferenciable por medios ordinarios”. De modo similar, la escuela fenética define a la especie en base a un agrupamiento observable (Sneath 1976), en este caso basado en la similitud morfológica.

Por otro lado, en plantas con una distribución geográfica amplia, como es el caso de *Quinchamalium*, se espera una gran diversidad morfológica. Esto se debe a que la distribución abarca ambientes muy diversos y así las plantas responden a factores ambientales con cambios en su fenología, en su crecimiento vegetativo y en sus caracteres reproductivos (Grant 1989). Casos de taxones polimórficos con un amplio rango

geográfico subandino y patagónico han sido encontrados por ejemplo en la familia Asteraceae (*Nassauvia* Comm. ex Juss.; Nicola *et al.* 2014). Del mismo modo, observaciones preliminares en plantas de *Quinchamalium* provenientes de todos los ambientes a lo largo de su rango de distribución andina muestran una gran variación morfológica (*e.g.* longitud de la hoja, longitud del perigonio, etc.).

Teniendo en cuenta esta gran diversidad morfológica, se pondrá a prueba con análisis estadísticos de variables morfológicas si *Quinchamalium* presenta discontinuidades dentro de esta variación morfológica y por lo tanto si existen morfoespecies, o bien si la variación morfológica observada simplemente es un continuo. Además, se explorará si la variación se relaciona con su amplia distribución con respecto a la latitud. Si este último fuera el caso, el siguiente paso sería establecer si la diversidad morfológica responde a la distribución de variables climáticas que de alguna manera caracterizan a los distintos biomas donde habita *Quinchamalium* a lo largo de los Andes.

1.2.2.2. Concepto de especie filogenético

Existe un gran espectro de definiciones para el concepto filogenético de especie, *e.g.* hennigiano (Hennig 1966, Ridley 1989), monofilético (Donoghue 1985) o genealógico (Baum y Shaw 1995, Avise y Ball 1990). Sin embargo, comúnmente se define una especie filogenética como un grupo de organismos que desciende de un ancestro común y que comparten al menos un único carácter derivado (sinapomorfía). Esta definición parte de las premisas de que el proceso de evolución da como resultado una jerarquía de grupos monofiléticos y que las clasificaciones deben reflejar relaciones genealógicas a todos los niveles (Donoghue 1985). Con el avance en el campo de filogenia molecular en los últimos tiempos, este concepto ha crecido en su popularidad debido a que su uso resulta en clasificaciones que reflejan la evolución y son así máximamente informativas. Además, este concepto puede ser usado tanto para organismos con reproducción sexual como asexual, así como también en poblaciones alopátricas (Donoghue 1985) y en organismos donde los caracteres morfológicos son pocos.

1.2.2.3. Concepto de especie unificado *sensu* de Queiroz

Las propiedades en las cuales se basan todas las definiciones de especie han sido de mucha utilidad durante muchos años, sin embargo no son globalmente utilizadas para todos los casos de clasificación (*e.g.* híbridos, reproducción asexual, etc.). Recientemente, Queiroz (1998, 2005, 2007) retomó la problemática y buscó compilar las similitudes entre

los conceptos más que buscar las diferencias/incompatibilidades entre ellos. El autor, partiendo de la idea de que el proceso de especiación está conceptualizado en unos pocos procesos evolutivos (mutación, selección natural, deriva génica y migración) y de que, por el contrario, los caracteres usados en los distintos conceptos son altamente diversos, propone el concepto unificador de especie: linajes metapoblacionales los cuales evolucionan separadamente. Para esto, de Queiroz retoma la idea de Simpson (1951), quien destaca la presencia implícita del criterio de cambio evolutivo en el concepto genético de especie, en donde Simpson define el linaje filético como una unidad básica de evolución, la cual evoluciona independientemente de otros con sus propias y únicas tendencias y con sus propios roles evolutivos.

Este nuevo concepto deja de lado incompatibilidades que se crean cuando tratamos de definir especies con los distintos conceptos que toman diferentes criterios y por lo tanto resultan en números diferentes de especies. Esto no quiere decir que estas propiedades no sean importantes y no se incluyan en la definición, simplemente se pone de manifiesto que estas propiedades fueron adquiridas durante distintas etapas de la separación de las especies (de Queiroz 2007).

Teniendo en cuenta lo presentado anteriormente, para llegar al número real de especies en *Quinchamalium*, los criterios prácticos que se usarán en esta tesis serán tanto las características morfológicas así como también las evidencias filogenéticas a partir de datos moleculares.

1.2.3. Importancia de esta tesis

La base del estudio de la biodiversidad es la identificación de especies, pero uno de los problemas es el concepto de especie que se usa, más específicamente el vacío que existe entre la teoría y la práctica (Agapow *et al.* 2004). En otras palabras, ¿cómo delimitamos especies a partir de las definiciones actuales? Así, en el caso de *Quinchamalium* la información que se dispone en la actualidad para la identificación de las especies es escasa y diversa (Dawson 1984, Nickrent *et al.* 2010). No existen estudios actuales que reúnan a la información morfológica y a la taxonómica del género, lo que dificulta la interpretación de las observaciones y así una correcta identificación. Por lo tanto, la aplicación de análisis estadísticos de las variables morfológicas es una herramienta relevante en la identificación de potenciales morfoespecies y además es la técnica muy comúnmente usada entre taxónomos para este fin (*e.g.* Henderson 2006,

Kazandjian 2011, Lehnebach 2011).

Por otro lado, estudiar las relaciones filogenéticas a nivel infragenérico en *Quinchamalium* y resolver las relaciones entre grupos monofiléticos establecería la existencia de especies filogenéticas. Esto difiere de trabajos filogenéticos anteriores, ya que solamente existen estudios moleculares que se enfocan en la resolución de relaciones filogenéticas a niveles jerárquicos más altos (Der y Nickrent 2008, Nickrent *et al.* 2010) y no resuelven las relaciones dentro del género. Por lo tanto, la aplicación de análisis filogenéticos moleculares es pionero en el estudio de la resolución de relaciones taxonómicas dentro de *Quinchamalium*.

Los resultados de esta tesis además aportarán evidencia en la resolución de las relaciones filogenéticas dentro de la familia recientemente circunscripta, Schoepfiaceae (Vidal-Russell y Nickrent 2008), la cual incluye en el mismo clado a taxones que poseen una distribución geográfica disímil. Por ejemplo, mientras que *Arjona* y *Quinchamalium* son endémicos sudamericanos, el género *Schoepfia* tiene una rango de distribución amplio que va desde América tropical hasta el este asiático (Heide-Jorgensen 2008). Además, producirá evidencia que apoye la monofilia de esta familia. Por otro lado, el estudio de la filogenia de *Quinchamalium* también es clave para comprender la historia evolutiva de este género en Sudamérica e interpretar la importancia de los Andes en los procesos de diversificación del mismo.

Además, y por último, este estudio proveerá una gran cantidad de datos moleculares (cuatro genes: tres del cloroplasto y uno del núcleo) accesibles a estudios futuros de análisis de genealogías, que integrándolas con datos biogeográficos responderán preguntas asociadas al reconocimiento de áreas de endemismo y delimitación de especies (Sites y Marshall 2004, Knowles y Carstens 2007), las cuales son dos cuestiones muy importantes a la hora de tomar decisiones en el campo de la conservación.

1.3. Objetivos e hipótesis

1.3.1. Objetivo general

Realizar un estudio morfológico, taxonómico y filogenético del género endémico sudamericano *Quinchamalium*, que junto con *Arjona* y *Schoepfia* han sido recientemente incluidos en la familia Schoepfiaceae con alto soporte molecular.

1.3.2. Objetivos específicos

1- Estudiar la variación morfológica dentro del género endémico de Sudamérica *Quinchamalium* (21 especies reportadas recientemente) con métodos estadísticos con el fin de determinar el número real de sus taxones, sus límites y sus caracteres diagnósticos.

2- Describir las especies, aclarar su nomenclatura y sinonimia, redactar claves para diferenciarlas y construir mapas de distribución utilizando tanto material de herbario como colecciones en el campo.

3- Reconstruir la filogenia del género sobre la base de información molecular y relacionarla con su evolución morfológica y con las características climáticas y geográficas donde crece.

1.3.3. Hipótesis

Se plantean las siguientes hipótesis relacionadas con los objetivos específicos planteados:

1 - Las especies de *Quinchamalium* se diferencian por características morfológicas claves que les son diagnósticas y por las regiones donde habitan.

2- Los árboles de genes de *Quinchamalium* presentan linajes monofiléticos caracterizados por sinapomorfías morfológicas resultado de procesos de especiación dentro el género.

3- El género muestra divergencia de nichos ecológicos y climáticos entre linajes.

**CAPÍTULO 2: ANÁLISIS MULTIVARIADO DE LOS
CARACTERES MORFOLÓGICOS DEL GÉNERO
*QUINCHAMALIUM***

Resumen

Quinchamalium (Schoepfiaceae) es un género herbáceo hemiparásito de raíz con una distribución geográfica amplia a lo largo de los Andes. Algunos estudios regionales han utilizado caracteres tanto vegetativos como reproductivos para la identificación de especies, sin embargo, no ha habido un análisis detallado de la variación morfológica que presenta el género a lo largo de su extensa distribución. Actualmente se reconocen 21 especies pero sus límites taxonómicos son poco claros. El objetivo de este estudio es utilizar análisis estadísticos univariados y multivariados para la identificación de patrones en la morfología que permitan el reconocimiento de posibles morfoespecies. Además, se estudia la relación entre la morfología, las variables geográficas y las variables climáticas. Para esto, se delimitaron dos especies hipótesis en base a la longitud del perigonio (*Q. chilense* y *Q. parviflorum*). Esta hipótesis fue corroborada utilizando análisis de componentes principales y análisis discriminante, a partir de una matriz de datos compuesta por 17 variables vegetativas y reproductivas de 156 especímenes de herbario. La existencia de las dos especies hipótesis no obtuvo un soporte estadístico significativo en los análisis multivariados, por lo tanto, se acepta la existencia de una sola especie: *Q. chilense*. A pesar de este resultado, se han identificado patrones de covariación entre caracteres morfológicos y variables climáticas. Por ejemplo, plantas más altas con flores más grandes se asociaron a sitios con mayores precipitaciones, y plantas con hojas más angostas a sitios con temperaturas más altas. Asimismo, flores brevistilas (perigonio largo respecto a un estilo corto) se correlacionaron con altitudes más altas y temperaturas más bajas. No obstante, no se ha podido determinar si las variaciones existentes están genéticamente fijadas, conformando ecotipos, o si las mismas son consecuencia de plasticidad fenotípica.

2.1. Introducción

Quinchamalium está ampliamente distribuída a lo largo de la cordillera de los Andes, desde Perú al sur de Argentina (7.1°-50.4° S, 65.89-78.79° O), y hasta el momento se reconocían 21 especies en el género (Brako y Zarucchi 1993; Zuloaga *et al.* 2009, Jørgensen *et al.* 2014). Esta extensa distribución implica la presencia del género en diversos ambientes y/o biomas. Como resultado, se espera dentro del género una gran diversidad morfológica, como se ha visto en otros organismos que poseen una distribución en ambientes variables, por ejemplo en géneros y/o especies de gran amplitud geográfica (Henderson 2004, Strelin *et al.* 2013, Nicola *et al.* 2014). La información de la variación morfológica es uno de los criterios más usados entre taxónomos para decidir a qué llamamos especie. Así, el patrón comúnmente esperado para la inferencia de límites entre especies es la no superposición de los rangos de variación morfológica (Sites y Marshall 2004, Henderson 2006), o en otras palabras la existencia de discontinuidades.

Por otro lado, la evaluación de factores climáticos relacionados con la variación geográfica que dan forma a la morfología es importante en especies con extensa distribución porque están expuestas a una gran variedad de condiciones ambientales (Hodgins y Barret 2008, Zapata y Jimenez 2012). Los agentes del ambiente que ejercen selección natural pueden ser abióticos, como el clima, o bióticos, como los polinizadores, y su determinación puede dar idea de las fuerzas evolutivas que resultan en divergencia genética y especiación (Chalcoff *et al.* 2008, Hodgins y Barret 2008). Por ejemplo, uno de los resultados observables en respuesta a la selección de factores climáticos es el cambio en las características morfológicas entre poblaciones de la misma especie o especies relacionadas (Paruelo *et al.* 1998, Ellison *et al.* 2004), así como el incremento o disminución de polimorfismos dentro de poblaciones a lo largo de transectas (Grant 1989).

Todos los estudios anteriores en la taxonomía de *Quinchamalium* han usado caracteres morfológicos para la sistemática del grupo. Desde su creación, el criterio principalmente tenido en cuenta en muchos protólogos y trabajos para diferenciar especies ha sido la diversidad morfológica en algunos caracteres, como el tamaño de la flor (Presl 1851, Philippi 1857) y la forma de la hoja (Presl 1851, Philippi 1857, Sprengel 1825, Miers 1880; *e.g.* Fig. 2). Sin embargo, nunca antes se estudió la correlación entre la variación morfológica y la distribución geográfica. Por último, es importante destacar que ninguno de los estudios taxonómicos previos mencionados han empleado herramientas

estadísticas, las cuales son usadas actualmente para la delimitación de especies y/o grupos homogéneos en muchos casos (Hodgins y Barret 2008, Henderson 2006, Kazandjian 2011).

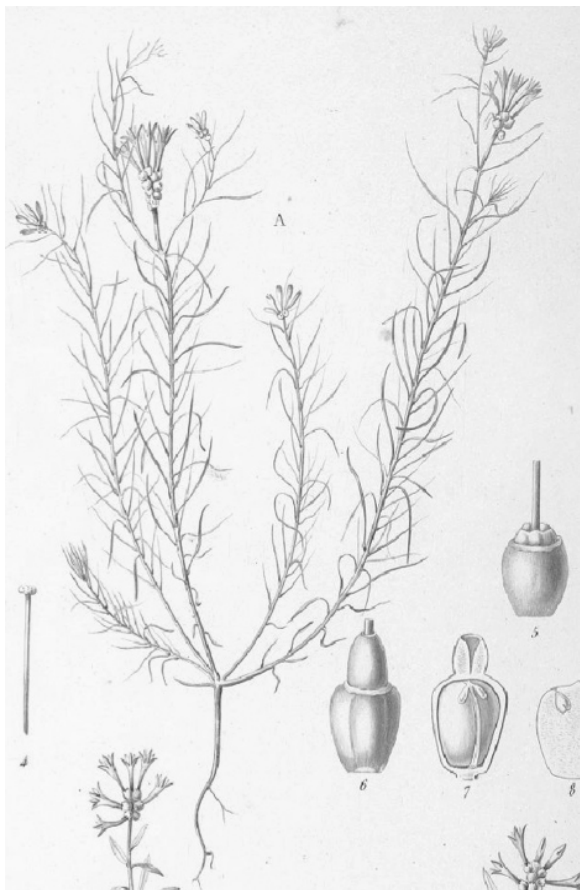


Figura 2: Lámina de *Q. gracile* Brong. Duperrey, Voy. Monde, Phan. 231. t. 52A. (1826).

La variación geográfica en la morfología de las plantas de un género o especie ampliamente distribuidos podría ser función de cambios genéticos (*e.g.* Quiroga *et al.* 2002; Premoli *et al.* 2007) o de plasticidad fenotípica (*e.g.* Sultan 2000) en respuesta a condiciones ambientales locales. Por lo tanto, el estudio e interpretación de patrones de variación geográfica en caracteres morfológicos podrían resolver problemas taxonómicos, como así también, servir para inferir potenciales efectos ambientales en determinados caracteres. Más aún, el estudio de la variación dentro de especies ampliamente distribuidas en grandes escalas espaciales es el primer paso para determinar la importancia relativa de los factores que promueven la diferenciación fenotípica (*e.g.* Ezcurra *et al.* 1997; Mascó *et al.* 2004; Chalcoff *et al.* 2008). Así, *Quinchamalium* ofrece una excelente oportunidad para verificar si el polimorfismo presente en el género esta interrumpido por discontinuidades morfológicas que representen límites entre especies, o si esta diversidad representa

variación morfológica inducida por el ambiente dentro de una misma especie. Además, este tipo de estudio aporta una oportunidad para observar la evolución en progreso y para entender el origen de la diversidad. Por lo tanto, es de interés reconocer los roles de los factores relacionados con la variación geográfica que podrían estar jugando un papel importante en procesos de diversificación.

Por otro lado, Rivero y colaboradores (1987) identificaron la presencia de poblaciones con heterostilia en *Quinchamalium chilense* en el Volcán Casablanca en Chile. La distilia consistió en presencia de plantas con flores longistilas (“PIN”: estilo largo y estambres bajos) y plantas con flores brevistilas (“THRUM”: estilo corto y estambres altos; Fig. 3). Los autores estudiaron la relación entre el crecimiento del largo del perigonio con respecto tanto al crecimiento del largo del estilo como al crecimiento del largo del estambre (Fig. 3, derecha). Así, concluyeron que la diferencia entre ambos morfotipos está en la tasa relativa de crecimiento del estilo con respecto al de los estambres (Rivero *et al.* 1987). Aunque es de suma importancia la identificación de la existencia de heterostilia en estas poblaciones, no deja de ser evidencia a escala local. Por lo tanto, la disponibilidad de datos morfológicos a lo largo de todo el rango de distribución es una oportunidad para el estudio de la presencia de estos morfotipos en relación a posibles patrones geográficos y/o climáticos. La heterostilia es importante a nivel evolutivo en varios grupos taxonómicos dentro de las angiospermas, por lo tanto ampliar el conocimiento de esta característica morfológica a un rango geográfico más abarcativo en *Quinchamalium* puede aportar evidencia tanto para la mejor delimitación de especies dentro del género, así como también para comprender los procesos evolutivos que generaron los patrones de morfología y distribución observados en la actualidad en el mismo.

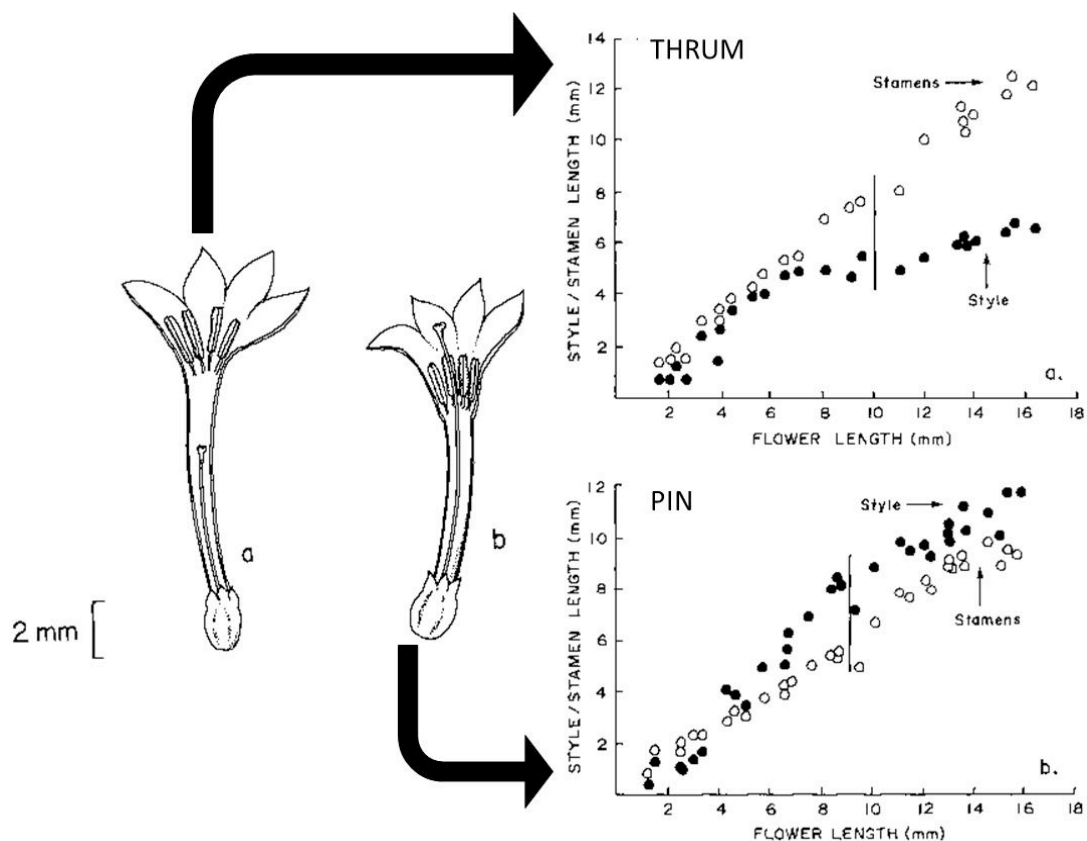


Figura 3: Heterostilia en *Quinchamalium chilense* (de Rivero *et al.* 1987). Izquierda: esquema de flores maduras de *Quinchamalium*. *a*: morfotipo THRUM; *b*: morfotipo PIN. Derecha: relación entre el crecimiento de la flor y largo del estilo/estambre de cada morfotipo (señalado con flechas negras).

El objetivo de este capítulo es estudiar la variación morfológica dentro del género sudamericano *Quinchamalium* (incluyendo la heterostilia) en toda su distribución y determinar si existe relación entre la morfología y la geografía y variables climáticas. Por otro lado, el uso tradicional de herramientas de estadísticas univariada y multivariada permitirá identificar el límite entre grupos morfológicos homogéneos facilitando el proceso de la delimitación de morfoespecies. Así, este trabajo aportará evidencia morfológica que incluye datos de un rango de distribución más amplio del que nunca antes había sido estudiado en la sistemática del género *Quinchamalium*.

Objetivos

- Determinar el número real de especies en *Quinchamalium* y sus límites en base a caracteres morfológicos.
- Encontrar caracteres morfológicos diagnósticos para la identificación de las especies.

- Ampliar el estudio de las características morfológicas y su variabilidad a escala geográfica sudamericana.
- Caracterizar las variables climáticas y geográficas biológicamente relevantes en relación a la variación morfológica.

2.2. Materiales y métodos

2.2.1. Material de herbario y viajes de colección

Los datos morfológicos de *Quinchamaliium* fueron obtenidos principalmente de ejemplares provenientes de los herbarios BA, BAB, BCRU, CONC, CORD, LP, LPB, MO y SI. Para complementar el material herborizado, se incluyeron individuos coleccionados durante un viaje de colección a través de las regiones de Bío Bío y de Los Lagos en Chile y del norte de la Patagonia argentina. Se observaron en total aproximadamente 750 ejemplares, de los cuales se seleccionaron 157 individuos para incluir en el análisis morfológico, seleccionados principalmente en base a sus localidades de colección para tener una buena representatividad de toda la distribución del género. Otras razones por las cuales se dejaron afuera del análisis morfométrico muchos de los ejemplares observados son: 1- ejemplares de herbario incompletos (*e.g.* no tenían flores); 2- ejemplares completos pero escaso material disponible (*e.g.* el número de órganos como flores, hojas, etc. no era suficiente para tomar todas las medidas); 3-el estado fenológico no era el que se necesitaba (*e.g.* las flores estaban inmaduras).

2.2.2. Selección de caracteres

Con el objetivo de identificar diferentes grupos morfológicos homogéneos dentro del rango de variación morfológica en *Quinchamaliium*, se consideraron todas aquellas características diagnósticas que se han usado en tratamientos del género *Quinchamaliium* en Floras y trabajos previos. Además, se identificaron caracteres de las descripciones originales (protólogos) de todas las especies aceptadas en los catálogos actuales. Por ejemplo, algunos de los caracteres que han sido utilizados tradicionalmente para separar especies de *Quinchamaliium* son el tamaño de la flor (Presl 1851), la forma de la hoja (Miers 1880) y la longitud del filamento de la antera (Philippi 1857). Del mismo modo, se tuvieron en consideración algunos caracteres morfológicos que se utilizaron en claves más modernas, los cuales incluyen las escamas que axilan las flores que rodean al eje de la

inflorescencia, los caracteres cuantitativos y cualitativos de los tépalos (Dawson 1944) y la longitud de las anteras con respecto al filamento libre (Navas 1976).

La matriz morfológica se armó con variables morfológicas seleccionadas en el presente análisis (Tabla 2; Fig. 4) y ejemplares de distintas localidades a lo largo de toda la distribución del género. Con respecto a la morfología floral y para la correcta interpretación de la misma, en esta tesis se tuvo en cuenta la descripción de Pilger (1930). Este autor describió la morfología floral de *Quinchamalium* en su extenso trabajo sobre la familia Santalaceae. Adicionalmente se extrajo información de Nickrent (1998; <http://www.parasiticplants.siu.edu>), en donde se hace una recopilación de datos en todos los taxones dentro de la familia Schoepfiaceae, familia cuya descripción actualizada se incluye al final de esta tesis (Apéndice 1).

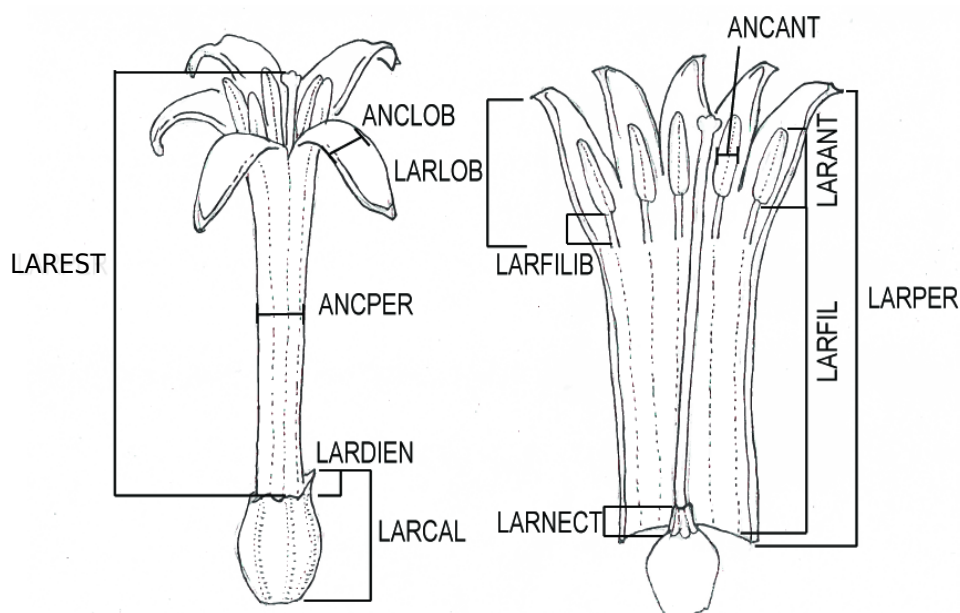


Figura 4: Partes florales de *Quinchamalium* que se incluyeron en el análisis morfológico. Izquierda, flor. Derecha, corte longitudinal del tubo floral, extraído el cálculo. LARPER: Largo del perigonio. ANCPER: Ancho del perigonio. LARLOB: Largo del lóbulo. ANCLOB: Ancho del lóbulo. LARCAL: Largo del cálculo. LARDIEN: Largo del diente del cálculo. LARFIL: Largo del filamento. LARFILIB: Largo de la parte libre del filamento. LARNECT: Largo del nectario. LARANT: Largo de la antera. ANCANT: Ancho de la antera. LAREST: Largo del estilo. Dibujo tomado de las ilustraciones de Pilger (1935) y Rivero *et al.* (1987).

Para una mejor medición de algunos caracteres sobre el material seco, como en el caso de las flores, el mismo fue tratado durante unos segundos en agua hirviendo y con el

agregado de una gota de jabón detergente. Para las mediciones de los distintos órganos se usó una regla milimetrada o se obtuvieron a través de una escala incluida en el objetivo 10 X de la lupa, las cuales fueron transformadas posteriormente a cm o mm para su análisis. Para una mejor consistencia en los datos, las medidas se obtuvieron de plantas que se encontraban en el mismo estadio fenológico (flor madura).

Se seleccionaron 15 caracteres morfológicos cuantitativos, incluyendo características vegetativas y reproductivas (Tabla 2, Fig. 4). Además, en los análisis multivariados se agregaron dos variables que se calculan a partir de la relación entre dos de los caracteres morfológicos. Estas dos nuevas variables son: 1- FH: LONG/ANCHOJ: relación entre la longitud total de la hoja y el ancho de la hoja (carácter 2/carácter 3= carácter 4; Tabla 2); 2- MF: LAREST/LARPER: relación entre el largo del estilo y el largo del perigonio (carácter 16/carácter 5= carácter 17; Tabla 2). El objetivo de la inclusión de estos caracteres fue primeramente independizar el tamaño de la hoja con respecto a la forma de la hoja, y del mismo modo independizar el tamaño de la flor con respecto a la altura del estilo.

Se construyó una matriz de datos con los especímenes en las filas y atributos/caracteres como columnas. Datos adicionales como columnas fueron: número de identificación del espécimen, colector, número de colección, herbario, país, provincia o región, morfotipo (brevistila o longistila) y fecha de colección. También se adicionaron datos geográficos y climáticos que se detallan en secciones a continuación.

Tabla 2: Caracteres incluidos en los análisis estadísticos morfométricos univariados y multivariados (ANOVAs, ACP y Discriminante). Las unidades de medidas están expresadas entre paréntesis. La segunda columna es la sigla de cada variable usada dentro de las matrices de datos.

Nº	Caracteres	Descripción
Caracteres vegetativos		
1	ALTTAL	Longitud de la planta (cm; incluye tallo e inflorescencia)
2	LARHOJ	Largo total de la lámina de la hoja (mm)
3	ANCHOJ	Ancho de la parte más ancha de la lámina de la hoja (mm)
4	FH	Largo de la hoja/Ancho de la parte más ancha de la hoja
Caracteres reproductivos		

ESTUDIO MORFOLÓGICO Y FILOGENÉTICO DEL GÉNERO *QUINCHAMALIUM*
 CAPÍTULO 2: ANÁLISIS MULTIVARIADO DE LA MORFOLOGÍA DE *QUINCHAMALIUM*

N°	Caracteres	Descripción
5	LARPER	Largo total del perigonio (tubo floral y lóbulo) (cm)
6	ANCPER	Diaméto del perigonio (mm)
7	LARLOB	Largo del lóbulo (parte libre del tépalo; mm)
8	ANCLOB	Ancho de la parte más ancha del lóbulo del tépalo (mm)
9	LARCAL	Largo del cálculo (incluído el largo del diente más largo; mm)
10	LARDIEN	Largo del diente del cálculo (de los cuatro el más largo; mm)
11	LARFIL	Largo del filamento total (parte libre y parte adherida al tépalo; mm)
12	LARFILIB	Largo del filamento libre (parte no adherida al tubo floral; mm)
13	LARNECT	Largo del nectario (mm)
14	LARANT	Largo de la antera (mm)
15	ANCANT	Ancho de la antera (mm)
16	LAREST	Largo del estilo (mm)
17	MF	Largo del estilo/Largo del perigonio

2.2.3. Análisis. Heterostilia

Se determinó en base a observaciones de todos los ejemplares medidos si las flores eran longistilas (PIN) o brevistilas (THRUM). La heterostilia se determina en base a la posición del estigma respecto de las anteras (Darwin 1897). En este trabajo se verificó que el largo del perigonio se correlaciona significativamente con el largo del filamento (Pearson=0.87). Por lo tanto, el criterio cuantitativo que se utilizó para la identificación *a priori* fue la proporción entre la longitud del estilo con respecto a la longitud del perigonio ((LAREST/LARPER)*100). Así, la flor se clasificó *a priori* como brevistila si el porcentaje calculado estaba entre 30-59%. Del mismo modo, la flor se clasificó *a priori* longistila si el porcentaje resultaba mayor o igual que 60% (Fig. 5). Este criterio es una aproximación cuantitativa de aquél utilizado en Rivero *et al.* (1987). Una vez clasificadas dentro de alguno de estos dos grupos, se graficó el largo del estilo (carácter 16) vs. el largo del perigonio (carácter 5, Tabla 2) para los 156 individuos estudiados.

A diferencia del estudio de Rivero *et al.* (1987), en el cual solamente tuvieron en cuenta plantas de poblaciones del Volcán Casablanca en Chile, los individuos incluídos en este trabajo abarcan el total del rango de distribución del género (Argentina, Bolivia, Chile y Perú).

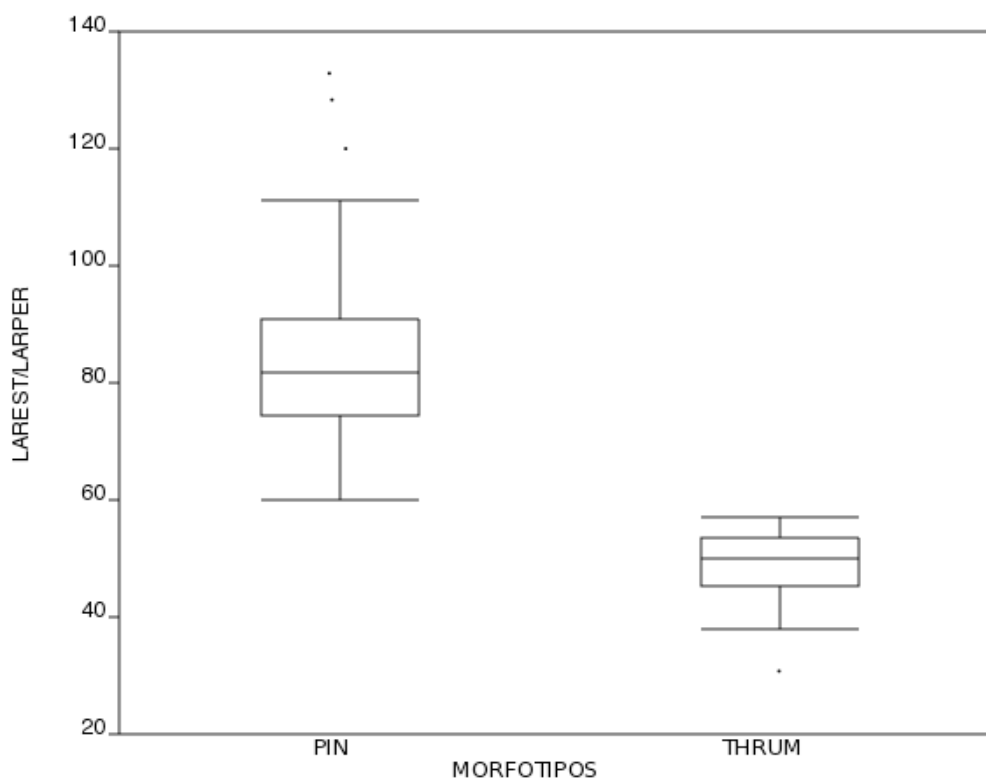


Figura 5: BoxPlots que representan los rangos de variación del porcentaje entre largo del estilo y largo del perigonio de los dos morfotipos de flores, longistilas (PIN) y brevistilas (THRUM). En el eje y se grafica la longitud del estilo dividida por la longitud del perigonio X 100.

2.2.4. Análisis. Dos especies hipótesis: *Q. chilense* y *Q. parviflorum*

Para una primera visualización de la variación del material y su distribución se realizaron histogramas y boxplots de las variables estudiadas.

Entre los 750 ejemplares revisados se observó que la longitud del perigonio variaba notablemente entre los individuos y era la característica que más resaltaba. Con esta observación se ordenaron los individuos de acuerdo a si tenían flores de perigonio corto o largo. El ordenamiento incluyó a los ejemplares tipo disponibles de todas las especies aceptadas en los catálogos actuales: plantas con flores de perigonio largo y plantas con flores de perigonio corto. El nombre asignado por prioridad a estos dos grupos morfológicos fueron: *Q. chilense* Molina y *Q. parviflorum* Phil., respectivamente. La nomenclatura seleccionada fue en base a la lectura de las descripciones originales y observaciones del material tipo disponible (láminas y/o imágenes de ejemplares de herbario). Así, teniendo en cuenta la prioridad, el perigonio largo se lo identificó en el neotipo de *Q. chilense* (lámina 142, Lamarck 1793), mientras que el perigonio corto fue

identificado en el material tipo de *Q. parviflorum* (holotipo: SGO 47781 imagen!).

Finalmente, para testear estadísticamente la existencia de estas dos especies hipótesis, se graficaron las distribuciones de todas las variables (histogramas, boxplots) y se realizaron distintos análisis univariados (prueba de hipótesis de diferencia de medias) y multivariados (Análisis de Componentes Principales: ACP, Análisis Discriminante) que se detallan en secciones a continuación. Los análisis univariados y multivariados (ACP, Discriminante) se llevaron a cabo usando el paquete estadístico JMP, Version 9 SAS Institute Inc., Cary, NC (1989-2007).

2.2.4.1. Exploración gráfica de la variación de los caracteres morfológicos: histogramas y boxplots

Para la identificación de posibles caracteres morfológicos en los cuales se observaran discontinuidades (“gaps”) en la distribución de los datos y así plantearlos como caracteres clave en la identificación de grupos morfológicos homogéneos, se graficaron histogramas de distribución de cada una de las variables cuantitativas (Tabla 2). Posteriormente se graficaron boxplots de las mismas 17 variables (Tabla 2) con el objetivo de visualizar las diferencias morfológicas entre las dos especies planteadas.

2.2.4.2. Análisis estadísticos univariados

Para evaluar si existen diferencias entre estas dos especies, *Q. chilense* (N= 109) y *Q. parviflorum* (N= 48) y poner a prueba la hipótesis estadísticamente, se calcularon las medias y errores estándares (Tabla 3) de todas las variables de cada una de las especies hipótesis. Para poder comparar medias con métodos paramétricos, se hicieron los respectivos tests para poner a prueba los supuestos de estos métodos. Los datos no cumplieron con dichos supuestos, es decir que no mostraron distribución normal (test de Shapiro-Wilks) y poseen varianzas desiguales (test de Welch). Por no cumplir con los supuestos se llevaron a cabo tests no paramétricos de Kruskal-Wallis acompañados de una aproximación de chi cuadrado para ver las diferencias significativas. Esta comparación se realizó para cada una de las 17 variables morfológicas vegetativas y reproductivas.

2.2.4.3. Análisis de Componentes Principales

Este análisis de ordenamiento se realizó sobre los 156 individuos utilizando las 17 variables morfológicas (Tabla 2) con sus valores estandarizados de manera de visualizar si los individuos se agrupan según sus afinidades morfológicas. Esta técnica permite también determinar el peso relativo de las variables en la formación de grupos, observando su

contribución a la variancia de los componentes principales. En este análisis las variables son tratadas igualitariamente. El procedimiento que se utiliza es la transformación de las variables originales en otras que son llamadas componentes principales; cada una de éstas es una combinación lineal de las variables originales estandarizadas. Así, el análisis resume las 17 variables en una, dos o más nuevas variables (componentes). Una medida de la cantidad de información contenida por cada componente principal es su variancia, por esta razón las mismas son ordenadas por la variancia en forma decreciente. Así, el componente principal que mayor información muestra es el primero, el segundo muestra la máxima variabilidad posible no recogida por el primero, y así sucesivamente (Afifi y Clark, 1990).

2.2.4.4. Análisis multivariado Discriminante

El análisis discriminante de variables cuantitativas morfológicas se usó para discriminar en el espacio a las dos especies hipótesis (*Q. chilense* y *Q. parviflorum*) definidas *a priori*. Este análisis es comúnmente usado en taxonomía para la evaluación de diferencias entre taxones, así como para la diferenciación de caracteres específicos, y además para determinar identidades de especímenes atípicos (e.g. Owen *et al.* 2006, Lopez Laphitz 2009, Lopez Laphitz *et al.* 2011). Antes de llevar a cabo el análisis discriminante multivariado, se evaluó la correlación de Pearson entre todos los pares de variables cuantitativas. Esto permitió identificar aquellos caracteres con alto grado de correlación ($|r| > 0.7$) y donde esto ocurría uno de los dos caracteres del par con alto grado de correlación se eliminó de los futuros análisis. Se hicieron además los respectivos tests para poner a prueba los supuestos de la estadística paramétrica, correspondientes al test de distribución normal de los datos (test de Shapiro-Wilks) y de igualdad de varianzas (test de Welch). Debido a que varios caracteres cuantitativos no resultaron en una distribución normal fueron transformados con la función \log_{10} antes de los análisis correspondientes, logrando así la normalidad. Se realizó un análisis discriminante completo.

El Análisis Discriminante es una técnica que se basa en la clasificación de individuos en la que se presupone la existencia de dos o más grupos definidos *a priori*, cuyo objetivo es describir las diferencias existentes entre esos grupos en base a los valores que toman ciertas variables sobre los individuos de cada uno de los grupos. Trabaja sobre la base de combinaciones lineales de las variables originales de tal forma que se consiga la máxima separación o discriminación entre los grupos existentes, lo cual equivale a maximizar la variancia “entre grupos” frente a la variancia “dentro de grupos”. El

estadístico Λ (lambda) de Wilks es una medida de las diferencias entre los grupos debida a las funciones discriminantes y fue utilizado para ilustrar si existen diferencias significativas entre los grupos. Los valores Λ varían entre 0 y 1: valores próximos a 0 indican elevada discriminación, es decir que los grupos están muy separados, mientras que valores cercanos a 1 representan escasa discriminación o poca diferencia entre los grupos (Afifi y Clark, 1990).

2.2.5. Distribución geográfica y variación climática

2.2.5.1. Mapa de distribución de *Q. chilense* y *Q. parviflorum*

Para la confección del mapa de distribución se utilizaron los datos de los ejemplares disponibles. En total, de los 156 individuos de los que se obtuvieron datos morfológicos se tomó un subconjunto de 118 debido a que fueron aquellos con datos geográficos más precisos. Las plantas de este subconjunto fueron revisadas cuidadosamente para su clasificación *a priori* en base al carácter diagnóstico longitud del perigonio. Así, se identificaron como *Q. chilense* a 59 plantas, mientras que 23 fueron clasificados *a priori* como *Q. parviflorum*. Para las colecciones de herbario en las cuales no existía la información de coordenadas, se las georeferenció usando Google Earth 6.0 (<http://www.google.com/earth/index.html>) según la localidad. En este caso, si se disponía del nombre de la localidad nombrada en la muestra, se anotaban las coordenadas informadas en el Google Earth. Aproximadamente en el 50% de los casos se buscaron coordenadas. En los casos de colecciones más modernas las coordenadas estaban disponibles como parte de la información de la etiqueta. Para dibujar los mapas se usó el programa Q-Gis 2.10.1-Pisa (QGIS Development Team, 2002-2014; <http://www.qgis.org/en/docs/index.html>).

2.2.5.2. Análisis de los patrones de variación climática en *Quinchamalium*

La información ambiental representada por 19 variables bioclimáticas fue obtenida de la base de datos de WorldClim 1.4 (<http://www.worldclim.org/current>; Hijmans *et al.* 2005, Tabla 9). Estas fueron: temperatura media anual (Bio1), rango diurno medio de la temperatura (Bio2), isothermalidad ((Bio2/Bio7)*100= Bio3), estacionalidad de la temperatura (Bio4), temperatura máxima del período más cálido del año (Bio5), temperatura mínima del período más frío del año (Bio6), rango anual de temperatura (Bio7), temperatura media del cuarto del año más húmedo (Bio8), temperatura media del cuarto del año más seco (Bio9), temperatura media del cuarto del año más cálido (Bio10),

temperatura media del cuarto del año más frío (Bio11), precipitación anual (Bio12), precipitación del período del año más húmedo (Bio13), precipitación del período del año más seco (Bio14), estacionalidad de la precipitación (Bio15), precipitación del cuarto del año más húmedo (Bio16), precipitación del cuarto del año más seco (Bio17), precipitación del cuarto del año más cálido (Bio18) y precipitación del cuarto del año más frío (Bio19). Estas variables ambientales fueron extraídas para cada localidad usando QGIS 2.10.1-Pisa (QGIS Development Team, 2002-2014).

Para observar el efecto de los factores climáticos sobre las especies se llevó a cabo un análisis de componentes principales (ACP) de estas 19 variables climáticas para un subconjunto de 82 individuos. Este subconjunto georeferenciado está distribuido a lo largo del rango de distribución en toda Sudamérica, correspondiendo 59 plantas a la especie putativa *Q. chilense* y 23 a *Q. parviflorum*. Los análisis fueron realizados con el paquete estadístico JMP 9.0 (SAS Institute Inc. Cary, NC, 1989-2010).

2.2.5.3. Análisis de factores climáticos en la variación morfológica

Se calculó la regresión entre cada una de las variables morfológicas individuales y los dos primeros componentes principales del ACP climático. Debido a las correlaciones significativas entre las variables climáticas, se utilizó un ACP para resumir a dos ejes principales no correlacionados que resumieran la mayor parte de la variación de los datos climáticos. Se estandarizaron todas las variables (transformado en unidades de desviación estándar) antes de realizar el ACP. Estos análisis se realizaron para ilustrar patrones de covarianza entre los rasgos morfológicos y el clima en todo el rango geográfico de *Quinchamalium*.

2.3. Resultados

2.3.1. Heterostilia

Se observa una correlación positiva (Fig. 6) entre dos variables reproductivas: longitud del perigonio (LARPER) y largo del estilo (LAREST). Adicionalmente, en el gráfico se muestra que aquellos individuos con flores longistilas (PIN; círculos vacíos) están por encima de aquellos con flores brevistilas (THRUM; cruces). Es decir que a igual longitud de perigonio los estilos son mucho más largos en las flores longistilas. Estos resultados son esperables, ya que las plantas fueron identificadas *a priori* usando el criterio explicado en la sección anterior. No obstante, la figura muestra que la tasa

Δ LAREST/ Δ LARPER se reduce en las plantas con flores brevistilas a partir de un cierto punto, lo que se puede apreciar en la separación de las dos nubes de puntos correspondientes a ambos morfotipos.

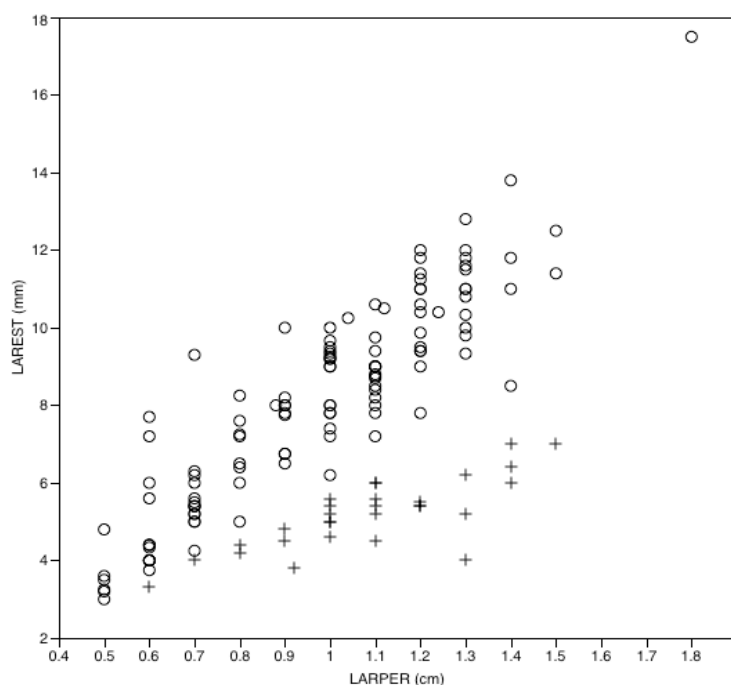


Figura 6: Relación entre el largo del perigonio (LARPER) y la longitud del estilo (LAREST) en flores de *Quinchamalium*. Los 156 puntos representan las 156 plantas medidas. Círculos vacíos: plantas longistilas; cruces: plantas brevistilas.

2.3.2. Dos especies hipótesis

2.3.2.1. Dos especies hipótesis: *Q. chilense* y *Q. parviflorum*: Histogramas y Boxplots

De los 17 histogramas (no mostrados) solamente el largo del perigonio (carácter 5, Tabla 2) mostró una leve distribución bimodal. Así, se observan dos picos de mayor frecuencia con un valle en el valor 8-9 mm (Fig. 7). Por tal resultado, se tomó a este carácter como posible clave/diagnóstico en la identificación de grupos morfológicos homogéneos. Aquellas plantas con valores de largo del perigonio mayor o igual a 9 mm se las identificó *a priori* como *Q. chilense* mientras que aquellas con valores menores a 9 mm se las clasificó como *Q. parviflorum*.

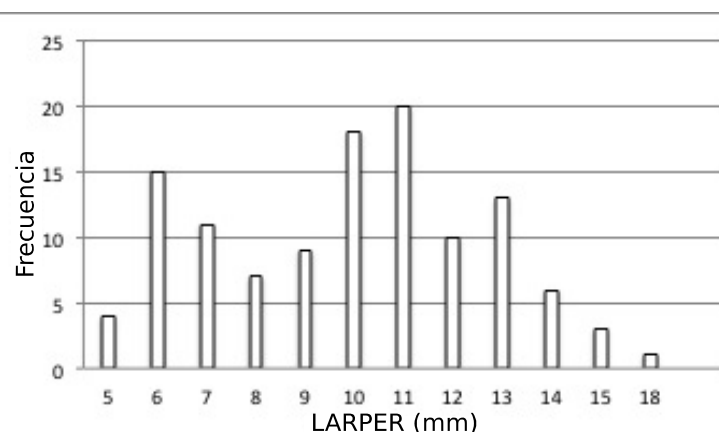


Figura 7: Histograma de los valores del largo del perigonio de las 156 plantas medidas.

Las otras variables morfológicas se muestran de modo de boxplot (Figs. 8 y 9) graficando la media y su varianza para las dos especies hipótesis: *Q. chilense* y *Q. parviflorum*.

Primeramente se muestra al grupo de boxplots (Fig. 8) correspondientes a las 4 variables vegetativas (ALTTAL, LARHOJ, ANCHOJ y FH; Tabla 2). Estas variables no evidenciaron diferencias significativas entre las dos especies hipótesis. Aún más, los rangos de valores de ambas especies hipótesis se solapan en gran medida en todos los casos.

Del mismo modo se muestran los boxplots de las 13 variables reproductivas (Fig. 9). Estos últimos ponen en evidencia que en nueve caracteres florales (LARPER, LARLOB, ANCLOB, LARCAL, LARDIEN, LARFIL, LARANT, ANCANT y LAREST; Tabla 2) los valores medios de *Q. parviflorum* son menores que aquellos de *Q. chilense*. Por otro lado, los boxplots de cuatro de las variables reproductivas (ANCPER, LARFILIB, LARANT y MF; Tabla 2), al igual que para las variables vegetativas, no se visualizan estas diferencias entre las dos especies hipótesis.

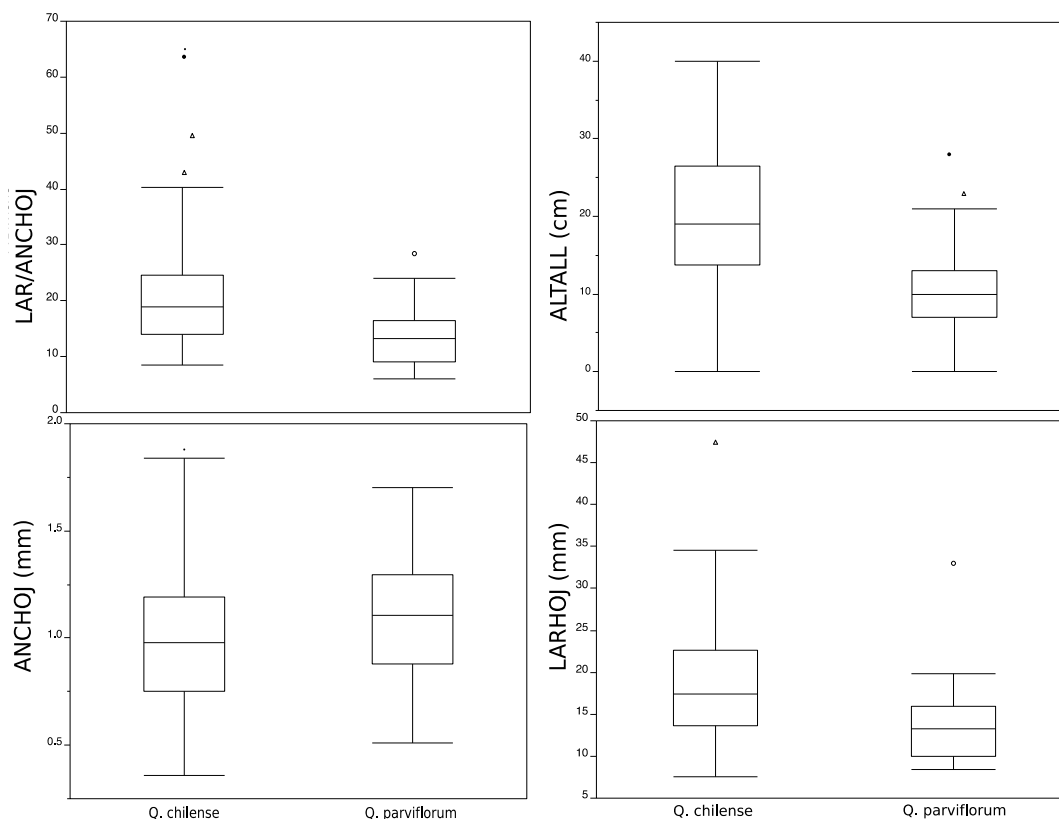


Figura 8: Box plots de las 4 variables morfológicas vegetativas visualizando la diferencias entre las dos especies hipótesis. Primera fila de izq. a der.: ALTAL (carácter 1) y LAR/ANCHOJ (FH; carácter 4). Segunda fila de izq. a der.: LARHOJ (carácter 2) y ANCHOJ (carácter 3).

ESTUDIO MORFOLÓGICO Y FILOGENÉTICO DEL GÉNERO *QUINCHAMALIUM*
CAPÍTULO 2: ANÁLISIS MULTIVARIADO DE LA MORFOLOGÍA DE *QUINCHAMALIUM*

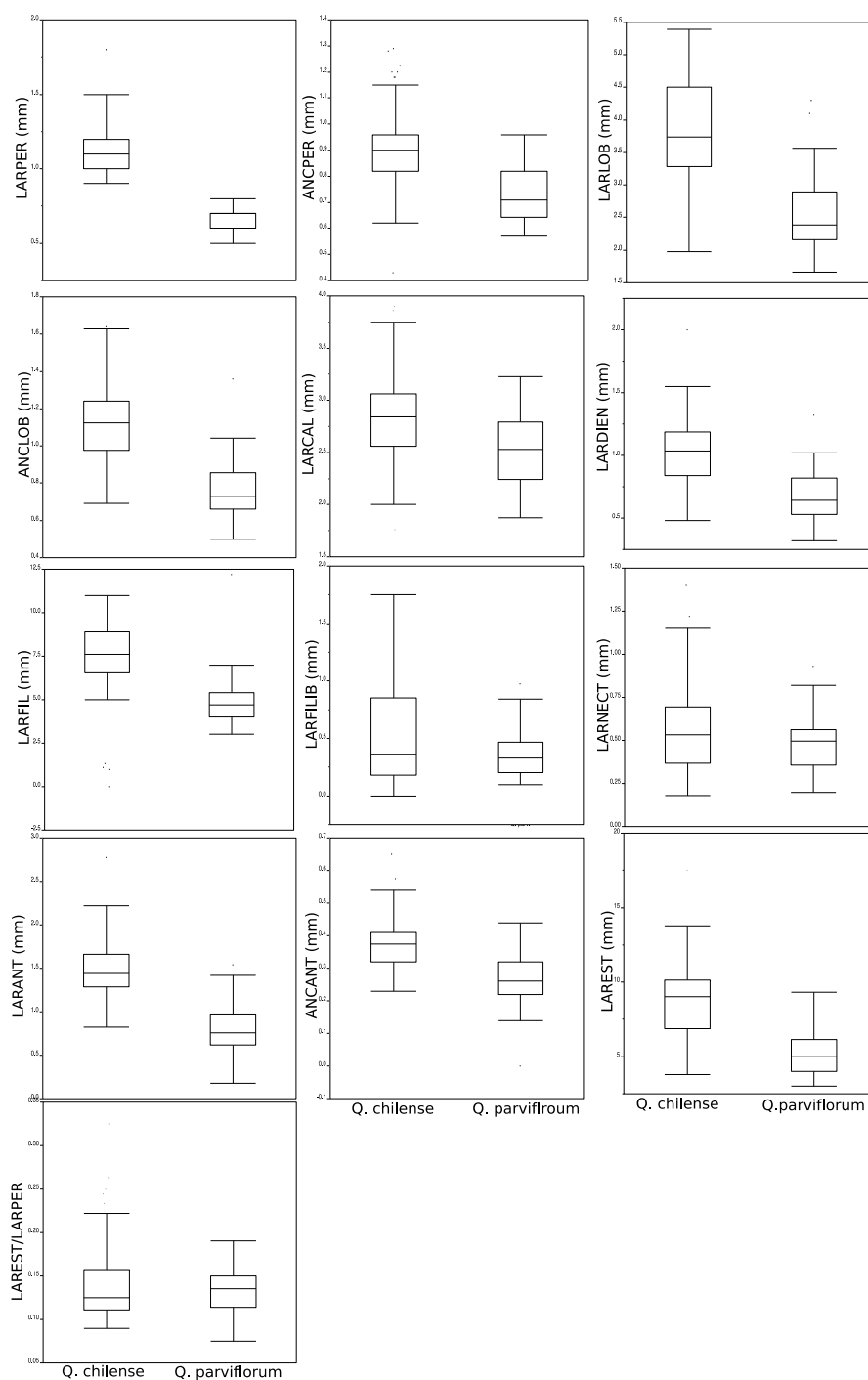


Figura 9: Box plots de 12 de las variables morfológicas reproductivas visualizando las diferencias entre las dos especies hipótesis. Primera fila de izq. a der.: LARPER (carácter 5), ANCPER (carácter 6) y LARLOB (carácter 7). Segunda fila de izq. a der.: ANCLOB (carácter 8), LARCAL (carácter 9) y LARDIEN (carácter 10). Tercera fila de izq. a der.: LARFIL (carácter 11), LARFILIB (carácter 12) y LARNECT (carácter 13). Cuarta fila de izq. a der.: LARANT (carácter 14), ANCANT (carácter 15), LAREST (carácter 16). Quinta fila: LAREST/LARPER (MF; carácter 17).

2.3.2.2. Dos especies hipótesis: *Q. chilense* y *Q. parviflorum*: Análisis estadísticos univariados

Para evaluar la significancia estadística de las diferencias observadas en los valores medios de las variables visualizadas en los boxplots, se realizaron los tests estadísticos correspondientes.

Prueba de hipótesis

La tabla 3 muestra que 13 variables tienen diferencias significativas (K-W; $p < 0,05$) entre las dos especies hipótesis, dentro de las cuales se encuentra el carácter diagnóstico (LARPER; Tabla 2). Sólo 4 de las variables no muestran diferencias significativas, dentro de las cuales están la forma de la hoja y el morfotipo floral.

ESTUDIO MORFOLÓGICO Y FILOGENÉTICO DEL GÉNERO *QUINCHAMALIUM*
 CAPÍTULO 2: ANÁLISIS MULTIVARIADO DE LA MORFOLOGÍA DE *QUINCHAMALIUM*

Tabla 3: Diferencias morfológicas (17 caracteres) entre las especies hipótesis. Para cada especie se indican los promedios calculados para cada carácter + el error estándar y en la línea inferior entre paréntesis, sus rangos (Mín-Máx). Excepto por la ALTTAL que está en cm, el resto de las variables están indicadas en mm.

N°	Caracteres	<i>Q. chilense</i>	<i>Q. parviflorum</i>	χ^2 -p valor
Caracteres vegetativos				
1	ALTTAL	20,28±0,8 (7,5-40)	10,59±0,79 (2,5-28)	<0,001
2	LARHOJ	17,79±0,52 (8,4-33)	17,22±1,27 (7,6-47,4)	0,4105
3	ANCHOJ	1,08±0,03 (0,37-1,88)	0,85±0,03 (0,36-1,78)	<0,0001
4	FH	18,01±0,7 (6-43)	22,78±1,7 (8,49-65)	0,0104
Caracteres reproductivos				
5	LARPER	11,41±0,16 (9-18)	6,62±0,13 (5-8)	<0,0001
6	ANCPER	0,9±0,01 (0,43-1,29)	0,73±0,01 (0,57-1)	<0,0001
7	LARLOB	3,89±0,06 (2,2-5,39)	2,54±0,08 (1,66-4,3)	<0,0001
8	ANCLOB	1,12±0,01 (0,69-1,64)	0,76±0,02 (0,5-1,36)	<0,0001
9	LARCAL	2,8±0,04 (1,76-3,9)	2,5±0,05 (1,87-3,23)	0,001
10	LARDIEN	1±0,02 (0,2-2)	0,68±0,02 (0,32-1,3)	<0,0001
11	LARFIL	7,54±0,18 (3,8-11)	4,77±0,13 (3-7)	<0,0001
12	LARFILIB	0,52±0,03 (0-1,75)	0,36±0,03 (0,1-1)	0,1707
13	LARNECT	0,54±0,02 (0,18-1,14)	0,49±0,02 (0,2-1)	0,1832
14	LARANT	1,48±0,03 (0,82-2,77)	0,82±0,04 (0,18-1,54)	<0,0001
15	ANCANT	0,37±0,007 (0,23-0,65)	0,26±0,01 (0,14-0,44)	<0,0001
16	LAREST	8,62±0,22 (3,8-17,5)	5,2±0,20 (3-9,3)	<0,0001
17	MF	1,42±0,04 (0,9-3,25)	1,32±0,03 (0,75-1,81)	0,4844

2.3.2.3. Dos especies hipótesis: *Q. chilense* y *Q. parviflorum*: Análisis de los Componentes Principales

Se muestra el ordenamiento en el espacio de los ejemplares con respecto a los dos primeros ejes del ACP (Componente 1, Componente 2; Fig. 10) utilizando para dicho análisis las 17 variables morfológicas, tanto vegetativas como reproductivas. Los puntos en el gráfico representan los 157 ejemplares medidos. El componente 1 explica el 42,9% de la variación mientras que el componente 2 sólo el 14,4% (Fig. 10, Tabla 4). Aunque el ACP no evidencia la existencia de dos grupos homogéneos discontinuos (Fig. 10) ya que las dos nubes de puntos se superponen, se observa una tendencia a una separación entre las dos especies hipótesis en la componente 1. Los caracteres que más separan a estos dos grupos morfológicos (*Q. chilense* y *Q. parviflorum*) son los que más contribuyen al eje 1: LARPER, LARLOB, LARANT, ANCLOB, y ANCPER (valores más altos de los marcados en negrita en la Tabla 5). Estos caracteres en general se relacionan con el tamaño de las flores, mayores en *Q. chilense* que en *Q. parviflorum*. Por otro lado, el carácter que más contribuye al eje 2, FH, también tiende a separar los dos grupos, aunque en menor medida. Este carácter se relaciona mayormente con la forma de la hoja, que tienden a ser relativamente más angostas y alargadas en *Q. parviflorum* que en *Q. chilense*.

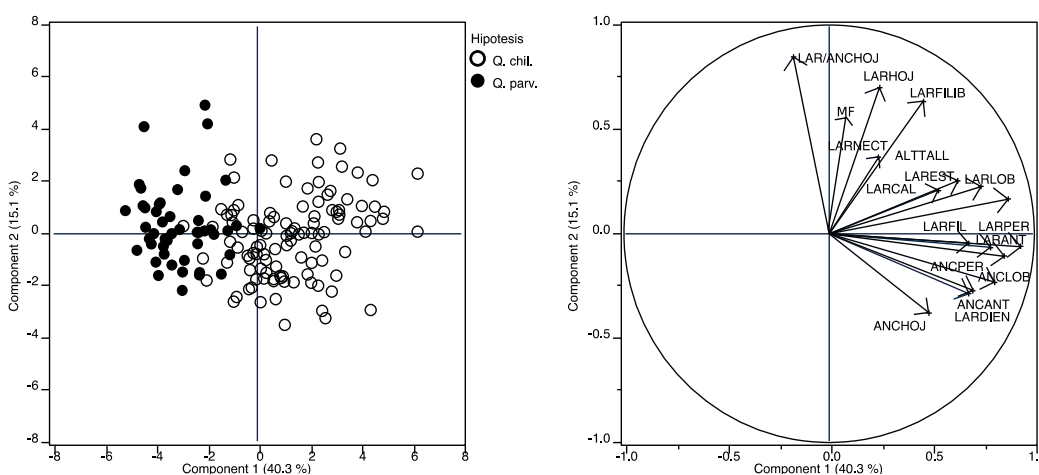


Figura 10: Gráficos de los dos primeros ejes y el porcentaje explicado del ordenamiento obtenido a partir del análisis de componentes principales (ACP) de la morfología de ejemplares de las dos especies hipótesis (*Q. chilense*, *Q. parviflorum*) utilizando tanto caracteres vegetativos como reproductivos. El valor de la componente de cada eje se muestra entre paréntesis. En el gráfico de la derecha las flechas indican la contribución de las variables originales a cada eje (Tabla 4). Las abreviaturas de cada carácter se corresponden con las de la Tabla 2.

ESTUDIO MORFOLÓGICO Y FILOGENÉTICO DEL GÉNERO *QUINCHAMALIUM*
 CAPÍTULO 2: ANÁLISIS MULTIVARIADO DE LA MORFOLOGÍA DE *QUINCHAMALIUM*

Tabla 4: Autovalores correspondientes a los dos primeros ejes del ACP con sus significancias.

N	Autovalor	Porcentaje	Por.Acum.	X ²	GL	Prob>X2
1	6,8557	40,327	40,327	2262,25	131,453	<,0001
2	2,5786	15,169	55,496	1448,27	127,382	<,0001

Tabla 5: Contribución de cada variable a los dos primeros ejes del ACP de morfología que explican el 55.5% de la variación. En negritas las variables con contribuciones mayores a 0,6.

N°	Caracter	Eje1	Eje2
Caracteres vegetativos			
1	ALTTAL	0,62	0,17
2	LARHOJ	0,24	0,57
3	ANCHOJ	0,48	-0,44
4	FH	-0,17	0,78
Caracteres reproductivos			
5	LARPER	0,93	-0,08
5	ANCPER	0,78	-0,06
7	LARLOB	0,87	0,16
8	ANCLOB	0,80	-0,27
9	LARCAL	0,52	0,12
10	LARDIEN	0,68	-0,32
11	LARFIL	0,67	-0,06
12	LARFILIB	0,45	0,67
13	LARNECT	0,24	0,28
14	LARANT	0,85	-0,02
15	ANCANT	0,70	-0,23
16	LAREST	0,73	0,39
17	MF	0,02	0,59

Aunque se observa que la mayoría de los ejemplares identificados *a priori* como *Q. chilense* están en el grupo de la derecha (círculos vacíos, Fig. 10) mientras que aquellos identificados *a priori* como *Q. parviflorum* están ubicados a la izquierda (círculos llenos, Fig. 10), esta separación no es óptima, ya que ambos grupos están solapados y no muestran

una discontinuidad en el espacio del ordenamiento.

2.3.2.4. Dos especies hipótesis: *Q. chilense* y *Q. parviflorum*: Análisis multivariado discriminante

El análisis discriminante evaluó la existencia de las dos especies hipótesis establecidas *a priori* (*Q. chilense* y *Q. parviflorum*; Fig. 11). Primeramente se observó que solamente 7 variables de las 17 totales cumplen con los supuestos del análisis discriminante. Por lo tanto las variables incluidas en el análisis son: LARHOJ, ANCHOJ, FH, ANCPER, ANCLOB, LARCAL y ANCANT (Tabla 2). Por otro lado, se dejó afuera del análisis el carácter diagnóstico largo del perigonio que se utilizó *a priori* para separar las especies, para evitar la circularidad.

El test de lambda de Wilks para poner a prueba la significancia de las diferencias entre centroides indica que los centroides son significativamente diferentes (valorWL=0.53; $p < 0.0001$).

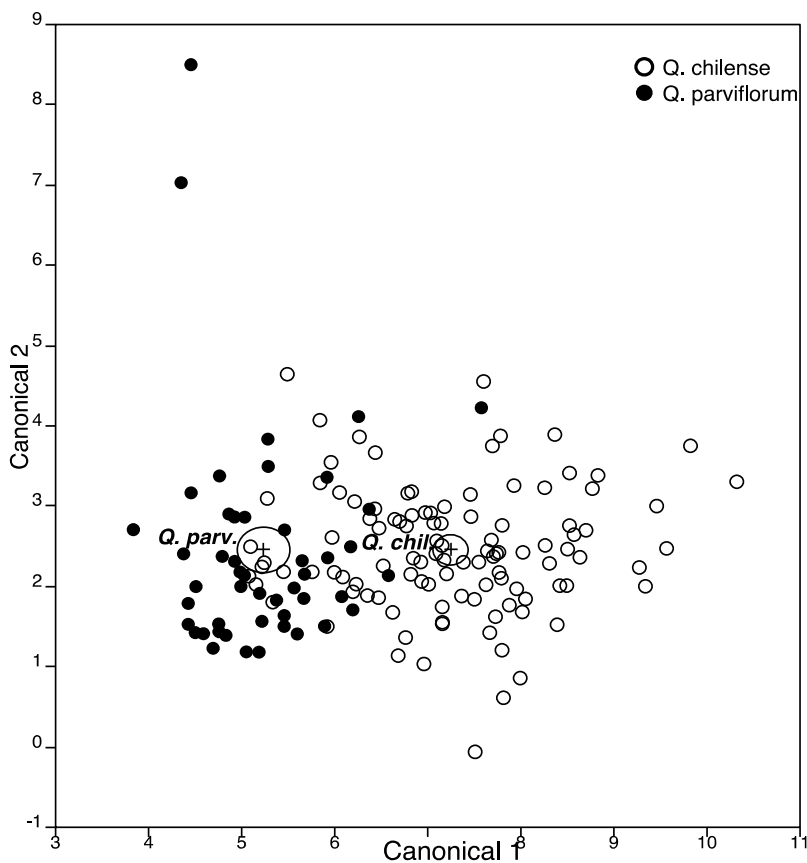


Figura 11: Gráfico de las dos funciones canónicas (primero y segundo eje canónicos) del análisis discriminante obtenido a partir de los 7 caracteres vegetativos y reproductivos preseleccionados para *Q. chilense* y *Q. parviflorum*. Los círculos representan los centroides de las especies.

Las probabilidades asignadas *a posteriori* fueron determinadas para los 157 ejemplares medidos. De estas probabilidades se obtuvo una matriz de clasificación en donde se muestra un alto porcentaje de clasificación *a posteriori* igual al 93% de la especie hipótesis *Q. parviflorum*, pero un porcentaje relativamente bajo, igual a 80% para la especie hipótesis *Q. chilense* (Tabla 6).

Tabla 6: Matriz de clasificación obtenida del análisis discriminante para las dos especies hipótesis.

<i>a priori</i>	<i>a posteriori</i>		
	<i>Q. chilense</i>	<i>Q. parviflorum</i>	% correcto
<i>Q. chilense</i>	87	21	80
<i>Q. parviflorum</i>	3	45	93

Ochenta y siete ejemplares de los 108 clasificados *a priori* como *Q. chilense* (perigonio largo) fueron clasificados *a posteriori* en ese grupo con probabilidades asignadas entre 50-94%. Veintiuno resultaron mal clasificados, con probabilidades entre 8-49%. Estos mismos fueron clasificados *a posteriori* en *Q. parviflorum* con probabilidades asociadas entre 50-91%.

Cuarenta y cinco de los 48 ejemplares clasificados *a priori* en *Q. parviflorum* (perigonio corto) fueron clasificadas *a posteriori* en ese grupo, con probabilidades asignadas de entre 52-94%. Tres fueron mal clasificados con probabilidades entre 6-40%. Éstos fueron asignados *a posteriori* a *Q. chilense* con una probabilidad asociada entre 58-93%.

2.3.3. Distribución geográfica y variación climática y morfológica

2.3.3.1. Mapa de distribución de *Q. chilense* y *Q. parviflorum*

A continuación se presenta el mapa de distribución de las dos especies hipótesis, donde se observa que ambas distribuciones se superponen.

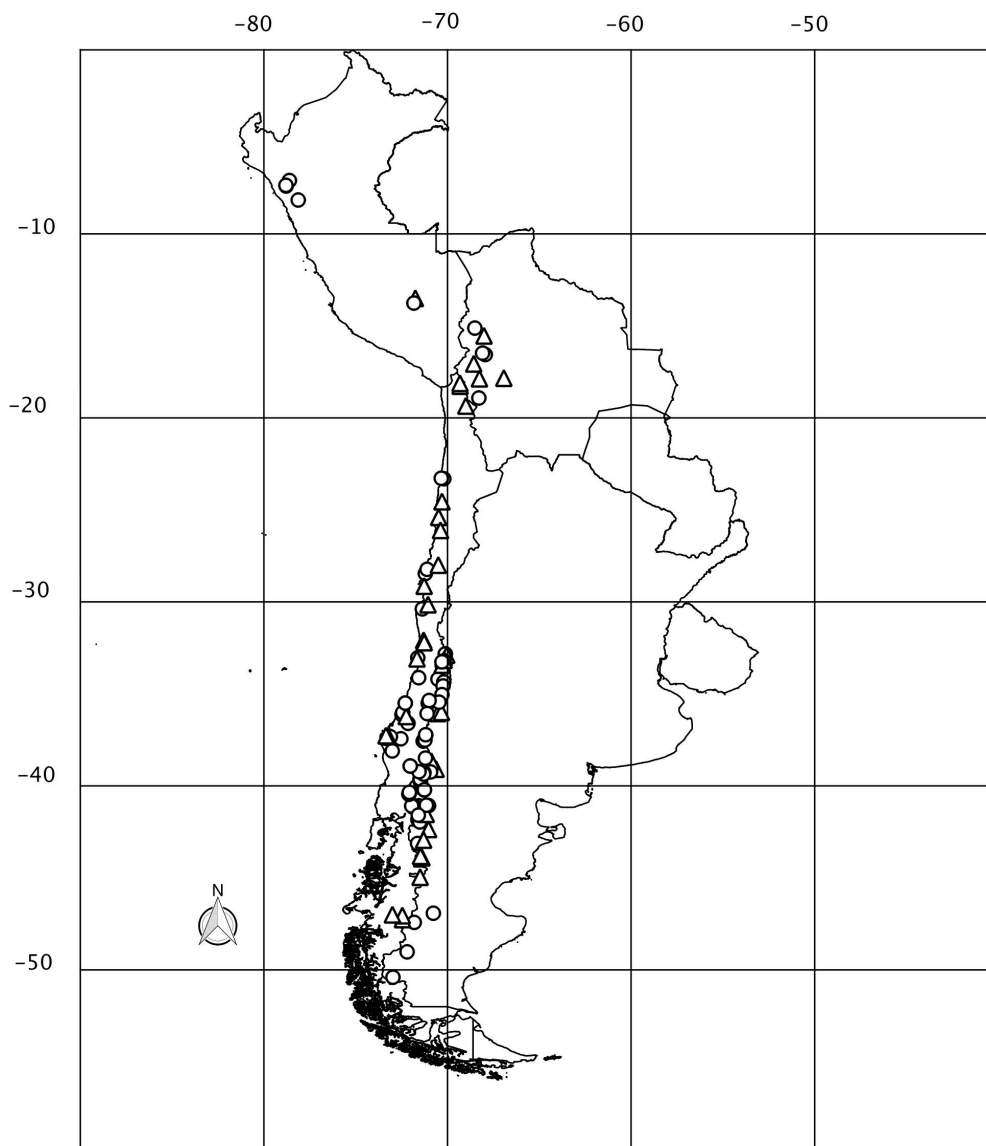


Figura 12: Mapa de distribución de las dos especies hipótesis: *Q. chilense* (círculos) y *Q. parviflorum* (triángulos).

2.3.3.2. Estudio de los patrones de variación climática en relación a la variación morfológica de *Quinchamalium*

La relación entre los datos climáticos y geográficos y la variación morfológica fue evaluada primero mediante correlaciones (Tabla 7). Se observa que la forma de la hoja y el tamaño de la flor, caracteres importantes en la variación del género e independientes el uno del otro, se correlacionan significativamente con la precipitación (BIO12, BIO13, BIO16 y BIO17).

Los datos climáticos se resumieron en los dos primeros componentes principales del ACP de ejemplares ordenados según las variables climáticas (Fig. 13), que en conjunto

representa el 65,7% de la variación. Doce de las 19 variables empleadas en el ACP tenían cargas relativamente altas (valores absolutos > 0,6) en uno de los dos primeros componentes (Tabla 8). El primer componente (CP1) del clima estuvo dominado por la temperatura, con altos aportes de la temperatura media del cuarto más frío del año (BIO11), la temperatura media anual (BIO1), la temperatura del cuarto más húmedo del año (BIO8), la temperatura mínima del mes más frío (BIO6), la temperatura media del cuarto más cálido del año (BIO10) y la temperatura media del cuarto más seco del año (BIO9; véase la Tabla 8 para todas las contribuciones). En cambio, el componente 2 (CP2) del clima estuvo dominado por la precipitación, con altos aportes de la precipitación anual (BIO12), la precipitación del cuarto más húmedo del año (BIO16), la precipitación del cuarto más seco del año (BIO17), la precipitación del mes más húmedo del año (BIO13), la precipitación del cuarto más frío del año (BIO19) y la precipitación del mes más seco del año (BIO14; véase la Tabla 8 para las contribuciones). Se muestran a los ejemplares ordenados con respecto a los dos primeros ejes del ACP climático (Componente 1, Componente 2; Fig. 13), en donde los puntos en la figura representan los ejemplares de *Quinchamaliium* de todo el rango de la distribución. En éstos se observa que el componente 1 explica el 37% de la variación mientras que el componente 2 solo el 29% (Fig. 13). Además, se muestra a 117 ejemplares que pertenecen a las dos especies hipótesis (*Q. chilense* y *Q. parviflorum*; Fig. 13).

ESTUDIO MORFOLÓGICO Y FILOGENÉTICO DEL GÉNERO *QUINCHAMALIUM*
CAPÍTULO 2: ANÁLISIS MULTIVARIADO DE LA MORFOLOGÍA DE *QUINCHAMALIUM*

Tabla 7: Coeficientes de correlación de Pearson entre una selección de variables morfológicas y climáticas. Niveles de significancia: $p < 0.01$. El asterisco demarca significancia.

	Variabes	Tallo	Largo hoja	Forma hoja	Largo flor	Ancho lóbulo	Largo cálculo	Largo filamento	Morf. floral	LONG	LAT
Temperaturas											
BIO1	Media anual	0.11*	0.13*	0.11	0.04	-0.06	-0.26*	-0.04	0.12	0.16	0.23*
BIO2	Amplitud térmica	0.11	-0.13	-0.08	0.03	-0.11	0.15*	0.08	0.18	0.25*	0.52*
BIO4	Estacionalidad	0.06	0.17	0.02	0.17	0.27	0.40*	0.19	0.18	0.18	-0.82*
BIO5	Max. mas mes cálido	0.25*	0.20	0.10	0.20	0.10	0.00	0.16	-0.10	-0.01	0.11
BIO7	Rango anual	0.14	0.04	-0.04	0.16	0.11	0.42*	0.22	-0.01	0.33*	-0.19
BIO8	Media ¼ mas húmedo	0.06	0.01	0.08	-0.04	-0.15	-0.33*	-0.05	-0.21	-0.05	0.59*
BIO9	Media ¼ mas seco	0.17	0.25*	0.11	0.14	0.10	-0.06	0.09	-0.05	-0.12	-0.07
Precipitación											
BIO12	Anual	0.21	-0.10	-0.16	0.35*	0.41*	0.29*	0.25*	0.11	-0.24*	-0.27*
BIO13	Mes mas húmedo	0.27*	-0.12	-0.18	0.39*	0.41*	0.29*	0.28*	0.06	-0.21	-0.14
BIO15	Estacionalidad	0.06	-0.04	-0.03	-0.07	-0.18	-0.23	-0.12	-0.20*	0.28*	0.65*
BIO16	Del ¼ del año mas húmedo	0.28*	-0.10	-0.18	0.39*	0.41*	0.30*	0.28*	0.06	-0.20*	-0.18
BIO17	Del ¼ del año mas seco	0.04	-0.07	-0.12	0.24*	0.38*	0.21	0.16	0.20	-0.24*	-0.49*
BIO18	Del ¼ del año mas cálido	-0.04	-0.29*	-0.09	0.03	-0.03	-0.01	0.05	0.00	-0.17*	0.41
Geografía											
	LONG	-0.17	-0.08	-0.08	-0.14	-0.14	-0.10	-0.13	-0.09*	-	-
	LAT	0.01	-0.17	-0.06	-0.11	-0.31	-0.21	-0.08	-0.25*	-	-

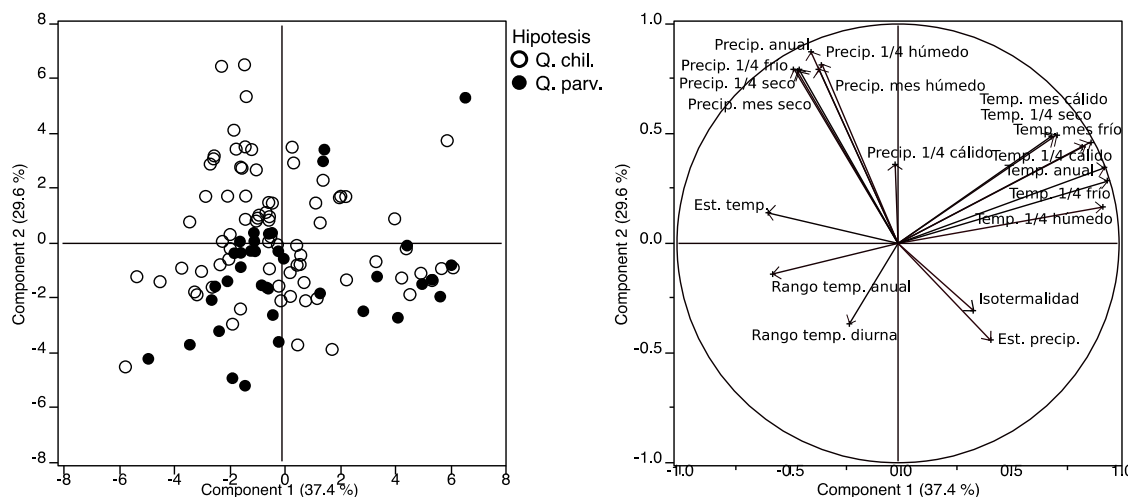


Figura 13: Caracterización ambiental de las especies hipótesis: Análisis de las componentes principales de las variables climáticas para los ejemplares de cada una de las especies hipótesis (*Q. chilense* y *Q. parviflorum*). La varianza explicada por cada componente se muestra entre paréntesis. Las flechas del gráfico de la derecha indican la contribución de las variables originales en cada eje (Tabla 8).

Tabla 8: Contribución de cada variable a los dos primeros ejes del ACP climático que explican el 65,7% de la variación. En **negritas** las variables que más contribuyen a cada eje.

N	Var. climática	Eje 1	Eje 2
Bio1	Temperatura Media Anual	0,93	0,34
Bio2	Rango Diurno Medio Temp.	-0,21	-0,36
Bio3	Isotermalidad (BIO2/BIO7) (* 100)	0,34	-0,30
Bio4	Estacionalidad Temperatura	-0,58	0,13
Bio5	Temp. Máx. Período Más Cálido	0,69	0,48
Bio6	Temp. Mín. Período Más Frío	0,87	0,46
Bio7	Rango Anual Temp. (BIO5-BIO6)	-0,56	-0,13
Bio8	Temp. Media Cuarto Más Húmedo	0,92	0,16
Bio9	Temp. Media Cuarto Más Seco	0,71	0,49
Bio10	Temp. Media Cuarto Más Cálido	0,83	0,43
Bio11	Temp. Media Cuarto Más Frío	0,94	0,28
Bio12	Precipitación Anual	-0,39	0,87
Bio13	Precip. Período Más Húmedo	-0,35	0,79
Bio14	Precip. Período Más Seco	-0,45	0,78

N	Var. climática	Eje 1	Eje 2
Bio15	Estacionalidad Precip.	0,41	-0,44
Bio16	Precip. Cuarto Más Húmedo	-0,34	-0,44
Bio17	Precip. Cuarto Más Seco	-0,47	0,79
Bio18	Precip. Cuarto Más Cálido	-0,01	0,35
Bio19	Precip. Cuarto Más Frío	-0,44	0,79

2.3.3.3. Variación Morfológica, Geografía y Clima

Las variables morfológicas se relacionaron con alguna de las variables climáticas. Por ejemplo, el PC2 de las variables climáticas, que principalmente resume a las variables de la precipitación (Tabla 8), se correlaciona significativamente (Fig. 14) con el PC1 de las variables morfológicas, que resume la forma de la flor (Tabla 5).

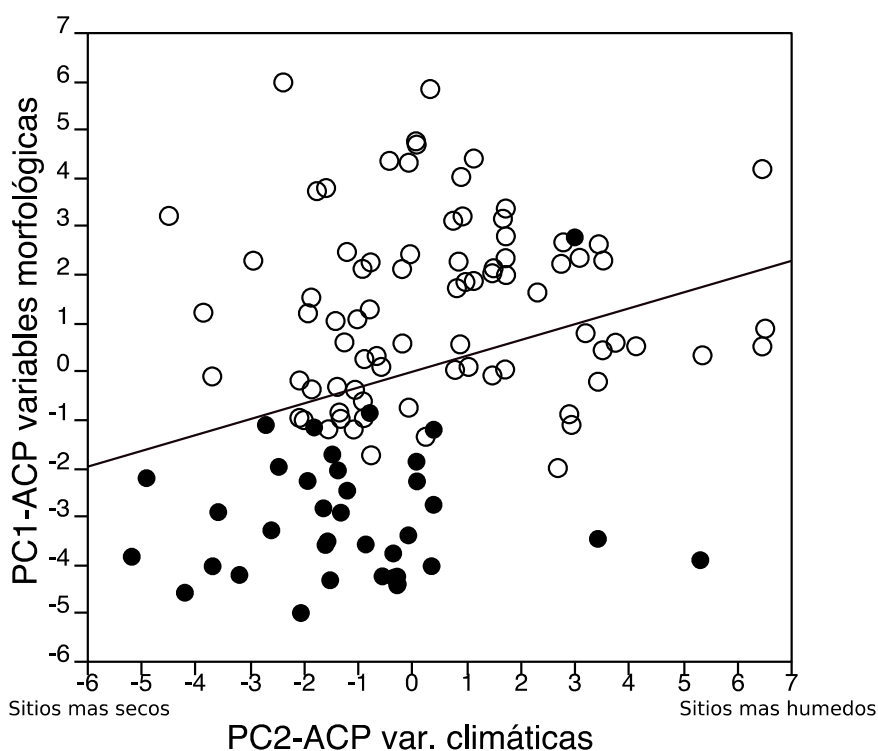


Figura 14: Relación entre la morfología de la planta y el clima. Círculos llenos: *Q. parviflorum*; círculos vacíos: *Q. chilense*. El eje y representa el PC1 de la variación morfológica, y está dominado por el tamaño de la flor y la longitud del tallo (Tabla 5 con los valores de contribución). El eje de las x representa el PC2 de la variación climática, el cual esta resumiendo principalmente las variables relacionadas a la precipitación (Tabla 8 con los valores de contribución). La línea representa la línea de tendencia que mejor ajusta a una regresión (pendiente = 0,32, $r^2 = 0,08$, $p = 0,0014$).

Sin embargo, el PC2 del clima no se correlacionó al PC2 de la morfología, que resume las variables de la forma de la hoja (resultados no mostrados).

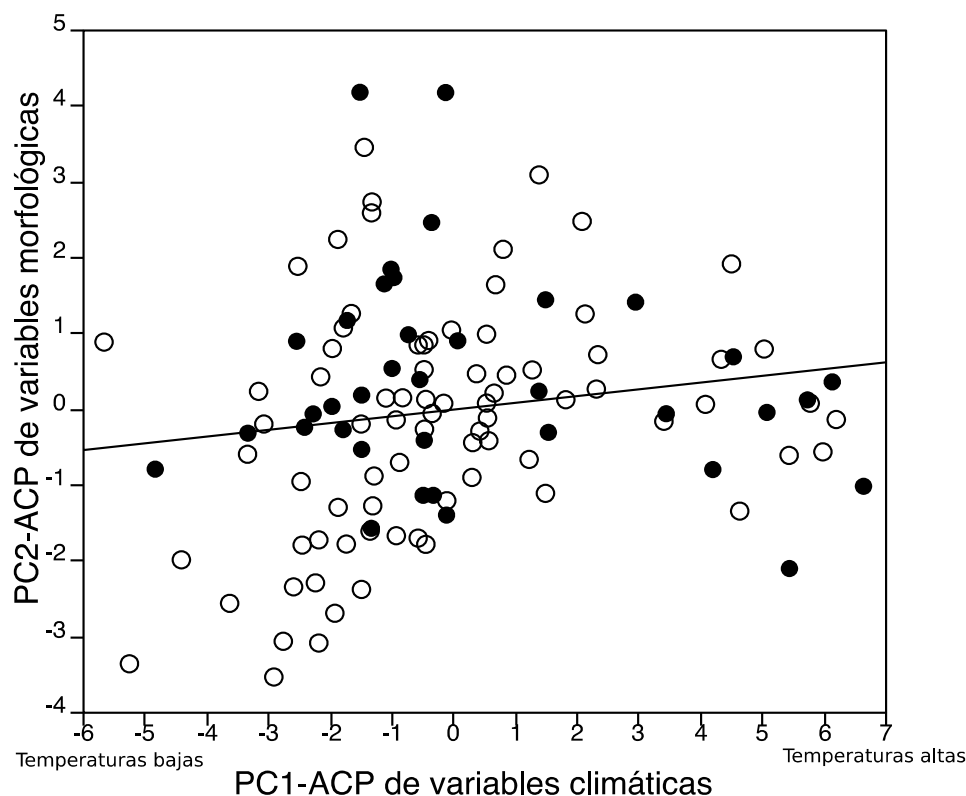


Figura 15: Relación entre la morfología de la planta y el clima. Círculos llenos: *Q. parviflorum*, círculos vacíos: *Q. chilense*. El eje y representa el PC2 de la variación morfológica, y está dominado por la forma de la hoja y el morfotipo floral, con menor contribución que la forma de la hoja, (Tabla 5 con los valores de contribución). El eje de las x representa el PC2 de la variación climática, el cual está explicado principalmente por la temperatura (Tabla 8 con los valores de contribución). La línea representa la línea de tendencia que mejor ajusta a una regresión (pendiente = 0.11, $r^2 = 0,03$; $p = 0,04^*$).

El PC1 de las variables climáticas que principalmente resume a las variables de la temperatura (Tabla 8) se correlaciona significativamente (Fig. 15) con el PC2 de las variables morfológicas, que resume a la forma de la hoja (Tabla 5). Sin embargo, el PC1 del clima no se correlacionó a la PC1 de la morfología (resultados no mostrados).

La morfología floral (MF) se calculó como la relación entre el largo del estilo y el largo del perigonio. Se interpretan las flores con pequeños valores de MF como flores brevistilas (THRUM; flores con estilos relativamente cortos) y las flores con valores altos de MF como longistilas (PIN; con relativamente estilos largos). Por lo tanto, flores

brevistilas y hojas más anchas son comúnmente encontradas en sitios más fríos mientras que plantas con flores longistilas y hojas más angostas y alargadas son predominantes en sitios más cálidos (Fig. 15).

Del mismo modo, generalmente las plantas de sitios más húmedos presentan flores más grandes y son plantas más altas mientras que plantas de sitios más secos presentan flores más pequeñas y son más pequeñas (Fig. 14).

El grado de asociación entre las variables morfológicas y los datos geográficos fue dominado por la correlación entre la latitud y el morfotipo floral (Spearman's $\rho = -0,25$, $p = 0.0006$).

Por otro lado, la distribución geográfica muestra que las dos especies hipótesis con diferentes tamaños florales (*Q. chilense* y *Q. parviflorum*) son simpátricas en casi toda la distribución longitudinal y latitudinal del género *Quinchamalium* (Fig. 12).

2.4. Discusión y conclusiones a partir de los análisis morfológicos

Este capítulo presenta los resultados de análisis numéricos de la variación morfológica de caracteres vegetativos y florales en *Quinchamalium*, un género de amplia distribución en la región andina. Se analizó la existencia de dos especies hipótesis (*Q. chilensis* y *Q. parviflorum*) caracterizadas por diferentes longitudes de perigonio (LARPER). Aunque varios otros caracteres correlacionados mostraron diferencias significativas entre las dos especies, los análisis multivariados y la distribución geográfica no las apoyaron como diferentes. Los resultados del ACP mostraron una separación parcial de estas dos especies en el Eje 1, con *Q. chilense* por un lado, que se caracteriza generalmente por presentar flores más grandes y plantas más altas, y con *Q. parviflorum* por otro, de flores más pequeñas y plantas más bajas. Sin embargo, la falta de una separación clara en el ACP y la tasa de éxito relativamente baja de discriminación (83% en la matriz de clasificación) en el AD de las dos especies hipótesis, no soportan la existencia de discontinuidad morfológica entre dos morfoespecies. En conclusión, y teniendo en cuenta el criterio práctico de morfoespecie discutido en el Capítulo 1 de esta tesis, los datos no apoyan la existencia de estas dos especies hipotéticas, de manera que se reconoce una sola especie polimórfica en el género, cuya nomenclatura, descripción y sinonimia se tratan en el Capítulo 3.

Otras variables importantes en relación con la variabilidad morfológica de la especie fueron la forma de hoja (FH) y el morfotipo floral (MF), como se muestra por las contribuciones significativas en el Eje 2 del ACP, pero estos caracteres tampoco apoyaron la separación de las especies. En el pasado, varios autores (Presl 1849, Phillipi 1857, Miers 1880, Dawson 1944, Navas 1976) utilizaron algunos de estos caracteres en tratamientos taxonómicos de *Quinchamalium*, pero no incluyeron análisis numéricos. Por lo tanto, resultados aquí presentados son los primeros que utilizan análisis multivariados para determinar si existen morfoespecies. Como prueba adicional, el mapa de distribución (Fig. 12) muestra claramente que no hay distinciones geográficas entre las dos morfoespecies hipotéticas (*Q. chilense* y *Q. parviflorum*). Estos resultados apoyan la hipótesis de Dawson (1944), quien observó la escasez de diferencias morfológicas sustanciales como para apoyar la existencia del gran número de especies consideradas en ese momento.

A partir del reconocimiento de una única especie polimórfica y de gran extensión en el género *Quinchamalium*, se estudiaron patrones geográficos y climáticos asociados con su variación morfológica. Una perspectiva geográfica es particularmente importante para las especies con amplia distribución, ya que son propensas a experimentar una amplia variedad de condiciones ambientales (e.g. Hodgins y Barret 2008; Baranzelli et al. 2014; Nicola et al. 2014). El clima y la morfología de *Quinchamalium chilense* resultaron estar relacionados. Por ejemplo, los sitios con menores precipitaciones tienden a tener plantas más bajas con flores más pequeñas, y los sitios con temperaturas más altas, plantas con hojas relativamente más estrechas y flores con estilos relativamente largos respecto de sus corolas. Estos tipos de diferencias sugieren el efecto de los gradientes de aridez que existen en relación a los Andes, resultantes de la combinación de temperaturas más altas y precipitaciones más reducidas a diferentes latitudes o longitudes geográficas (e.g. Ezcurra et al. 1997; Quiroga et al. 2002; Baranzelli et al. 2014). Un mayor tamaño de la planta y de la flor asociado a mayores precipitaciones y condiciones climáticas más favorables para el crecimiento han sido también observado en otros grupos de plantas (Hodgins y Barret 2008).

Al alterar características a través de la plasticidad fenotípica en respuesta a cambios en las condiciones ambientales, las plantas son capaces de responder de forma adaptativa a una diversidad de ambientes y por lo tanto utilizan una variedad más amplia de hábitats de lo que sería posible si todos los caracteres se fijaron genéticamente (Sultan 2000). También es posible que especies de amplia distribución hagan frente a una variedad de condiciones

en toda su área de distribución, de manera que a través de la selección natural las distintas poblaciones puedan resultar en diferenciación genotípica (Gaston 2003). En base a los resultados de este capítulo no podemos distinguir entre estas dos alternativas para *Q. chilense*. La gran variación morfológica de esta especie en relación a las condiciones ambientales heterogéneas podría ser la consecuencia de diferencias genéticas, como se infiere en la hierba *Cerastium arvense* (Caryophyllaceae; Quiroga *et al.* 2002) o en la especie arbórea *Nothofagus pumilio* (Nothofagaceae: Premoli 2003; Premoli y Brewer 2007; Premoli *et al.* 2007), o deberse a plasticidad fenotípica, como se describe en *Ceanothus* (Rhamnaceae; Pugnaire *et al.* 2006) y *Psychotria* (Rubiaceae; Valladares *et al.* 2000). Un experimento de jardín común podría diferenciar entre las dos hipótesis, pero hasta ahora el cultivo de *Q. chilense* no ha tenido éxito; las semillas sembradas no lograron germinar y las plantas trasplantadas murieron después de repetidos intentos de cultivo (López Laphitz, obs. personal).

Otro resultado importante de este estudio es la relación entre el morfotipo floral y la temperatura. En primer lugar, se observó que la latitud geográfica se correlaciona con el morfotipo; ejemplares con flores brevistilas (THRUM) se observan únicamente en el sur y las longistilas (PIN) aparecen tanto en el sur como en el norte. Por ejemplo, no se encontraron individuos con flores brevistilas en latitudes inferiores a 28 ° S (norte de Chile: Huasco). Por lo tanto, las regiones del norte (Perú, Bolivia y el norte de Chile) presentan solo flores longistilas, mientras que ambos morfos aparecen en la parte sur de la zona de distribución de la especie, en tanto que el morfo brevistila (THRUM) se observó asociada a zonas más elevadas en cerros y montañas. Se ha observado un patrón similar en *Narcissus* (Amaryllidaceae), de estilo dimórfico, muestra una gran variación desde poblaciones dimórficas (con flores PIN y THRUM) a poblaciones monomórficas (PIN) en diferentes áreas geográficas (Hodgins y Barret de 2008; Pérez-Barrales *et al.* 2014). Esta variación muchas veces se asocia a cambios en los polinizadores y la ausencia de uno de los morfos parece ser una condición derivada (Hodgins y Barret 2008; Pérez-Barrales *et al.* 2014). En segundo lugar, como se muestra por la regresión entre el Eje 2 del ACP morfológico y el Eje 1 del ACP climático, a temperaturas más altas hay una tendencia a producir sólo flores PIN. Diferentes patrones de morfología floral se han encontrado cuando las plantas están sujetas a selección por diferentes grupos funcionales de polinizadores en diferentes climas (Chalcoff *et al.* 2008; Hodgins y Barret 2008; Pérez-Barrales *et al.* 2014). Por lo tanto, la temperatura podría afectar el morfotipo floral

indirectamente mediante la determinación de diferentes ensambles de polinizadores en zonas más frías o más cálidas. Así, las diferentes frecuencias de morfotipos podrían ser el resultado de especialización a diferentes ambientes (tanto factores abióticos como bióticos) a través de procesos de selección, lo que resultaría en taxones especializados o ecotipos.

En conclusión, *Q. chilense*, una sola especie polimórfica y extendida, muestra un continuo de variación morfológica debido ya sea a variación genotípica o a plasticidad fenotípica en respuesta a factores bióticos (polinizadores) y abióticos (climáticos y geográficos) asociados con la latitud y el clima. Teniendo en cuenta el concepto de especie unificada (de Queiroz 2007), no se puede descartar que *Q. chilense* pueda estar mostrando diferentes ecotipos o se encuentre en una etapa temprana de diferenciación de especies. Por esto, y en un marco taxonómico integrativo (Padial *et al.* 2010), es importante combinar estos resultados con el apoyo de datos moleculares que podrían concluir en el reconocimiento de grupos monofiléticos con coherencia geográfica, climática y / o morfológica dentro esta especie variable.

**CAPÍTULO 3: REVISIÓN TAXONÓMICA Y DE LA
NOMENCLATURA**

Resumen

Los límites morfológicos pocos claros y la escasez de caracteres diagnósticos para la correcta identificación de las especies actualmente aceptadas en *Quinchamalium*, revelan la necesidad de una revisión de la taxonomía del género. La información morfológica y biogeográfica junto con los análisis morfométricos publicados recientemente señalan la existencia de una sola especie polimórfica: *Q. chilense*. Como resultado, se presenta un tratamiento taxonómico del género monoespecífico *Quinchamalium* a partir de análisis bibliográfico, observaciones de ejemplares de herbario, estudio de tipos nomenclaturales y observaciones a nivel poblacional en el campo. Para la única especie del género se provee nueva sinonimia, descripción de características morfológicas vegetativas y reproductivas, y distribución geográfica. Además, se incluye una lista de material representativo de toda su área de distribución y datos sobre ambiente, fenología y usos. En este trabajo, 28 nombres de especies o de taxones infraespecíficos son reducidos a la sinonimia de *Q. chilense* por primera vez. Además, se lectotipifican 13 nombres y uno se neotipifica.

3.1. Introducción

3.1.1. Historia taxonómica del género *Quinchamalium*

El género *Quinchamalium* fue fundado en el año 1782 por Molina. La mayoría de los autores aceptan a Jussieu como fundador del género en 1789 (e.g. Dawson 1984), quien realizó su descripción en base a una lámina de L. Feuillé de 1725. Hasta ahora, se describieron 35 epítetos específicos para *Quinchamalium*. El crecimiento del género se observa en la lista cronológica bibliográfica a continuación:

1782. G. Molina, *Saggio sulla Storia Naturale du Chile*: 151, descripción del género. Además describe una especie: *Q. chilense*, la cual no es considerada válida debido a que trata erróneamente las características del ovario y del fruto.
1789. A. L. Jussieu, *Genera Plantarum*: 75, descripción válida del género en base a una lámina de Feuillé (1729). Esta lámina es anterior al *Species Plantarum* de Linneo, por lo que el nombre de Feuillé es inválido (1753).
1793. J. B. P. A. de M. Lamarck, *Tabl. Encycl.* ii. 125. t. 142, presenta un dibujo de *Q. chilense* con su descripción.
1798. C. L. Willdenow, identifica a una especie: *Q. chilense*, no menciona la especie de Lamarck y agrega dato de localidad (Rio Tinguiriricaca, Rio Maipo; Chile). Además, se refiere a la especie de Feuillé, *Q. linifolio*, como sinónimo de ésta.
1799. H. Ruiz y J. Pavón, *Flora Peruviana*: 2 (1). Identifican a dos especies anteriormente descritas e identificadas como *Q. chilense* de Molina y a *Q. linifolio* de Feuillé como sinónimos de la nueva especie "*Q. procumbens*". Agregan una detallada descripción de la nueva especie y aportan un dibujo (Fl. Peruv. 2: 1, Ic. 107).
1805. J. Saint-Hilaire, *Expos. Fam. Nat.* i175. Describe una nueva especie: *Q. peruvianum* en donde se refiere muy brevemente a la forma de la inflorescencia. No menciona ninguna lámina ni ejemplar en la cual haya basado esta descripción.
- 1821-1824. E. Gottlieb von Steudel, *Nomencl. Bot.* ed. ii. 429. Presenta una clasificación en donde reconoce tres especies: *Q. fructiculosa*, *Q. patagonica* y *Q. tenuis*. Describe a dos de ellas (*Q. patagonica* y *Q. tenuis*), y a *Q. fructiculosa* la propone sinónimo de dos anteriormente descritas: *Q. chilensis* Molina y de *Q. procumbens* Ruiz & Pav.

1824. K. Sprengel, *Syst. Veg.* ed. 16. 1:537. Sprengel clasifica a *Q. patagonica* como sinónimo de *Arjona tuberosa* Cav.
1826. A. Brongniart, *Duperrey, Voy. Monde*, Phan. 231. presenta a dos nuevas especies: *Q. gracile* y *Q. majus*.
- 1825-1828. W. Hooker & G. Arnott, *Bot. Beechey Voy* pg. 44. Presentan a dos variedades, de las cuales una de ellas es una nueva combinación: *Q. chilense* var *robustior* y *Q. chilense* var *gracile*.
1843. W. G. Walpers, *Nov. Actorum Acad. Caes. Leop.-Carol. Nat. Cur.* 19 (Suppl. 1): 412. Este autor acepta dos especies: *Q. chilense* de Willd. y *Q. linifolium*, a la cual trata como sinónimo de *Q. tenuis* Steud.
1846. C. Gay. *Hist. Chil.* 5:320. Este autor en base a una lámina de Brongniart de *Q. ericoides*, describe a la especie.
1851. C. Presl. *Epimel. Bot.* 246. En su obra propone dos nuevas especies: *Q. breviflorum* y *Q. elegans*.
1857. A. De Candolle, *Prodr.* 14(2): pg 626. Menciona a dos especies dentro de su lista de especies que pertenecen al género: *Q. dombeyi* y *Q. majus* y agrega a su lista una combinación: *Q. chilense* var. *parviflorum*. Además en el mismo año, Philippi, en *Bot. Zeitung* 15:746, presenta a 10 nuevas especies: *Q. andinum*, *Q. bertroanum*, *Q. bracteosum*, *Q. excrescens*, *Q. linarioides*, *Q. parviflorum*, *Q. pratense*, *Q. purpureum*, *Q. carnosum*, *Q. carnosum*, *Q. thesioides*.
1860. R. Philippi, *Fl. Atacama.* 48. En su viaje al desierto de Atacama describe una nueva especie con dos variedades: *Q. thesioides* var. *thesioides* y *Q. thesioides* var. *flaccidum*.
1864. R. Philippi, *Linnaea* 33: 234. Presenta tres nuevas especies: *Q. litorale*, *Q. minutum* y *Q. rugosum*.
1878. J. Miers, *J. Linn. Soc. Bot.* 17: 135. Describe en su trabajo a *Q. linifolium*. Este autor menciona al dibujo de Feuillé (*Hist. Pl. MŹdicinales*, p.57, tab.44, et in *Observ. Append.* vol.iii).
1880. F. Philippi, *Anales Soc. Cient. Arg.* x:143. Este autor (hijo de R. Philippi) describe a *Q. patagonicum* a partir de un ejemplar obtenido en el viaje del teniente D. Carlos Moyano, en el Rio Santa Cruz coleccionado en los Andes.
1891. R. Philippi, *Anales Mus. Nac. Sgo.* 75. Describe a una nueva especie: *Q. tarapacanum*.

1895. G. Hieronymus, *Bot. Jahrb. Syst.* 21(3): 306. Describe una nueva especie: *Q. stuebelii*.
1898. O. Kuntze, *Revis. Gen. Pl.* 3(3): 284. Este autor autor propone una nueva combinación: *Q. chilense* var. *procumbens*.
1902. C. Spegazzini, *Anales Mus. Nac. Buenos Aires* 7: 159. Propone tres nuevas combinaciones: *Q. chilense* var. *patagonicum*, *Q. chilense* var. *gracile* y *Q. chilense* var. *majus*.
1905. G. Macloskie, *Rep. Princeton Univ. Exped. Patagonia, Botany* 8: 343. En su trabajo de recopilación de *Quinchamalium*, incluye a cuatro especies: *Q. chilense* Molina, *Q. gracile* Brongn., *Q. patagonicum* F. Philippi y *Q. majus* Brongn.
1930. R. Pilger, *Notizbl. Bot. Gart. Berlin-Dahem.* 10:1030. Este autor introduce cuatro nuevas especies para Perú: *Q. brevistaminatum*, *Q. hoppii*, *Q. lomae* y *Q. raimondii*.
1976. L. E. Navas, *Fl. Cuenca Santiago de Chile* 2: 40. Esta autora crea una nueva combinación: *Q. chilense* var. *parviflorum*.

3.1.2. Revisiones recientes

La sistemática de conjunto del género *Quinchamalium* ha sido básicamente estudiada a nivel de revisiones limitadas a enfoques regionales y/o restringidos a límites socio-políticos. Así, en Argentina en los últimos tiempos se ha reportado una sola especie, *Q. chilense* (Dawson 1944, Dawson 1984, Ulibarri 1994, Zuloaga *et al.* 2009), en Bolivia se han descrito dos especies (Pilger 1930) y en Perú siete (Pilger 1930, Brako y Zarucchi 1993), de las cuales cinco son consideradas endémicas (Ulloa Ulloa 2006). Finalmente, en Chile se han identificado 14 especies (Philippi 1857, Dawson 1944, Zuloaga *et al.* 2009).

Aunque en conjunto estos trabajos han propuesto y descrito un gran número de especies para el género, ninguno de ellos abarca la totalidad de las mismas en toda Sudamérica. Por ejemplo, el trabajo taxonómico de Pilger (1930) se basa en la descripción de la diversidad del género principalmente en el Perú. Este último autor, describió cinco nuevas especies peruanas (*Q. brevistaminatum*, *Q. lomae*, *Q. hoppii*, *Q. elongatum* y *Q. raimondii*), incluyendo información de la altitud de sus puntos de localización. Además, este trabajo es de importancia ya que reporta por primera vez la presencia de *Q. procumbens* (Ruiz y Pavón 1794) en Bolivia, especie que había sido reportada solamente para el Perú y para Chile según el protólogo. Sin embargo, el trabajo de Pilger (1930) no incluyó una clave dicotómica para la identificación de las especies descritas en el mismo.

Por otro lado, el primer tratamiento taxonómico de conjunto que existe para *Quinchamalium* en Chile es el de Philippi (1857). Philippi describió 13 especies (*Q. carnosum*, *Q. thesioides*, *Q. linarioides*, *Q. andinus*, *Q. parviflorum*, *Q. bracteosum*, *Q. purpureum*, *Q. paratense*, *Q. excrescens* y *Q. berteroanum*). El autor incluyó una clasificación que separa a las 14 especies propuestas en dos grupos sobre la base de la longitud del filamento estaminal. Este tratado tampoco incluyó una clave dicotómica para la correcta identificación de las 14 especies propuestas. Más recientemente, Zoellner y Pinto (1989) presentaron un tratado taxonómico de 14 especies, el cual propone una clave dicotómica en base a la forma de vida de la planta: perenne o anual. Esta clave es incorrecta, ya que *Quinchamalium* es un género de plantas perennes. Finalmente, Navas (1978) presentó una clave dicotómica en donde usó caracteres florales, pero esta clave incluye solamente 4 especies (*Q. majus* Brong., *Q. chilense* Molina, *Q. chilense* var. *parviflorum* Phil. y *Q. gracile* Brongn.).

En el presente, el Catálogo de Plantas Vasculares del Perú de Brako y Zarucchi (1993) considera que el género incluye 7 especies para dicho país: *Q. brevistaminatum* Pilger, *Q. elongatum* Pilger, *Q. hoppii* Pilger, *Q. lomae* Pilger, *Q. peruvianum* St.Hilaire, *Q. procumbens* R. & P. y *Q. stuebelii* Hieronymus. Del mismo modo, en el Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur se considera que el género *Quinchamalium* está conformado por 14 especies entre Chile y Argentina (Zuloaga *et al.* 2009): *Q. andinum* Phil., *Q. bracteosum* Phil., *Q. carnosum* Phil., *Q. excrescens* Phil., *Q. fructiculosum* Steud. ex Miers, *Q. linarioides* Phil., *Q. linifolium* Miers, *Q. litorale* Phil., *Q. parviflorum* Phil., *Q. pratense* Phil., *Q. purpureum* Phil., *Q. tarapacanum* Phil., *Q. thesioides* Phil. var. *flaccidum* Phil., *Q. thesioides* Phil. var. *thesioides* para Chile, y *Q. chilense* Molina para la Argentina. El Catálogo de Bolivia cita a *Q. chilense* y *Q. linifolium* (Jørgensen *et al.* 2014).

Este capítulo busca integrar observaciones de ejemplares de herbario y de poblaciones en el campo, con los datos de distribución geográfica y análisis morfométricos presentados en el capítulo anterior de esta tesis, para delimitar las especies de *Quinchamalium* teniendo en cuenta características morfológicas y de distribución geográfica.

Objetivos

- Estudiar la nomenclatura de las especies del género teniendo en cuenta los ejemplares tipo.
- Realizar los cambios nomenclaturales necesarios en relación a la evidencia

morfológica.

- Presentar listas sinonímicas de las especies.
- Describir especies e incluir listas de material representativo.

3.2. Materiales y métodos

Se observaron aproximadamente 750 ejemplares de diferentes herbarios de Argentina, Chile y Estados Unidos: BA, BAB, BCRU, CONC, CORD, LP, MO y SI (siglas correspondientes según Index Herbarium, Holmgren *et al.* 1990). Además, se realizó un viaje de colección a Chile y al norte de la Patagonia, en donde se estudió a *Quinchamalium* en condiciones de campo. El material coleccionado fue depositado en el herbario del Centro Regional Universitario Bariloche (BCRU).

La identificación de las especies y la resolución de los sinónimos nomenclaturales se realizaron sobre la base de ejemplares tipo (holotipos, isotipos y sintipos) y los protólogos correspondientes. La designación de lectotipos se realizó a partir de los ejemplares y/o de las fotografías de todos los sintipos. La base de datos on-line de PlantScience en JSTOR dispone de las fotografías de ejemplares tipo de *Quinchamalium* de herbarios europeos y americanos, además de la colección del Field Museum of Natural History de Chicago (FMNH), que incluye fotografías de los que estaban depositados en el Herbario de Berlín y se destruyeron durante la Segunda Guerra Mundial. Por lo tanto, esta base nos permitió el acceso a muchos de los ejemplares tipo de *Quinchamalium*. Las colecciones fotográficas son designadas con la palabra “imagen” seguido por un signo de admiración (!) el cual representa que la imagen fotográfica del ejemplar ha sido estudiada. Los nombres de los autores se citan de acuerdo con Brummitt y Powell (1992).

Para las medidas incluidas en la descripción de la especie, se usaron caracteres cualitativos y cuantitativos (vegetativos y reproductivos) de un subconjunto de las 750 plantas observadas. El rango de los valores mostrados en la descripción de la especie incluye a un total de 156 plantas que representan todo el rango de distribución y que fueron analizadas estadísticamente (Cap. 2).

Este estudio de la sistemática de *Quinchamalium* hace uso de resultados de estadística univariada y multivariada, tradicionalmente usadas como complemento del proceso para la delimitación de especies. Además, es novedoso debido a que se incluyen en la descripción de la especie datos morfológicos de material de todo el rango geográfico

del género, dejando así de lado todos los enfoques menos inclusivos (*e.g.* limitados a regiones o países).

3.3. Resultados

A partir de la exhaustiva búsqueda bibliográfica, las observaciones de más de 750 ejemplares de herbario, las observaciones a nivel poblacional en el campo, los estudios de los patrones de distribución geográfica y los análisis estadísticos de caracteres morfológicos (Capítulo 2 y Lopez Laphitz *et al.* 2015a), así como también de las observaciones de las imágenes de todos los ejemplares tipo, este estudio acepta la existencia de una sola especie: *Q. chilense* Molina.

Como resultado de la revisión nomenclatural, los nombres de 28 especies son reducidos a la sinonimia de *Q. chilense* por primera vez (Lopez Laphitz *et al.* 2015b), como se señala en la lista sinonímica con la abreviatura **nov. syn.** Además, se lectotipificaron a 13 especies dentro del género en las cuales los protólogos no mencionan con exactitud a los ejemplares en los cuales estaban basadas sus descripciones. Asimismo, un nombre se neotipifica.

A continuación se describe el género y la especie. Del mismo modo se incluye una lista de sinónimos; información sobre la distribución geográfica, figuras y lista de material representativo incluido en el análisis. Además, se indica el ambiente donde crece la planta, su fenología y usos.

3.3.1. Descripción del género y la especie

3.3.2. Nomenclatura de la especie: lista de sinónimos

Quinchamalium Molina, *Sag. Stor. Nat. Chili*: 151-152, 350. 1782. *Nom. cons.* –
Especie Tipo: *Quinchamalium chilense* Molina.

Género monoespecífico, endémico de los Andes de América del Sur, desde el norte de Bolivia y Perú hasta el sur de Argentina y Chile.

Obs.: Bentham & Hooker (1880), Hieronymus (1894) y Dawson (1944) atribuyen el género directamente a Jussieu (1789), el cual menciona a la lámina de Feuillé (1725: 57, lámina 44) como referencia debido a que la descripción de Molina (1782) no es precisa en cuanto al número de semillas en el fruto. Sin embargo, el uso generalizado del nombre *Quinchamalium* Molina (*e.g.* Navas, 1976; Zuloaga *et al.*, 2009; Ulibarri, 1994; Missouri Botanical Garden: <http://www.tropicos.org> , 28 Jan 2015) apoyan la conservación del

nombre ya aprobada

(<http://www.bgbm.org/iapt/nomenclature/code/SaintLouis/0107AppendixIIIANGEs00303.htm>).

Descripción genérico-específica y lista de sinónimos:

Quinchamalium chilense Molina, *Sag. Stor. Nat. Chili*: 151, 350. 1782. Lam., *Tabl. Encycl.* ii. 125. t. 142. 1793.—Tipo: [*Neotypus*, aquí designado: lámina 142, Lamarck (1793)]. Obs. 1.

Quinchamalium procumbens Ruiz & Pav., *Fl. Peruv.* 2: 1, Ic. 107. 1799 (excl. syn.). *Quinchamalium chilense* var. *procumbens* (Ruiz & Pav.) Kuntze, *Revis. Gen. Pl.* 3(3): 284. 1898.—Tipo: [*Lectotypus*, aquí designado: lámina Ic. 107, Fig. b, Ruiz y Pavon (1799)]. Obs. 2.

Quinchamalium chilense var. *gracile* Hook. & Arn., *Bot. Beechey Voy.* 44. 1841[1830]. *Quinchamalium gracile* (Hook. & Arn.) Brongn., *Duperrey, Voy. Monde* 1829, Atlas Phan. 231. t. 52A. 1826.—Tipo: CHILE. Valparaíso, Viaje del capitán Beechey, sin colector (*Holotypus*: K 000573545 imagen!). Obs. 3.

Quinchamalium chilense var. *robustior* Hook. & Arn., *Bot. Beechey. Voy.* 44. 1841[1830].—Tipo: CHILE. Concepción, Viaje del capitán Beechey, sin colector (*Holotypus*: K 000573543, imagen!), **nov. syn.**

Quinchamalium majus Brongn., *Duperrey Voy. Monde* 1829, Atlas. Phan. 229. t. 51A. 1826. *Quinchamalium chilense* var. *majus* (Brongn.) Speg., *Anales Mus. Nac. Buenos Aires* 7: 159. 1902. —Tipo: [*Lectotypus*, aquí designado: 1826, lámina 51, Fig. A, Atlas Brongn. Duperrey], **nov. syn.**

Quinchamalium ericoides Brongn. ex Gay, *Hist. Chil.* 5: 320. 1846.—Tipo: [*Lectotypus*, aquí designado: 1826, lámina 51, Fig. B, Atlas Brongn. Duperrey], **nov. syn.** Obs. 4.

Quinchamalium elegans C. Presl, *Epimel. Bot.* 246. 1851.—Tipo: CHILE. Prope Valparaíso, *H. Cuming s. n.* [444] [*Lectotypus*, aquí designado: K 000573530, imagen!; *isolectotypus*: K 000573541, imagen!], **nov. syn.** Obs. 5

Quinchamalium breviflorum C. Presl, *Epimel. Bot.* 246. 1851.—*Sintypus*: CHILE. Quillota, *C. G. Bertero s. n.* (SGO no visto); CHILE. *H. Cuming s. n.* (K no visto), **nov. syn.** Obs. 6.

Quinchamalium andinum Phil., *Bot. Zeitung (Berlin)* 15: 747. 1857.—Tipo: CHILE. Cordillera de Chillán, *P. Germain s. n.* [*Lectotypus*, aquí designado: SGO 47724, imagen!], **nov. syn.** Obs. 7

Quinchamalium pratense Phil., *Bot. Zeitung (Berlin)* 15: 747. 1857.—Tipo: CHILE. Tomé, *P. Germain s. n.* [*Lectotypus*, aquí designado: SGO 047753, imagen!], **nov. syn.** Obs. 8.

Quinchamalium excrescens Phil., *Bot. Zeitung (Berlin)* 15: 748. 1857.—Tipo: CHILE. Coquimbo, *C. Gay 2023 (Holotypus: SGO 047759, imagen!)*, **nov. syn.** Obs. 9.

Quinchamalium purpureum Phil., *Bot. Zeitung (Berlin)* 15: 747. 1857.—Tipo: CHILE. Cordillera de Linares, *P. Germain s. n.* [*Lectotypus*, aquí designado: SGO 47795 imagen!], **nov. syn.** Obs. 10.

Quinchamalium linarioides Phil., *Bot. Zeitung (Berlin)* 15: 746. 1857.—Tipo: CHILE. Cordillera de Linares, *P. Germain s. n.* [*Lectotypus*, aquí designado: SGO 47726, rama de la derecha, imagen!], **nov. syn.** Obs. 11.

Quinchamalium berterioanum Phil., *Bot. Zeitung (Berlin)* 15: 747. 1857.—Tipo: CHILE. Santiago, *R. A. Philippi s. n. (Holotypus: B-10-0248131 imagen!)*, **nov. syn.** Obs. 12.

Quinchamalium bracteosum Phil., *Bot. Zeitung (Berlin)* 15: 747. 1857.—Tipo: CHILE. Valdivia. *R. A. Philippi s. n.* [*Lectotypus*, aquí designado: B-10-0248130 imagen!; *isolectotypus*: K 000573536 imagen!], **nov. syn.** Obs. 13.

Quinchamalium carnosum Phil., *Bot. Zeitung (Berlin)* 15: 747. 1857.—Tipo: CHILE. Atacama, Cachinal de la Costa, *R. A. Philippi s. n. (Holotypus: SGO 47771 imagen!)*, **nov. syn.** Obs. 14.

Quinchamalium parviflorum Phil., *Bot. Zeitung* 15: 747. 1857. *Quinchamalium chilense* var. *parviflorum* (Phil.) L. E. Navas. *Fl. Cuenca Santiago Chile* 2:40. 1976. —TIPO: CHILE. *R. A. Philippi s. n. (Holotypus: SGO 47781 imagen!)*. Obs. 15.

Quinchamalium dombeyi Brongn. ex A.DC., *Prodr.* 14(2): 626. 1857.—Tipo: PERÚ? [*Lectotypus*, aquí designado: lámina 52B. Brongn., *Duperrey, Voy. Monde Phan.* 231. t (1826)], **nov. syn.** Obs. 16.

Quinchamalium chilense var. *parviflorum* A.DC., *Prodr.* 14(2): 626. 1857.—Tipo: CHILE. Coquimbo, s. loc., *C. Gay s. n. (Holotypus: G no visto)*, **nov. syn.** Obs. 17.

Quinchamalium thesioides Phil., *Bot. Zeitung (Berlin)* 15: 747. 1860.—Tipo: CHILE. Atacama, Hueso Parado, *R. A. Philippi s. n.* [*Lectotypus*: aquí designado: SGO 47787 imagen!], **nov. syn.** Obs. 18.

Quinchamalium thesioides var. *flaccidum* Phil., *Fl. Atacama* 48. 1860.—Tipo: CHILE. Atacama, Paposos, *R. A. Philippi s. n.* (*Holotypus*: SGO 47789, imagen!), **nov. syn.**

Quinchamalium minutum Phil., *Linnaea* 33: 233. 1864.—Tipo: CHILE. Talca, Potrero Grande, *H. Volckmann s. n.* (*Holotypus*: SGO 47776 imagen!; isotipo K 000573537 imagen!), **nov. syn.**

Quinchamalium rugosum Phil., *Linnaea* 3: 233. 1864.—Tipo: CHILE. Coquimbo, Choapa, Illapel, *L. Landbeck s. n.* (*Holotypus*: SGO 47777, imagen!), **nov. syn.**

Quinchamalium litorale Phil., *Linnaea* 3: 233. 1864.—Tipo: CHILE. Valparaíso, Aconcagua, Los Molles, Nov. 1862, *L. Landbeck s. n.* (*Holotypus*: SGO 38583, imagen!; *isotypus*: SGO 47794 imagen!), **nov. syn.**

Quinchamalium patagonicum F. Phil. ex Berg., *An. Soc. Cient. Arg.*: 143. 1880.
Quinchamalium chilense var. *patagonicum* (Berg.) Speg., *Anales Mus. Nac. Buenos Aires* 7: 159. 1902.—Tipo: ARGENTINA. Santa Cruz, Río Santa Cruz, Lago Argentino, C. M. Moyano s. n. (*Holotypus*: LP?, no visto). Obs 19.

Quinchamalium tarapacatum Phil., *Anales Mus. Nac. Sgo.* 75. 1891.—Tipo: CHILE. Tarapacá, Usmagama, *C. Rahmer s. n.* [*Lectotypus*: aquí designado: SGO 47793 imagen!], **nov. syn.** Obs. 20

Quinchamalium araucanum F. Meigen., *Bot. Jahrb. Syst.* 18: 418. 1894. Tipo: CHILE. Concepción, *R. A. Philippi s. n.* (*Holotypus*: B 10-0248132 imagen!), **nov. syn.**

Quinchamalium stuebelii Hieron., *Bot. Jahrb. Syst.* 21(3): 306. 1896.—Tipo: BOLIVIA. Oruro, 4000 m, 26-10-1876. *A. Stübel 66* [*Lectotypus*: aquí designado: B†, imagen F 14361!], **nov. syn.** Obs. 21.

Quinchamalium majus var. *spgazzinii* Macloskie, Rep. Princeton Univ. Exped. Patagonia, *Botany* 8: 343. 1905.—Tipo: ARGENTINA. Chubut, Río Chubut, *J. B. Hatcher & O. A. Peterson s.n.* (*Typus*: no encontrado), **nov. syn.** Obs. 22.

Quinchamalium brevistaminatum Pilg., *Notizbl. Bot. Gart. Berlin-Dahlem* 10: 1030. 1930.—Tipo: PERÚ. Lima, San Agustín, 300-400 m., Dic. 1910, *A. Weberbauer 5718* (*Holotypus*: B 10-0180508 imagen!; isotipos: F 628698 imagen!, US 1496228 imagen!, S S-R-5414 imagen!), **nov. syn.**

Quinchamalium elongatum Pilg., *Notizbl. Bot. Gart. Berlin-Dahem.* 10: 1030.

1930.—Tipo: PERÚ. Ocos, Provincia de Cajatambo, A. *Weberbauer* 2661 (*Holotypus*: B 10-0180505, B imagen F 14352!; *isotypus*: F 642588 imagen!), **nov. syn.**

Quinchamalium hoppii Pilg., *Notizbl. Bot. Gart. Berlin-Dahem.* 10: 1030.

1930.—Tipo: PERÚ. Arequipa, 300-3500 m, Agosto 1925. W. *Hopp* 56 (*Holotypus*: B 10-0180506, B imagen F 14354!), **nov. syn.**

Quinchamalium lomae Pilg., *Notizbl. Bot. Gart. Berlin-Dahem.* 10: 1030.

1930.—Tipo: PERÚ. Arequipa, Camaná, 280 m., Nov. 1915, A. *Weberbauer* 7187 (*Holotypus*: B 10-0180507 imagen!; *isotypus*: US 2518193 imagen!), **nov. syn.**

Quinchamalium raimondii Pilg., *Notizbl. Bot. Gart. Berlin-Dahem.* 10: 1030.

1930.—Tipo: PERÚ. A. *Raimondi* 12552 (*Holotypus*: B 10-0180504 imagen!), **nov. syn.**

Plantas herbáceas, perennes, rizomatosas, hemiparástias de raíz. Raíz pivotante, notoria, con pequeñas raíces adventicias y haustorios. Tallos erectos o decumbentes que surgen de un rizoma corto, cilíndricos, glabros, pocos ramificados, de 2,5-40 cm de alto. Hojas sésiles, alternas, aciculares a lineares, glabras, de 7,6-47,4 x 0,4-1,9 mm. Inflorescencias en espigas densas terminales formando cabezuelas, con flores dispuestas sobre el raquis en alveolos rodeados por escamas más o menos desarrolladas. Flores pentámeras, bisexuales, heterostilas, basalmente cubiertas por una cúpula formada por la fusión de una bráctea y dos bractéolas (calículo). Tubo floral (perigonio) alargado, tubuloso, de 0,5-1,8 cm de longitud, con limbo dividido en 5-tépalos de color amarillento-anaranjado, oblongos, agudos, de 1,7-5,4 x 0,5-1,6 mm con un pequeño espolón en el ápice. Estambres 5, opositépalos, con filamentos con una porción basal fusionada al tubo floral de 3-11 mm, y una parte libre de 0,1-1,8 mm; anteras introrsas, biloculares, basifijas, de dehiscencia longitudinal, de 0,2-2,8 x 0,1-0,7 mm. Ovario ínfero unilocular, con 3 óvulos de los cuales se desarrolla uno. Fruto, una nuez glabra, rodeada por el calículo duro de 1,8-3,9 mm de longitud, de forma urceolada, que posee surcos y 3-4 dientes pequeños y uno largo, de 0,3-2,0 mm de longitud.

Distribución y hábitat: Especie que se extiende por la región cordillerana desde Perú, Bolivia, Chile y Argentina, hasta las estepas arenosas de la zona patagónica andina. Habita entre los 3800 m y el nivel del mar, según la latitud, en ambientes abiertos y soleados sobre suelo arenoso o rocoso.

Fenología: Hierbas con rizoma perenne. Florecen en la temporada estival en Argentina, Bolivia y centro de Chile, mientras que en Perú y el norte de Chile florecen en el período invernal.

Nombre vulgar: “Quinchamali”.

Usos: La especie es utilizada como medicina popular en el sur de Chile (Hoffmann et al., 1992).

Nota. *Q. chilense* es una especie muy variable en cuanto al porte de la planta y el tamaño y color de la flor. El color varía entre ejemplares y dentro de una misma planta entre flores con distintos estados fenológicos (Fig. 16). Las flores son protándricas. Además, se ha observado heterostilia en el género (Rivero *et al.* 1989), con dos morfotipos, brevistilo (“THRUM”) y longistilo (“PIN”).



Figura 16: Flores longistilas de *Q. chilense*. Se observa la variación del color de las flores según el estado fenológico. Las flores son protándricas. Flores amarillas con presentación de polen y estilo poco desarrollado; flores con centro rojo con anteras sin polen y estilo con máximo desarrollo. Foto: R. Vidal Russell.

Obs. 1: La descripción original de *Quinchamalium chilense* Molina (1782) menciona las obras de Frézier (1718) y Feuillé (1725) que incluyen ilustraciones de esta especie, sin mencionar material tipo. Lamarck (1793) vuelve a describir la especie citando las dos láminas anteriores (Frézier 1718, Feuillé 1725) y acompaña la descripción con una ilustración de la especie (Fig. 17). Se seleccionó como neotipo la imagen de Lamarck

(1793), ya que Molina no mencionó material tipo y de estas tres láminas es la única que incluye detalles florales.



Figura 17: Lámina 142, Lamarck (1793). Neotipo para la especie única reconocida en este estudio: *Quinchamalium chilense*.

Obs. 2: Se seleccionó como tipo de *Quinchamalium procumbens* a la lámina original de Ruiz & Pavón (1799). Estos autores citaron dos sintipos, uno de Perú (Huarocherí, Canta y Tarma) y el otro de Chile (Concepción), como material original de *Quinchamalium procumbens*. Sin embargo, la cartulina de Ruiz y Pavón depositada en el herbario de Madrid (MA 811274, y en la cual no se especifica a cuál de los dos sintipos pertenece) comprende varios ejemplares sin flores desarrolladas. Por lo tanto, el lectotipo

elegido aquí es la ilustración que acompaña al protólogo, en la que se observan con claridad las características tanto vegetativas como reproductivas de la especie.

Obs. 3: Se interpreta como holotipo de *Quinchamalium chielense* var. *gracile* el ejemplar depositado en K 000573545 debido a que es el que concuerda con la descripción original que menciona “Valparaíso”, coleccionada por la expedición del capitán Beechey. Además, está señalado con la letra griega beta la cual está mencionada en el protólogo para esta variedad.

Obs. 4: Gay al describir *Quinchamalium ericoides* no mencionó ningún ejemplar y basó su descripción en la lámina de Brongniart (1926; Fig. 1), la que se selecciona como lectotipo.

Obs. 5: Se seleccionó como lectotipo de *Quinchamalium elegans* al ejemplar Cuming 444 depositado en K (K 000573530), ya que éste se corresponde con el nombre del colector y el lugar de colección del protólogo, aunque en este último no se mencione el número de colección. El ejemplar considerado como isolectotipo (K 000573541; ejemplar ubicado en la parte superior a la izquierda de la cartulina) no presenta colector pero si coincide el número de colección.

Obs. 6: Aunque no se han observado las colecciones de Bertero y Cuming mencionada en el protólogo de *Q. breviflorum*, se sinonimizó este nombre sobre la base de las características que figuran en el protólogo.

Obs. 7: Se seleccionó como lectotipo de *Quinchamalium andinum* al ejemplar coleccionado por Germain en la Cordillera de Chillán (SGO 47724) dado que presenta mayor número de inflorescencias que el sintipo de Philippi coleccionado en la provincia de Valdivia (B-10-0248133).

Obs. 8: Se seleccionó como lectotipo de *Quinchamalium pratense* al ejemplar de SGO 047753, coleccionado por Germain en la localidad mencionada en el protólogo en noviembre de 1855. Existe otro sintipo, HAL 0110972, el cual también coincide con la localidad y la fecha de colección del protólogo (noviembre 1855) pero no es tan completo.

Obs. 9: Se interpreta como holotipo de *Quinchamalium excrescens* al ejemplar SGO 047759, coleccionado en la localidad típica (Chile, Coquimbo) por Gay, aunque en el protólogo no se asigna un número de colección.

Obs. 10: Se seleccionó como lectotipo de *Quinchamalium purpureum* al ejemplar SGO 47795 coleccionado en la Cordillera de Linares por Germain, dado que es el único en donde se observan con claridad las características tanto vegetativas como reproductivas de

la especie respecto a los otros sintipos: Cordillera de Linares, Germain s. n. SGO 038588; Cordillera de Linares, R. A. Philippi s. n. HAL 0111702.

Obs. 11: El ejemplar del herbario de Santiago, SGO 47726, posee dos tallos que parecen provenir de distintas especies. Se eligió como lectotipo de *Quinchamalium linaroides* la rama de la derecha de este pliego, en la cual se observan con claridad las flores respecto de otro sintipo: Cordillera de Linares, R. A. Philippi s. n. HAL111710.

Obs. 12: Se cita como holotipo de *Quinchamalium berteroanum* al ejemplar B-10-0248131 ya que fue coleccionado por R. A. Philippi en la provincia de Santiago y se corresponde con el protólogo.

Obs. 13: Se seleccionó como lectotipo de *Quinchamalium bracteosum* a B-10-0248130 debido a que el material fue coleccionado por R. A. Philippi en Valdivia, localidad que se menciona en el protólogo. Se identificó como isolectotipo a K 000573536, debido a que el material fue coleccionado en Valdivia, y aunque no se especifica el colector, se observa la escritura perteneciente a Philippi. Otros sintipos: Valdivia, R. A. Philippi s. n. HBG 510407; Valdivia, R. A. Philippi s. n. HAL 0111941.

Obs. 14: Se cita como holotipo de *Quinchamalium carnosum* a SGO47771 debido a que el material fue coleccionado por R. A. Philippi en Cachinal de la Costa (Atacama), localidad que se menciona en el protólogo.

Obs. 15: Se cita como holotipo de *Quinchamalium parviflorum* al ejemplar SGO 47781 debido a que el material fue coleccionado en Hurtado, Provincia de Coquimbo, localidad que se menciona en el protólogo.

Obs. 16: A. De Candolle, al describir *Quinchamalium dombeyi* no mencionó ningún ejemplar y basó su descripción en la lámina de Brongniart (1826), la que se selecciona como lectotipo.

Obs. 17: Se sinonimizó el nombre de *Q. chilense* var. *parviflorum* sobre la base de las características que figuran en el protólogo.

Obs. 18: Existen dos ejemplares (SGO 47787 y SGO 47788) que fueron coleccionados en el litoral, como menciona el protólogo de *Q. thesioides*. Sin embargo, se seleccionó como lectotipo al ejemplar SGO 47787 (Chile, Hueso Parado) porque está más completo, tanto en cuanto a sus partes vegetativas como reproductivas. Otro sintipo: Paposo, Atacama, R. A. Philippi s. n. SGO 47788.

Obs. 19: Se considera sinónimo el nombre *Q. patagonicum* sobre la base de las características que figuran en el protólogo y la sinonimia del Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur (Zuloaga *et al.* 2009).

Obs. 20: Existen dos ejemplares coleccionados por Rhamer en Usmagama (Tarapacá, Chile) pero con diferentes fechas de colección (13 y 16/3/1885). Dado que ambas se corresponden con el protólogo de *Quinchamalium tarapacatum*, se seleccionó como lectotipo al ejemplar SGO 47793 debido a que posee más plantas y se observan con mayor claridad las características vegetativas y reproductivas que en el sintipo SGO 38582.

Obs. 21: Se seleccionó como lectotipo de *Quinchamalium stuebelii* la fotografía depositada en F del ejemplar que estaba depositado en B (actualmente destruido), que coincide con el protólogo en el colector, la fecha y el lugar de colección, ya que no se localizó ningún otro ejemplar de la colección Stübel 66 de Bolivia ni del sintipo Stübel 112a de Perú.

Obs. 22: Se considera sinónimo el nombre *Q. majus* var. *spgazzinii* sobre la base de las características que figuran en el protólogo.

Material adicional estudiado:

ARGENTINA: *Prov. Chubut:* Sin localidad, Bang 11262 (LP); sin localidad, Hogberg 12349 (SI). *Dpto. Languiñeo,* Lago Guacho, 11/I/2006, Puntieri 626 (BCRU); Corcovado, Illín 11264 (LP); Represa Futaleufú, Parque Nacional Los Alerces, 7/III/2009, Vidal-Russell 92 (BCRU). *Dpto. Cushamen,* sin localidad, 14/I/1947, Soriano 2368 (BAB); Río Tigre, Cholila, Amico 307, 308 (BCRU). *Dpto. Futaleufú,* Esquel, Alchitt 7372 (BAB). *Dpto. Languiñeo,* Río Carrenleufú, Soriano 2556 (BAB). *Dpto. Río Senguer,* Lago Fontana, Alchitt s.n. (BAB). Lago Fontana, Península, 12/XII/1964, M. Clemens s.n. (BA). *Prov. Mendoza. Dpto. Malargüe,* a 10 km de la Azufrera, Cabrera *et al.* 33493 (SI). *Sin Dpto. Valle del Yeso,* 15/II/1900. G. Gerling (BA). Valle del Lago Blanco, noviembre hasta diciembre, J. Koslowsky s.n. (BA). *Prov. Neuquén. Dpto. Aluminé,* Aluminé, Crespo & Giangualani s.n. (BAB); Pulmarí, Cabrera *et al.* 32924 (SI). *Dpto. Huiliches,* sin localidad, Correa 5672 (BAB); Paso Pino Hachado, Correa *et al.* 5625 (BAB); Lago Epulafquen, 4/II/1948, Dawson & Schwabe 2482 (BAB); Hua-Hum, 4/II/1948, Dawson & Schwabe 90462 (BAB); subida al cerro de los Angeles, Dawson & Schwabe 90467 (BAB). *Dpto. Lácar,* Cerro Chapelco, 14/II/1961, S. Schajowskoi s.n. (BA); Gandullo 162 (BCRU); San Martín de los Andes, Hunziker 6923 (BAB); subida al volcán, Morrone *et al.*

5711 (BCRU); Cerro Chapelco, Correa 5874 (BAB); San Martín de los Andes, Schajovskoy s.n. (BAB); Parque Nacional Lanín, volcán Lanín, 1/II/2000, Ezcurra et al. 2987 (BCRU); cordón Chapelco, 30/III/2002, Ezcurra 3415 (BCRU). *Dpto. Minas*, Pichi Neuquén, *Boelcke 13624* (SI). *Sin Dpto.* Cerro Colorado, 03/II/1961, L Razza s.n. (BA). Quemado del Tromen, Cañadón Grande, 14/XII/1962, S. Schajowskoi s.n. (BA); Parque Nacional Lanin, Quila-Quina, 23/I/1962, Lahitte, Roquero, López s.n. (BA); Las Lagunas, Aduana Vieja, 7/II/1963, Dimitri, Correa Luna, Amorín s.n. (BA); Rahue (Bajada), 23/I/1964, J. Daciuk s.n. (BA); Parque Nacional Lanín, Currhué chico, 21/I/1962, Lahitte, Roquero, López s.n. (BA); Alto río Senguer, 05/XII/1962, Lahitte, Roquero s.n. (BA); Parque Nacional Los Alerces, Lago Futalafquen, 10/XII/1962, Roquero s.n. (BA); Esquel, alrededores, 31/XI/1963, R. A. Lahitte, s.n. (BA). *Prov. Río Negro: Dpto. Bariloche*, alrededores de S. C. de Bariloche, Kreibhon 326 (SI); Parque Nacional Nahuel Huapi, camino de S. C. de Bariloche a la casa del guardaparque del Río Ñirihuau, 10/XII/1996, Ezcurra & Bianchi s.n. (BCRU); costa del Nahuel Huapi. S. C. de Bariloche, 20/I/1994, Puntieri s.n. (BCRU); valle Río Manso Inferior, 9/XI/1998, Funes & Arenas s.n. (BAB, BCRU); Parque Nacional Nahuel Huapi, Cuenca del río Manso Superior, I/1969, V. Diehl y L. Bravo s.n. (BA); costa del Nahuel Huapi, Las Chacras, 10/I/2008, Vidal-Russell 60 (BCRU); Ruta Nacional 23, Puesto San Ramón, Vidal-Russell 59 (BCRU); Cajón del Azul, El Bolsón, 27/VIII/2011, Amico 298A,B (BCRU); Cerro López, S. C. de Bariloche, 1/III/1993, Ferreyra 31 (BCRU); S. C. de Bariloche, Co. Ñireco, S. C. de Bariloche, 21/XII/1994, Cadillo & Posse s.n. (BCRU); Cerro Ñireco, 18 Km al oeste de R.N. 40 hacia Cerro Cachi, Ezcurra & Ferreyra 3285 (BAB); Parque Nacional Nahuel Huapi, Cerro Ñireco, 23/IV/1949, Montiel s.n. (BA); picada Las Nubes, Réchencq 78a (BCRU); Parque Nacional Nahuel Huapi, Paso de las Nubes, 16/III/1968, H. Correa Luna s.n. (BA); Cerro Tronador, Parque Nacional Nahuel Huapi, Ezcurra 2281 (BCRU); Cerro Chalhuaco, Nuñez & Ezcurra 95 (BCRU); Pampa de Huenuleo, S. C. de Bariloche, Temporetti s.n. (BCRU); Parque Nacional Nahuel Huapi, Cántaros a laguna Ortiz Basualdo, Boelcke & Correa 5327 (BCRU); Parque Nacional Nahuel Huapi, Boelcke & Correa 5461 (SI). *Sin Dpto.* Pico Jacob, senda A° Casa de Piedra, 27/IV/1961, Reynoso, Muller s.n. (BA). Parque Nacional Nahuel Huapi, Cerro Catedral, 10/I/1964, Dimitri y Correa Luna s.n. (BA); Cañadón de la Mosca, 20/II/1961, M. J. Roquero s.n. (BA); Camino al Crotto, 11/II/1961, M. Dimitri y Correa Luna s.n. (BA); Parque Nacional Nahuel Huapi, Lago Gutiérrez, 05/II/1961, M. J. Roquero s.n. (BA); Parque Nacional Nahuel Huapi, Camino a

Llao Llao Km 4, 15/II/1961, L. Razza s.n. (BA). *Prov. Santa Cruz: Dpto. Lago Argentino*, Lago San Martín, *Boelcke et al.* 16322 (BAB); Lago Argentino, Spegazzini s.n. (BAB). *Dpto. Lago Buenos Aires*, sin localidad, *Boelcke et al.* 16131 (BAB). *Dpto. Picunches*, sin localidad, Carrique 1555 (BAB). *Dpto. Río Chico*, sin localidad, *Boelcke et al.* s.n. (BAB). *Sin Dpto.*, Quebrada río Oro, 03/I/1965, M. Clemens s.n. (BA).

BOLIVIA. *Dpto. La Paz: Prov. Copacabana*, Copacabana, 7/II/1964, Hunziker 8154 (BAB). *Prov. Loyaza*, Cerro Quiraya, 22/XII/1987, Lewis 871684A (MO). *Prov. Pedro D. Murillo*, 2 km sur prov. Palca, 15/III/1987, Solomon 16331 (MO); sin localidad, Nee 33298 (MO); La Paz, Buchtien 511 (MO). *Dpto. Oruro: Prov. Litoral*, Capi, Bang 761 (MO).

CHILE. Región Metropolitana de Santiago (RM): Cerro del Roble, Looser 240 (SI); El Volcán, *Cabrera 3461* (LP); El Volcán, 29/XII/1935. A. L. Cabrera 3461 (BA). *Prov. Cordillera*, Reserva Nacional Río Clarillo, Romero & Aldunte 66 (CONC); Puente Manzanito, *Aedo 7128* (CONC); *Prov. Santiago*, San José de Maipo, Mahu 1388-L (LP); norte de Caldera, Santuario Santa Gemita, Muñoz et al 2859 (MO); Santuario Yerba Loca, estero Yerba Loca, II/2000, Marquez 10 (CONC); Quebrada de Ramón, Tomé 265 (CONC). Región Arica y Parinacota (XV): *Prov. Parinacota*, entre Pachama y Belén, Belmonte 99229 (CONC); Putre, XI/2009, Aedo 6950 (CONC). Región Tarapacá (I): *Prov. Iquique*, trayecto entre Chusmiza y Cariquina, IX/1997, Villagrán et al. 9112 (CONC). Región Antofagasta (II): *Prov. Antofagasta*, Morro Moreno, Schlegel 7809 (CONC); Quebrada La Chimba, Quezada & Ruiz 79 (CONC); entrada de la Quebrada El Rincón, Quezada & Ruiz 181 (CONC); *dpto. Taltal*, Taltal, Wedermann 843 (MO); idem, Johnston 5138 (LP); a 10 km este de la boca de la quebrada, Worth & Morrison 15829 (SI). Región Atacama (III): *Prov. Atacama*, Vallenar, Huasco, *Werderman 135* (LP); camino entre Carrizal y Huasco, Los Toyos, Ackerman 516 (CONC); *Prov. Chañaral*, Parque Nacional Pan de Azúcar, Dillon 8163 (CONC); *Prov. Copiapó*, Huasco-Copiapó, 25km de Totorá, Taylor et al. 10809 (CONC). Región COQUIMBO (IV): *Prov. Choapa*, Pichidangui, Aedo 6835 (CONC); *Prov. Elqui*, Los Choros, Aedo 6863 (CONC); a 5 km al sur de Andacollo, Mihoc 416 (CONC); *Prov. Limari*, camino desde ruta 5 a P.N. Fray Jorge, Tepe et al. 1744 (CONC). Región Valparaíso (V): *Prov. Aconcagua*, 15 km de Portillo, Crisci 446 (LP); *Prov. Los Andes*, Caracoles-Portillo, King 680 (LP); *Dpto. Los Andes*, camino de los Andes a Portillo Km 46, Marticorena & Weldt 575 (LP); Lago Verde, cerca de Valparaíso, Looser 2096 (LP); Termas de Chillán, *Ruiz s.n.* (LP); *Prov.*

Petorca, Pichicuy, Tepe et al. 1889 (CONC); *Prov. Valparaíso*, Quintero, Looser 4609 (LP). Región Libertador Bernardo O'Higgins (VI): *Prov. Cachapoal*, localidad entre Coya y Pangal, Crisci 420 (LP); El Pangal, Zöllner 10143 (CONC); *Prov. Cardenal Caro*, Tanume, El Peumo, Vera & Ortiz 63 (CONC); *Prov. Colchagua*, Termas del Flaco, II/1994, Baeza 283 (CONC). Región Maule (VII): *Prov. Cauquenes*, Reserva Nacional Los Ruiles, XII/1999, Finot & López 1418 (CONC); *Prov. Curicó*, cerros antes del camino cortado a El Planchón, I/1995, Marticorena et al. 150 (CONC); *Prov. Linares*, Res. Nac. Bellotos del Melado, I/2000, Humaña et al. 20093 (CONC); Cerro Maquis, camino Reten Achibueno a Las Animas, III/1999, Ruiz & López 1078 (CONC); *Prov. Talca*, Central Los Cipreses, Quebrada El Ciego, IV/2000, Finot & López 2028 (CONC); Lago del Maule, Boelcke et al s.n. (BAB); idem, I/1995, Marticorena et al. 232 (CONC); Paso Pehuenche, 30/I/1963, Bacigalupo et al. 10356 (BAB); Reserva Nacional Alto de Vilches, camino a Laguna El Alto, IV/2000, Finot y López 1859 (CONC). Región Biobío (VIII): *Prov. Arauco*, Cordillera Nahuelbuta, Loma del Consorcio, XII/1989, Matthei & Quezada 29 (CONC); Playa Quiala, I/2001, Parra & Torres 246 (CONC); Trongol Alto, Loma El Consorcio, I/1998, Baeza & Kottirsch 1352 (CONC); *Prov. Biobío*. Antuco, Maldonado 78 (LP); P. N. Laguna Laja, III/2001, Molina 3581 (CONC); volcán Antuco, Las Lagartijas, II/1978, Stuessy & Baeza 11062 (CONC); Las Huellas, I/1989, Marticorena & Rodríguez 9989 (CONC); Reserva Nacional Ralco, II/2002, Mihoc et al. 4132 (CONC); *Prov. Ñuble*, Chillán, 7/I/1971, Lourteig 2531 (BAB); camino de Pullay a Quile, XII/2000, Baeza & López 2269 (CONC); a 2 km al norte de Colmuyao, XI/2000, Baeza et al. 2060 (CONC); Cerro Ninhue (cumbre), XII/1998, Matthei 608 (CONC). Región La Araucanía (IX): Parque Nacional Malalcahuello, camino a centro de ski Corralco, Morrone 5986 (SI); *Prov. Cautín*, Trailanquí, Hunckel 866/3 (SI); volcán Lanín, I/1999, Stuessy & Baeza 15619 (CONC); volcán Villarrica, I/1996, Marticorena et al. 426 (CONC); *Prov. Malleco*, Cunco, I/1988, Gardner & Knees 6905 (CONC); Lonquimay, Hollermayer 192 (LP); a 22 km de Curacautín, camino a Conguillio, Km 25, ruta Interlagos, Morrone 5546 (SI); de Angol a Maitenrehue, Las Bandurrias, I/1988, Baeza & Kottirsch 1027 (CONC); de Capitán Pastene a El Lingue arriba, I/1998, Baeza & Kottirsch 1493 (CONC); camino nordeste de Icalma, I/1990, Devore 1129 (CONC). Región Los Lagos (X): *Prov. Llanquihue*, Parque Nacional Vicente Pérez Rosales, Cerro Riggi, Dawson & Schwabe 2791 (BAB); desvío de la ruta 65 camino a Lonquimay, Morrone et al 5527 (SI); *Prov. Osorno*, volcán Antillanca, I/1996, Marticorena et al. 450 (CONC). Región Los Ríos

(XIV): *Prov. Valdivia*, volcán Puyehue, I/1995, Godoy 219 (CONC). Región Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo(XI): *Prov. Capitán Prat*, Cochrane, Lago Chacabuco, I/2007, Teneb 47 (CONC); sector El Manzano, XII/2006, Marticorena et al. 946 (CONC); Puerto Bertrand, I/2007, Jiménez 58 (CONC); confluencia de los ríos Baker y Nadis, I/2007, Teneb 235 (CONC); *Prov. Coyhaique*, Río Aysén, Burmeister 11269 (LP). PERÚ. *Dpto. Arequipa*: *Prov. Arequipa*, Solomon 2856 (MO). *Dpto. Cajamarca*, Celendin, 18/VII/1984, Sagástegui 12169 (MO); *Prov. Contumaza*, Contumaza, Stuessy et al. 12667 (CONC); Sin localidad, 3/V/1999, Sagástegui 14299 (MO). *Dpto. Cuzco*: *Prov. Calca*, VI/1986, Dueñas 111 (MO); *Prov. Paruro*, Yaurisque, 7/III/1987, Nuñez 7419 (MO). *Dpto. La Libertad*: *Prov. Santiago de Chuco*, 13/I/1984, Sagástegui 11752 (MO). *Dpto. Moquegua*: General Sánchez Cerro, 23/III/2009, Montesinos 21669 (MO). *Dpto. Tacna*: *Prov. Tarata*, III/1950, Vargas 9244 (MO).

Nombres inválidos o ilegítimos

Quinchamalium chilense Willd., *Sp. Pl.*, ed. 4. 1(2): 1217. 1798. Es un nombre superfluo o ilegítimo porque en la descripción se cita al nombre *Quinchamalium chilensis* de Lamarck.

Quinchamalium peruvianum J. St.-Hil., *Expos. Fam. Nat.* 1: 175. 1805. No es un nombre válido por no incluir ninguna referencia a material en el protólogo.

Quinchamalium tenuis Steud., *Nomencl. Bot.* ed. 2. ii. 429. 1821-1824. *Nomen nudum*.

Quinchamalium fructiculosum Steud., *Nomencl. Bot.* ed. 2. ii. 429. 1821-1824. *Nomen nudum*.

Nombres excluidos

Quinchamalium patagonica. Spreng. *Syst. Veg.* (ed. 16)1: 537. 1824. Es sinónimo de *Arjona tuberosa* Cav. 1797. *Icon.* iv. 57. t. 383. (Dawson 1984, Zuloaga et al. 2009).

**CAPÍTULO 4: ANÁLISIS FILOGENÉTICOS CON
DATOS MOLECULARES**

Resumen

Los estudios filogenéticos moleculares que han incluido al género *Quinchamalium* han sido enfocados en resolver relaciones filogenéticas a niveles taxonómicos de orden y de familia, los cuales resultaron inéditas para el género. Sin embargo, nunca antes se resolvió la filogenia infragenérica en *Quinchamalium*. La obtención de datos filogenéticos moleculares para delimitar linajes y encontrar características ecológicas, geográficas o climáticas que se asocien a ellos, podría servir para inferir procesos de especiación incipiente o críptica, que no se reflejen en la morfología. Por lo tanto, el objetivo del presente capítulo es reconstruir la filogenia de *Quinchamalium* utilizando secuencias de ADN del cloroplasto (los espaciadores *trnL-trnF* y *atpB-rbcL*) y del núcleo (región ITS) y relacionar los principales linajes resultantes con características morfológicas y ambientales.

Para la reconstrucción de la filogenia se obtuvieron secuencias de ADN de aproximadamente 90 individuos que representaron la totalidad de la distribución geográfica. Para cada marcador se colapsaron en haplotipos las secuencias iguales, para simplificar la búsqueda heurística de filogenias y no tener datos redundantes. Las matrices de datos fueron analizadas para cada una de las regiones moleculares por separado y concatenadas mediante máxima parsimonia (MP), máxima verosimilitud (ML) e inferencia Bayesiana (BI). Las relaciones filogenéticas obtenidas en este trabajo permiten corroborar la hipótesis previa que planteaba la reducción del elevado número de especies de *Quinchamalium*. La filogenia obtenida a partir del marcador nuclear ITS muestra la mayor señal filogenética para la identificación de tres clados que se corresponden con un patrón biogeográfico evidente. Los individuos de uno de los clados pertenecen principalmente a ambientes de alta montaña (>1.500 m s.n.m.) de los Andes del sur de Chile y Argentina (clado Montaña). Los individuos del otro clado se dividen en dos subclados con distribuciones geográficas distintas. Uno de los subclados está formado por individuos que habitan en un rango geográfico entre 30° y 47° S, principalmente del centro-sur de Chile y regiones limítrofes del centro y sur de Argentina (clado Bosque-Subandino), y el otro subclado está integrado por individuos que se distribuyen al norte de la latitud 30° S, incluyendo a todos los individuos de Bolivia, N de Chile y N del Perú (clado Norte). Los linajes se relacionaron con el clima y en menor medida con la morfología a través de análisis multivariados (ACP). En el caso de la morfología, los clados Norte y Bosque-

subandino, en general con hojas relativamente más angostas y de regiones de menores precipitaciones, tendieron a separarse del clado Montaña, en general con hojas más anchas y de regiones de mayores precipitaciones. Así, las filogenias moleculares obtenidas en este trabajo permiten identificar diferentes grupos monofiléticos asociados a un patrón geográfico y climático. El capítulo concluye que esta divergencia molecular probablemente muestre una etapa temprana en la diferenciación de especies, reflejando cada linaje una especie incipiente o críptica que no ha sido posible distinguir en base a la morfología.

4.1. Introducción

Los análisis filogenéticos realizados por Der y Nickrent (2008) han colocado a *Quinchamalium* Molina y *Arjona* Cav. en un clado con *Schoepfia* Schreb. Algunas sinapomorfias, como por ejemplo el origen epidérmico de los pelos postestaminales (sobre el pétalo; van Tieghem 1896), así como también un alto soporte de los datos moleculares, proporcionan evidencia de que este clado de tres géneros debe ser clasificado en una sola familia: Schoepfiaceae Blume (Nickrent *et al.* 2010; Apéndice 1). Estos resultados difieren de la clasificación tradicional de amplia aceptación (Pilger 1935, Dawson 1984, Brako y Zarucchi 1993), en donde se posicionan a *Quinchamalium* y a *Arjona* en la familia Santalaceae R.Br y a *Schoepfia* en Olacaceae Juss. ex R.Br. Más aún, Kubitzki (2014) ha sugerido que las dificultades que surgen en la clasificación de ciertos taxones en el orden Santales son básicamente resultantes de las diferencias entre los conjuntos de datos morfológicos y moleculares. Así, Kuijt y Hansen (2014) han sugerido la omisión de las relaciones filogenéticas que ubican a *Quinchamalium* dentro del clado Schoepfiaceae, debido principalmente a las dificultades mencionadas anteriormente, y mantienen la clasificación tradicional de los géneros *Quinchamalium* y *Arjona* en Santalaceae basada principalmente en la morfología. Por esto es interesante analizar nuevamente las relaciones supragenéricas de *Quinchamalium* con un muestreo más exhaustivo del género. Por lo tanto, es importante completar el análisis de la filogenia infragenérica de *Quinchamalium* en relación a su evolución y taxonomía.

Tradicionalmente, la delimitación de especies en el reino vegetal ha sido en base a diferencias morfológicas, y como ya se mencionó anteriormente, el análisis estadístico multivariado de la morfología de *Quinchamalium* no evidenció discontinuidades morfológicas para la delimitación de más de una especie dentro del género. Sin embargo, no se descarta la posibilidad de que el uso de datos moleculares en la reconstrucción filogenética resulte en la resolución de linajes infraespecíficos en *Quinchamalium*, como se ha visto en otros géneros de plantas (*e.g.* Vigalondo *et al.* 2015). Es importante denotar que los árboles de genes han sido de gran importancia para identificar divergencia genética en la delimitación de especies (Schonhuth *et al.* 2014). Mas aún, existen casos en los que en taxones que son morfológicamente homogéneos, los datos moleculares han llevado al descubrimiento de muchos linajes únicos, describiendo especies crípticas (Sites y Marshall 2004). El presente capítulo tiene como objetivo obtener árboles filogenéticos de *Q.*

chilense a partir de caracteres moleculares. Éstos brindan la oportunidad de explorar la variación de las secuencias de ADN a nivel infraespecífico para la identificación de diferentes linajes que pueden representar especies crípticas o taxones infraespecíficos diferenciados geográfica o ecológicamente. De esta manera, este estudio es pionero en el uso de datos moleculares en *Quinchamalium* para evaluar la delimitación de posibles taxones o linajes crípticos que no ha sido posible detectar en base al estudio de la morfología.

Aunque la evidencia morfológica no resolvió los límites taxonómicos entre las dos especies hipótesis, la mayor parte de la variación morfológica en *Q. chilense* se asoció con variables climáticas y geográficas (Capítulo 2). Así, por ejemplo, los sitios con mayores precipitaciones a latitudes relativamente más altas presentan plantas de más altura con flores más grandes, y los sitios con temperaturas más altas y latitudes menores, plantas con hojas relativamente más angostas y alargadas y flores con estilos relativamente más largos. De este modo, el siguiente paso es explorar si los linajes dentro de la filogenia están asociados a la variación morfológica, climática y/o geográfica detectada en *Q. chilense*. Para ello, en este capítulo se estudiarán con detalle las relaciones filogenéticas infraespecíficas en base a datos moleculares de aproximadamente 86 individuos que abarcan la totalidad de la distribución en Sudamérica del género *Quinchamalium*. Además, los linajes infraespecíficos obtenidos de las relaciones filogenéticas se caracterizarán morfológicamente y se estudiará la relación entre la divergencia de los linajes, la distribución geográfica y el espacio climático (nicho) de los mismos. Se ha visto que las filogenias moleculares en diferentes grupos taxonómicos de plantas andinas, y más aún con una distribución geográfica similar a la del género *Quinchamalium*, han resultado de amplio uso como información inicial para el estudio de hipótesis biogeográficas y/o filogeográficas (e.g. Amico *et al.* 2007, Cosacov *et al.* 2009, Martín-Bravo *et al.* 2010, Hechem *et al.* 2011; Baranzelli *et al.* 2014).

Objetivos

- Determinar los principales linajes dentro del género *Quinchamalium* a través de análisis filogenéticos utilizando marcadores de núcleo y cloroplasto.
- Verificar si existen caracteres morfológicos que caractericen los linajes.
- Caracterizar las variables climáticas y geográficas biológicamente relevantes en relación a los linajes.

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Material de estudio

El ADN genómico se extrajo de material vegetal (hojas o flores) proveniente de campañas de colección, secado y conservado en sílica gel, o de especímenes de herbario (Apéndice 2).

La selección de los 86 ejemplares para los análisis filogenéticos se realizó teniendo en cuenta la distribución geográfica del género en su totalidad (Argentina, Bolivia, Chile y Perú) y la variación morfológica (*e.g.* plantas con hojas largas y angostas a plantas con hojas cortas y relativamente más anchas, flores grandes y pequeñas). Así, los ejemplares seleccionados abarcaron todo el rango geográfico y la mayoría de la diversidad morfológica encontrada en la especie.

4.2.2. Selección de marcadores moleculares

A partir de bibliografía, se seleccionaron para este estudio cuatro marcadores moleculares para realizar los análisis filogenéticos. Los marcadores que se amplificaron y secuenciaron son tres del cloroplasto: el gen *matK*, el espaciador *trnL-trnF* y la región intergénica entre el gen *atpB* y *rbcL*, y uno del núcleo: el espaciador interno transcripto (ITS) del cistrón ribosomal. El marcador *matK* se utilizó solo para caracterizarlo en *Quinchamalium* pero no fue usado en el análisis filogenético porque fue su amplificación fue exitosa solamente en un número reducido de individuos.

Las regiones consideradas en este estudio fueron seleccionadas por poseer niveles de variación adecuados para resolver relaciones filogenéticas en otros géneros del orden (Vidal Russell y Nickrent 2008, Amico *et al.* 2007). Además, se realizó una caracterización de los cuatro marcadores evaluando sus niveles de divergencia y polimorfismo en *Q. chilense*. Para calcular el porcentaje de divergencia entre pares de secuencias nucleotídicas, se utilizó la distancia entre pares de posiciones nucleotídicas implementando en MEGA6 “Pairwise distance” (Tamura *et al.* 2013).

4.2.3. Obtención de secuencias moleculares

A partir del material vegetal se extrajo el ADN genómico total de aproximadamente 20 mg de hojas secas de cada ejemplar con el método de 2% CTAB modificado de Doyle y Doyle (1990) o utilizando el kit Wizard SV Genomic DNA Purification System (Promega, Wisconsin, Estados Unidos), siguiendo las instrucciones del fabricante. Todas las regiones

fueron amplificadas mediante la reacción en cadena de la Taq polimerasa (PCR) utilizando los primers que se especifican en la Tabla 9.

Tabla 9: Secuencias de los primers utilizados para la reacción de PCR y secuenciación.

Región	Primer	Secuencia	Referencia
ITS	18S-F-1830	AAC AAG GTT TCC GTA GGT GA	Amico <i>et al.</i> 2007
	26S-R-40	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC	Amico <i>et al.</i> 2007
<i>atpB-rbcL</i>	<i>atpB</i> -F-1	GAA GTA GTA GGA TTG ATT CTC AT	Amico <i>et al.</i> 2007
	<i>rbcL</i> -R-60	CAG GAG TAT AAT AAG TCA ATT TG	Amico <i>et al.</i> 2007
<i>matK</i>	<i>matK</i> 78-F	CAG GAG TAT ATT TAT GCA CT	Vidal-Russell y Nickrent 2007
	<i>matK</i> 1420-R	TCG AAG TAT ATA CTT TAT TCG	Vidal-Russell y Nickrent 2007
<i>trnL-trnF</i>	<i>trnL</i> 5'-F	CGA AAT CGG TAG ACG CTA CG	Taberlet <i>et al.</i> 1991
	<i>trnL</i> 3'-R	TCT ACC GAT TTC GCC ATA TC	Taberlet <i>et al.</i> 1991

Cada reacción de amplificación se realizó en un volumen total de 25 μ L, con 1X de buffer de reacción de Taq Polymerasa, 2 mM de $MgCl_2$, 50 μ M dNTPs, 0,2 μ M de cada primer, 1 unidad de Taq Polymerasa y 1 μ L de ADN genómico total. En algunos casos, la amplificación óptima se logró diluyendo el ADN genómico total en 1:9. El programa para la reacción de PCR utilizado para ITS fue el siguiente: desnaturalización de 5 min. a 94 °C, luego 40 ciclos de: 94°C por 30 seg., 52°C por 30 seg., y 72°C por 1 min., seguido por una extensión final a 72°C por 10 min. Para *trnL-F* y *atpB-rbcL* se usó un perfil “touch down” que consistió en: desnaturalización de 5 min. a 94 °C, 5 ciclos de 94°C por 30 seg., 52°C por 30 seg., y de 72°C por 1 min., seguido por 33 ciclos de 94°C por 30 seg., 48°C por 30 seg., y 72°C por 1 min., con una extensión final de 72°C por 10 min. Para la amplificación de *matK* se usó un perfil “step up” que consistió en: desnaturalización inicial de 5 min. a 94°C, luego 5 ciclos de 94°C por 1 min., 46°C 1 min., y 72°C por 1 min., seguido de 35 ciclos de 94°C por 30 seg., 50°C por 30 seg., y 72°C por 1 min., con una extensión final de 72°C por 10 min. En cada reacción se incluyeron controles positivos y negativos para detectar contaminación o problemas con los reactivos. Con el fin de evaluar el éxito de las amplificaciones, se tomaron 3 μ L de cada producto de PCR y se sometieron a una electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1% (m/V) teñidos con Sybr Safe

(Invitrogen, California, Estados Unidos) durante 10 min. a 110 V. La presencia de bandas fue visualizada en transiluminador bajo luz azul.

Los productos amplificados fueron secuenciados por la compañía Macrogen Inc. (Seúl, Corea) utilizando un secuenciador capilar de ADN ABI 23 3730XL (Applied Biosystems, Foster City, California, U.S.A.). En el caso del gen *matK* se secuenciaron ambas hebras de ADN para completar la totalidad de la longitud de la secuencia (aprox. 1,200 pb).

4.2.4. Procesamiento de las secuencias

La edición, ensamblaje y alineación de las secuencias para la construcción de las matrices de datos se realizó mediante los programas Bioedit v.6.0.7 (Hall 1999) y Aliview (Larsson 2014). Se realizó codificación de gaps para las regiones del cloroplasto *trnL-F* y *atpB-rbcL* siguiendo el criterio: igual longitud y terminales iguales. Aquellas bases en donde el alineamiento no mostró una lectura confiable se codificaron como datos faltantes. El número de individuos para los cuales se obtuvieron secuencias para cada marcador se muestran en la Tabla 10.

Para cada marcador se colapsaron en haplotipos las secuencias iguales para simplificar la búsqueda heurística de filogenias y no tener datos redundantes. Para determinar los haplotipos y sus frecuencias se usó la herramienta on-line de secuencias en formato fasta (Fa-Box; Villesen 2007; <http://users-birc.au.dk/biopv/php/fabox/>). La función que se usó en Fa-Box se denomina “DNA to haplotype collapse and convert”. Así, el número de secuencias en los análisis filogenéticos para cada región fueron reducidos (Tabla 10).

La visualización de los árboles filogenéticos se realizó en el programa FigTree v1.4 (Rambaut 2012).

4.2.5. Análisis de los datos

Las secuencias nucleotídicas se alinearon visualmente construyendo la matriz de datos de cada una de las regiones (ITS, *trnL-F*, *atpB-rbcL*, y *matK*), y para los marcadores del cloroplasto *trnL-F* y *atpB-rbcL* se confeccionaron otras matrices binarias para incorporar información de los gaps. En cada caso, se analizó el aporte de los gaps, siguiendo el criterio: igual longitud y terminales iguales, como fuentes adicionales de caracteres filogenéticamente informativos realizando los análisis filogenéticos con y sin ellos.

Las matrices de datos fueron analizadas para cada una de las regiones por separado y concatenadas para aquellos individuos en los que se amplificaron exitosamente las

regiones estudiadas (descartando *matK*) mediante máxima parsimonia (MP), máxima verosimilitud (ML) e inferencia Bayesiana (BI).

4.2.5.1. Máxima Parsimonia

Las matrices de datos (con y sin gaps) fueron analizadas por separado y juntas utilizando el método de máxima parsimonia (MP) con el programa TNT (Goloboff *et al.* 2000). Se consideraron a los “gaps” como datos faltantes (“missing”) y se tomó como grupo externo a *Arjona patagonica* Cav., *Arjona pussilla* Hook.f. y *Schoepfia chinensis* Gardner & Champ. En todos los casos se realizaron búsquedas heurísticas con 100 réplicas, de incorporación secuencial aleatoria de taxones y posterior intercambio de ramas con el algoritmo “tree bisection-reconnection” (TBR), guardando 10 árboles por réplica y luego repitiendo TBR a partir de los árboles guardados. Para calcular el soporte de los clados se utilizó el método de remuestreo de bootstrap (MPBS, Felsenstein 1985), usando 1.000 réplicas y empleando la opción “cutoff” que permite determinar el colapso de clados por debajo de un valor de apoyo determinado (50%).

4.2.5.2. Búsqueda de modelos de sustitución de nucleótidos

Previo a los análisis de ML e IB, se utilizó el programa JModeltest 0.1.1 (Posada 2008) para seleccionar el modelo de sustitución de nucleótidos que mejor se ajustare a los datos, según el criterio de información Akaike (AIC, Posada y Buckley 2004) para cada una de las particiones. El modelo seleccionado fue GTR+G para todas las regiones (ITS, *trnL-F* y *atpB-rbcL*). Para la partición correspondiente a los gaps, se utilizó un modelo evolutivo binario (como sitios de restricción), con un modelo simple como el F81. A su vez, para los análisis donde se utilizaron las matrices concatenadas (ADN de cloroplasto y de evidencia total) se permitió que la tasa de mutación global variara entre particiones.

4.2.5.3. Máxima verosimilitud

Para los análisis de máxima verosimilitud, las matrices de datos fueron analizadas (con y sin sus gaps correspondientes), por separado y juntas, para lo que se utilizó el programa PhyML 3.0 (Guindon *et al.* 2010). Estos análisis fueron realizados a través del servidor online ATGC bioinformatics platform (<http://www.atgc-montpellier.fr/phyml/>). Para los análisis de máxima verosimilitud se utilizó el algoritmo de búsqueda “aLRT SH-like” de PhyML, que busca al árbol de ML y calcula los valores de bootstrap en una sola corrida. Los valores de bootstrap (BSML) se calcularon a partir de 1.000 réplicas y se resumieron en un árbol de consenso por mayoría del 50%.

4.2.5.4. Inferencia Bayesiana

Para los análisis de IB, para cada matriz de datos se realizaron dos análisis independientes con cuatro cadenas cada uno por 5 millones de generaciones en el programa MrBayes v. 3.2 (Ronquist *et al.* 2012). Los parámetros, incluyendo la topología de los árboles y la longitud de las ramas, fueron guardados cada 100 generaciones. Para el análisis de las matrices concatenadas se estimaron los parámetros individualmente para cada región utilizando el modelo estimado para cada una de ellas. Para determinar si se alcanzó el estado estacionario en cada corrida, se examinaron gráficamente los valores de verosimilitud de cada parámetro en función de las generaciones utilizando el programa Tracer version 1.4.0 (Rambaut y Drummond, 2007). Adicionalmente, para asegurar que las dos corridas en cada análisis habían alcanzado el estado de convergencia, se calculó la desviación estándar media de frecuencias después de descartar el primer 25% de las generaciones y se confirmó que fuera menor a 0,01. Se utilizaron los comandos “sump” y “sumt” de MrBayes para resumir y compilar las muestras de cada corrida. En todos los casos, se descartó como “burn-in” el primer 25% de los árboles y parámetros y los valores de la probabilidad posterior (PP) para cada bipartición de la filogenia fueron determinados de los árboles restantes.

4.2.5.5. Relación entre las características morfológicas y climáticas de los ejemplares y la filogenia

Para visualizar las diferencias morfológicas entre los linajes que resultaron de la filogenia, los ejemplares del ordenamiento de los dos primeros ejes del análisis morfológico de componentes principales (ACP morfológico) del capítulo 2 (Fig. 10) se marcaron con simbología diferente según al linaje al que pertenecen.

Para visualizar las diferencias climáticas entre los linajes, los ejemplares del ordenamiento de los dos primeros ejes del análisis climático de componentes principales (ACP climático) del capítulo 2 (Fig. 13) se marcaron con simbología diferente según el linaje al que pertenecen.

4.3. Resultados

4.3.1. Características moleculares

Las características moleculares de cada una de las regiones se presentan en la Tabla 10. El rango de variación de tamaño de las secuencias fueron entre 580 pb (ITS) y 1117 pb (*matK*) aproximadamente. El alineamiento de las regiones ITS, *trnL-F* y *atpB-rbcL* resultó

en una matriz de 2009 pb, de las cuales 423 fueron parsimoniosamente informativas. La región del espaciador *atpB-rbcL* del genoma del cloroplasto resultó aquella con mayor porcentaje de caracteres parsimoniosamente informativos (10.1%; Tabla 10). Debido al bajo número de individuos de los que se obtuvo exitosamente la secuencia del gen *matK*, éste último no se consideró para los análisis filogenéticos. Sin embargo, no se descarta su uso en análisis futuros.

Tabla 10: Características del alineamiento de las cuatro regiones que se utilizaron para el estudio de los niveles de polimorfismo y divergencia entre haplotipos (obtenidos después de colapsar las secuencias en Fa-Box)

Características de las secuencias	ITS	<i>trnL-F</i>	<i>atpB-rbcL</i>	<i>matK</i>
Nro. individuos	74	63	47	13
Nro. de haplotipos	37	32	37	-
Número posiciones alineadas (pb)	580	639	787	1117
Número de posiciones autapomórficas	27	19	58	98
Distancia media entre individuos (p-distance)	0.031	0.024	0.026	0.051
Número de posiciones parsimoniosamente informativas en porcentaje	8.4%	5.4%	10.1%	9.6%
Número de posiciones no variables	482	530	618	908
Número de posiciones variables	76	54	138	205
Número de gaps codificados	-	3	5	-

4.3.2. Análisis filogenéticos de marcadores moleculares individuales

4.3.2.1 Marcador nuclear: ITS

Todos los criterios utilizados en los análisis filogenéticos (MP, ML, BI) mostraron topologías similares. El alineamiento de ITS constó de 580 posiciones nucleotídicas (Tabla 10). El análisis de MP resultó en 72 árboles con 470 pasos cada uno (índice de consistencia, CI=0,91; índice de retención, RI=0,94). Se obtuvo el consenso de mayoría de BI y se brindan los soportes de cada clado obtenidos con los otros criterios utilizados (Fig. 18). En este podemos observar 3 clados (I, II y III) con alto soporte. El clado I (PP=0,83; BSML=60% y BSMP=98%), "Montaña", incluye principalmente a individuos asociados a elevada altitud en cerros y montañas (>1.500 m s.n.m.) del sur de Chile y Argentina. El

clado II (PP=1,00; BSML=95% y BSMP=96%), "Bosque subandino", incluye individuos que abarcan un rango geográfico entre 30° y 47° S, principalmente del centro y sur de Chile y regiones limítrofes del sur de Argentina. El clado III (PP=0,99; BSML=58% y BSMP=51%), "Norte", incluye individuos que se distribuyen al norte de la latitud 30° S hasta el extremo de su distribución a los 5°S (incluyendo a todos los individuos de Bolivia, N de Chile, y del Perú; Fig. 25). Este clado que presenta una politomía sin resolver en su clado tiene un grupo de ejemplares en la costa y otro en el altiplano de la Puna por lo que seguramente presentan diferentes condiciones climáticas.

A su vez, el clado II está compuesto de dos subclados más pequeños: IIa y IIb. Estos subclados se corresponden a dos áreas geográficas con tendencias de distribución norte y sur. El subclado IIa abarca el rango más del norte coincidente con a la región del Maule en Chile, entre las latitudes 30° S y 36,00° S, y el subclado IIb se distribuye principalmente más al sur en la Patagonia, desde la latitud 33 °S llegando a 47,28 °S.

Los clados II y III en conjunto (e individualmente) muestran mayor número de haplotipos que el clado I. La cantidad de haplotipos es 31 y 6 respectivamente.

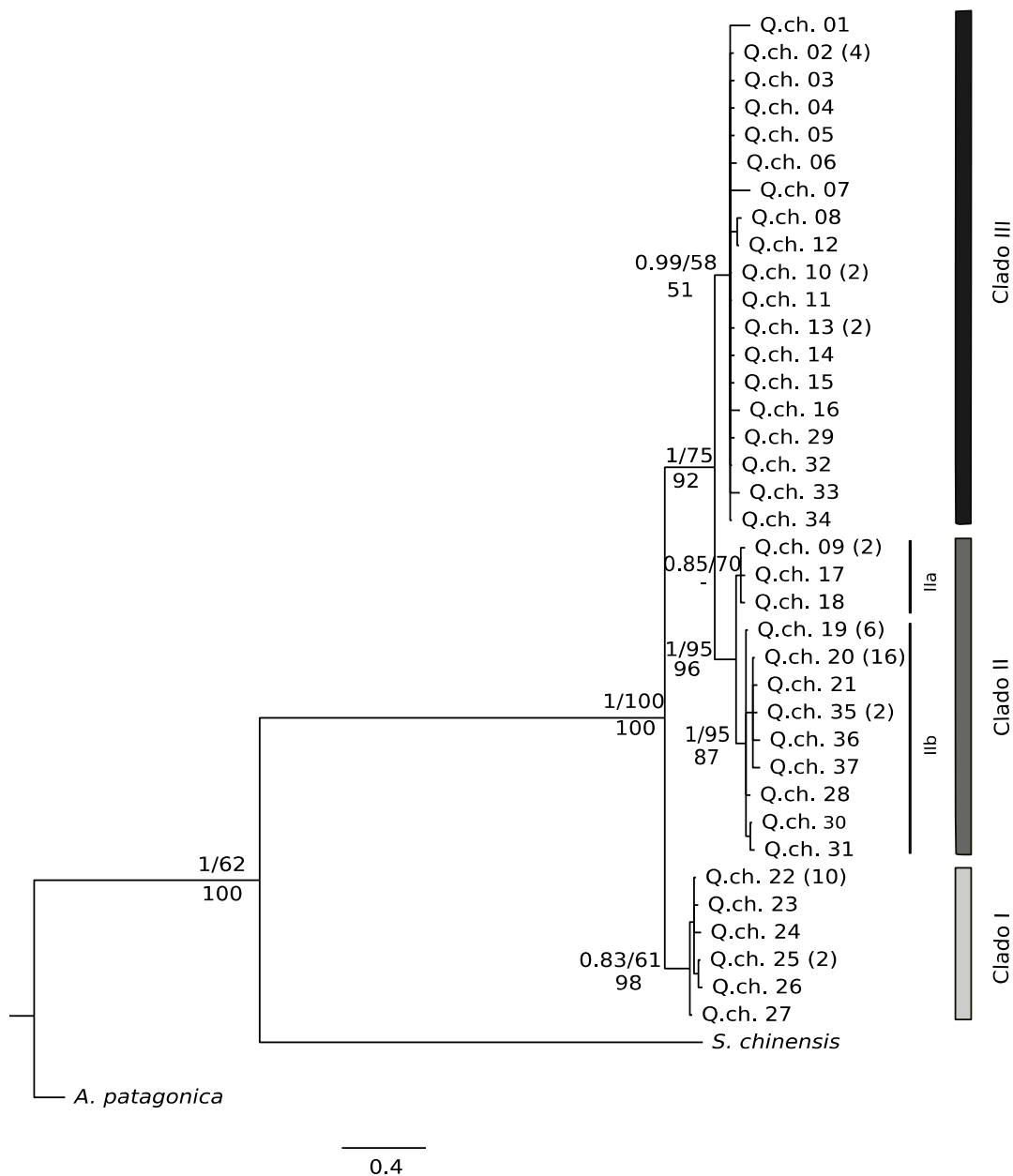


Figura 18: Árbol de consenso de mayoría del 50% del análisis bayesiano a partir de la región de ADN nuclear ITS. Los números sobre las ramas corresponden a los valores de probabilidad posterior bayesiana y bootstrap de verosimilitud respectivamente, y debajo, a valores bootstrap de parsimonia. Los valores <50% se identifican con guión. Los taxones terminales indican haplotipos (Q. ch.: *Q. chilensis*). Los números entre paréntesis indican el número de individuos para cada haplotipo.

4.3.2.2. Marcador del cloroplasto: espaciador *trnL-F*

Todos los criterios de análisis filogenéticos (MP, ML, BI) mostraron topologías similares. El alineamiento constó de 639 posiciones nucleotídicas (Tabla 10). Aún cuando

en los análisis filogenéticos se incluyeron los gaps ($n=3$), las topologías se mantenían similares a aquellas que cuando no se incluían los gaps. Las relaciones resumidas en el consenso estricto de los árboles inferidos por parsimonia fueron compatibles con las estimadas a partir de los análisis de IB y de ML (Fig. 19). El análisis de MP resultó en 49 árboles con 279 pasos cada uno (índice de consistencia, $CI=0,92$; índice de retención, $RI=0,96$). Se obtuvo el consenso de mayoría de BI con los soportes de los otros criterios utilizados (Fig. 19). En éste, a diferencia de la filogenia obtenida a partir del marcador ITS (Fig. 18), se observan solamente 2 clados principales (Fig. 19). Así, el clado I es el que se repite en ambas filogenias ($PP= 0,99$, $BSML=74\%$ y $BSMP=95\%$; Fig. 19), el que incluye principalmente a individuos asociados a elevada altitud en cerros y montañas (>1.500 m s.n.m.) del sur de Chile y Argentina. Por otro lado, los clados II y III con este marcador y se mezclan en un solo clado “II+III” ($PP=1,00$, $BSML=95\%$ y $BSMP=100\%$; Fig. 19), el cual incluye tanto a individuos que abarcan un rango geográfico entre 32° y 47° S del centro y sur de Chile y Argentina y aquéllos que se distribuyen al norte de la latitud 32° S hasta 5° S (incluyendo a todos los individuos de Bolivia, N de Chile, y del Perú).

Del mismo modo que en el caso del marcador nuclear ITS, el marcador *trnL-F* mostró que los individuos del clado “II+III” presentan un mayor número de haplotipos que los del clado I. La cantidad de haplotipos es 24 y 8 respectivamente.

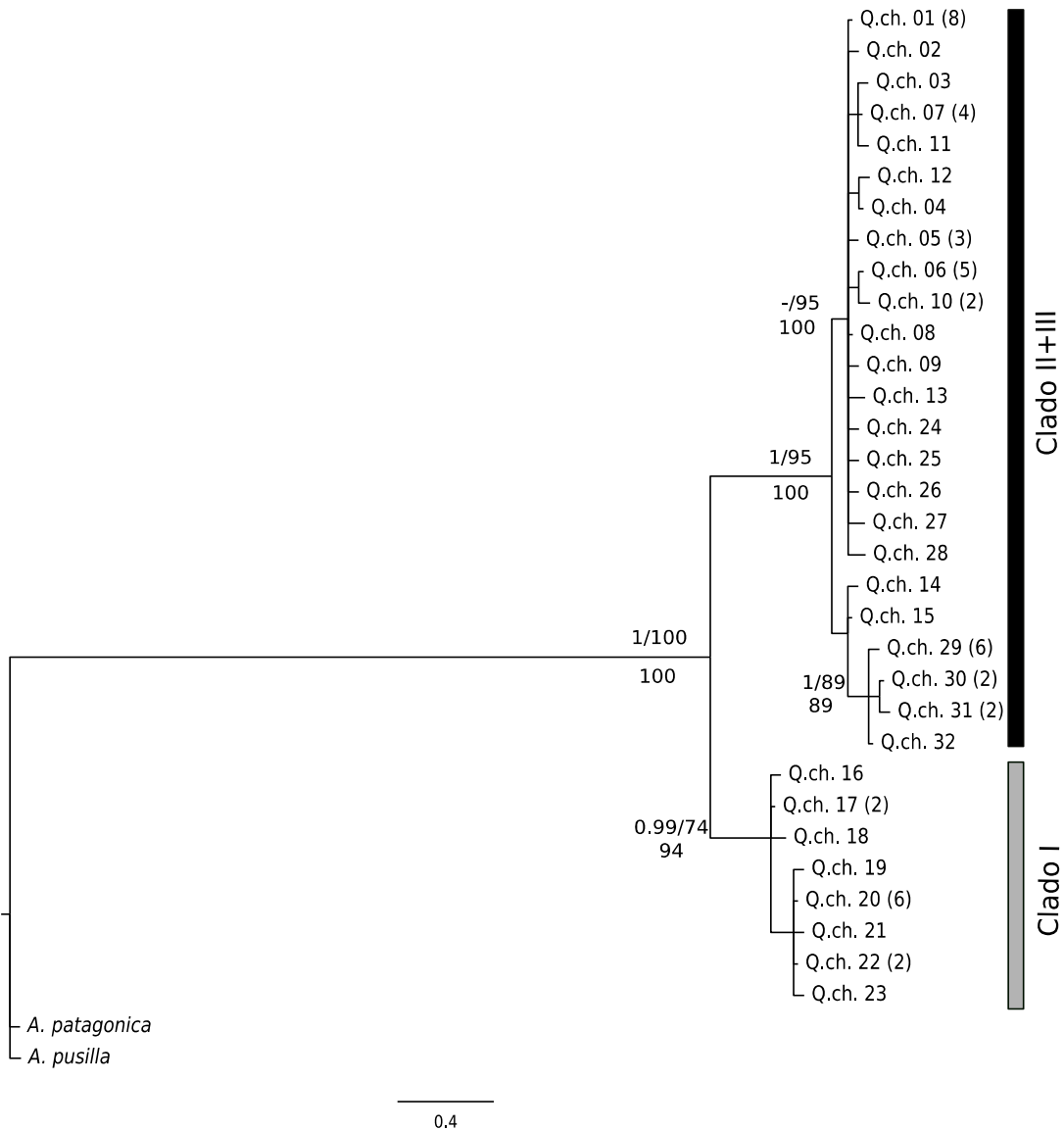


Figura 19: Árbol de consenso de mayoría del 50% obtenido a partir del análisis bayesiano a partir de la región de ADN del cloroplasto el espaciador *trnL-trnF*. Los números sobre las ramas corresponden a los valores de probabilidad posterior bayesiana y bootstrap de verosimilitud respectivamente, y debajo, a valores de bootstrap de parsimonia. Los valores <50% se identifican con guión. Los taxones terminales indican haplotipos (Q. ch.: *Q. chilensis*). Los números entre paréntesis indican el número de individuos para cada haplotipo.

4.3.2.3. Marcador del cloroplasto: espaciador *atpB-rbcL*

Todos los criterios de análisis filogenético mostraron topologías similares para el marcador del cloroplasto *atpB-rbcL*. Aún cuando en los análisis filogenéticos se incluyeron

los gaps (n=5), las topologías se mantenían similares de aquellas que cuando no se incluían los gaps. Las relaciones resumidas en el consenso estricto de los árboles inferidos por MP fueron compatibles con las estimadas a partir de los análisis de IB y de ML (Fig. 20). El análisis de MP de las 788 posiciones nucleotídicas alineadas sin gaps resultó en 12 árboles con 1026 pasos cada uno (índice de consistencia, CI=0,78; índice de retención, RI=0,84).

En la topología del árbol obtenido se resolvieron, al igual que con el otro marcador del cloroplasto, *trnL-F*, dos clados principales (I y II+III; Fig. 19 y 20). El clado I (PP=1,00; BSML=99% y BSMP=99%) incluye principalmente a individuos asociados a elevada altitud en cerros y montañas (>1.500 m s.n.m.) del sur de Chile y Argentina. El clado II+III (PP=1,00; BSML=98% y BSMP=99%) incluye el resto de los individuos.

Del mismo modo que el espaciador *trnL-F*, el marcador del cloroplasto *atpB-rbcL* tampoco resolvió relaciones internas en el clado II+III.

El marcador *atpB-rbcL* mostró similitud en el patrón de la diversidad de haplotipos dentro de cada clado en relación a los encontrados con los marcadores ITS y *trnL-F*. Así, el número de haplotipos que se observó para el espaciador *atpB-rbcL* en la filogenia fueron 8 para el clado I igual y 29 para el clado II+III.

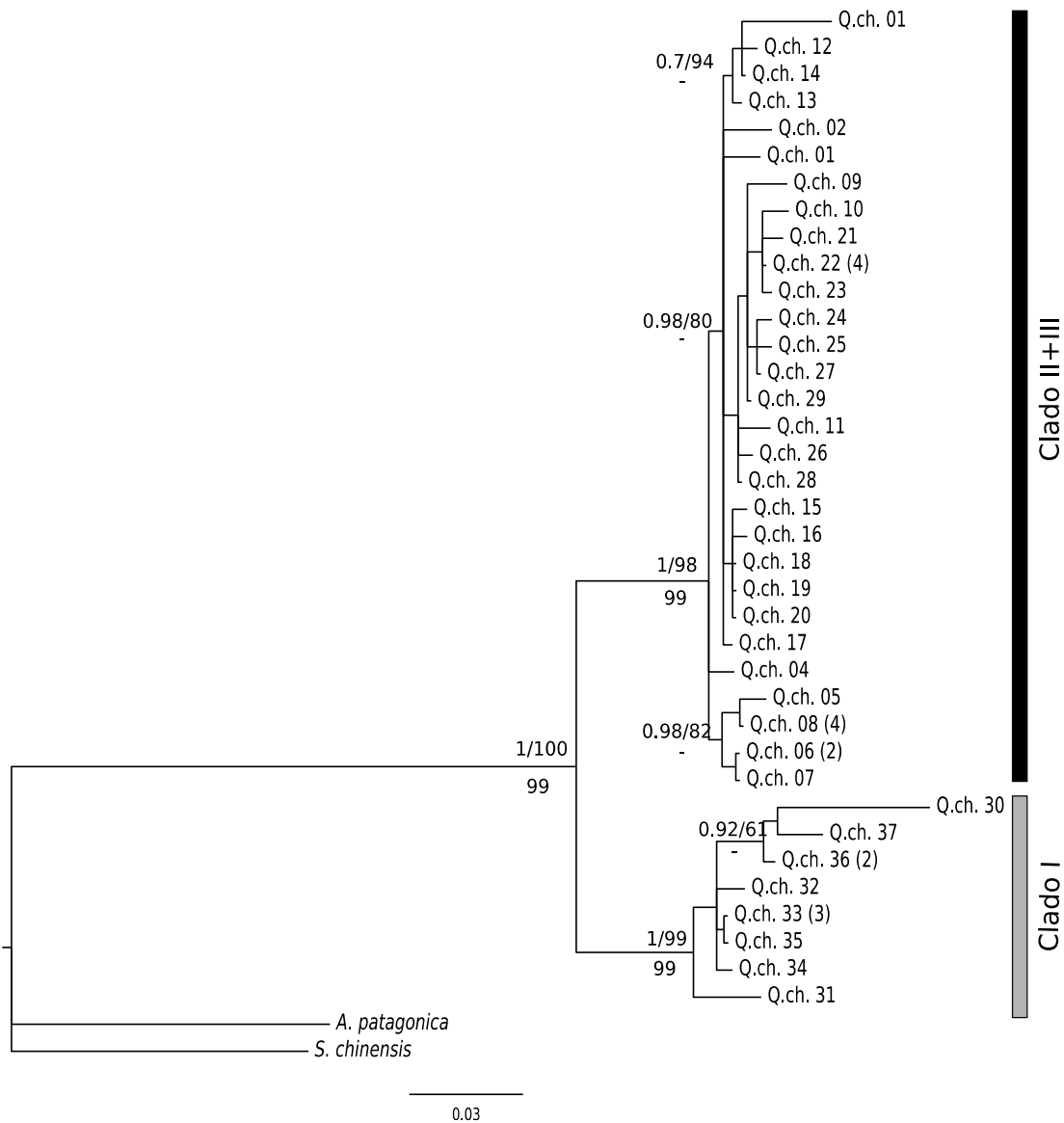


Figura 20: Árbol de consenso de mayoría del 50% a partir del análisis bayesiano a partir de la región de ADN cloroplasto, el espaciador *atpB-rbcL*. Los números sobre las ramas corresponden a los valores de probabilidad posterior bayesiana y bootstrap de verosimilitud respectivamente, y debajo a valores de bootstrap de parsimonia. Los valores <50% se identifican con guión. Los taxones terminales indican haplotipos (Q. ch.: *Q. chilensis*). Los números entre paréntesis indican el número de individuos para cada haplotipo.

4.3.3. Análisis filogenéticos de marcadores moleculares concatenados

4.3.3.1. Análisis concatenando de las matrices del cloroplasto (*trnL-F+atpB-rbcL*)

Todos los análisis de los marcadores del cloroplasto (ADNcp; *trnL-F*, *atpB-rbcL*) independientemente resultaron en árboles con topologías similares (evaluación comparando visualmente los árboles), por lo tanto se combinaron en una matriz correspondiente al cloroplasto y analizaron conjuntamente, respetando las dos particiones como independientes en los análisis que lo permiten (IB).

Las relaciones resumidas en el consenso estricto de los árboles inferidos por MP fueron compatibles con las estimadas a partir de los análisis de IB y de ML (Fig. 21). El análisis de MP de las 1426 posiciones nucleotídicas alineadas resultó en 17 árboles con 485 pasos cada uno (índice de consistencia, CI=0,78; índice de retención, RI=0,84).

En la topología del árbol obtenido, al igual que en los árboles obtenidos de los análisis de los marcadores del ADNcp independientes (Fig. 19 y 20), se resolvieron dos clados principales (I y II+III; Fig. 21). El clado I (PP=1,00; BSML=99% y BSMP=100%) incluye principalmente a individuos asociados a elevada altitud en cerros y montañas (>1.500 m s.n.m.) del sur de Chile y Argentina. El clado “II+III” (PP=1,00; BSML=99% y BSMP=100%) incluye el resto de los individuos.

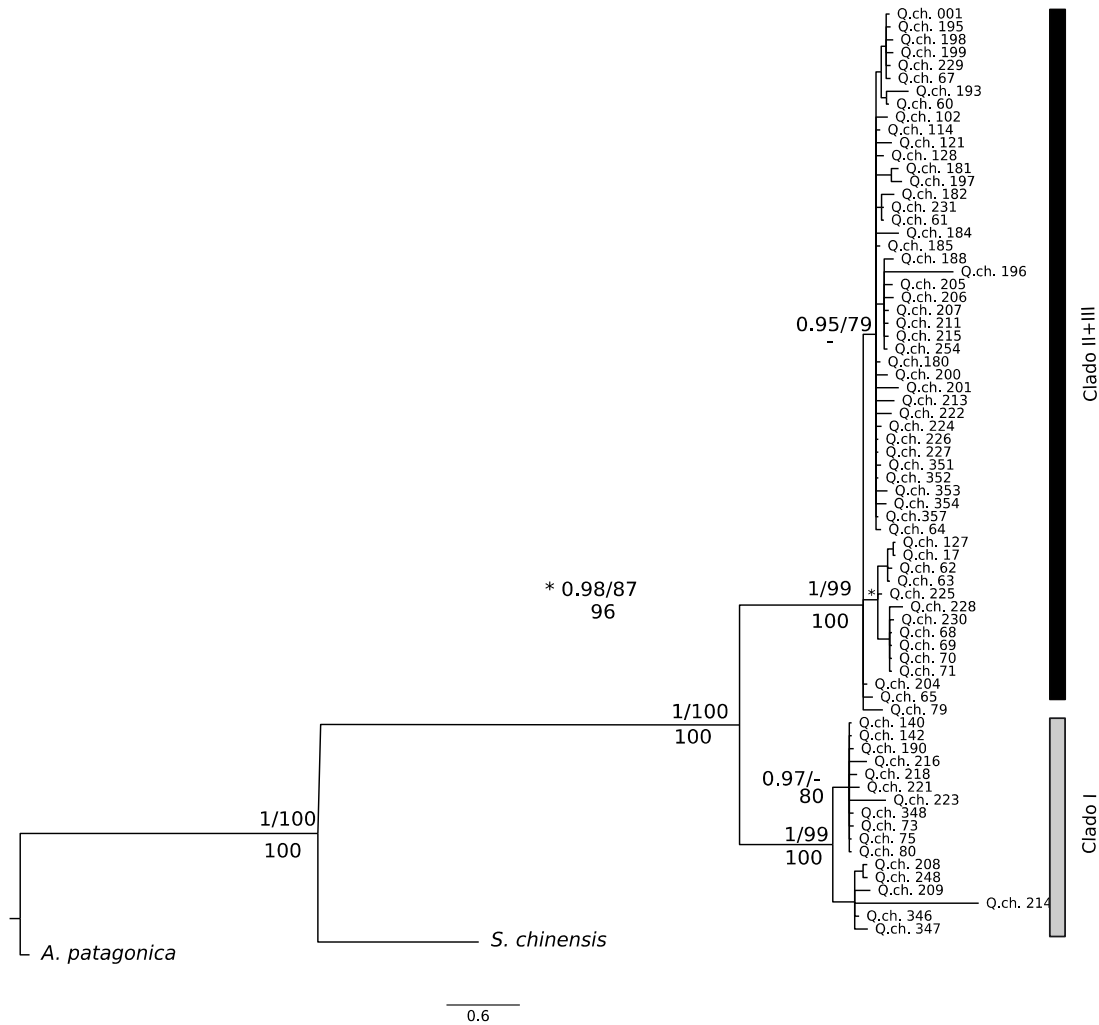


Figura 21: Árbol de consenso de mayoría del 50% a partir del análisis bayesiano a partir del ADNcp, *trnL-F* y *atpB-rbcL*. Los números sobre las ramas corresponden a los valores de probabilidad posterior bayesiana, bootstrap verosimilitud respectivamente, y debajo valores bootstrap de parsimonia. Los valores <50% se identifican con guión. Los taxones terminales indican individuos (Q. ch.: *Q. chilensis*). Los números entre paréntesis indican al número de ADN genómico asignado (e.g. 001).

4.3.3.2. Análisis concatenado de todas las matrices moleculares (ITS+*trnL-F*+*atpB-rbcL*)

Debido a que el árbol obtenido del marcador del ADN nuclear (ADNnc; ITS) mostró similitud en la definición de dos clados principales respecto a las topologías mostradas en los árboles obtenidos de los marcadores del ADNcp (*trnL-F*, *atpB-rbcL*), estos tres marcadores se combinaron en una sola matriz y un árbol de “evidencia total” fue generado respetando las particiones como independientes en los análisis que lo permiten (Fig. 22).

Todos los criterios de análisis filogenético mostraron topologías similares para la matriz de evidencia total. Las relaciones resumidas en el consenso estricto de los árboles inferidos por MP fueron congruentes con las estimadas a partir de los análisis de IB y de ML (Fig. 22). El análisis de MP de las 2009 posiciones nucleotídicas alineadas resultó en 99 árboles con 917 pasos cada uno (índice de consistencia, CI=0,78; índice de retención, RI=0,84).

Los valores de bootstrap fueron altos, tanto para el clado I (PP=0,87; BSML=87%; BSMP=100%) como para el clado “II+III” (PP=1,00; BSML=100%; BSMP=100%).

En la topología del árbol obtenido del IB, al igual que en los árboles obtenidos de los análisis de los marcadores del ADNcp independientes (Fig. 19 y 20), se resolvieron dos clados principales (I y II+III; Fig. 22). El clado I (PP=1,00; BSML=100% y BSMP=100%) incluye principalmente a individuos asociados a elevada altitud en cerros y montañas (>1.500 m s.n.m.) del sur de Chile y Argentina. El clado “II+III” (PP=1,00; BSML=100% y BSMP=100%) incluye el resto de los individuos. Además, en este caso, dentro del clado II+III se observa que el único clado entre estos dos que se resuelve en los análisis de ML e IB y que resulta bien soportado es el clado II (PP=0.87; BSML=87%). Este clado se había resuelto en la topología del marcador ITS; en contraste, el clado III resuelto en ese caso no resulta un grupo monofilético.

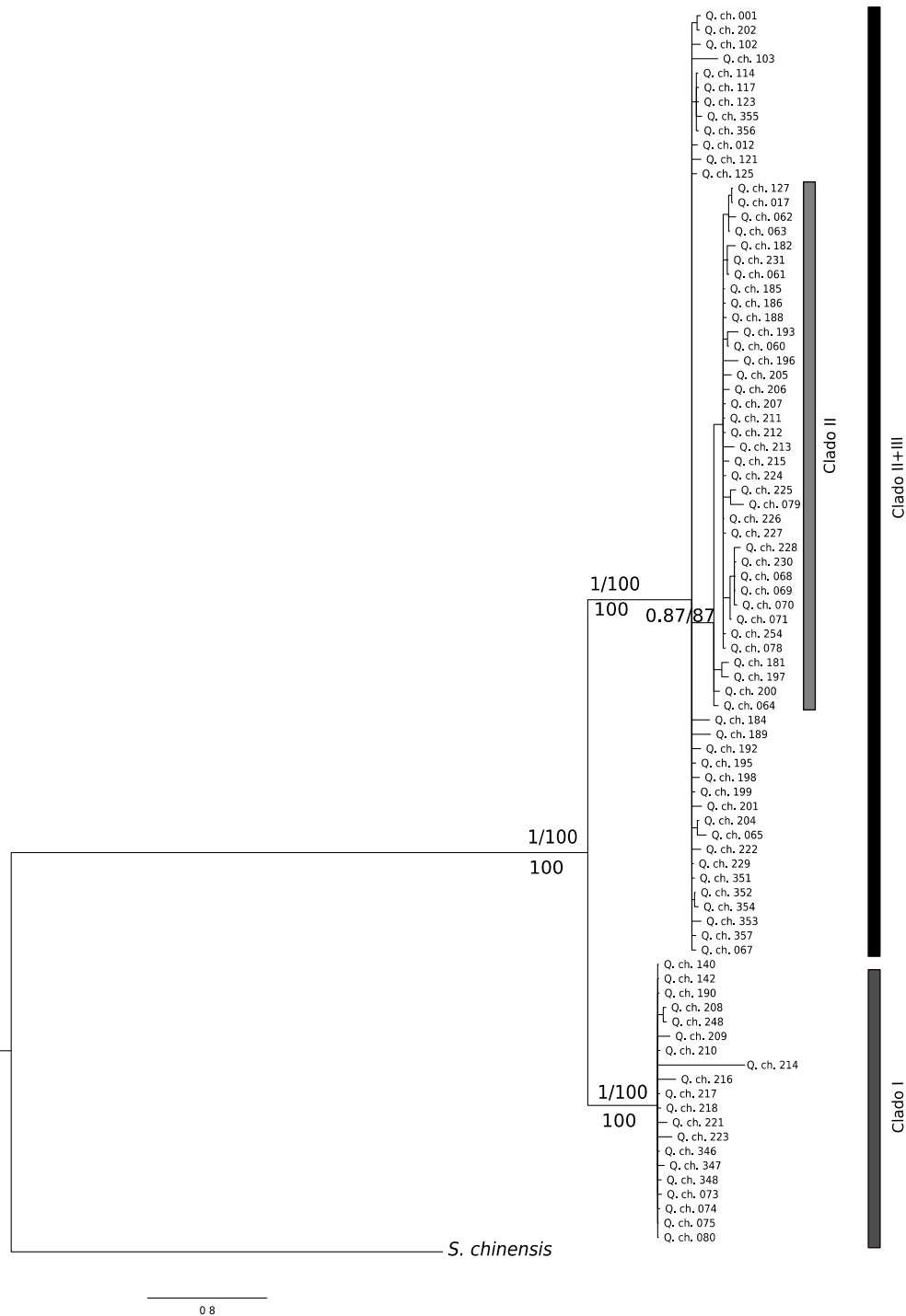


Figura 22: Árbol de consenso de mayoría del 50% a partir del análisis bayesiano en base al ADNcp, *trnL-F*, *atpB-rbcL* y de la región ITS de ADNnr. Los números sobre las ramas corresponden a los valores de probabilidad posterior bayesiana y bootstrap de verosimilitud respectivamente, y debajo a valores de bootstrap de parsimonia. Los valores <50% se identifican con guión. Los taxones terminales indican individuos (Q. ch.: *Q. chilensis*). Los números entre paréntesis indican al número de ADN genómico asignado (e.g. 001).

4.3.4. Relación entre la filogenia y las características morfológicas y climáticas

Se presentan los resultados de los ACP morfológico y climático (Figs. 23 y 24) de los individuos utilizados para la reconstrucción de la filogenia molecular, diferenciados por el linaje al cual pertenecen.

4.3.4.1. Caracterización de la morfología de los linajes

Se muestra el total de los 156 ejemplares medidos para el análisis morfométrico en el capítulo 2 (Fig. 23), entre los que aquí se individualizan aquellos que fueron utilizados en la reconstrucción filogenética. Éstos últimos se identifican según a cuál de los tres linajes de la filogenia del marcador ITS pertenecen (Montaña; Bosque subandino; Norte); los puntos negros representan a individuos no incluidos en la filogenia. En base los resultados del ACP morfológico (Fig. 23) se observa que los tres grupos que identifican a los tres linajes moleculares no se separan en forma clara, aunque se evidencia una tendencia a la separación de los individuos de Montaña sobre el eje 2. El carácter que mayor aporte tuvo al CP2 fue la forma de la hoja (FH) y es el carácter que en general separa al linaje Montaña, de hojas generalmente más anchas (Fig. 23 y Tabla 11; círculos vacíos), de los otros dos.

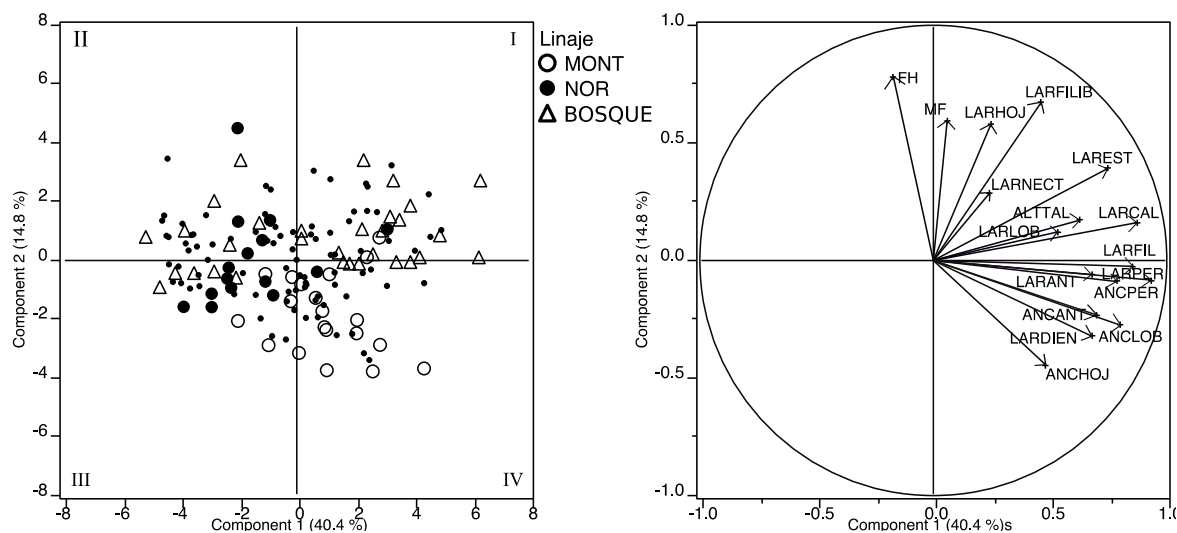


Figura 23: Caracterización morfológica de los linajes: Análisis de las componentes principales de las variables morfológicas para 156 individuos identificando los clados obtenidos de la filogenia del marcador ITS (Montaña, Bosque subandino y Norte; Fig. 19). Los puntos negros representan a individuos no incluidos en la filogenia El valor de contribución a la varianza de cada componente se muestra entre paréntesis para cada eje. Las flechas del gráfico de la derecha indican la contribución de las variables originales en cada eje (Tabla 5; Capítulo 2).

4.3.4.2. Caracterización climática de los linajes

En forma similar al análisis anterior, se muestra a los 156 ejemplares que fueron ordenados según sus características climáticas (Fig. 24) en el capítulo 2, entre los que aquí se identifican con simbología aquellos que pertenecen a tres linajes de la filogenia del marcador ITS (Montaña: círculos vacíos; Bosque subandino: triángulos; Norte: círculos llenos); los puntos negros representan a los individuos no incluidos en la filogenia.

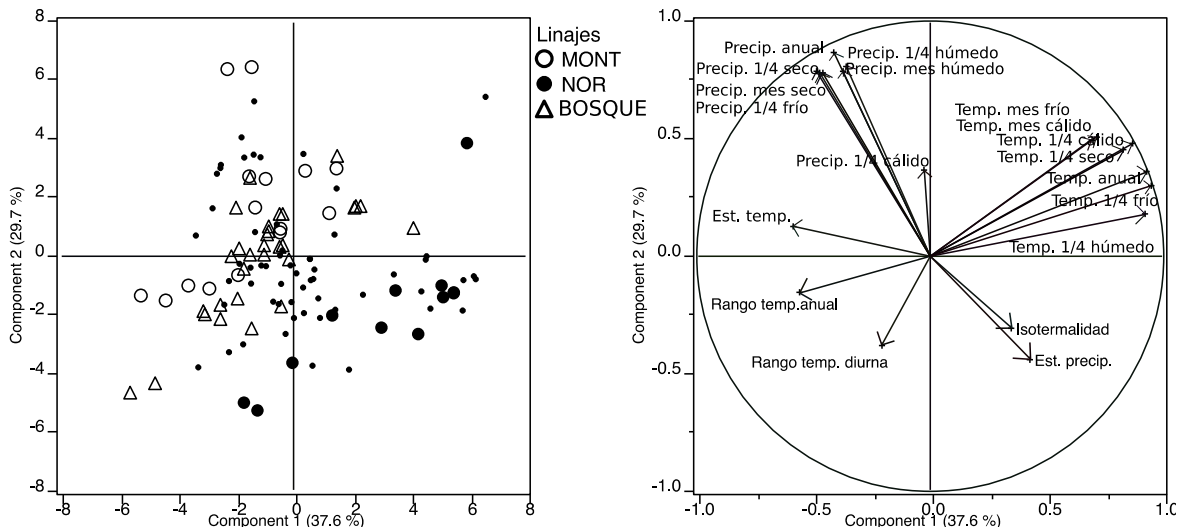


Figura 24: Caracterización ambiental de los linajes: Análisis de las componentes principales de las variables climáticas para 156 individuos, identificando a los principales clados en la filogenia del marcador ITS (Montaña, Bosque subandino y Norte). Los puntos negros representan a los individuos no incluidos en la filogenia El valor de contribución a la varianza de cada componente se muestra entre paréntesis en cada eje. Las flechas del gráfico de la derecha indican la contribución de las variables originales en cada eje (Tabla 8; Capítulo 2).

En el ACP que ordena los ejemplares según el clima (Fig. 24) se observan muchos de los individuos clasificados en el linaje Montaña posicionados en regiones con mayor precipitación (arriba hacia la izquierda; círculos vacíos), la mayoría de los individuos del linaje Norte en el sentido opuesto, en regiones con precipitación mínima y temperaturas algo mayores (abajo hacia la derecha; círculos llenos), dejando a los individuos del linaje Bosque subandino (triángulos) en el medio de ambos extremos, es decir en regiones con precipitaciones intermedias (ver valores Tabla 11).

Para confirmar estas observaciones se realizaron ANOVAs entre los linajes para comparar los valores medios de las variables morfológicas y climáticas. Estos análisis

resultaron en diferencias significativas entre los tres linajes (Tabla 11) que confirman las observaciones anteriores.

Tabla 11: ANOVAs de las variables climáticas y morfológicas entre los linajes filogenéticos. Para cada uno se indican los promedios calculados para cada carácter, el error estándar y sus rangos en la línea inferior entre paréntesis (Mín.-Máx.). Las letras de los superíndices indican grupos homogéneos a partir de tests de Tukey.

Var.	Descripción variable	Norte	Montaña	Bosque subandino	p-valor
Climáticas					
Bio1	Temperatura media anual (mm)	121,0 ± 16,1 ^a (24 – 202)	71,3 ± 11,3 ^b (-20 – 135)	70,5 ± 8,36 ^b (-45 – 167)	0,0082
Bio12	Precipitación anual (mm)	271 ± 103,2 ^a (6 – 1284)	1245,44 ± 114,9 ^b (753 – 1117,5)	805,63 ± 46,51 ^c (435 – 1008)	<0,0001
Morfológicas					
FH	Forma de la hoja	22,12 ± 3,55 ^a (8,5 – 63,6)	13,3 ± 1,25 ^b (6,0 – 28,4)	22,2 ± 1,6 ^a (9,4 – 49,57)	0,0039
LARPER	Tamaño flor (cm)	0,88 ± 0,16 ^a (0,6 – 1,2)	1,05 ± 0,23 ^{abc} (0,9 – 1,4)	1,0 ± 0,29 ^c (0,5 – 1,8)	0,0039

En el mapa de distribución de linajes (Fig. 25) se observa la segregación geográfica de los mismos. Así por ejemplo, el linaje Norte está posicionado mayormente a menores latitudes, mientras que existe una distribución tendiente a latitudes más australes de los linajes Montaña y Bosque subandino.

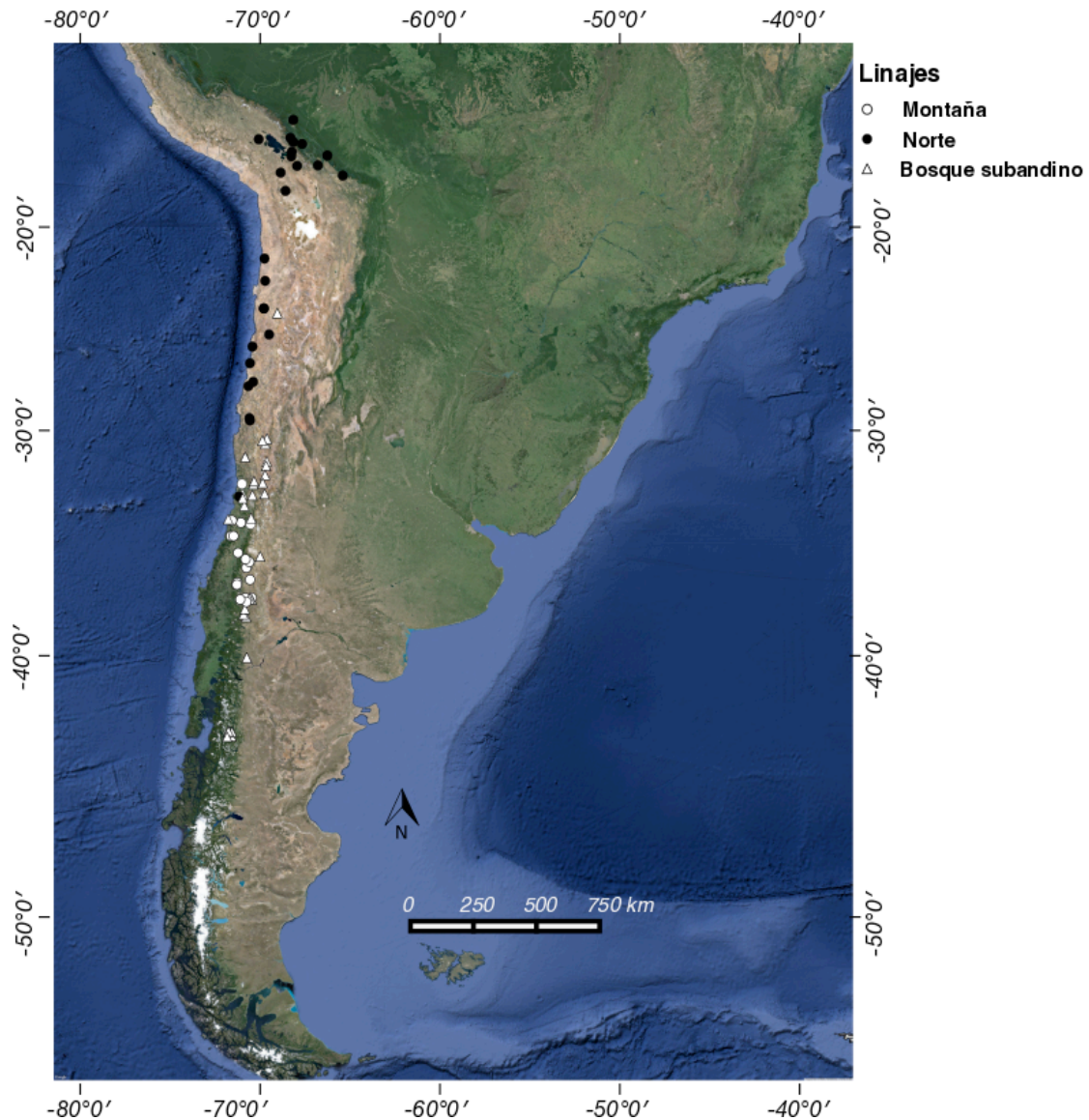


Figura 25: Distribución de *Quinchamalium chilense* mostrando el patrón geográfico de los tres linajes filogenéticos. Los individuos que se muestran en el mapa son aquellos que se incluyeron en el análisis de la filogenia (n=87).

4.4. Discusión y conclusiones a partir de los análisis filogenéticos moleculares

Este trabajo es el primer estudio que incluye datos moleculares de numerosos ejemplares y de toda el área de distribución de *Quinchamalium* para resolver la filogenia del género. Las relaciones filogenéticas obtenidas en este trabajo aportan evidencia adicional al resultado previo que planteaba la reducción del elevado número de especies de *Quinchamalium* a una sola (Capítulo 2 y Lopez Laphitz *et al.* 2015a). Por otro lado, estas filogenias han resuelto dentro de la morfoespecie descrita *Q. chilense* (Capítulo 3 y Lopez

Laphitz *et al.* 2015b) la existencia de dos linajes infraespecíficos con buen soporte en todos los análisis. El número de clados o linajes fuertemente soportados observados en la filogenia de *Quinchamalium* no apoyarían una gran diversidad taxonómica y menos aún la existencia de las 21 especies reconocidas en los catálogos actuales (*e.g.* Zuloaga *et al.* 2009, Jørgensen *et al.* 2014). La inclusión de estudios de patrones geográficos y la caracterización tanto morfológica como climática de los linajes es de relevancia para poder identificar posibles procesos que resulten en la diferenciación genética de estos linajes dentro de una misma especie.

Las análisis de los marcadores individuales (ITS, *atpB-rbcL* y *trnL-F*) son congruentes. La mayor diferencia de las filogenias obtenidas a partir de los marcadores del cloroplasto respecto del marcador nuclear ITS es la mayor señal filogenética del marcador nuclear para la identificación de tres clados, bien diferenciados con alto soporte y con un patrón biogeográfico evidente. Estos tres clados son el clado I, presente en todas las topologías, y los clados II y III, los cuales divergen entre sí solamente en la filogenia del ITS. Estos tres clados se corresponden a tres áreas geográficas bien marcadas, las cuales se denominaron informalmente Montaña, Bosque subandino y Norte. El clado Montaña es el primero en divergir como grupo es hermano de los clados Bosque subandino y Norte, que en conjunto forman un grupo monofilético. El clado Montaña presenta el menor número relativo de haplotipos para los tres marcadores. El rango geográfico latitudinal que abarca el clado Montaña (35.5°- 41.26° S) tiene una distribución en general simpátrica con el clado Bosque subandino (30°- 47° S), como se observó en el mapa de linajes. La característica que los diferencia es que los individuos del clado Montaña provienen principalmente de regiones altas de cerros y volcanes (>1.500 m s.n.m.) del sur de Chile y Argentina, mientras que los del clado Bosque subandino (II) provienen de regiones más bajas del centro y sur de Chile y Argentina. Por su lado, el clado Norte (III) está caracterizado por individuos encontrados al norte de la latitud 30° S, hasta aprox. 5° S. Además, los datos moleculares mostraron una gran variabilidad genética a lo largo de la distribución andina del género en Sudamérica, lo cual nos permitirá en el futuro incluir estos datos moleculares en análisis filogeográficos para identificar estructura genética y las causas de ésta.

Las caracterizaciones morfológicas y climáticas de los tres linajes no mostraron un patrón muy claro. Sin embargo, en el caso de la morfología, la forma de la hoja separó levemente al clado Montaña de los clados Norte y Bosque-subandino. Es decir, los

individuos del clado Montaña tienen hojas relativamente más anchas que el resto. Del mismo modo, la caracterización climática mostró una leve segregación de los tres linajes en cuanto a la precipitación anual. En general, las regiones del clado Montaña presentan mayores precipitaciones, las del clado Bosque subandino precipitaciones intermedias y las regiones del clado Norte precipitaciones mínimas y temperaturas mayores.

A diferencia de las relaciones encontradas entre la morfología floral y la geografía, que no evidenciaron la diferencia entre las especies hipótesis (Capítulo 2; Lopez Laphitz *et al.* 2015a), las filogenias moleculares obtenidas en este trabajo permiten identificar diferentes grupos monofiléticos asociados a un patrón geográfico y climático. Algunos estudios filogenéticos en otros grupos taxonómicos con rangos de distribución andina en Sudamérica (*e.g. Diplolepis*; Hechem *et al.* 2011; *Calceolaria*; Cosacov *et al.* 2009; Baranzelli *et al.* 2014) ya han evidenciado que los distintos clados en sus filogenias sugieren historias de adaptación a diferentes ambientes para cada uno de ellos. En nuestro caso, podemos inferir inicialmente que la existencia de estos tres clados en *Quinchamalium*, con diferencias moleculares y patrones geográficos y climáticos distintos, sugieren que cada uno de los linajes infraspecíficos podría tener una historia evolutiva diferente en respuesta a distintos regímenes de selección natural. La tendencia a que los clados Bosque subandino y Norte presenten hojas relativamente más angostas que el clado Montaña podría correlacionarse con características genéticas de estos clados, seleccionadas en los ambientes más áridos que ocupan.

Dadas las importantes diferencias climáticas que se encuentran en la extensa distribución de norte a sur de la especie, se considera interesante en un futuro también analizar en detalle el nicho climático de estos linajes y compararlos, para verificar si ha habido divergencia de nicho en la evolución del grupo como se ha visto entre especies relacionadas de otros organismos (*e.g. Brachypodium distachyon*, Lopez-Alvarez *et al.* 2015; *Erysimum mediohispanicum*, Gomez *et al.* 2014; *Eulemur sp.*, Blair *et al.* 2013; *Sistrurus sp.*, Wooten y Gibbs 2012). En estos casos se encontró que linajes originados recientemente eran ecológicamente distintos, lo que implicaría un rol importante de la ecología en el proceso de diversificación (Blair *et al.* 2013). Por lo tanto, la evolución de linajes en especies de amplia distribución parecería el resultado de la interacción entre una tendencia a la inercia por conservación de nicho y el efecto de la selección natural en poblaciones de hábitats ecológicamente divergentes (Pyron and Burbink 2009). Resultados preliminares (Lopez Laphitz *et al.* 2014) muestran que los tres linajes que se observan en

la filogenia de ITS de *Quinchamalium* podrían ser resultado de este tipo de proceso de diversificación, que podría estar produciendo especies incipientes. Esto también se observó en la relación entre el ACP climático y los linajes y entre el ACP morfológico y los linajes. La tendencia a que los clados Norte y Bosque subandino, generalmente presentes en regiones con menores precipitaciones que el clado Montaña, presenten hojas relativamente más angostas, podría ser el resultado de este tipo de proceso.

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES GENERALES

Esta tesis tuvo como objetivo principal realizar un estudio morfológico, taxonómico y filogenético del género sudamericano *Quinchamalium* (Schoepfiaceae). El mismo se extiende desde Perú y Bolivia hasta el sur de Chile y Argentina, principalmente a lo largo de distintos biomas de los Andes en un rango de altitud que varía entre 0-3.800 m s.n.m. A este género se le asignaban aproximadamente 21 especies de delimitación poco clara a nivel morfológico. Su gran variación morfológica junto a su amplia distribución geográfica hacen de este género un modelo interesante para analizar la relación entre morfología, taxonomía, filogenia y biogeografía en un contexto evolutivo. Por lo tanto, los objetivos específicos que se propusieron en esta tesis fueron:

1- Estudiar la variación morfológica dentro del género con métodos estadísticos de manera de determinar el número real de sus taxones, sus límites y sus caracteres diagnósticos (Capítulo 2).

2- Describir las especies, aclarar su nomenclatura y sinonimia, redactar claves para diferenciarlas y construir mapas de distribución utilizando tanto material de colecciones en el campo así como de herbarios (Capítulo 3).

3- Reconstruir la filogenia del género sobre la base de información molecular, y relacionarla con la evolución morfológica del género, las características climáticas donde habitan los distintos individuos y la biogeografía de los linajes encontrados (Capítulo 4).

En el desarrollo de la tesis se definieron y discutieron varios conceptos de especie eligiendo utilizar dos de ellos, el morfológico y el filogenético. Se remarcó la importancia de la aplicación de análisis estadísticos morfométricos como una herramienta en la identificación de potenciales morfoespecies. Por otro lado, se discutió la aplicación de análisis filogenéticos con datos moleculares para resolver la existencia de especies monofiléticas a nivel infragenérico. Hasta la concreción de este trabajo, en *Quinchamalium* solamente existían estudios taxonómicos a nivel regional, sin análisis morfológicos detallados, y los estudios moleculares se enfocaban en la resolución de relaciones filogenéticas a niveles jerárquicos supragenéricos y no resolvían las relaciones dentro del género.

5.1. Estudio morfológico

Las 21 especies reconocidas hasta la realización de esta tesis eran muy difíciles de diferenciar morfológicamente. La revisión de los protólogos y ejemplares tipo sumado a la observación de los ejemplares de herbario mostraba una gran diversidad morfológica en

caracteres cuantitativos, pero no permitía reconocer grupos más o menos homogéneos y diferenciados entre sí. No obstante, se observaron ciertas diferencias sobre todo en el largo del perigonio y la forma de las hojas. Con estos datos de observación se planteó como hipótesis la existencia de solo dos morfoespecies: *Q. chilense* y *Q. parviflorum*. Los análisis estadísticos realizados en el Capítulo 2 no mostraron una óptima separación de las especies hipótesis (*Q. chilense* y *Q. parviflorum*) debido principalmente a la superposición de datos morfológicos entre ambas, i.e. los datos morfológicos mostraban un continuo de variación entre los distintos individuos analizados. La única variable que mostró una leve discontinuidad fue el largo del perigonio, por lo cual la importancia de esta variable fue puesta a prueba como carácter diagnóstico, ya que además de poseer una distribución bimodal, este carácter había sido anteriormente considerado de relevancia para describir especies en *Quinchamalium* por varios autores. Sin embargo, los análisis multivariados no mostraron una óptima separación entre las especies hipótesis y señalaron la falta de discontinuidad morfológica significativa a lo largo del rango de distribución del género. Frecuentemente, los patrones de no-superposición en la variación de caracteres morfológicos han sido usados como criterio para la inferencia de límites entre especies. Así, teniendo en cuenta la evidencia morfológica en *Quinchamalium*, no se podría concluir la existencia de dos grupos homogéneos con una óptima separación para poder identificarlas como diferentes morfoespecies. Por lo tanto, para *Quinchamalium* se propone la existencia de una única especie muy polimórfica y ampliamente distribuida, *Q. chilense*.

Debido a que el rango total de distribución de la única especie incluye a varias áreas identificadas como diferentes biomas (e.g. puna, matorral chileno, bosque húmedo valdiviano, estepa altoandina, estepa patagónica), la variación morfológica podría estar bajo la presión selectiva de diferentes factores ambientales. En relación a ello, se identificaron patrones de covariación entre caracteres morfológicos y climáticos. Se encontró que plantas más altas con flores más grandes se asociaron a sitios con mayores precipitaciones, mientras que plantas con hojas más angostas a sitios con temperaturas más altas. Asimismo, flores brevistilas (perigonio largo con respecto al estilo corto) se correlacionaron con latitudes más altas y temperaturas más bajas. No obstante, mediante los análisis presentados no se pudo determinar si las variaciones existentes dentro de la única especie están genéticamente fijadas conformando ecotipos, o si las mismas son consecuencias de plasticidad fenotípica.

5.2. Descripción taxonómica

Se describió a la única especie reconocida en *Quinchamalium* sobre la base de observaciones a campo y estudio de material de herbario. Además, se realizó una revisión nomenclatural teniendo en cuenta el estudio de todos los ejemplares tipo. Como resultado, los nombres de 28 especies fueron reducidos a la sinonimia de *Q. chilense* por primera vez, como se señaló en la lista sinónimica con la abreviatura **nov. syn.** También se lectotipificaron 13 especies dentro del género en las cuales los protólogos no mencionaban con exactitud a los ejemplares sobre los cuales estaban basadas sus descripciones. Además, un nombre se neotipificó, se incluyó una lista de material representativo de toda el área de distribución del género, de Perú, Bolivia, Chile y Argentina, y se recopilaron datos de hábitat, fenología y usos de la especie. De esta manera se brindó información nueva y detallada de la taxonomía, nomenclatura y distribución de esta especie morfológicamente diversa y ampliamente extendida.

5.3. Análisis filogenéticos

Las relaciones filogenéticas obtenidas permitieron corroborar la hipótesis previa que planteaba la reducción del elevado número de especies en *Quinchamalium* a una sola. Al igual que con los resultados obtenidos en el análisis morfológico, los resultados de los análisis filogenéticos no apoyaron la existencia de las 21 especies reconocidas en los catálogos actuales de plantas sudamericanas en donde estaba incluido el género. Sin embargo, la filogenia resolvió dentro de *Q. chilense* la existencia de tres linajes infraespecíficos con buen soporte.

Los clados principales resultantes de todos los análisis (ADN de cloroplasto y nuclear) son dos: clado I y otro clado compuesto por dos subclados II y III. Estos dos clados/linajes principales (I y II+III) se resuelven tanto en los análisis independientes de los marcadores del cloroplasto (*trnL-F* y *atpB-rbcL*), en el combinado de cloroplasto (*trnL-F+atpB-rbcL*), así como en el análisis de evidencia total que incorpora el marcador del núcleo (ITS+*trnL-F+atpB-rbcL*). A diferencia de las filogenias obtenidas a partir de los marcadores del cloroplasto, el marcador nuclear ITS por sí solo muestra la mayor señal filogenética para la identificación de tres linajes bien diferenciados con alto soporte y con un patrón biogeográfico evidente. Estos tres clados son el clado I, presente en todos los árboles, el clado II y el clado III. Estos clados se corresponden a tres áreas geográficas bien marcadas, por lo que se denominaron informalmente “Montaña”, “Bosque subandino” y

“Norte”. Los clados Bosque subandino y Norte son grupos hermanos. El clado Montaña es el primero en diferenciarse y su rango geográfico abarca el sur de Chile y Argentina desde los 35.5° a los 41.26° S superponiéndose geográficamente con el clado Bosque subandino (clado II; 30°- 47° S) del centro y sur de Chile y Argentina. Sin embargo, los individuos del clado Montaña provienen principalmente de zonas altas en cerros y volcanes (>1.500 m s.n.m.). Por su lado, el clado Norte (III) está caracterizado por individuos encontrados al norte de la latitud 30°, hasta 5° S. Los tres clados, por estar presentes en biomas diferentes, se relacionan con características climáticas distintas. En general, el clado Montaña se presenta en zonas de mayor precipitación, el clado Norte en zonas de precipitaciones mínimas y mayores temperaturas, y el clado Bosque subandino en zonas intermedias. En coincidencia con las diferencias climáticas, los clados Norte y Bosque subandino, de regiones con menores precipitaciones, presentan una tendencia a tener hojas más angostas. Esto podría estar mostrando el efecto de la variación climática que se encuentra en los diferentes biomas a lo largo de los Andes como agente de selección diversificadora en la historia evolutiva del género.

5.4. Consideraciones finales

La revisión taxonómica del género *Quinchamalium*, junto con los análisis de los datos morfológicos y moleculares, conforman el primer estudio integral dentro del género que tuvo como objetivo principal resolver el número de taxones y aclarar los límites entre ellos. La conclusión general más importante de este estudio es la identificación de *Q. chilense* como única morfoespecie en el género. A su vez, los análisis morfológicos mostraron que esta especie presenta un gran continuo en su variación morfológica, la cual está en parte relacionada con el clima y con la geografía. Los análisis filogenéticos identificaron tres linajes sobre la base de evidencia molecular, con alto soporte y bien diferenciados en la filogenia a partir del ITS nuclear del género. Estos linajes se distribuyen en regiones climáticamente diferentes, principalmente en cuanto a precipitación. Por su parte, la morfología se correspondió con la filogenia en cuanto a forma de las hojas, presentándose una tendencia a que los linajes de regiones con menos precipitaciones presentan hojas relativamente más angostas y tamaño de la flor más chica. Esto podría deberse a efecto de selección diversificadora por acción del clima. Así, esta divergencia de linajes en *Quinchamalium* podría ser una respuesta a la aridez de las regiones más septentrionales de su distribución, resultando en un proceso temprano de

especiación, o de formación de especies crípticas.

5.5. Perspectivas futuras

Quinchamalium es un género monoespecífico y morfológicamente variable con una gran extensión en diferentes biomas a lo largo de los Andes, lo que brinda una oportunidad única para continuar explorando a nivel infraespecífico y con más profundidad sus patrones filogenéticos, climáticos y geográficos. Esto permitirá evaluar la existencia de especies crípticas y la influencia de los Andes en los distintos linajes para comprender mecanismos de especiación y diversificación que son importantes en relación al origen y mantenimiento de la alta biodiversidad de los Andes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Referencias bibliográficas

- Amico, G., R. Vidal Russell & D. Nickrent. 2007. Phylogenetic relationships and ecological speciation in the mistletoe *Tristerix* (Loranthaceae): the influence of pollinators, dispersers, and hosts. *American Journal of Botany* 96(12): 2240–2255.
- Afifi, A. A. & V. Clark. 1990. Computer aided multivariate analysis. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Apagow, P-M, O. Bininda-Emonds, K. Crandall, J. Gittleman, G. Mace, J. Marshall & A. Purvis. 2004. The impact of species concept on biodiversity studies. *The Quarterly Review of Biology*, Vol. 79, No. 2, pp. 161-179. The University of Chicago Press. Chicago.
- Avise, J. C. & R. M. Ball Jr. 1990. Principles of genealogical concordance in species concepts and biological taxonomy. *Oxford Surveys en Evolutionary Biology* 7:45–67.
- Baranzelli, M. C., Johnson, L. A., Cosacov, A. & Sérsic, A. N. 2014. Historical and ecological divergence among populations of *Monttea chilensis* (Plantaginaceae), an endemic endangered shrub bordering the Atacama Desert, Chile. *Evolutionary Ecology* 28:751–774.
- Baum, D. A. & K. L. Shaw. 1995. Genealogical perspectives on the species problem. Pp. 289–303 in *Experimental and molecular approaches to plant biosystematics*. P. C. Hoch, and A. G. Stephenson (eds.) Missouri Botanical Garden, St. Louis.
- Blair, M. E. , E. J. Sterling, M. Dusch, C. J. Raxworthy & R. G. Pearson. 2013. Ecological divergence and speciation between lemur (*Eulemur*) sister species in Madagascar. *Journal of Evolutionary Biology*. 26(8): 1790-1801.
- Brako, L. and J. L. Zarucchi. 1993. Santalaceae en *Catalogue of the Angiosperms and Gimnosperms of Peru*. (45) 1058-1059. Missouri Botanical Garden. St. Louis, Mo.
- Brummit, R. K. & C. E. Powell. 1992 (eds.). *Authors of plants names*. Kew Royal Botanical Gardens.
- Cabrera, A. L. & W. Willink. 1980. Colección de Monografías Científicas de la Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, ed. *Biogeografía de América Latina* (Segunda edición corregida edición). Washington D.C

- Chalcoff, V., C. Ezcurra & M. Aizen. 2008. Uncoupled geographical variation between leaves and flowers in a South–Andean Proteaceae. *Annals of Botany* 102: 79–91.
- Cronquist, A. 1978. Once again, what is a species? Pp. 3-20 in L. Knutson (ed.) *BioSystematics in Agriculture*. Alleheld Osmun, Montclair, NJ.
- Cosacov, A., A. N. Sérsic, V. Sosa, J. A. De-Nova, S. Nylinder, & A. Cocucci. 2009. New insights into the phylogenetics relationships, character evolution, and phytogeographic patterns of *Calceolaria* (Calceolariaceae). *American Journal of Botany* 96(12): 2240–2255.
- Dawson, G. 1944. Las Santaláceas Argentinas. *Revista del Museo de La Plata N. S.* 6: 5-80.
- Dawson, G. 1984. Flora Patagonica. En: Correa M. N. (ed.). *Colección Científica del Instituto de Tecnología Agropecuaria* 8: 30-42.
- Der, J. P. & D. L. Nickrent. 2008. A Molecular Phylogeny of Santalaceae (Santalales). *Systematic Botany* 33: 107-116.
- Donoghue, M. J. 1985. A critique of the biological species concept and recommendations for a phylogenetic alternative. *Bryologist* 88:172–181.
- Doyle, J. J. & J. L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Ellison, A. M., H. L. Buckley, T. E. Miller & N. Gotelli. 2004. Morphological variation in *Sarracenia purpurea* (Sarraceniaceae): geographic, environmental, and taxonomic correlates. *American Journal of Botany* 91(11): 1930–193.
- Ezcurra, C., A. Ruggiero & J. V. Crisci. 1997. Phylogeny of *Chuquiraga* sect. *Acanthophyllae* (Asteraceae) and the evolution of its leaf morphology in relation to climate. *Systematic Botany* 22: 1-13.
- Gaston, J. K. 2003. *The structure and dynamics of geographic ranges*. Ed. 1. New York: Oxford University Press.
- Grant, V. 1989. *Especiación vegetal*. Ed. 1. México D. F.: LIMUSA.
- Goloboff, P., S. Farris & K. Nixon. 2000. TNT (Tree analysis using New Technology) (BETA) ver. xxx Published by the authors, Tucumán, Argentina.
- Gómez, J. M., A. J. Muñoz-Pajares, M. Abdelaziz, J. Lorite & F. Perfectti. 2014. Evolution of pollination niches and floral divergence in the generalist plant *Erysimum mediohispanicum*. *Annals of Botany* 113: 237–249.

- Guindon, S., J-F. Dufayard, V. Lefort, M. Anisimova, W. Hordijk & O. Gascuel. 2010. New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology* 59 (3): 307-321.
- Hall, T. 1999. BioEdit. Biological sequence alignment editor for Win95/98/NT/2K/XP. Versión 6.0.7.
- Hechem, V., C. Calviño & C. Ezcurra. 2011. Molecular phylogeny of *Diplolepis* (Apocynaceae-Asclepiadoideae) and allied genera, and taxonomic implications. *Taxon* 60 (3) 638–648. Botanical Garden Press, Saint Louis, Missouri.
- Heide-Jorgensen, H. S. 2008. Parasitic Flowering Plants. Brill, Leiden.
- Henderson, A. J. 2004. A multivariate analysis of *Hyospathe* (Palmae). *American Journal of Botany* 91(6): 953–965.
- Henderson, A. 2006. Traditional morphometrics in plant systematics and its role in palm systematics. *Botanical Journal of the Linnean Society* 151: 103–111.
- Hennig, W. 1966. Phylogenetic systematics. University of Illinois Press, Urbana.
- Hijmans, R.J., S.E. Cameron, J.L. Parra, P.G. Jones & A. Jarvis, 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. [International Journal of Climatology](http://www.worldclim.org/current) 25: 1965-1978. <http://www.worldclim.org/current>
- Hodgins K. A. & Barret S. 2008. Geographic variation in floral morphology and style-morph ratios in a sexually polymorphic daffodil. *American Journal of Botany* 95(2): 185–195.
- Hoffman, A. 1998. Flora Silvestre de Chile, Zona Central. Ed. 4. Fundación Claudio Gay, Santiago.
- Holmgren, P. K., N. H. Holmgren & L. C. Barnett. 1990. Index Herbariorum. Part. I: The herbaria of the World. New York: New York Botanical Garden.
- Jørgensen, P. M., M. H. Nee & S. G. Beck. 2014. Catálogo de las plantas vasculares de Bolivia. *Monographs Systemic Botany of the Missouri Botanical Garden* 127: 1–1744. Missouri Botanical Garden Press, Saint Louis Missouri.
- Kazandjian, A. 2011. A morphometric analysis of *Struthanthus phillyreoides* and *S. dichotrianthus* (Loranthaceae) suggests these represent one single variable species. *Journal of the Torrey Botanical Society* 138(1): 1–15.
- Knowles, L.L. & B. C. Carstens. 2007. Delimiting species without monophyletic gene trees. *Systematic Biology* 56:887-895.

- Kubitzki, K. 2014. The Families and Genera of Vascular Plants. Vol. 12. Springer International Publishing, Switzerland.
- Kuijt, J. 1969. The Biology of Parasitic Flowering Plants. University of California Press, Ed. 5 Berkeley, CA.
- Kuijt, J., & B. Hansen. 2014. Flowering Plants. Eudicots Santalales, Balanophorales In: Kubitzki, K. (ed.), The Families and Genera of Vascular Plants. Vol. 12. Springer International Publishing, Switzerland.
- Lamarck, J. B. P. A. de M. 1793. Tableau Encyclopedique. et Methodique des trois Reignes de la Nature: Botanique, II. Paris.
- Larsson, A. 2014. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics* 30 (22): 3276-3278.
- Lehnebach. 2011. Re-evaluating species limits in *Uncinia angustifolia*, *U. caespitosa* s. str., *U. rupestris*, *U. zotovii* and *U. viridis* (Cyperaceae). *Australian Systematic Botany*. 24 (6): 405-420. Csiro Pub.
- López-Alvarez D., A. J. Manzaneda, P. J. Rey, P. Giraldo, E. Benavente, J. Allainguillaume, L. Mur, A. L. Caicedo, S. P. Hazen, A. Breiman, S. Ezrati & P. Catalán. 2015. Environmental niche variation and evolutionary diversification of the *Brachypodium distachyon* grass complex species in their native circum-Mediterranean range. *American Journal of Botany* 102 (7): 1073 – 1088.
- Lopez Laphitz, R. M., Y. Ma & J. C. Semple. 2011. A Multivariate Study of *Solidago* subsect. *Junceae* and a New Species in South America (Asteraceae: Astereae). *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature* 21(2):219-225.
- Lopez Laphitz, R. M. 2009. The Genus *Solidago* L. (Astereae, Asteraceae) in South America and Related Taxa in North America. M.Sc. Dissertation, University of Waterloo, Waterloo, Ontario.
- Lopez Laphitz, R. M., C. Ezcurra & R. Vidal-Russell. 2014. Distribución geográfica y divergencia genética de linajes en *Quinchamalium chilense* (Schoepfiaceae). *Journal of Basic and applied Genetics. Suppl.* Vol. XXIV (1) pg. 49.
- Lopez Laphitz, R. M., C. Ezcurra & R. Vidal-Russell. a 2015. Morphological variation in *Quinchamalium* (Schoepfiaceae) is associated to climatic patterns along its Andean distribution. *Systematic Botany* 40(4): xx-xx. In press.

- Lopez Laphitz, R. M., C. Ezcurra & R. Vidal-Russell. 2015. Revisión taxonómica del género sudamericano *Quinchamalium* (Schoepfiaceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 50(2): 235-246.
- Malécot, V. & D. L. Nickrent. 2008. Molecular phylogenetic relationships of Olacaceae and related Santalales. *Systematic Botany* 33: 97–106.
- Malécot, V., D. Nickrent, P. Baas, L. van Den Oevers & D. Lobreau-Callen. 2004. A morphological cladistic analysis of Olacaceae. *Systematic Botany* 29: 569-586.
- Martín-Bravo, S., V. Valcárcel, P. Vargas & M. Luceño. 2010. Geographical speciation related to Pleistocene range shifts in the western Mediterranean mountains (*Reseda* sect. *Glaucoreseda*, Resedaceae). *Taxon* 59 (2): 466–482.
- Mascó M., I. Noy-Meir & A. N. Sérsic. 2004. Geographic variation in flower color patterns within *Calceolaria uniflora* in southern Patagonia. *Plant Systematics and Evolution* 244: 77–91.
- Mayr, E. 1942. *Systematics and the Origin of Species from the Viewpoint of a Zoologist*. New York: Columbia University Press.
- Miers, J. 1880. On the Schoepfiaceae and Cervantesia, distinct tribes of the Styracaceae, en *The Journal of the Linnean Soc. of London*, XVII. London.
- Muñoz-Shick, M. 1980. *Flora del parque nacional Puyehue*. 551 pp. Editorial Universitaria, Santiago, Chile.
- Navas, L. E. 1976. *Flora de la Cuenca Santiago de Chile* 2: 40.
- Nickrent, D. 1998. <http://www.parasiticplants.siu.edu>
- Nickrent, D. L., V. Malécot, R. Vidal-Russell & J. P. Der. 2010. A revised classification of Santalales. *Taxon* 59: 538-558.
- Nicola, M. V., Johnson, L. A. & Pozner, R. 2014. Geographic Variation among closely related, highly variable species with a wide distribution range: the South Andean-Patagonian *Nassauvia* subgenus *Strongyloma* (Asteraceae, Nassauvieae). *Systematic Botany* 39(1): 1-17.
- Owen, E., J. C. Semple & B. R. Baum. 2006. A multivariate morphometric analysis of the *Symphyotrichum boreale* – *S. nahanniense* – *S. welshii* complex (Asteraceae: Astereae). *Canadian Journal of Botany* 84: 1282–1297.
- Padial J. M., A. Miralles, I. De la Riva & M. Vences. 2010. The integrative future of taxonomy. Review. *Frontiers in Zoology*. 7:16 .

- Paruelo, J.M., A. Beltrán, E. Jobbágy, O. E. Sala & R. A. Golluscio. 1998. The climate of Patagonia: general patterns and controls on biotic processes. *Ecología Austral* 8: 85–101.
- Pérez-Barrales, R., V. I. Simón-Porcar, R. Santos-Gally & J. Arroyo. 2014. Phenotypic integration in style dimorphic daffodils (*Narcissus*, Amaryllidaceae) with different pollinators. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 369:20130258.
- Philippi, R. A. 1857. Ueber die chilenischen Formen von *Quinchamalium* in *Bot. Zeitung* XV. Leipzig.
- Piehl, M. A. 1973. Root parasitism in *Schoepfia chrysophylloides* (A. Rich) Planchon and *Ximena americana* L. (Santalales, Olacaceae). *ASB Bull.* 20: 75.
- Pilger, R. 1930. Einige neue Santalaceae aus Südamerika, en *Notizblau des Botanischen Gartens und Mus. zu Berlin Dahlem*, 100, X, Berlin Dahlem.
- Pilger R. 1935. Santalaceae. In: Engler, A. and Prantl, K. (eds.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, Vol. 16b: pp. 52–91. Engelmann, Leipzig.
- Pinto, A. & Zoellner, O. 1989. El género *Quinchamalium* Molina (familia Santalaceae) en Chile. *ACHIPEMAC* 1: 32-150.
- Posada D. 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution*. Guindon S and Gascuel O (2003). A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood". *Systematic Biology* 52: 696-704.
- Posada D. & T. R. Buckley. 2004. Model Selection and Model Averaging in Phylogenetics: Advantages of Akaike Information Criterion and Bayesian Approaches Over Likelihood Ratio Tests. *Systematic Biology* 53(5):793–808.
- Premoli, A. 2003. Isozyme polymorphisms provide evidence of clinal variation with elevation in *Nothofagus pumilio*. *Journal of Heredity* 94: 218–226.
- Premoli, A. & C. Brewer. 2007. Environmental v. genetically driven variation in ecophysiological traits of *Nothofagus pumilio* from contrasting elevations. *Australian Journal of Botany* 55: 585-591.
- Premoli, A. C., E. Raffaele & P. Mathiasen. 2007. Morphological and phonological differences in *Nothofagus pumilio* from contrasting elevations: Evidence from a common garden. *Austral Ecology* 32: 515-523.
- Presl, C. 1851. *Epimel. Bot.* 246.

- Pugnaire, F. I., F. S. Chapin & T. M. Harding. 2006. Evolutionary changes incorrelations among functional traits in *Ceanothus* in response to Mediterranean conditions. *Web Ecology* 6:17–26.
- Pyron, R. A. & Burbrink, F. T. 2009. Lineage diversification in a widespread species: roles for niche divergence and conservatism in the common kingsnake, *Lampropeltis getula*. *Molecular Ecology* 18, 3443–3457.
- Queiroz, K. de. 1998. The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation. Pages 57–75 in *Endless forms: Species and speciation*. D. J. Howard, S. H. Berlocher (eds.). Oxford University Press, Oxford, UK.
- Queiroz, K. de. 2005. A unified concept of species and its consequences for the future of taxonomy. *Proceedings of the California Academy of Sciences* 56: 196–215.
- Queiroz, K. De. 2007. Species Concepts and Species Delimitation. *Systematic Biology* 56(6):879–886.
- Quiroga, P., A. Premoli & C. Ezcurra. 2002. Morphological and isozyme variation in *Cerastium arvense* (Caryophyllaceae) in the southern Andes. *Canadian Journal of Botany* 80: 786–795.
- Rambaut, A. 2012. FigTree v1.4. University of Edinburgh, Edinburgh, UK. Available at: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.
- Rambaut, A. & Drummond, A.J. 2007. *Tracer v1.4* [WWW document]. URL <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/> [accessed in 2008].
- Ronquist, F., M. Teslenko, P. van der Mark, D. L. Ayres, A. Darling, S. Höhna, B. Larget, L. Liu, M. A. Suchard, & J. P. Huelsenbeck. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61(3):539-42.
- Ridley, M. 1989. The cladistic solution to the species problem. *Biology and Philosophy* 4:1–16.
- Rivero, M., Kalin Arroyo M. & A. Humana. 1987. An unusual kind of distily on *Quinchmalium chilense* in volcan Casablanca, Southern Chile. *American Journal of Botany* 74(3): 313-320.
- Ruiz Leal A. & Roig F. A. 1958. Los hospedantes de hemiparásitos fanerogámicos en el Alto del Valle del Atuel (Mendoza). En colaboración con el Dr. A. Ruiz Leal. *Bol. Sociedad Argentina de Botánica* 7: 116-10.

- Ruiz Lopez, H & Pavón, J. 1794. Prodrromus, sive novorum generum Plantarum Peruvianarum et Chilesium descriptiones et icones, I.
- Schonhuth, S., L. Lozano-Vilano, A. Perdices, H. Espinoza & R. L. Mayden. 2014. Phylogeny, genetic diversity and phylogeography of the genus *Codoma* (Teleostei, Cyprinidae). *Zoologica Scripta* 44(1): 11-23.
- Simpson, G. G. 1951. The species concept. *Evolution* 5: 285-298.
- Sites, J. W. J. & J. C. Marshal. 2004. Delimiting species: a Renaissance issue in systematic biology. Review. *Trends in Ecology and Evolution*. 18(9): 462-470.
- Sneath, P. H. A. 1976. Numerical Taxonomy: The principles and Practice of Numerical Classification. San Francisco: Freeman.
- Sprengel, C. 1825. Systema Vegetabilum, I. Gottingae.
- Stamatakis, A., P. Hoover & J. Rougemont. 2008. A Rapid Bootstrap Algorithm for the RAxML Web-Servers, *Systematic Biology*, 75(5): 758-771.
- Strelin, M., A. Cosacov, M. Diller & A. Sersic. 2013. Study of the polymorphism of the Patagonian *Calceolaria polyrhiza* (Calceolariaceae) using decision tree and sequential covering rule induction. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 173: 487–500.
- Stuessy, T. F. 1990. Plant Taxonomy: The Systematic Evaluation of Comparative Data. Columbia University Press. New York.
- Sultan, S. E. 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science* 5: 537-542.
- 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: 1105-1109.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski & S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. [Molecular Biology and Evolution](#) 30: 2725-2729.
- Ulibarri, E.A. 1994. Santalaceae. En: Flora de San Juan, República Argentina, Vol. I. R. Kiesling (ed.), pp. 289-302. Vázquez Mazzini Editores, Buenos Aires, Argentina.
- Ulloa Ulloa, C. 2006. Santalaceae endémica del Perú. *Revista Peruana de biología*. Número especial 13(2): 603-604.

- Valladares, F., S. J. Wright, E. Lasso, K. Kitajima & R. W. Pearcy. 2000. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology* 81: 1925–1936.
- Van Tieghem, P. 1896. Sur les phanérogames à ovule sans nucelle, formant le groupedes inucellées ou santalinées. *Bulletin de la Société Botanique de France*. 43: 543-577.
- Vidal-Russell, R. 2007. The first aerial parasites in the sandalwood order (Santalales): Molecular phylogenetic and biogeographic investigations. Ph.D. dissertation, Southern Illinois University, Carbondale, Illinois, USA.
- Vidal-Russell, R. & D. Nickrent. 2008. The first mistletoes: Origins of aerial parasitism in Santalales. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47: 523-537.
- Villesen, P. 2007. FaBox: an online toolbox for FASTA sequences. *Molecular Ecology Notes*. 7 (6): 965 - 968.
- Vigalondo, B., M. Fernández-Mazuecos, P. Vargas & LL. Sáez. 2015. Unmasking cryptic species: morphometric and phylogenetic analyses of the Ibero-North African *Linaria incarnata* complex. *Botanical Journal of the Linnean Society* 177: 395–417.
- Wilkins. J. S. 2002. Summary of 26 species concept. Copyright © 2002. John S. Wilkins.
- Wooten J. A. & H. L. Gibbs .2012. Niche divergence and lineage diversification among closely related *Sistrurus* rattlesnakes. *Journal of Evolutionary Biology*. 25(2):317-328.
- Zapata, F. & I. Jimenez. 2012. Species delimitation: Inferring Gaps in Morphology across Geography. *Systematic Biology* 61(2): 179-194.
- Zoellner, O. & Pinto, A. 1989. El género *Quinchamalium* Molina (Familia Santalaceae) en Chile.
- Zuloaga F., O. Morrone & M. Belgrano. 2009. Catálogo de las plantas vasculares del Cono Sur (Argentina, sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). *Monographs in Systematic Botany* 107: 1-3486. Missouri Botanical Garden Press, Saint Louis.

Apéndice 1

Familia: Schoepfiaceae Blume

Hábito: Árboles, arbustos y plantas herbáceas perennes.

Parasitismo: Son parásitas de raíz, confirmado para *Arjona* (Kuijt 1969), *Quinchamalium* (Ruiz and Roig 1958; Lopez Laphitz obs. pers.) y *Schoepfia* (Piehl 1973). Los haustorios se encuentran en raíces secundarias y se ponen en contacto con las de otras plantas. A través de este órgano la planta parásita absorbe agua y minerales de su hospedero.

Tallo y hojas: En *Schoepfia* las ramas distales presentan un meristema terminal el cual aborta o se convierte en una inflorescencia. Para *Arjona*, las ramas aéreas surgen de un rizoma subterráneo. En *Quinchamalium* las plantas tienen aspecto de rosetas con varios tallos sin ramificar los cuales crecen de un rizoma corto con una raíz fusiforme. En *Schoepfia* las hojas se presentan alternas, estipuladas, pecioladas, elípticas a ovadas. En *Arjona* las hojas son alternas, a veces pubescentes, sésiles, lineares o lanceoladas. *Quinchamalium* presenta hojas lineares o filiformes, glabras, acuminadas.

Inflorescencia: *Schoepfia* presenta cimbras axilares, umbelas o espigas. Para *Arjona* y *Quinchamalium*, las inflorescencias son espigas terminales. Las brácteas y bracteolas están presentes en todos los miembros de la familia. En *Quinchamalium* y *Schoepfia*, estas brácteas están fusionadas en un epicaliz con lóbulos, el cual tiene forma de copa. El mismo persiste en el fruto de *Quinchamalium*.

Flores: Pedicelos ausentes o muy cortos. La heterostilia ha sido documentada en los tres géneros.

Cáliz: Cáliz ausente o representado por un anillo breve el cual algunas veces se lo denomina cálculo. Muchos autores han sido evasivos acerca del origen del perianto en Schoepfiaceae, refiriéndose a “perigonio” (Dawson 1944) o “tépalos” (Pilger 1935). Der y Nickrent (2008) definen al perianto como a la corola junto al cáliz (reducido y fusionado al ovario ínfero). En *Quinchamalium* las brácteas se fusionan junto con los perfiles y se forma un cálculo (Fig. 26).

Corola: Generalmente epígina, connada (tépalos 4-5 fusionados, con un pequeño espolón en el ápice) con forma urceolada (*Schoepfia*) o en forma de embudo angosto (*Arjona* y *Quinchamalium*).

Nectario: Disco epígino en forma de anillo que rodea la base del estilo.

Androceo: Estambres 4-5 opuestos a los pétalos. Los filamentos de los estambres están, en parte fusionados al tubo floral, en parte libres (la porción libre es la generalmente denominada filamento), en cuyo ápice se insertan las anteras. Los filamentos son casi nulos en *Schoepfia*. Las anteras son dorsifijas en *Arjona* y *Schoepfia* o basifijas en *Quinchamalium*, introrsas o extrorsas (*Schoepfia*).

Gineceo: Ovario ínfero, generalmente tricarpelar, unilocular (bicarpelar en las flores 4-meras de *Schoepfia*). Estilo generalmente largo y filiforme con un estigma capitado o 3-4 mero que descansa sobre un nectario discoidal (Fig. 26). Los tres géneros presentan heterostilia (con flores longistilas y brevistilas).

Óvulo: Placentación central libre con tres óvulos péndulos.

Fruto: maduro es una drupa en *Schoepfia* y una nuez en *Arjona* y *Quinchamalium*.

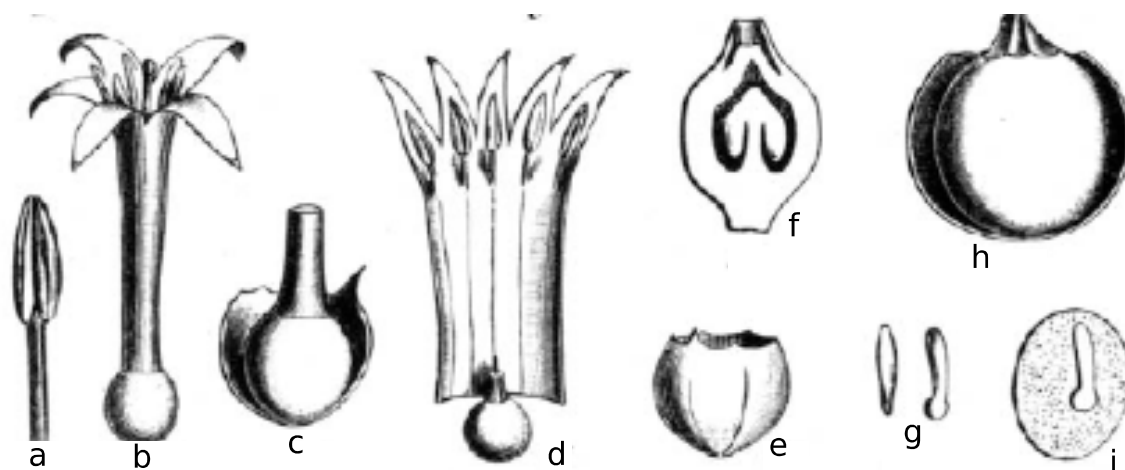


Figura 26: *Quinchamalium chilense* Lam. **a**, estambre visto de frente. **b**, flor. **c**, ovario. **d**, corte de la flor y del tubo expandido. **e**, cálculo en forma de copa. **f**, corte longitudinal del ovario ínfero. **g**, embrión visto desde otro perfil. **h**, fruto en el “cáliz-copa”. **i**, sección longitudinal de la semilla, mostrando al embrión. (de Pilger 1930).

Apéndice 2

Ejemplares de *Quinchamalium chilense* a partir de los cuales se obtuvieron secuencias nucleotídicas de las regiones *trnL-F*, *atpB-rbcL* y *matK* del genoma del cloroplasto y de la región ITS de ADN nuclear ribosomal, indicando número de AND asignado, información de lugar y fecha de colección, coleccionista y herbario donde está depositado el vucher de los ejemplares estudiados.

Quinchamalium chilense Lam.,

ADN nro. RVR1, Chile, Región III, Pcia. Huasco, 27-X-2002, *Ackerman 516* (CONC).
ADN nro. RVR12, Chile, Región III, Pcia. Chañaral, Parque Nacional Pan de Azúcar, X-2002, *Dillon 8163* (CONC), ADN nro. RVR17, Argentina, Río Negro, San Carlos de Bariloche, barrio Las Chacras, 10-I-2008, *Vidal-Russell s/n* (BCRU). ADN nro. RVR60, Chile, Región Metropolitana, Prov. Santiago, Santuario Yerba Loca, sector Quebrada Agua Blanca, 29-II-2004, *Kalin Arroyo et al. 163541* (CONC). ADN nro. RVR61, Argentina, Río Negro, sin fecha, *Amico 297* (BCRU). ADN nro. RVR62, Argentina, Río Negro, El Bolson, Cajon del Azul, sin fecha, *Amico 298A* (BCRU). ADN nro. RVR63, Argentina, Río Negro, El Bolson, Cajon del Azul, sin fecha, *Amico 298B* (BCRU). ADN nro. RVR64, Chile, Región V, Prov. Valparaíso, Portillo, sin fecha, *Vidal-Russell 63* (BCRU). ADN nro. RVR65, Chile, Región II, Prov. Antofagasta, Paposo, sin fecha, *Vidal-Russell 81* (BCRU). ADN nro. RVR67, Chile, Región VIII, Prov. Concepción, sin fecha, *Calviño 738* (BCRU). ADN nro. RVR68, Argentina, Río Negro, Río Ñirihuau, frente a la casa del guardaparque, 10-XII-1996, *Ezcurra & Bianchi s/n* (BCRU). ADN nro. RVR69, Argentina, Chubut, Depto. Canquiñero, Lago Guacho, 11-I-2006, *Puntieri 626* (BCRU). ADN nro. RVR70, Argentina, Neuquen, 24-I-2002, *Ezcurra, Ferreyra & De Gisuto 3285* (BCRU). ADN nro. RVR71, Argentina, Río Negro, costa Lago Nahuel Huapi, 20-I-1994, *Puntieri s/n* (BCRU). ADN nro. RVR72, Argentina, Santa Cruz, Cerro Carnero, 11-I-2002, *Guerrido et al. 478* (BCRU). ADN nro. RVR73, Argentina, Río Negro, San Carlos de Bariloche, Cerro Lopez, 1-III-1993, *Ferreyra 31* (BCRU). ADN nro. RVR74, Argentina, Neuquen, Parque Nac. Lanín, Volcan Lanín, ladera Norte, 1-II-2000, *Ezcurra et al. 2987* (BCRU). ADN nro. RVR75, Argentina, Neuquen, Parque Nac. Lanín, Cordón del Chapelco, 30-III-2002 *Ezcurra 3415* (BCRU). ADN nro. RVR78, Chile, Región VIII, Pcia. Ñuble, Chillán, 7-I-1971, *Lourteig 2532* (BAB). ADN nro. RVR79, Argentina, Río Negro, Depto. Bariloche, Valle Río Manso

Inferior, 9-II-1998, *Funes & Arenas 32* (BCRU). ADN nro. RVR102, Bolivia, Depto. Oruro, Pcia. Cercado, Obrajés, 20-III-2003, *Torricon & Torricon 142* (MO), ADN nro. RVR103, Bolivia, Depto. Oruro, Prov. San Pedro, 21-XI-1984, *Nee 30427* (MO). ADN nro. RVR114, Bolivia, Depto. La Paz, Prov. Murillo, 2 km al sur de Palca, 15-III-1987, *Solomon 16331* (MO). ADN nro. RVR117, Bolivia, Depto. La Paz, Prov. Murillo, 9-I-1982, *Solomon 6659* (M). ADN nro. RVR121, Chile, Región III, 1-XI-1991, *Muñoz et al. 2859* (MO). ADN nro. RVR123, Bolivia, Depto. La Paz, Prov. Murillo, 21-XII-1986, *Nee 33298* (MO). ADN nro. RVR125, Bolivia, Depto. Moquegua, Prov. Gral. Sanchez, 23-III-2009, *Montesinos 21669* (MO). ADN nro. RVR127, Argentina, Rio Negro, San Carlos de Bariloche, barrio Las Chacras, 20-IV-2012, *Vidal-Russell 104* (BCRU). ADN nro. RVR140, Argentina, Rio Negro, San Carlos de Bariloche, Cerro Ñireco, 21-XII-1994, *Codillo & Posse s/n* (BCRU). ADN nro. RVR142, Argentina, Rio Negro, Cerro Tronador, 23-II-1997, *Ezcurra 2281* (BCRU). ADN nro. RVR181, Chile, Región Metropolitana, Prov. Cordillera, Reserva Nacional Rio Clarillo, II-2004, *Romero & Aldunta 66* (CONC). ADN nro. RVR182, Chile, Región XI, Prov. Capitán Prat, Cichrane, Lago Chacabuco, I-2007, *Teneb 47* (CONC). ADN nro. RVR184, Chile, Región I, Prov. Iquique, trayecto entre Chusmiza y Cariquina, IX-1997, *Villagran et al. 9112* (CONC). ADN nro. RVR185, Chile, Región VIII, Prov. Bio Bio, Las Huellas al sudeste de Bio Bio, II-1988, *Stuessy & Baeza 11062* (CONC). ADN nro. RVR186, Chile, Región VI, Prov. Cachapoal, El Pangal, XI-1978, *Zöllner 10143* (CONC). ADN nro. RVR188, Chile, Región VI, Termas del Flaco, II-1994, *Baeza 283* (CONC). ADN nro. RVR189, Chile, Región XV, Prov. Parícuta, entre Pachama y Belén, VIII-1999, *Belmonte 99299* (CONC). ADN nro. RVR190, Chile, Región IX, Prov. Cautín, Volcan Lanin, I-1999, *Stuessy & Baeza 15619* (CONC). ADN nro. RVR192, Chile, Región II, Prov. Antofagasta, entrada de la Quebrada El Rincon, X-1991, *Quezada & Ruiz 181* (CONC). ADN nro. RVR193, Chile, Región Metropolitana, Prov. Cordillera, Puente Manzanito, XII-2001, *Aedo 7128* (CONC). ADN nro. RVR195, Chile, Región IV, Prov. Choapa, Pichidanguí, XI-2001, *Aedo 6835* (CONC). ADN nro. RVR196, Chile, Región VII, Prov. Curicó, cerros antes del camino cortado al El Planchon, I-1995, *Martcorena et al 195* (CONC). ADN nro. RVR197, Chile, Región VII, Prov. Talca, laguna del Maule, I-1995, *Martcorena et al. 232* (CONC). ADN nro. RVR198, Chile, Región IV, Prov. Limarí, camino desde ruta 5 a Parque Nac. Fray Jorge, XI-2006, *Tepe et al. 1744* (CONC). ADN nro. RVR199, Chile, Región V, Prov. Petorca, Pichicuy, XI-2006, *Tepe et al. 1889* (CONC). ADN nro. RVR200, Chile, Región Metropolitana, Prov. Santiago, Santuario Yerba Loca,

estero Yerba Loca, II-2000, *Marquez 10* (CONC). ADN nro. RVR201, Perú, Depto. Cajamarca, Prov. Contumaza, Contumaza, sin fecha, *s/n* (CONC), ADN nro. RVR202, Chile, Región III, Prov. Huasco, camino Carrizal-Huasco, Los Toyos, X-2002, *Ackerman 516* (CONC). ADN nro. RVR204, Chile, Región III, Prov. Chañaral, Parque Nac. Pan de Azúcar, XII-1994, *Dillon 8163* (CONC). ADN nro. RVR205, Chile, Región VIII, Prov. Ñuble, camino de Pullay a Quile, XII-2000, *Baeza & Lopez 2269* (CONC). ADN nro. RVR206, Chile, Región III, Prov. Ñuble, 2 km al Norte de Colmuyao, XI-2000, *Baeza et al. 2060* (CONC). ADN nro. RVR207, Chile, Región III, Prov. Ñuble, cerro Ninhue, XII-1998, *Matthei 208* (CONC). ADN nro. RVR208, Chile, Región IX, Prov. Malleco, de Angol a Maitenrehue, Las Bandurrias, I-1998, *Baeza & Kottirsch 1027* (CONC). ADN nro. RVR209, Chile, Región IX, Prov. Malleco, de Capitan Pastene a El Lingue, I-1998, *Baeza & Kottirsch 1493* (CONC). ADN nro. RVR210, Chile, Región VIII, Prov. Arauco, Trongol Alto, loma del consorcio, I-1998, *Baeza & Kottirsch 1352* (CONC). ADN nro. RVR211, Chile, Región VII, Prov. Linares, Reserva Nac. Bellotos del Melado, I-2000, *Humaña et al. 20093* (CONC). ADN nro. RVR212, Chile, Región VII, Prov. Talca, central Los Cipreses, Quebrada El Ciego, IV-2000, *Finot & Lopez 2028* (CONC). ADN nro. RVR213, Chile, Región VII, Prov. Talca, Reserva Nac. Alto de Vilches, camino Laguna El Alto, IV-2000, *Finot & Lopez 1859* (CONC). ADN nro. RVR214, Chile, Región VII, Prov. Cauquenes, Reserva Nac. Los Ruiles, XII-1999, *Finot & Lopez 1418* (CONC). ADN nro. RVR216, Chile, Región IX, Prov. Cautin, Volcan Villarrica, I-1996, *MARTICORENA ET AL. 426* (CONC). ADN nro. RVR217, Chile, Región X, Prov. Osorno, Volcan Antillanca, ladera E, I-1996, *Martcorena et al. 450* (CONC). ADN nro. RVR218, Chile, Región XIV, Prov. Valdivia, Volcan Puyehue, I-1995, *Godoy 219* (CONC). ADN nro. RVR221, Chile, Región IX, Prov. Malleco, Cunco, I-2004, *s/n* (CONC). ADN nro. RVR222, Chile, Región IV, Prov. Elqui, Los Choros, XI-2001, *Aedo 6863* (CONC). ADN nro. RVR223, Chile, Región VIII, Prov. Bio Bio, Reserva Nac. Ralco, II-2002, *Mihoc et al. 4132* (CONC). ADN nro. RVR224, Chile, Región Metropolitana, Prov. Santiago, Quebrada de Ramon, IX-2000, *Tome 265* (CONC). ADN nro. RVR225, Chile, Región VIII, Prov. Arauco, Playa Quiala, I-2001, *Parra & Torres 246* (CONC). ADN nro. RVR226, Chile, Región VIII, Prov. Bio Bio, Parque Nac. Laguna Laja, sector Lagartija, III-2001, *Molina et al. 3581* (CONC). ADN nro. RVR227, Chile, Región VI, Prov. Cardenal Caro, Tanume, El Peumo, II-2005, *Vera & Ortiz 63* (CONC). ADN nro. RVR228, Chile, Región XI, Prov. Capitan Prat, Cochrane, sector El

Manzano, XII-2006, *Martcorena et al. 946* (CONC). ADN nro. RVR229, Chile, Región IV, Prov. Elqui, 5 km al S de Andacollo, IV-2008, *Mihoc 416* (CONC). ADN nro. RVR230, Chile, Región XI, Prov. Capitan Prat, Cochrane, Puerto Bertrand, I-2007, *Jimenez 58* (CONC). ADN nro. RVR231, Chile, Región XI, Prov. Capitan Prat, Cochrane, confluencia ríos Baker y Ñades, I-2007, *Teneb 235* (CONC). ADN nro. RVR248, Chile, Región VIII, Prov. Arauco, Parque Nac. Nahuelbuta, III-2013, *Vidal-Russell 119(1)* (BCRU). ADN nro. RVR254, Chile, Región VIII, Prov. Concepción, camino entre Talcamavida y Yumel, III-2013, *Vidal-Russell 114(1)* (BCRU). ADN nro. RVR346, Chile, Región IX, Prov. Malleco, de Capitan Pastene a El Lingue, I-1998, *Baeza & Kottirsch 1493* (CONC). ADN nro. RVR34, Chile, Región VII, Prov. Cauquenes, Reserva Nac. Los Ruiles, XII-1999, *Finot & Lopez 1418* (CONC). ADN nro. RVR348, Chile, Región X, Prov. Osorno, Volcan Antillanca, ladera E, I-1996, *Martcorena et al. 450* (CONC). ADN nro. RVR351, Bolivia, Depto. Cochabamba, Prov. Quillacollo, Puca Puca, 1990, *Aleman 405* (LPB). ADN nro. RVR352, Bolivia, Depto. Oruro, Prov. Cercado, camino entre Juchuy Pata desvío a Oruro. ca. 8 Km hacia Cochabamba, 1989, *Beck 18009* (LPB). ADN nro. RVR353, Bolivia, Depto. Potosí, Prov. Lizarazu, K'uchu Ingenio, 2005, *Zamora 309* (LPB). ADN nro. RVR354, Bolivia, Depto. La Paz, Prov. Pacajes, Caquiaviri, cerro 0.5 km E de la ciudad, 1982, *Johns 82-27* (LPB). ADN nro. RVR355, Bolivia, Depto. La Paz, Prov. Murillo, La Paz Calacoto, al sur del río Huañajahuirá, 1979, *Beck 2358* (LPB), ADN nro. RVR356, Bolivia, Depto. La Paz, Prov. Omasuyos, ca. 10 km al Oeste de Huarina, Huatajata, en el borde del lago Titicaca, 1987, *Beck 12982* (LPB), ADN nro. RVR357, Bolivia, Depto. Cochabamba, Prov. Quillacollo, localidad de San Miguel, 2002, *Ramirez 344* (LPB).