

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCION**



**Diversificación del género *Eriosyce* (Cactaceae) en relación con la  
disparificación morfológica y el nicho climático**

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

Doctorado en Sistemática y Biodiversidad  
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas  
Universidad de Concepción

Por

Heidy María Villalobos Barrantes

Profesor guía: Dr. Pablo C. Guerrero M.  
Profesor Co-guía: Dr. Jorge L. Avaria LI.

CONCEPCION – CHILE

**2023**

# INDICE DE CONTENIDOS

*List of contents*

<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	5
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	6
<b>LISTA DE ANEXOS</b> .....	8
<b>RESUMEN</b> .....	9
<b>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN GENERAL</b> .....	10
I.1 ANTECEDENTES .....	10
I.1.1 Diversificación .....	10
I.1.2 Condiciones ambientales y geológicas y su incidencia en procesos de diversificación.....	12
I.1.3 Zonas áridos.....	16
I.1.4 Sistema de estudio.....	17
<b>I.2 OBJETIVOS Y HIPÓTESIS</b> .....	22
<b>CAPÍTULO II: I Linajes evolutivos independientes en un complejo de especies de cactus globulares revela la diversidad oculta en la biodiversidad de Chile central</b> .....	23
II.1. RESUMEN .....	23
II.2. INTRODUCCIÓN .....	24
II.3 METODOS .....	26
II.4. RESULTADOS .....	30
II.5. DISCUSION.....	36
<b>CAPÍTULO III: Variables climáticas y morfológicas que afectan evolución del género <i>Eriosyce</i> (Cactaceae)</b> .....	41
III.1. RESUMEN.....	41
III.2. INTRODUCCIÓN.....	42
III.3. METODOS.....	45
III.4. RESULTADOS.....	52
III.5. DISCUSIÓN.....	59
<b>CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN GENERAL</b> .....	63
IV.1. DELIMITACIÓN DE ESPECIES.....	63
IIV2. EVOLUCIÓN DE RASGOS CLIMÁTICOS Y MORFOLOGICOS.....	6X
<b>REFERENCIAS</b> .....	71

*Tiene argucias sutiles en la réplica fina,  
argumentos de sabio, pero en voz de mujer.  
Ciencia humana te salva, menos ciencia divina:  
¡le tendrás que creer!  
Amor amor, Gabriela Mistral*

*Dedicatoria*

*Esta tesis está dedicado a Johnny, Enielsi, Johnny Francisco, Vanessa y Tamara  
Ellos me sostienen a lo largo del camino y aunque no los recorramos juntos, siempre están ahí.*

## Agradecimientos

Proyectos: este trabajo de tesis se llevó a cabo gracias a los proyectos financiados por FONDECYT 1160583 y 1211441, el proyecto IEB ANID PIA/BASAL FB210006, la beca de investigación otorgada por el IAPT en 2019 ([www.iaptglobal.org/awarded-grants](http://www.iaptglobal.org/awarded-grants), consultado el 19 de noviembre 2023).

Becas: por el apoyo del Programa de Becas del Sistema de Postgrado y la Beca de estipendio durante los años 2015 y 2016 del Programa de Doctorado en Sistemática y Biodiversidad, ambos de la Universidad de Concepción.

A mis padres, hermano, cuñada y sobrina que son la base de mi fortaleza y sin ellos esto no hubiese sido posible, a ellos les debo todo.

A mis tías, tíos, primas y primos que son un apoyo constante, vital y fuente de amor infinita.

A mis amigos del alma de diferentes épocas de mi vida por siempre estar al pendiente a pesar de la distancia.

A mis colegas en la Universidad de Costa Rica por estar y apoyar en cada parte del camino.

A Garen, Carlos y Oscar, mis compañeros de generación, que son familia ahora, por su amor, apoyo constante y ayuda invaluable a largo de este proceso de crecimiento.

A Beatriz, Claudia, Marcelo, Carol, compañeros de giras, de laboratorio, su constante ayuda y compañerismo me hizo crecer académica y personalmente, gracias por tanto.

A todos los compañeros del Grupo BIOMAS por su apoyo constante.

A mis entrañables: Katy, Alex, Tania, Mónica, Davide, Laura, Cynthia, Dania, Luis, Cristian (Charlie), Margarita, Alejandra, Sandra, Reinaldo, Erwin, Nicolás, Helena, Anna, Ana, Leticia, Jean, Pedro, María, por cada palabra, abrazo, momentos, ayuda, lágrimas, enseñanzas y todo lo más, los llevo siempre en mi corazón.

A mi tutor Dr. Pablo C. Guerrero Martin, por su infinita paciencia y dedicación, nunca voy a tener con que pagar su ayuda y enseñanzas.

A mi cotutor Dr. Jorge Avaria Llautureo, a quien considero un hermano mayor, gracias por todo Tinti.

A los profesores: Dr. Cristián Hernández, Dr. Enrique Rodríguez, Dr. Luis Parra, Dra. Margarita Marchant, Dra. Lucila Morera, por todas las oportunidades y aprendizaje.

A doña Mati y doña Gloria por su dulzura y ayuda en todo momento.

A todos los demás que se cruzaron en mi camino, gracias, gracias, gracias

## LISTA DE TABLAS

### List of tables

<b>Tabla 2.1.</b> Estimadores genéticos de las poblaciones del complejo <i>Eriosyce curvispina</i> . Las abreviaturas son las siguientes N = número de muestras, Na = número de alelos diferentes, Ne = número de alelos efectivos, I = índice de información de Shannon, Ho = heterocigosidad observada, He = heterocigosidad esperada, uHe = heterocigosidad esperada insesgada, Fis = índice de fijación, %P = porcentaje de loci polimórficos, HW = Hardy-Weinberg (multilocus por población).....	31
<b>Tabla 2.2.</b> Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) basado en 12 microsatelites.....	33
<b>Tabla 2.3.</b> Estadísticas de las alineaciones de secuencias de ADN de 117 muestras.....	33
<b>Tabla 3.1.</b> Datos de especies del género <i>Eriosyce</i> con tipo de tallo y raíz, altura y volumen de cada taxa y las variables climáticas Temperatura media anual (BIO1 = Annual Mean Temperature) y Precipitación anual (BIO12 = Annual Precipitation).....	48
<b>Tabla 3.2.</b> Regresiones multivariadas para la Altura de cactus y Volumen de las especies de cactus del género <i>Eriosyce</i> vs. Precipitación* más la Temperatura*.....	54
<b>Tabla 3.3.</b> Comparación de los valores de verosimilitud marginal (Lh) de las variables Altura y Volumen de los cactus con sus respectivas covariables vs. las variables sin covariable a través de Bayes Factor. ....	54
<b>Tabla 3.4.</b> Regresiones bivariadas para tres tipos de raíz: A: Fibrosa, B: Corno corto C: Turberosa y tres tipos de tallo: D: Geófito, E: Subcolumnar, F: Subglobular de las especies del género <i>Eriosyce</i> vs. Precipitación y Temperatura .....	55
<b>Tabla 3.5.</b> Valor de los cambios en tasas de diversificación en género <i>Eriosyce</i> .....	57

## LISTA DE FIGURAS

### List of figures

- Figura 1.1:** Distribución de la flora en la superficie de la Tierra durante el Último Máximo Glacial (Tomado de [https://intarch.ac.uk/journal/issue11/rayadams\\_toc.html](https://intarch.ac.uk/journal/issue11/rayadams_toc.html)).....14
- Figura 1.2:** Geología y levantamiento de los Andes. (A) Mapa geológico de las tres principales secciones (Tomado de Pérez-Escobar et al, 2022).....15
- Figura 1.3.** Diferentes especies del género *Eriogyce* y dos lugares de colecta: A. *E. sociabilis*; B. *E. aurata*; C. *E. marksiana*; D. Valle del Elqui; E. *E. vallenarensis*; F. *E. simulans*; G. *E. limariensis*; H. *E. henrichiana* var. *setosiflora*; I. *E. napina*; J. *E. duripulpa*; K. *E. glabrescens*; L. *E. napina* subsp. *lembckeii*; M. Huasco.....21
- Figura 2.1.** Diversidad morfológica de *Eriogyce curvispina* de nueve poblaciones muestreadas para inferencias filogenéticas y evolutivas poblacionales. A, Valle de Chopa (CV); B, Tilama (Ti); C, Los Molles(LM); D, Putaendo (Pu); E, Ocoa (Oc); F, Escorial (Es); G, Laguna Verde (LV); H, Farellones (Fa). Fotos: A de M. Rosas; B y C de P.C. Guerrero; D, E y F de H.M.Villalobos-Barrantes; G de B. Vergara y H de J. Keymer.....34
- Figura 2.2.** Filogenia calibrada en el tiempo de *Eriogyce* con los clados internos colapsados, excepto el clado *Horridocactus* para facilitar la visualización de la posición filogenética de los miembros putativos de *E. curvispina*. Los números sobre los nodos son las probabilidades a *posteriori*.....35
- Figura 2.3.** Análisis DAPC de 150 individuos de *Eriogyce curvispina*. Los elipsoides representan los grupos I-IV identificados en la inferencia filogenética bayesiana.....36
- Figura 3.1.** Distribución de las muestras del género *Eriogyce s.l.* usadas en este estudio.....45
- Figura 3.2:** Diferentes especies del género *Eriogyce* y las distintas formas de raíces y tallos. A) *E. occulta* con raíz tuberosa y tallo geófito, B) *E. engleri* con raíz fibrosa y tallo subcolumnar, C) *E. curvispina* subsp. *tuberisulcata* con tallo subglobular, D) *E. curvispina* var. *curvispina* con tallo subglobular, E) *E. napina* con tallo geófito y F) *E. eriogyzoides* con tallo subcolumnar.(Tomado de Hoffman y Walter, 2004).....46
- Figura 3.3.** Filogenia calibrada para 68 especies del género *Eriogyce* con valores de fechas en los nodos. Los valores negativos significan las fechas antes del presente.....53
- Figura 3.5.** A) Tasas de diversificación neta promedio y B) Tasa de evolución en el tiempo para el género *Eriogyce*.....56
- Figura 3.6.** A) Tasas de diversificación y B) Tasa de evolución en el tiempo para la Temperatura Media Anual (BIO1) .....57

**Figura 3.7.** A) Tasas de diversificación y B) Tasa de evolución en el tiempo para la Precipitación Anual (BIO12).....58

**Figura 3.8.** A) Tasas de diversificación y B) Tasa de evolución en el tiempo para la altura; C) Tasas de diversificación y D) Tasa de evolución en el tiempo para el volumen.....59

## LISTA DE ANEXOS

*List of appendices*

<b>Figura S1:</b> Filogenia de <i>Eriosyce s.l.</i> con 117 individuos inferida con MrBayes con 30 millones de iteraciones y valores a posteriori en los nodos.....	66
<b>Figura S2:</b> : Filogenia de <i>Eriosyce s.l.</i> con 117 individuos inferida con raxmlGUI con 30 millones de iteraciones y valores de bootstrap en los nodos.....	67
<b>Figura S3:</b> Filogenia de <i>Eriosyce s.l.</i> con 86 taxa inferida con Beast2 con 50 millones de iteraciones y valores de edad en los nodos. ....	68
<b>Figura S4:</b> Gráficos de Evanno correspondientes al análisis de microsatélites con STRUCTURE para 150 individuos del complejo <i>Eriosyce curvispina</i> con 12 microsatélites.....	69
<b>Figura S5:</b> Gráfico de barras correspondiente al análisis de microsatélites con STRUCTURE para 150 individuos del complejo <i>Eriosyce curvispina</i> con 12 microsatélites donde K = 6 es valor que mejor representa el número de poblaciones.....	69
<b>Tabla S1:</b> Imprimadores (primers) diseñados para el análisis de microsatélites con multiplex.....	70

## Resumen

Uno de los biomas más ampliamente distribuido en el planeta es de las zonas áridas y semi-áridas. Chile con su geografía tan particular y por el conjunto de procesos orográficos, paleoclimáticos y geomorfológicos, hace que posea una flora con altos niveles de biodiversidad y endemismo. Pero estudiar los procesos implícitos en el origen de la biodiversidad puede ser una tarea relativamente laboriosa en grupos con morfologías similares y a menudo convergentes como es el género *Erioseye* (Cactaceae). Este género podría presentar una mayor diversidad específica ya que gran parte de la riqueza de sus especies podría estar artificialmente oculta en complejos morfológicos de especies.

Por otro lado, hay pocos estudios que integren mecanismos ecológicos y de diversificación de zonas áridas, así como la evolución de caracteres morfológicos y el nicho que expliquen la diversidad observada en plantas adaptadas a este bioma.

Nuestro estudio se enfocó en: i) la delimitación de especies utilizando datos moleculares del cactus globoso "*E. curvispina*" con los que realizamos inferencias filogenéticas bayesianas sobre 87 individuos de *Erioseye*, incluyendo nueve poblaciones de *E. curvispina*, y analizando tres intrones no codificantes plastidiales, un gen plastidial y uno nuclear. ii) la relación entre rasgos morfológicos con variables ambientales usando el método comparado filogenético, para evaluar la evolución de rasgos como la altura, volumen, tipo de raíz y tipo de tallo de los cactus del género *Erioseye* y si la temperatura y la precipitación afectan su evolución. iii) se evaluó la diversificación en términos de nicho climático y morfológico.

Los principales resultados son: i) desarrollamos 12 pares de microsatélites nucleares para evaluar la estructura genética a nivel poblacional. ii) identificamos cuatro grupos originados en eventos cladogenéticos independientes ocurridos a diferentes profundidades temporales. iii) observamos que la temperatura tiene un impacto sobre la altura y el volumen de los cactus, mientras que la precipitación sobre la forma y tipo de tallo y iv) que estos rasgos han evolucionado dado una ventaja adaptativa a estas plantas para colonizar nuevos lugares y sobrevivir en el tiempo e ir diversificándose.

## CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN GENERAL

## **I.1 ANTECEDENTES**

### **I.1.1 Diversificación**

Cómo se originan las especies es una de las preguntas centrales de la biología evolutiva. Los eventos de especiación dan origen a las nuevas especies a partir de un ancestro común (Futuyma & Kirkpatric, 2017). Estos eventos de especiación se repiten generando la acumulación de especies a través del tiempo (Castro-Insua et al., 2018). Si consideramos que no todas las especies van a poder sobrevivir, pues algunas se extinguen, la relación entre la tasa de especiación y tasa de extinción determina el número de especies de los linajes (Ricklefs, 2007). Estudiar las causas de éste cambio de especies en el tiempo es fundamental para entender la evolución de los linajes (Futuyma & Kirkpatric 2017; Hernández-Hernández, et al., 2021).

Varios estudios sugieren que la variabilidad en la riqueza de especies entre distintos linajes puede estar relacionada con su antigüedad. Específicamente, los linajes que han existido por períodos más largos tienden a tener una mayor cantidad de especies, ya que han tenido más oportunidades a lo largo del tiempo para experimentar eventos de especiación (Castro-Insua et al., 2018). Para que esto se cumpla la tasa de diversificación debe ser constante en el tiempo y ser la misma entre los linajes para que sólo difieran en el tiempo de origen (Futuyma & Kirkpatric, 2017). Adicionalmente, hay que considerar que la tasa de diversificación puede variar tanto a lo largo del tiempo como entre diferentes linajes. Esto implica que la acumulación de especies dentro de un linaje específico no necesariamente ocurre a un ritmo constante (Castro-Insua et al., 2018).

Analizar los patrones de diversificación de especies a lo largo del tiempo y entre diferentes linajes es esencial para entender las disparidades en la riqueza de especies entre estos linajes. Es bien documentado que dicha riqueza puede variar de manera significativa entre linajes (Ricklefs, 2007; Wang et al., 2018). Diversos factores intrínsecos contribuyen a esta variabilidad, como a) la conservación de nicho, b) la evolución de nicho y c) la evolución morfológica. Estos factores pueden actuar en la

diversificación de manera independientemente o en conjunto (Wiens, 2004; Hernández-Hernández, et al., 2023).

En primer lugar la conservación de nicho, que es un mecanismo que explica la distribución de especies a gran escala y determina qué condiciones ambientales pueden tolerar los miembros de un clado, a qué regiones pueden dispersarse y la naturaleza de las barreras ecológicas para su dispersión, logrando con esto la diversificación de las especies (Wiens, 2004; Wiens & Donoghue, 2004; Giehl et al, 2012). La hipótesis de conservación tropical es un ejemplo de cómo las especies pueden diversificarse, y predice la alta riqueza de especies en regiones caracterizadas por temperaturas cálidas y abundante precipitación, lo cual se observa en varios linajes y tiene como consecuencia el conocido gradiente latitudinal de riqueza de especies (Wiens & Donoghue, 2004). La conservación de nicho propone que las especies migran hacia condiciones ambientales similares a las que tenían (Wiens & Donoghue, 2004).

El trabajo de Wang, et al., (2018) en especies de la familia Zygophyllaceae adaptadas a climas áridos, con una amplia distribución en África, Eurasia, Australia, Norte y Sur América, revela que su origen fue en climas semiáridos y que las tasas de diversificación se aceleraron desde el Mioceno medio debido a la aridificación global y conservación de nicho xerofítico ocupando ambientes áridos a escala global.

La evolución de nicho, es decir, cambios de la amplitud del nicho de los linajes, posibilita a las especies y sus descendientes dispersarse hacia nuevos hábitats y climas que habían limitado previamente su distribución (Donoghue & Edwards, 2014). Esto hace que la evolución de nicho tenga efectos en la diversificación de las especies (Castro-Insua et al., 2018; Wiens & Donoghue, 2004).

El estudio de Schnitzler et al., (2012) en el género *Babiana* (Iridaceae) de Sudáfrica, concluye que las tasas de evolución de nicho climático están dirigiendo las tasas de diversificación aumentando el número de especies en el tiempo. Otros factores, como la evolución de ciertos rasgos morfológicos pueden actuar en conjunto a la evolución de nicho para explicar los patrones de riqueza de especies a través de los hábitats y regiones, así como la variación de estos patrones entre clados o a largas escalas filogenéticas (Rull, 2011; Antonelli & Sanmartín 2011 Antonelli et al., 2018).

Las tasas de evolución morfológica pueden estar vinculadas a la diversificación, especialmente en situaciones donde ciertas innovaciones clave propician divergencias ecológicas que facilitan la especiación. Además, una rápida divergencia fenotípica suele ser un indicativo de radiación adaptativa (Testo & Sundue, 2018, Hernández-Hernández, et al., 2019). Por ejemplo, el estudio de la familia Cyatheaceae encontró una correlación positiva en entre la evolución del tamaño corporal y la diversificación del linaje (Testo & Sundue, 2018).

Adicionalmente, en Sudamérica, la disposición de la riqueza de los linajes se debe en gran medida a la acción conjunta de procesos orogénicos y climáticos pasados como son el levantamiento de los Andes, las glaciaciones pleistocénicas que en conjunto han causado cambios en la diversidad de las especies existentes (Pérez-Escobar et al., 2022; Anthelme & Peyre, 2020).

### **I.1.2 Condiciones climáticas y geológicas y su incidencia en procesos de diversificación**

Uno de los procesos geológicos que más han impactado la distribución y diversidad de las especies en varios lugares de la Tierra han sido las glaciaciones (Harrison & Glasser, 2011; Brown & Lomontino 1998). El Último Máximo Glacial (UMG) que se conoce como el Máximo Glaciar Tardío ocurrió entre los 25 a los 15 Mya (Villagrán, 2018). Durante este periodo el clima era muy similar en casi todas áreas de la Tierra, las capas de hielo tuvieron una gran extensión cubriendo gran parte de América del Norte, Europa y Asia (Ray & Adams, 2001). Esto provocó sequías, desertificación y una gran disminución del nivel del mar. Este periodo se caracterizó por baja temperatura global, baja concentración de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y aridez en amplias regiones de los continentes (Figura 1.1).

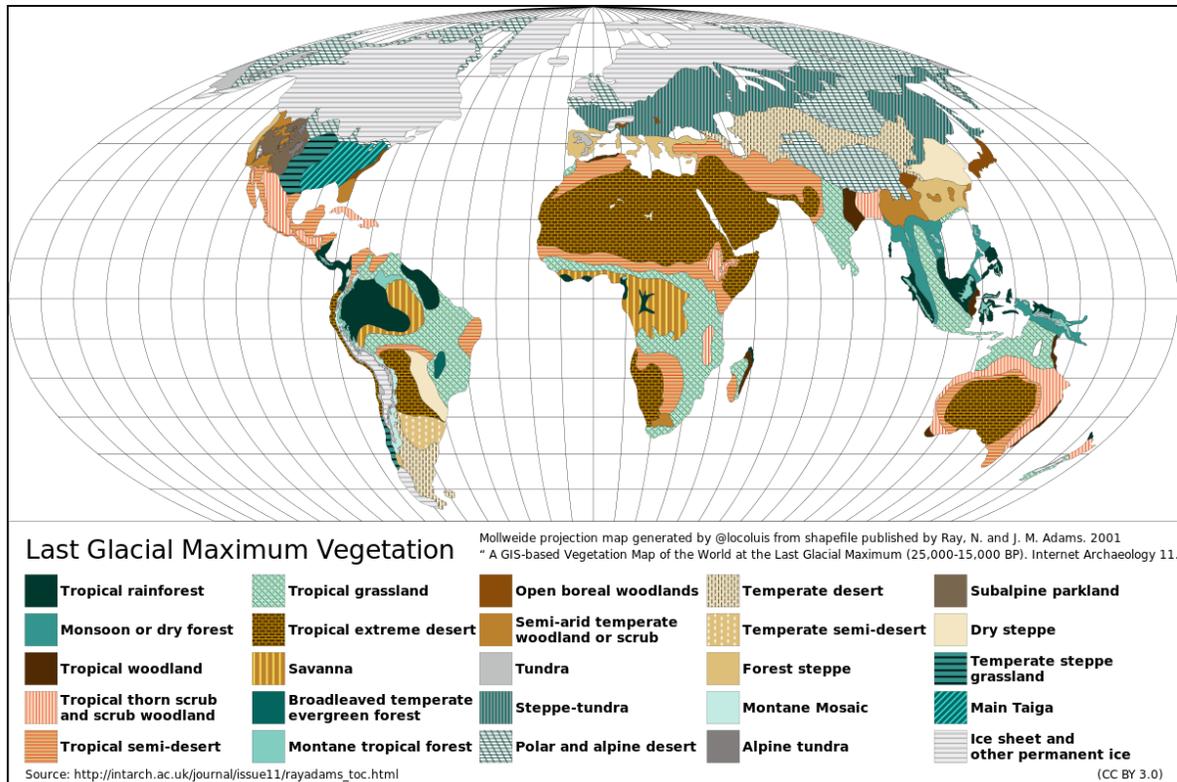
Los ciclos de glaciaciones, congelamiento y retroceso glacial provocaron que las poblaciones experimenten reducciones y fragmentación en sus rangos de distribución debido a la pérdida de hábitat. Eventualmente puede aumentar el aislamiento reproductivo y favorecer la especiación. Este fenómeno ocurrió en gran parte del

territorio chileno provocando la expansión de zonas áridas del norte hasta la zona central (Ossa et al., 2019; Segovia-Cortes, 2010).

El Último Máximo Glacial (UMG) tuvo un fuerte impacto sobre Chile central ya que provocó que se formaran glaciares en alta montaña y esto afectó la distribución de las especies en toda esta zona, por lo que se puede considerar uno de los procesos más importantes en la distribución de la flora que presenta no solo esta zona, sino todo el territorio chileno. Los hielos cubrieron desde los 28° a los 56° dejando parte de la costa libre de hielo, entre los 36° a los 43°. Por tanto, parte de la biota se vio excluida de los hielos y se restringieron a pequeños refugios interglaciares o a regiones costeras sin hielo (Villagrán et al., 2005, Villagrán, 2001).

Otro de los eventos que han contribuido a la diversificación de la flora y fauna que se observa en el territorio chileno, es el levantamiento de la Cordillera de los Andes. Las montañas pueden tener impactos directos e indirectos en la biodiversidad. Entre los impactos directos podemos mencionar: el aislamiento entre poblaciones lo cual genera diversificación, y entre los indirectos actuar de barrera o puente para diferentes organismos (Brown & Lomontino, 1998).

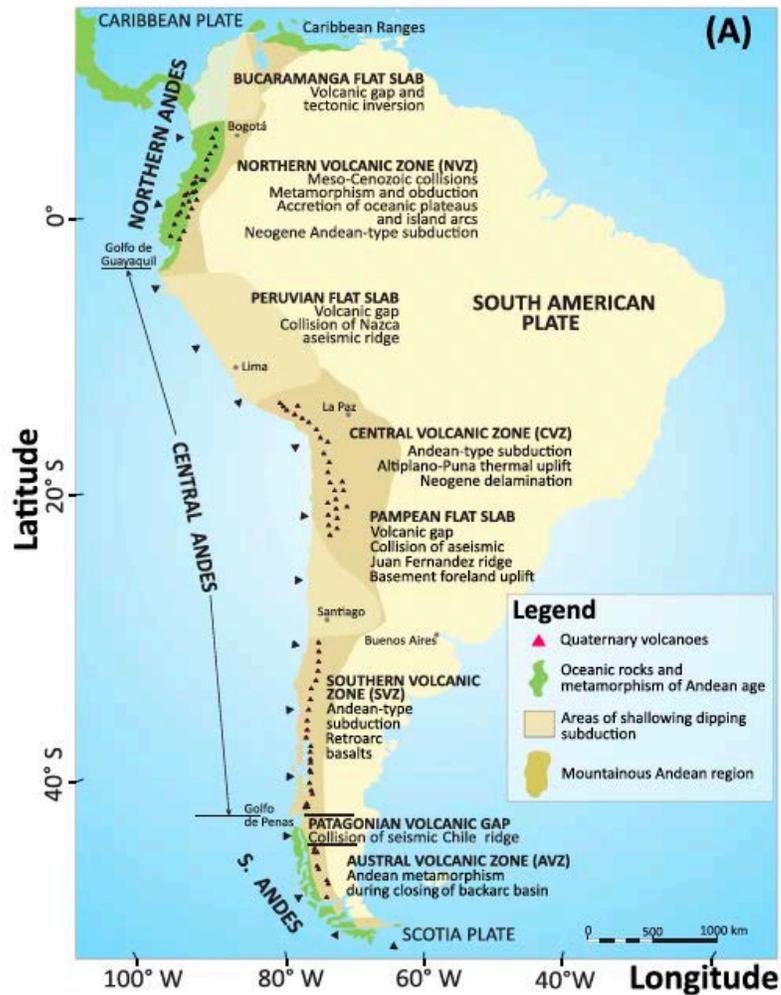
La Cordillera de los Andes es uno de los cordones montañosos más importantes en la tierra. Con una extensión de más de 8000 km va desde Colombia hasta el sur de Chile y la diferencia en su relieve va de -8000 metros de profundidad en la fosa Perú-Chile, hasta los 7000 metros en el Volcán Ojos del Saldo, en la frontera entre Argentina-Chile y se originó desde el Cretácico Tardío al Paleoceno (72 y 60 Mya) (Seyfried et al., 1998; Hoorn et al, 2022).



**Figura 1.1:** Distribución de la flora en la superficie de la Tierra durante el Último Máximo Glacial  
 (Tomado de [https://intarch.ac.uk/journal/issue11/rayadams\\_toc.html](https://intarch.ac.uk/journal/issue11/rayadams_toc.html))

Múltiples estudios han demostrado que el levantamiento de los Andes ha desempeñado un papel clave en la conformación de la historia evolutiva y los patrones de diversificación tanto de plantas como de animales, incluso en las relaciones mutualistas entre especies. El efecto de la elevación en la historia biogeográfica no se limita a la cordillera de los Andes, sino que también se extiende a la cuenca de drenaje del Amazonas, siendo los suelos de la Amazonia occidental los más ricos en especies. La Amazonía se enriqueció gradualmente a través de un intercambio biótico durante el Neógeno. Los efectos del levantamiento andino sobre la biota se suman a otros factores fundamentales, como el clima, el medio ambiente (cambió el patrón de las precipitaciones, las temperaturas, la corriente de Humbolt, dirección de los vientos y la dispersión) todos los cuales contribuyen a los patrones modernos de biodiversidad en

Sudamérica y a su historia evolutiva (Lazo-Cancino et al, 2018; Pérez-Escobar et al, 2022; Hoorn et al, 2022; Vallejos-Garrido et al, 2023).



**Figura 1.2:** Geología y levantamiento de los Andes. (A) Mapa geológico de las tres principales secciones (Tomado de Pérez-Escobar et al, 2022).

En Sudamérica, el efecto de barrera que ejercen los Andes a las masas atmosféricas dominantes condiciona un marcado contraste este-oeste, que se manifiesta en la existencia de una franja de clima y vegetación árida que cruza el territorio en sentido NW-SE, la llamada Diagonal Árida (DA), que desconecta geográficamente los bosques

del sur de Sudamérica de los restantes del continente. Así, a lo largo de la costa Pacífica de Sudamérica, el efecto orográfico se manifiesta en un marcado límite biogeográfico alrededor de los 30° S, con bosques subtropicales y templado-lluviosos, que se extienden hasta el extremo sur del territorio chileno, y semi-desiertos y desiertos hiperáridos, que se distribuyen hacia el norte hasta cerca del ecuador. El prolongado aislamiento geográfico de los bosques del Cono Sur de Sudamérica, desde el desarrollo de la Diagonal Árida en el Neógeno. Chile y su geografía tan particular, debida a este aislamiento en el norte por el desierto de Atacama, al este el Océano Pacífico y al oeste por la Cordillera de los Andes y por el conjunto de procesos orográficos, paleoclimáticos y geomorfológicos, hace que posea una flora con altos niveles de biodiversidad y endemismo aún por ser estudiada en detalle (Villagrán, 2018). El “hotspot” chileno va desde la costa pacífica hasta los Andes, entre los 25° y 47° de latitud sur (Myers et al., 2000). La zona mediterránea de Chile es fuente de una flora con altos niveles de endemismo y diversidad críptica ya que se encuentra entre dos regiones contrastantes: la desértica y la templada. La heterogeneidad que presenta producto de las glaciaciones y eventos geográficos hacen de esta zona un área de refugios de una gran cantidad de plantas que no se ha estudiado exhaustivamente (Hinojosa et al., 2015; Hinojosa et al., 2006; Hinojosa & Villagrán, 1997; Villagrán & Hinojosa, 1997).

La biota Neotropical es consecuencia, en gran parte, de la combinación del levantamiento de los Andes, y que es un proceso continuo, las oscilaciones climáticas del Pleistoceno, con glaciaciones y periodos interglaciales entre los 14 – 3 Mya. y eventos geográficos durante el Mioceno-Pleistoceno (Antonelli & Sanmartín, 2011; Rull, 2011, Sauquet et al., 2009), causando una heterogeneidad espacial, y por tanto promoviendo la diversificación a nivel intraespecífico y supra-específico (Wang & Yan, 2014). Por otro lado, la homogeneidad espacial hace que las poblaciones estén más conectadas entre sí y haya una menor diferenciación genética entre ellas. A esto hay que considerar factores bióticos y abióticos que pueden afectar el flujo génico entre poblaciones lo que conlleva a su diferenciación o no (Schemske et al., 2009).

Durante las oscilaciones glaciares se formaron refugios de poblaciones que luego en periodos interglaciares se expandieron y al repetirse este patrón se produce la diversificación de plantas (Merklinger et al., 2021). Si las poblaciones tienen un alto

grado de fragmentación se puede decir que hay estructura poblacional y altos niveles de variabilidad genética y las poblaciones entran en equilibrio demográfico. Los patrones cíclicos de fragmentación y contracción de poblaciones tienen como consecuencia el desarrollo de procesos de diversificación con altos niveles de diversidad y endemismo (Bonatelli et al, 2014).

### **I.1.3 Zonas áridas**

Uno de los biomas más ampliamente distribuido en el planeta es de las zonas áridas y semi-áridas, que cubre aproximadamente el 40% de la superficie terrestre, siendo el hábitat de un tercio de la población humana y cuyas actividades contribuyen significativamente a la economía mundial (Goettsch et al, 2015). Además, ésta área contiene una mayor biodiversidad de lo que se había estimado en el pasado (Goettsch et al, 2018). De hecho, siete de los 25 puntos calientes (“hotspot”) de biodiversidad y un 30% de los centros globales de diversidad de plantas se encuentran en zonas áridas (Arroyo et al., 2008), pero el número de estudios acerca de la diversidad de especies y los mecanismos subyacentes ha aumentado (Myers et al., 2000). Sin embargo, estudios que integren mecanismos evolutivos y ecológicos para explicar patrones diversificación de especies de plantas adaptadas a zonas áridas siguen siendo escasos (Guerrero et al., 2013; Sheng-Dan et al., 2018; Merklinger et al, 2021; Böhnert et al, 2022), pero muy necesarios para comprender los mecanismos que generaron los patrones actuales de biodiversidad en zonas consideradas históricamente extremas para plantas y por tanto, el impacto que tiene nos da la oportunidad de estudiar los procesos evolutivos y esto tienen un beneficio directo en el estudio de las especies que lo habitan. El estudio de Axelrod, 1967, uno de los primeros, se enfoca en los cambios en el ambiente debido a la oscilación de periodos de mucha humedad y lluvia y periodos secos y como éstos pudieron influir en la rápida evolución de las plantas y consecuentes animales durante el Cretaceo. Por otro lado, Evans y colaboradores (2009), estudiaron el género *Oenothera* caracterizando la evolución de nicho para inferir su diversificación en relación al clima.

La investigación de Hernández-Hernández et al., (2014) respecto a la familia Cactaceae, donde estudiaron la diversificación de este linaje en ambientes áridos y

semiáridos de Norte y Sur América y evalúa las posibles hipótesis acerca de los mecanismos que promueven su especiación. Una de sus hipótesis es que la diversificación ocurrió sincrónicamente, como respuesta a la colonización global de ambientes áridos, y la otra es que ocurrió en diferentes tiempos (Hernández-Hernández et al., (2014). Por ejemplo, que hubo un retraso entre el origen del linaje y la rápida radiación en los diferentes clados o un retraso entre la aridificación y la colonización. Hay estudios que indican que la diversificación de algunas especies de suculentas ocurrió primeramente como adaptaciones locales a microhábitats edáficos, y un segundo evento en respuesta a la evolución monocárpica y de polinización con murciélagos (Hernández-Hernández et al., 2014). O que el origen del síndrome CAM en suculentas se da como respuesta a la adaptación a la aridez y niveles de dióxido de carbono (Hernández-Hernández et al., 2023). Por otro lado, el estudio de Arakaki et al., (2011) concluyeron que las principales radiaciones de cactus fueron contemporáneas con las radiaciones del núcleo Ruschioideae en Sudáfrica y agaves en América del Norte, sugiriendo una asociación con la expansión global de ambientes áridos y semiáridos. Por tanto, la diversificación se dio como respuesta a una colonización global de ambientes áridos debido a condiciones ambientales que favorecieron esta expansión.

#### **I.1.4 Sistema de Estudio**

Las cactáceas son un componente clave de la flora árida del nuevo mundo, debido a su capacidad de sobrevivir en condiciones extremas de temperatura y escasez de agua, siendo un grupo significativo a nivel cultural, agronómico y ornamental. Además, percibido como uno de los grupos más carismáticos de plantas y es uno de los cinco grupos taxonómicos en peligro según datos de Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN) (Goettsch et al., 2015 y 2018).

La Tribu Notocacteeae, dentro de la subfamilia Cactoideae es una de los linajes más antiguos de Sur América, se estima que divergió entre los 16 - 12 Mya. (Arakaki et al., 2011; Hernández-Hernández et al., 2014). Es una tribu muy diversa, con especímenes pequeños a medianos, sin o con pocas ramificaciones, con formas globosas, geófitas

o pequeñas columnas con flores coloridas y diurnas, y que debido a esta gran variedad de formas, su clasificación taxonómica no está del todo resuelta (Guerrero et al, 2019).

Dentro de esta tribu se encuentra el género *Eriogyne sensu lato*, que ha tenido un amplio tratamiento taxonómico desde que el naturalista Rudolfo A. Philippi lo describiera en 1872. Posteriormente, Kattermann (1994) en la monografía "*Eriogyne* (Cactaceae): the genus revised and amplified" hace una profunda revisión del género. Este género es monofilético e incluye los siguientes subgéneros: I. *Eriogyne sensu stricto* (Distribuido Argentina y Perú), II. *Campanulatae* (endémico de Chile), III. *Pyrrhocactus* (endémico Argentina), IV. *Horridocatus* (endémico de Chile), V. *Chileogyne* (endémico de Chile), VI. *Neporteria* (endémico Chile), VII (endémico Chile) (Guerrero et al., 2019, Guerrero et al., 2011 a y b). Presenta una amplia distribución geográfica, especialmente en las zonas desérticas, así como una gran heterogeneidad morfológica como son las formas de los tallos y raíces. En general sus frutos son lanudos, siendo muy diverso morfológicamente con alrededor de 70 especies. Su hábitat incluye lomas, pendientes en terrenos cerca de la costa y hacia el interior, desde los 0 a los 2800 m de altitud. Típicamente se le puede encontrar en las pendientes al oeste y este de la costa en altitudes que van desde el nivel del mar hasta los 2800 m y entre las latitudes de entre los 13° – 37°S, siendo su centro de diversidad entre los 26° – 30°S y de los 0 a los 1500 m de altitud.

Hay dos posibles procesos que pueden explicar este patrón de diversificación en el género *Eriogyne*: i) la de evolución de nicho y ii) la de evolución morfológica, actuando independientemente o en conjunto y el objetivo de esta tesis es estudiar estos procesos.

Para llevar a cabo esto utilizamos estudios de distribución de la diversidad genética con marcadores tipo microsatélite. Por otro lado, utilizamos marcadores plastidiales y nucleares para hacer la reconstrucción filogenética del género *Eriogyne*. Este tipo de estudios nos permiten comprender los procesos históricos que dieron origen a la diversidad biológica, delimitar especies y entender su historia evolutiva. (Myers et al., 2000; Wiens, 2007).

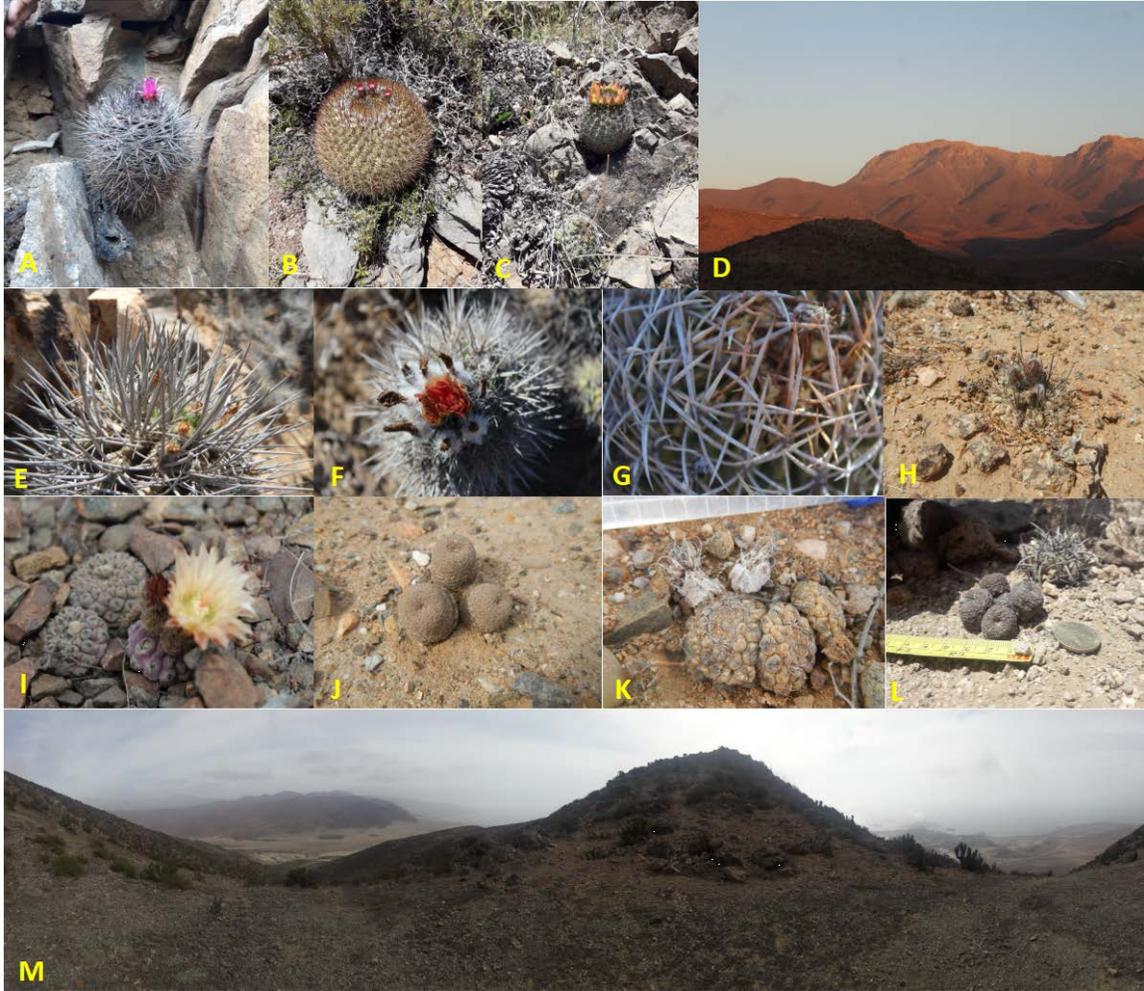
Los estudios integrativos, que son los que combinan evidencia molecular, ambiental y morfológica, son de gran utilidad para clarificar la taxonomía de linajes con altos niveles de diversidad críptica, convergencia morfológica, complejos de especies y

radiaciones adaptativas (Wiens, 2007, Edwards & Knowles, 2014). Este estudio se enmarca en este tipo ya que se hicieron análisis con datos moleculares y morfológicos y tener así un panorama lo más completo posible.

Idealmente la diversidad morfológica se debe estudiar acompañada de la diversidad genética y viceversa para poder resolver los límites entre las especies y entender de esta forma los mecanismos subyacentes en la diversificación y evolución de los linajes sin dejar de lado la ecología de las especies.

Por otro lado, las relaciones ancestro dependiente nos ayudan a entender la relación de los linajes, pero se deben utilizar múltiples loci independientes, en otras palabras, utilizar diferentes marcadores que abarquen diferentes partes del genoma ya que esto nos permite tener información más completa que si usáramos solo un gen. Con esto es posible inferir estas relaciones filogenéticas y que sean robustas, de tal forma que tengan poder resolutivo a nivel poblacional y multiespecífico para resolver especies que están muy emparentadas como son aquellas que forman complejos (Cardoso et al, 2013; Bonatelli et al, 2014).

El objetivo principal de esta tesis es evaluar la evolución del nicho climático y morfología y su relación con la diversificación del género *Eriosyce sensu lato*, analizando como procesos que podrían haber impulsado un incremento en la cantidad de especies a lo largo del tiempo.



**Figura 1.3.** Diferentes especies del género *Erioseye* y dos lugares de colecta: **A.** *E. sociabilis*; **B.** *E. aurata*; **C.** *E. marksiana*; **D.** Valle del Elqui; **E.** *E. vollenarensis*; **F.** *E. simulans*; **G.** *E. limariensis*; **H.** *E. henrichiana* var. *setosiflora*; **I.** *E. napina*; **J.** *E. duripulpa*; **K.** *E. glabrescens*; **L.** *E. napina* subsp. *lembckeii*; **M.** Huasco.

## **I.2 OBJETIVOS**

### **I.2.1 Objetivo general**

Delimitar las especies del género y analizar la relación entre la evolución de nicho y evolución morfológica con la diversificación del género *Eriosyce s.l.* y evaluar cuál de procesos está correlacionada a la diversificación.

### **I.2.2 Objetivos específicos:**

- i) Inferir una filogenia más amplia y estimar el tiempo de divergencia de la del género *Eriosyce*.
- ii) Delimitar las especies del género, especialmente las que corresponden al complejo taxonómico *Eriosyce curvipesna*
- ii) Recopilar datos de forma, área, volumen, altura, ancho y tipo de raíz, caracterizar la morfología de cada especie y estimar las tasas de evolución morfológica.
- iii) Estimar las tasas de diversificación neta promedio para el género.
- iv) Evaluar la relación entre las tasas de diversificación neta con las tasas de evolución de nicho climático y evolución morfológico.

### **1.2.3 Hipótesis**

A lo largo de los años, en *Eriosyce* se ha observado una tendencia hacia la sinonimización taxonómica y el agrupamiento de especies en complejos que no representan adecuadamente su verdadera diversidad. Esto ha dado lugar a conceptos de especies amplios que requieren revisiones constantes. Para entender la diversificación de *Eriosyce* en su totalidad, es esencial analizar estos complejos de especies. Paralelamente, la adaptación al nicho climático, junto con las transformaciones morfológicas como el tipo de raíz y la estructura del tallo, habrían desempeñado un papel fundamental en la diversificación del grupo.

Predicciones:

- 1- Dentro de los complejos de especies, existen taxones que han sido sinonimizadas pero que, en realidad, requieren un reconocimiento taxonómico más preciso debido a la existencia de linajes independientes (no monofiléticos)
- 2- Habrá una asociación significativa entre la evolución del nicho climático y morfológico con las tasas de diversificación observadas en *Eriosyce*.

## CAPÍTULO II:

### **Linajes evolutivos independientes en un complejo de especies de cactus globulares revela la diversidad oculta en la biodiversidad de Chile central**

**II.1 Resumen:** Desentrañar los procesos implícitos en el origen de una fracción sustancial de la biodiversidad puede ser una tarea particularmente difícil en grupos con morfologías similares y a menudo convergentes. El género *Eriogyne* (Cactaceae) podría presentar una mayor diversidad específica, ya que gran parte de la riqueza de sus especies podría estar artificialmente oculta en complejos morfológicos de especies. El objetivo de este estudio es investigar la delimitación de especies utilizando datos moleculares del cactus globoso "*E. curvispina*" que alberga varias poblaciones con relaciones evolutivas poco claras. Realizamos inferencias filogenéticas bayesianas sobre 87 individuos de *Eriogyne*, incluyendo nueve poblaciones de *E. curvispina*, y analizando tres intrones no codificantes plastidiales, un gen plastidial y uno nuclear. Desarrollamos nuevos 12 pares de microsatélites nucleares para evaluar la estructura genética a nivel poblacional. Identificamos cuatro grupos originados en eventos cladogenéticos independientes ocurridos a diferentes profundidades temporales, estos grupos presentaban una alta diversidad genética y las poblaciones estaban genéticamente estructuradas. Estos resultados sugieren una historia evolutiva compleja en el origen de los cactus globulares, con eventos de especiación independientes ocurridos en diferentes momentos. Esta riqueza críptica está siendo subestimada en la flora mediterránea de Chile central, por lo que una diversidad evolutiva única podría ser pasada por alto en las acciones de conservación y manejo.

**Palabras:** Endemismo; Cactaceae; biodiversidad Neotropical; bioma Mediterráneo; Chile central

## II.2 Introducción

La biodiversidad del planeta está disminuyendo a un ritmo sin precedentes en la historia de la humanidad (IPBES, 2018). Las regiones mediterráneas se encuentran entre los ecosistemas más singulares y amenazados (Goettsch et al., 2015), albergando el 20% de las especies teniendo una superficie inferior al 5% (Cowling et al., 1996). La zona mediterránea de Chile central es reconocida por los altos niveles de endemismos, los cuales muchos se encuentran fuertemente amenazados (Myers et al., 2015; Arroyo et al., 2008), ya que la economía chilena ha dependido por mucho tiempo de su capital natural para su desarrollo económico se ha producido un severo impacto en sus ecosistemas, incluyendo los más biodiversos (Urbina et al., 2021). Si bien el conocimiento de la biodiversidad de Chile central ha aumentado en las últimas décadas, aún existen importantes vacíos, especialmente en grupos animales no carismáticos y plantas no leñosas. Además, en la última década se ha descrito un gran número de angiospermas pertenecientes a diferentes familias, como Alstromeriaceae (Finot et al., 2018; Ruiz et al., 2010), Amarillidaceae (Sassone et al., 2014; García-Mendoza et al., 2010), Brassicaceae (Toro-Núñez et al., 2015), Orchidaceae (Bogarín et al., 2018) y Cactaceae (Gurvish et al., 2014; Ortega-Baes et al., 2010 ), entre otras.

La subestimación de la diversidad, en parte, puede deberse a la ocurrencia de especies que son suficientemente distintas en base a información molecular pero que han sido clasificadas como una única especie nominal porque son al menos superficialmente indistinguibles morfológicamente (Bickford et al., 2007). Las estimaciones de diversidad de especies y niveles de endemismo deben considerar la posible ocurrencia de especies crípticas que podrían pasar desapercibidas o ser sinonimizadas al basarse únicamente en aproximaciones morfológicas en su clasificación por no presentar diferencias obvias en sus morfologías vegetativas o reproductivas. Esto hace necesario utilizar enfoques genéticos que tengan en cuenta la variabilidad de las especies.

La familia de las cactáceas, con 1851 especies aceptadas, es un grupo diverso dentro del Neotrópico (Korotkova et al., 2020) que presenta una notable diversidad en formas de vida y estrategias reproductivas (Hernández-Hernández et al., 2014). Además, esta familia se caracteriza por altos niveles de convergencia morfológica

donde las formas de vida más comunes como las columnares y globosas han evolucionado repetidamente en las Cactáceas. Este fenómeno ha complicado en gran medida la taxonomía de la familia, en la que los cactus globosos sudamericanos se encuentran entre los menos estudiados (Guerrero et al., 2019a). La tribu Notocactaeae (subfamilia Cactoideae) alberga varias especies globosas y es considerada como uno de los linajes más antiguos y de distribución más estrecha en el sur de Sudamérica (Guerrero et al., 2019b). Dentro de esta tribu, *Eriogyne* sensu lato tiene una compleja historia taxonómica con un alto nivel de incertidumbre, evidenciado por la larga historia de cambios taxonómicos desde su descripción hace más de 100 años. La presencia de complejos de especies que incluyen varias poblaciones, muchas de ellas descritas originalmente con rango de especie, se agrupan actualmente en una sola especie. *Eriogyne curvispina*, con docenas de nombres publicados, es una de las especies más complicadas taxonómicamente dentro de la familia (Korotkova et al., 2020). Esta incertidumbre taxonómica se debe a la presencia de taxones superficialmente indistinguibles morfológicamente aunque tengan una larga evolución que los separa, además varios grupos carecen de un muestreo denso de poblaciones. Esto tiene un impacto negativo en nuestra comprensión del origen y mecanismos de persistencia de los grupos, y subestima la diversidad taxonómica, desafiando la eficiencia de las acciones de conservación y gestión.

La existencia de complejos de especies apenas distinguibles es un fenómeno bien conocido en varios grupos de angiospermas (Henriquez et al., 2014; Grant 1981). Sin embargo, en Cactaceae este fenómeno apenas comienza a comprenderse tras las importantes revisiones de la familia que han agrupado gran parte de su diversidad (Hunt et al., 2006). Una delimitación precisa de las especies es de gran importancia para establecer hipótesis precisas sobre el modo y el tiempo del origen evolutivo de las especies. En *E. curvispina* se pueden delinear dos hipótesis contrastadas, un origen único con divergencia posterior de taxones infraespecíficos, o eventos de especiación independientes en los que se revelaría una mayor diversidad a nivel de especie. Aquí investigamos las relaciones filogenéticas y la diversidad molecular entre poblaciones de *E. curvispina* con el fin de delimitar especies y comprender la secuencia de origen de su diversidad. Para lograr estos objetivos analizamos las relaciones filogenéticas

dentro de *Eriosyce* sección *Horridocactus*, el clado donde se anida *E. curvispina* (Guerrero et al., 2019b) y desarrollamos 12 marcadores microsatélites para investigar más a fondo la estructura genética del complejo.

## **II.3 Métodos**

### **II.3.1 Material Vegetal**

El complejo *E. curvispina* tiene una forma de tallo globosa, con espinas ligeramente curvadas, la forma de las flores también son muy similares. Se producen a partir de areolas jóvenes, formando un círculo alrededor del ápice del tallo de forma de embudo ancho, con dimensiones de 3-5 x 3-5 cm (Katermann 1994).

Para analizar las relaciones evolutivas del complejo *E. curvispina* añadimos 33 muestras a una matriz de datos filogenéticos del género publicada (Guerrero et al., 2019b). En concreto, secuenciamos 18 nuevos individuos de la sección *Horridocactus* y 15 nuevos individuos del clado hermano *Neoporteria*, todos ellos procedentes de especímenes recolectados en el campo. Recogimos el material principalmente de raíces o flores y lo mantuvimos en tampón CTAB-NaCl (2%:22%) para su transporte al laboratorio y almacenamiento a 4°C hasta la extracción.

Para el análisis de microsatélites muestreamos 150 individuos del complejo *Eriosyce curvispina* de nueve poblaciones: Putaendo, El Escorial, Tilama, Valle del Choapa, Limahuida y Laguna Verde (15 individuos cada sitio), *E. curvispina* Farellones (16 individuos), *E. curvispina* Ocoa (nueve individuos) y *E. curvispina* Los Molles-Pichidangui (35 individuos), todos especímenes colectados de nueve localidades diferentes como describimos en la Tabla 2.1 y Figura 2.1.

### **II.3. 2 Inferencias filogenéticas basadas en secuencias**

Para la extracción de ADN se utilizaron 40-50 mg de tejido de raíz o flor de cactus que primero se pulverizó a una potencia fina utilizando un homogeneizador automático y luego se extrajo el ADN total utilizando DNeasy Plant Kit (Qiagen, Valencia, California, EE.UU.). Para el análisis filogenético, amplificamos tres marcadores cloroplásticos no codificantes (*rpl32-trnL*, *trnH-psbA*, *trnL-trnF*), un gen plastidial (*ycf1*) y un gen nuclear (PHYC) siguiendo el protocolo descrito en Guerrero et al., (2019b). Los productos de

PCR se comprobaron en geles de agarosa al 1% en tampón 1X Tris-ácido bórico-EDTA corriendo una mezcla de 5 ul de producto de PCR con 2 ul de tampón de carga 6X (New England Biolabs, UK) con GelRed® (Biotium, USA) y co-corriendo con una escalera de ADN de 100 pb (New England Biolabs, UK) y luego se enviaron a Macrogen (Seúl, Corea) para secuenciación en ambas direcciones.

Se utilizaron 117 secuencias (31 nuevas y 86 secuencias de Guerrero et al., (Guerrero et al., 2019b)) ensambladas y editadas en el programa Geneious Prime® 2020.2.3 (Biomatters Ltd.). Las secuencias para cada marcador se alinearon automáticamente utilizando Muscle y luego se comprobaron manualmente. El outgroup consiste en 19 especies del núcleo Notocactaeae y *Echinopsis chiloensis* subsp. *litoralis*. Cada marcador se alineó por separado y luego se concatenó. Se excluyó una región de microsatélites en el conjunto de datos ycf1 (450 pb) debido a una alineación ambigua en esta región. Las mejores particiones y modelos moleculares fueron evaluados usando PartitionFinder v.2.1.1 como se describe en Guerrero et al., (2019b).

El análisis bayesiano de la matriz concatenada se realizó utilizando Mr.Bayes v.3.2.7 (Ronquist et al., 2012), utilizando la heterogeneidad de la tasa no vinculados, las frecuencias basadas y las tasas de sustitución a través de particiones. El análisis bayesiano se ejecuta durante 30 millones de generaciones a través de cuatro ejecuciones independientes con cuatro cadenas cada uno, el muestreo cada 1000 generaciones. La convergencia se monitorizó utilizando la desviación estándar de las frecuencias de partición, y cuando este valor se estabilizó por debajo de 0,01, se consideró una fuerte indicación de convergencia. Los árboles se visualizaron con el programa FigTree v1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) (Figura suplementaria S1).

Las fechas de divergencia se estimaron utilizando BEAST v2.6.2 (Bouckaert et al., 2014) evaluados por cuatro modelos de reloj disponibles. El mejor modelo de reloj fue el exponencial de reloj relajado determinado con el valor de L marginal dado por PathSampler (una aplicación para la selección de modelos dentro del paquete BEAST). Para los priors (condiciones precedentes), utilizamos la información de edad de los nodos reportada en la filogenia de Cactaceae por Hernández-Hernández et al., (2014) con el 95% de la densidad posterior más alta (HPD). Los tres nodos que utilizamos en

nuestro análisis fueron: i) el nodo raíz correspondiente a 17.15 Ma con distribución normal entre 12.67 y 24.46 Ma, ii) el segundo nodo correspondiente a 12.44 Ma con distribución normal entre 8.59 y 17.95 Ma y iii) el tercer nodo (Core Notocacteeae) correspondiente a 8.78 con distribución normal entre 5.54 y 13.03. Los árboles se visualizaron utilizando el programa FigTree v1.4.4 (véase la Figura 2.2 y la Figura suplementaria S3).

### **II.3.3 Genética de poblaciones basada en microsatélites**

Se diseñaron microsatélites basados en secuenciación de nueva generación a partir de cuatro pools de ADN (Pool A *Eriosyce chilensis* var. *albidiflora*; Pool C *E. chilensis*; Pool M *E. curvispina* y Pool S *E. litoralis*). Estas muestras fueron recolectadas entre las localidades de Los Molles y Pichidanguí (Latitud -32.2 y Longitud -71.47). Las bibliotecas de secuenciación se prepararon utilizando el kit Nextera XT DNA, y posteriormente se secuenciaron utilizando un secuenciador de nueva generación Illumina® MiSeq con una producción de 15 millones de lecturas de fragmentos en las instalaciones de AustralOmics (<https://australomics.cl/>). Tras la secuenciación, el primer paso consistió en eliminar los adaptadores, comprobar y limpiar la calidad de las lecturas mediante los programas Trimmomatic (Bolger et al., 2014) y Prinseq (Schmieder et al., 2011), con un Q>28. En segundo lugar, se ensamblaron las lecturas emparejadas con el software Pandaseq (Masella et al., 2012), con el fin de obtener fragmentos más largos. Tercero, identificación de secuencias repetitivas y generación de diferentes conjuntos de particiones para cada identificación; para ello se utilizó la máquina virtual del software QDD (Megléczy et al., 2014), que mediante Primer3 (Rozen & Skaletsky, 2000) genera el conjunto de particiones para cada secuencia repetitiva identificada. Finalmente, se realizó una búsqueda BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)) de los amplicones generados para cada microsatélite identificado para cada muestra analizada, todos contra todos para encontrar las secuencias comunes en todos los pools.

A partir de la información descrita anteriormente, elegimos secuencias de dinucleótidos y trinucleótidos comunes en los cuatro pools. A continuación, se probó un conjunto de 52 cebadores con diferentes muestras de ADN de *Eriosyce* para encontrar

los más polimórficos. Finalmente, elegimos 12 cebadores: PS5, PS9, PC2, PC11, PM10, PA12, PM8, PC10, PM6, PC7, PM7 y PA6 (Tabla Suplementaria S1) para realizar tres multiplex con cuatro cebadores cada uno. Las amplificaciones por PCR se prepararon en un volumen de 13 ul compuesto por 1ul de muestras de ADN diluidas a 0,5 ng/ul, 6,6 ul de 2X de Master Mix SapphireAmp Fast PCR®, 4,4 ul de Agua (Takara Bio USA, Inc.) y 0,5 ul de cada cebador a 5uM. Los cebadores inversos se marcaron 5'fluorescentemente con 6-Carboxifluoresceína (6-FAM), 2'-cloro-7'fenil-1,4-dicloro-6-carboxifluoresceína (VIC), 2'-cloro-5'-fluoro-7',8'-benzo-1,4-dicloro-6-carboxifluoresceína (NED) y PET (propiedad inédita de Applied Biosystems, EE.UU.).

Las PCR se realizaron en un ciclo térmico (Veriti 96 Well Thermal Cycler, Applied Biosystems) programado como: 1 min a 94 oC para la desnaturalización inicial, seguido de 35 ciclos de 98 oC durante 00,05 s, temperatura de recocido específica del cebador (58 o 62 oC) durante 00,05 s min, 72 oC durante 00:40 s, y extensión final a 72 oC durante 1:45 min. Los productos de la PCR se comprobaron en geles de agarosa al 1% en tampón 1X Tris-ácido bórico-EDTA corriendo una mezcla de 5 ul de producto de PCR con 2 ul de tampón de carga 6X (New England Biolabs, UK) con GelRed® (Biotium, USA) y co-corriendo con una escalera de ADN de 100 pb (New England Biolabs, UK). Los productos de PCR amplificados se enviaron a la Unidad de Secuenciación y Tecnologías Ómicas de la Pontificia Universidad Católica de Chile (Santiago, Chile) para su genotipado. Se analizaron en ABI PRISM 3500 XL (Applied Biosystems) utilizando el estándar de tamaño Genescan LIZ 500 (Applied Biosystems, EE.UU.). A continuación, los locus de repeticiones de dinucleótidos, se puntuaron manualmente y se analizaron utilizando Geneious Prime® (Geneious software v2020.2.3, Biomatters Ltd., Auckland, Nueva Zelanda) con Microsatellite plugin tomando sólo los fragmentos de más de 100 pb.

Se estimaron las frecuencias alélicas, los loci polimórficos (%P), la heterocigosidad esperada (He), la heterocigosidad observada (Ho) con GenAIEx 6.51b2 (Peakall & Smouse, 2012), el índice de fijación (Fis) y el desequilibrio de ligamiento (LD) con Genetix 4.05, Fst con FreeNA (Chapuis & Estoup, 2007), y la variación genética dentro de las poblaciones, entre poblaciones y regiones (grupos filogenéticos I-IV) con el

Análisis de la Varianza Molecular (AMOVA) utilizando GenoDive v.3 .0 (Meirmans, 2020).

La estructura genética de la población se evaluó utilizando Structure v.2.3.4 (Pritchard et al., 2000), este enfoque consiste en trazar el cambio de tasa de segundo orden en  $\ln Pr(X/K)$  para  $K_s$  sucesivos (denominado DK) frente a un rango de valores de  $K$  y seleccionar el verdadero  $K$  basándose en el valor máximo utilizando el método de Evanno (Evanno et al. 2005) (véase la Figura suplementaria S3).

Para estimar el número de grupos ( $K$ ) representados por todos los individuos muestreados y las proporciones de mezclas de individuos éste software asume un modelo en donde hay un  $K$  (número) de poblaciones y donde es caracterizada por una serie de frecuencias alélicas en cada locus y los individuos son asignados con una probabilidad asociada a una o dos o más población en particular y si están mezclados sus genotipos lo indican. Hemos utilizado un conjunto de  $K$  de 2 a 10, con 1 millón de cadenas de Markov (MCMC o Markov Chain Monte Carlo) y 10 carreras por  $K$  y el paquete pophelper en R para analizar y visualizar la estructura de la población resultados (Francis 2017; <https://www.r-project.org/> R version 3.6.3).

Además, utilizamos el Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC) para evaluar la estructura genética en la biblioteca Adegent (Jombart 2008), ver Figura 2.3. Este análisis es multivariante y permite identificar y describir grupos de individuos genéticamente relacionados transformando los datos en componentes no relacionados, que contienen la información genética a través del uso del Análisis de Componentes Principales (PCA) y luego se someten al análisis discriminante que minimiza la varianza genética dentro de las poblaciones y maximiza la variación entre poblaciones. Con esto se logra una mejor discriminación de los grupos genéticos predefinidos (Jombart et al., 2010). Las ventajas de este método es que no requiere tanto tiempo computacional como el análisis bayesiano, siendo igual de sensible y tampoco asume el Equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) o el Desequilibrio de Ligamiento (LD) y tiene pocos supuestos.

## **II.4 Resultados**

## II.4.1 Reconstrucción filogenética

La matriz concatenada con los cinco marcadores incluyó 4841 pb de 117 secuencias alineadas, de las cuales 2440 eran variables para la matriz completa y 1958 para el grupo interno (Tabla 3.2). De la matriz concatenada alineada, el marcador no codificante de plástidos *rpl32-trnL* contribuyó con 1354 pb (locus con un 30% de sitios variables), *trnL-trnF* contribuyó con 1084 pb (locus con un 15% de sitios variables) y *trnH-psbA* contribuyó con 439 pb (locus con un 4% de sitios variables), mientras que el gen plastidial *ycf1* contribuyó con 930 pb (locus con un 20% de sitios variables) y el gen nuclear PHYC contribuyó con 1034 pb (locus con un 31% de sitios variables).

**Tabla 2.1.** Estimadores genéticos de las poblaciones del complejo *Eriosyce curvispina*. Las abreviaturas son las siguientes N = número de muestras, Na = número de alelos diferentes, Ne = número de alelos efectivos, I = índice de información de Shannon, Ho = heterocigosidad observada, He = heterocigosidad esperada, uHe = heterocigosidad esperada insesgada, Fis = índice de fijación, %P = porcentaje de loci polimórficos, HW = Hardy-Weinberg (multilocus por población).

Location	Latitude	Longitude	N	Na	Ne	I	Ho	He	uHe	Fis	%P	HW
Putando	-32.67	-70.73	15	7.167	4.481	1.547	0.467	0.689	0.713	0.3537	100%	0.354
El Escorial	-32.74	-70.77	15	8.250	5.340	1.819	0.391	0.795	0.823	0.5342	100%	0.534
Los Molles												
Pichidanguí	-32.17	-71.47	34	11.583	6.003	1.994	0.361	0.807	0.819	0.5634	100%	0.563
Laguna Verde	-33.08	-71.67	13	7.333	4.798	1.682	0.375	0.760	0.790	0.5359	100%	0.537
Tilama	-32.03	-71.18	15	7.750	5.370	1.640	0.425	0.707	0.732	0.4291	92%	0.429
Choapa Valley	-31.77	-71.32	15	7.083	4.070	1.435	0.400	0.645	0.668	0.4093	100%	0.409
Limahuida	-31.75	-71.13	15	10.750	6.235	2.040	0.570	0.822	0.851	0.3381	100%	0.338
Farellones	-33.37	-70.29	15	6.667	4.562	1.529	0.332	0.697	0.723	0.5502	100%	0.55
Ocoa	-32.95	-71.09	9	1.667	1.450	0.367	0.241	0.250	0.265	0.0990	67%	0.099

Los datos de secuencias arrojaron una hipótesis filogenética bien fundamentada del clado *Horridocactus* (Figura 2.2). Las reconstrucciones filogenéticas apoyan la no monofilia del complejo *E. curvispina*; encontramos que sus miembros se agrupan en cuatro pares de taxones distribuidos en tres clados diferentes dentro de *Horridocactus* en cuatro grupos (I-IV, Figura 2.2). Estos grupos, se ramificaron a lo largo del árbol filogenético en una secuencia con cronología de origen independiente, la divergencia más antigua ocurrió en el Clado A en  $3,7 + 2,3-5,5$  MYA (95% IC) separando a *E.*

*curvispina* (Los Molles y Laguna Verde) con las poblaciones andinas de Putaendo y Escorial. Dentro de los grupos I y II, las divergencias se dataron en  $3,3 + 2,0-4,9$  MYA y en  $2,7 + 1,6-3,8$  MYA, respectivamente. En el clado B, compuesto por especies con forma de crecimiento geófito (distribución más septentrional dentro de *Horridocactus*), se recuperaron miembros no putativos del complejo *E. curvispina*. Dentro del clado C, el grupo III de *E. curvispina* alberga poblaciones del Valle del Choapa, Tilama y Limahuida, que fueron colocadas juntas en una rama hermana de *E. limariensis*; esta divergencia ocurrió en fecha  $1.2 + 0.5-1.9$  MYA. Otros dos miembros del complejo *E. curvispina* (Ocoa y Farellones) se originaron en  $1,4 + 0,4-2,1$  MYA (grupo IV), y fueron ubicados como hermanas de *E. aspillagae*, esta última la especie con distribución más austral.

#### **II.4.2 Diversidad genética y diferenciación de las especies**

Los 12 SSR (Simple Sequences Repeats o Repeticiones de Secuencias Simples) nucleares revelaron que los grupos previamente identificados en las inferencias filogenéticas difieren en su diversidad y estructura genéticas (Tabla 2.1). Se detectó un alto porcentaje global de loci polimórficos, heterocigosidad esperada, alelos efectivos e índice de información de Shannon. Dentro de los grupos I-IV, los valores de diferenciación ( $F_{st}$ ) fueron significativamente diferentes de cero. La población en Ocoa tiene poca variación genética, mostrada por el menor índice de fijación, heterocigosidad observada y esperada, y niveles de polimorfismo de 67%, además presentan un  $F_{is} = 0.0990$  (ver Tabla 2.1).

Los análisis DAPC mostraron un rango de variación entre poblaciones, con menor divergencia entre el grupo II (*E. curvispina* Putaendo y *E. curvispina* Escorial) y el grupo III (*E. curvispina* del Valle del Choapa, Tilama y Limahuida). El grupo I presentó una diferenciación genética sustancial en comparación con sus grupos estrechamente relacionados II y III. El grupo IV (*E. curvispina* Ocoa y Farellones) mostró una mayor divergencia genética, ya que la población de *E. curvispina* en Ocoa es el grupo genéticamente más diferente. El análisis de estructura también apoya estos resultados (Figura Suplementaria S5).

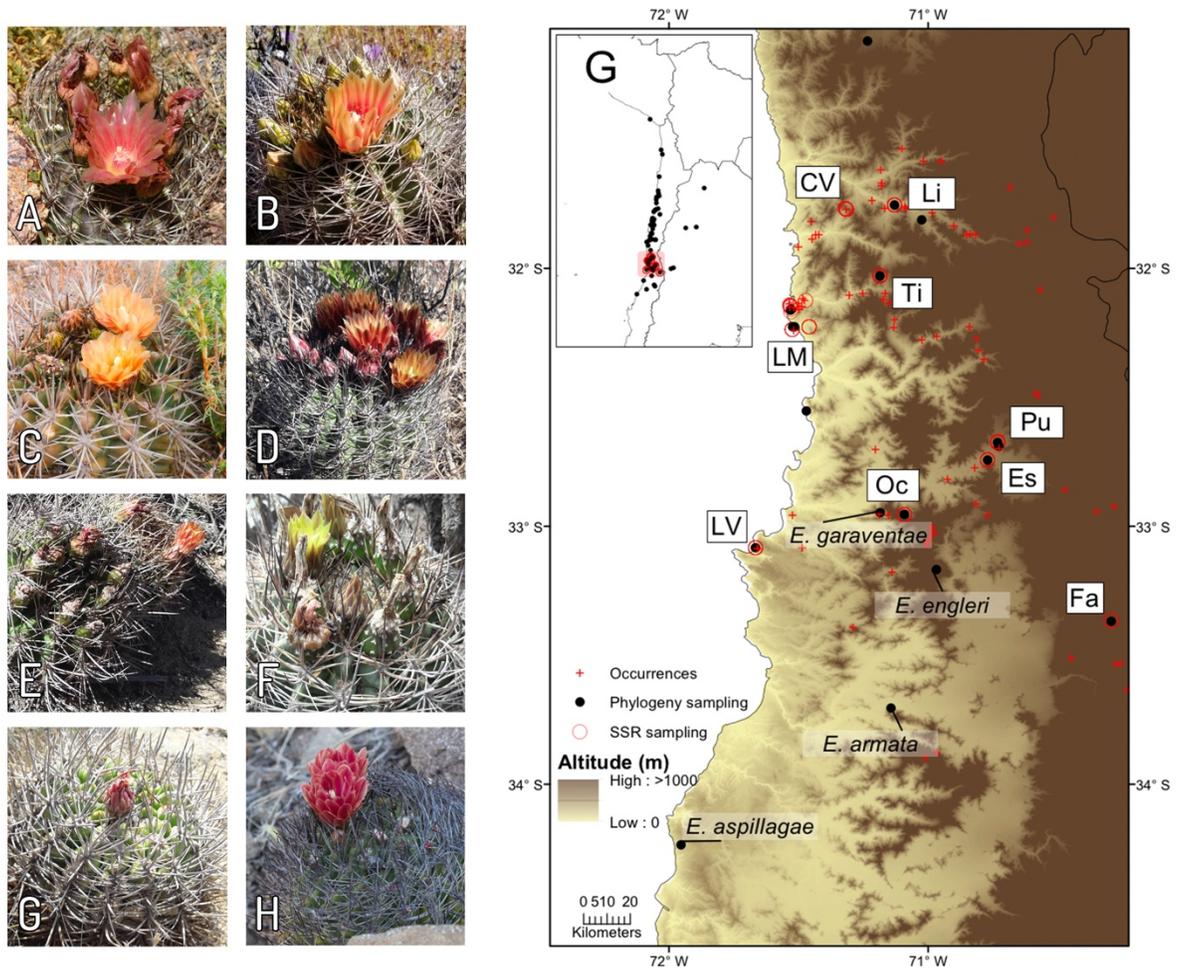
El análisis AMOVA indicó que la mayor parte de la variación genética se produjo dentro de las poblaciones (43,4%; Tabla 2.2), menos entre poblaciones y aún menos entre regiones, con un valor del coeficiente de correlación no significativo (valor  $p = 0,208$ ). Estos resultados son consistentes con el análisis DAPC donde se observa el cluster formado por *E. curvispina* de Putaendo, El Escorial, Farellones, Tilama y Valle del Choapa y con el resultado de Estructura con un  $K = 6$  (Figuras Suplementaria S4 y S5).

**Tabla 2.2.** Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) basado en 12 microsatelites.

Variación	Anidado en	% variación	Std. Dev.	P-value
Dentro individuos	--	43.4	0.042	--
Entre individuos	Población	38.2	0.042	0
Entre poblaciones	Región	17.9	0.023	0
Entre regiones	--	0.5	0.008	0.208

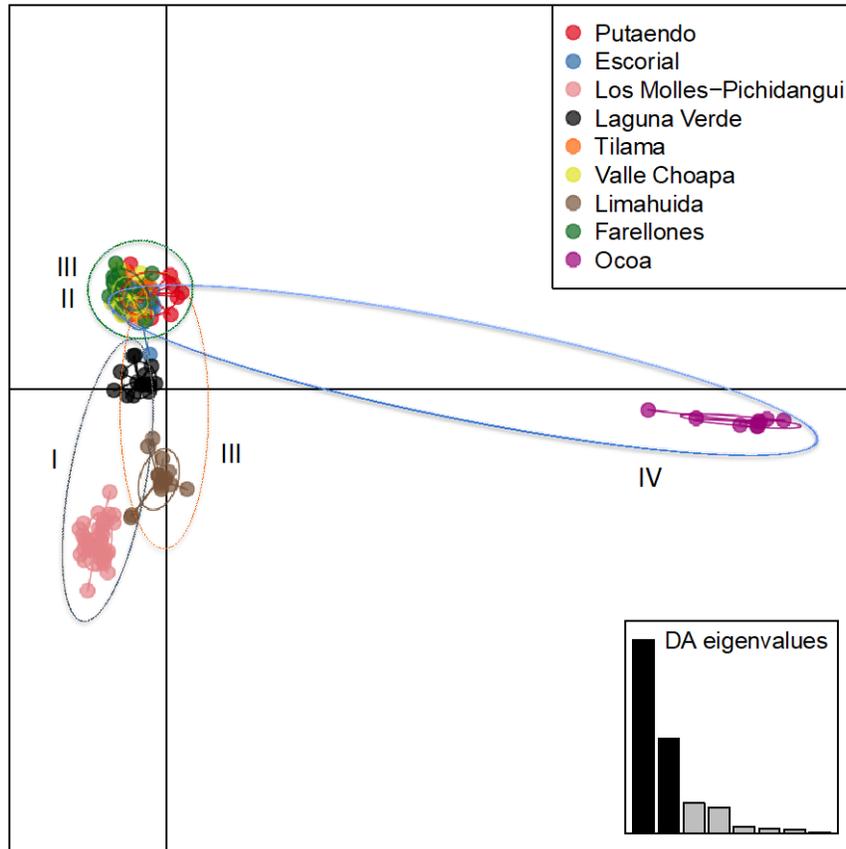
**Tabla 2.3.** Estadísticas de las alineaciones de secuencias de ADN de 117 muestras.

Locus	Longitud total	Caracteres variables en el grupo interno	Caracteres variables totales	Caracteres parsimoniosos informativos	Cobertura grupo interno (%)	Cobertura grupo externo (%)
<i>rpl32-trnL</i>	1354	622	743	347	16	83
<i>trnL-trnF</i>	1084	226	363	206	16	83
<i>trnH-psbA</i>	439	34	86	33	16	84
<i>ycf1</i>	930	343	499	303	16	83
PHYC	1034	733	749	271	70	87
Matriz Concatenda	4841	1958	2440	1160		



**Figura 2.1.** Diversidad morfológica de *Eriosyce curvispina* de nueve poblaciones muestreadas para inferencias filogenéticas y evolutivas poblacionales. A, Valle de Chopa (CV); B, Tilama (Ti); C, Los Molles(LM); D, Putaendo (Pu); E, Ocoa (Oc); F, Escorial (Es); G, Laguna Verde (LV); H, Farellones (Fa). Fotos: A de M. Rosas; B y C de P.C. Guerrero; D, E y F de H.M.Villalobos-Barrantes; G de B. Vergara y H de J. Keymer





**Figura 2.3.** Análisis DAPC de 150 individuos de *Eriosyce curvispina*. Los elipsoides representan los grupos I-IV identificados en la inferencia filogenética bayesiana.

## II.5 Discusión

Las inferencias filogenéticas recuperaron un árbol filogenético bien sustentado que revela linajes evolutivos dentro de la sección *Horridocactus* y fuertes divergencias entre los miembros putativos del complejo *E. curvispina*. Esto apoya eventos de especiación independientes que revelan una mayor diversidad que está pasando desapercibida aunque se han acumulado importantes singularidades genéticas. Las especies de *Horridocactus* se agruparon en tres clados principales (A-C), dos de los cuales albergan poblaciones de *E. curvispina*, que a su vez se distribuyeron en cuatro grupos distintos (I-IV). Esto revela un escenario evolutivo más complicado que no es consistente con la existencia de un complejo taxonómico, ya que presenta eventos cladogenéticos

independientes. Además, nuestro estudio sugiere claramente que los miembros de los grupos I a IV se originaron en periodos de tiempo diferentes, lo que apoya que los mecanismos de divergencia produjeron eventos de especiación profunda y superficial a lo largo del tiempo evolutivo.

Los cuatro grupos identificados se encuentran geográficamente aislados ya sea por separación latitudinal o altitudinal, la alta complejidad topográfica en la zona central de Chile hace que aún en distancias lineales cortas entre poblaciones, puedan tener un duro aislamiento reproductivo (Rozzi et al., 1997). Dentro de los grupos I y II, en el Clado A (Figura 2.2), encontramos una significativa divergencia genética acumulativa, como puede inferirse por la gran longitud de rama observada en el filograma entre las especies. Los severos cambios climáticos ocurridos a principios del Pleistoceno, junto con la compleja topografía de Chile central, podrían haber tenido un fuerte impacto en la divergencia temprana de estos taxones. Por ejemplo, el establecimiento de nuevos regímenes climáticos y/o barreras permanentes de hielo habrían jugado un papel clave en esta separación (Böhnet et al., 2020; Merklinger et al., 2021; Bonatelli et al., 2014), donde las poblaciones andinas pudieron permanecer en refugios, fomentando el aislamiento reproductivo espacial. Este fenómeno ha sido sugerido en otros clados de plantas andinas con divergencias importantes a inicios del Pleistoceno (Glade-Vargas et al., 2021; Amaral et al., 2021; Ornelas et al., 2015). Las poblaciones costeras de *E. curvispina* en Los Molles y Laguna Verde presentan una divergencia estimada en 3.3 MYA, además los datos de DAPC de SSRs apoyan la existencia de estructura genética poblacional sugiriendo que existe una barrera dura entre estas dos poblaciones costeras que restringe el flujo génico y refuerza las diferencias. En contraste, las poblaciones andinas (Escorial y Putaendo) del clado A mostraron altos niveles de divergencia en el árbol filogenético (Figuras S1 y S2 material suplementario), mientras que la estructura genética poblacional evaluada por los datos de microsatélites es menos significativa. Estos distintos patrones de variación genética obtenidos a partir de diferentes marcadores moleculares, sugieren que el intercambio genético moderno inferido a partir de datos de microsatélites puede haber reducido la distancia genética entre estos dos taxones (Rose & Rieseberg, 2013; Zalapa et al., 2011; Suo et al., 2012; Li et al., 2018).

Los miembros de los grupos III y IV se han originado más recientemente (0,85 - 0,72 MYA) en dos eventos cladogenéticos independientes. El grupo III ocupa los valles del norte central de Chile, mientras que las especies miembros del grupo IV ocupan áreas más al sur dentro de las cordilleras transversales y los Andes. Ambos tipos de hábitats experimentaron importantes cambios en la vegetación durante el último millón de años siguiendo ciclos glaciares (Li et al., 2020; Hinojosa et al., 1997; Villagrán et al., 1997; Hinojosa et al., 2006), estos ciclos de larga duración con el efecto de la diagonal seca sudamericana tienen efectos significativos sobre las especies xerofíticas favoreciendo la expansión y contracción del rango en las poblaciones de plantas (Hinojosa et al., 2015; Ossaet al., 2019; Luebert, 2021; Bacon et al., 2018). Los mecanismos que contribuyen al aislamiento y posterior divergencia involucran la compleja topografía de Chile central, y el sistema de polinización de las abejas, que puede conducir fácilmente al aislamiento reproductivo, ya que la mayoría de las abejas nativas son de tamaño pequeño y tienen un rango de polinización reducido (61 Guerrero et al., 2011). Además, esta divergencia entre poblaciones costeras y del interior podría deberse a regímenes de selección asimétricos ejercidos por diferentes regímenes climáticos a diferentes elevaciones (Ornelas et al., 2015; Rose & Rieseberg, 2013; Zalapa et al., 2011) y, por los distintos gremios de polinizadores que covarían con la elevación (Arroyo et al., 1982).

Los miembros de la sección Neopterteria, otro grupo de cactus globosos, divergieron a lo largo de la costa pero no muestran estos niveles de divergencia profunda (Guerrero et al., 2019b), esta diferencia se debe probablemente a diferencias en los sistemas de polinización. Mientras que las especies del clado *Horridocactus* son polinizadas por abejas (Guerrero et al., 2019c), la mayoría de las especies de Neopterteria son polinizadas por colibríes (Walter 2008; Cádiz-Véliz et al., 2021). La alta vagilidad de los colibríes permitiría el intercambio de polen a mayores distancias reduciendo la divergencia genética.

La población de Ocoa mostró el índice de fijación más bajo, y la diversidad genética más baja entre las poblaciones congruente con el hecho de que es una población aislada y el flujo genético con otras poblaciones es menos probable. Este aislamiento puede deberse al hecho de que la vegetación xerófila nativa permanece en las colinas

en forma de isla, y en los dos últimos siglos la matriz circundante se ha transformado en un paisaje antropizado debido a diferentes actividades como cultivos de cereales, frutas, ganado, vivienda (Dominguéz et al., 2019; <https://www.ine.cl/estadisticas/economia/agricultura-agroindustria-y-pesca>).

En consecuencia, la "*E. curvispina*" local ha experimentado una reducción de su hábitat que ha aumentado las posibilidades de endogamia y la reducción de la diversidad genética.

A pesar de la amplia distribución e importancia de las zonas áridas y semiáridas los estudios filogenéticos y de genética de poblaciones son todavía escasos (Guerrero et al., 2011; Koch et al., 2019; Larridon et al., 2015), especialmente aquellos que abordan los mecanismos por los que posibilitaron la diversidad genética que observamos en la actualidad (Gutiérrez-Flores et al., 2016; Cavender-Bares et al., 2019; Toro-Núñez et al., 2020; Silva et al., 2018; Arakaki et al., 2011). La combinación de factores geográficos (topografía y variaciones climáticas) sumada a la variación de los gremios de polinización y, en épocas más recientes, a las actividades agrícolas, pueden ser factores importantes que estructuren la diversidad genética actual de las cactáceas.

### **II.5.1 Conclusiones**

La reconstrucción filogenética con marcadores de ADNcp y ADN nuclear recuperó fuertes relaciones de los taxones dentro de *Eriosyce*, y muestra que el complejo *Eriosyce curvispina* es un grupo polifilético que agrupa al menos cuatro linajes evolutivos. Estos resultados mejoran nuestra comprensión sobre el origen de un rico grupo endémico de cactáceas, para dimensionar más claramente su biodiversidad, y sugieren que una fracción de la flora del hotspot de biodiversidad de Chile central mediterráneo puede ser críptica. Esta información es fundamental para evaluar con precisión el riesgo de extinción y diseñar acciones de conservación eficientes, evitando pasar por alto especies altamente amenazadas en un paisaje cada vez más antropizado.

Este capítulo está publicado como:

Villalobos-Barrantes, H.M., Meriño, B.M., Walter, H.E., Guerrero, P.C. (2022) Independent Evolutionary Lineages in a Globular Cactus Species Complex Reveals Hidden Diversity in a Central Chile Biodiversity Hotspot. *Genes*, 13, 240. <https://doi.org/10.3390/genes13020240>.

Walter, H.E., Cádiz-Véliz A., Meriño B.M., Villalobos-Barrantes H.M. & Guerrero P.C. (2023) Taxonomic dissection of a morphological complex into cactus species from central Chile (*Eriosyce* spp.) *PhytoKeys*, The manuscript #107403.

## **CAPÍTULO III:**

### **Variables climáticas y morfológicas que inciden en la evolución del género *Eriocyce* (Cactaceae)**

#### **III.1 Resumen**

Uno de los biomas más ampliamente distribuidos es el de zonas áridas y semiáridas, que cubre aproximadamente el 40% de la superficie terrestre. Además, contiene una biodiversidad mayor de lo que se estimaba anteriormente; de hecho siete de los 25 puntos calientes “hotspot” y 30% de los centros de diversidad de plantas se encuentran en zonas áridas. Sin embargo, estudios que integren mecanismos ecológicos y de diversificación de zonas áridas, así como la evolución de caracteres morfológicos y el nicho que expliquen la diversidad observada en plantas adaptadas a zonas áridas siguen siendo escasos. Nuestro estudio analizó la relación entre rasgos morfológicos con variables ambientales usando el método comparado filogenético para evaluar la evolución de estos rasgos y si la temperatura y la precipitación afectan su evolución. Nuestros resultados muestran que la temperatura más que la precipitación, tiene un impacto sobre la altura y el volumen de los cactus, siendo esta relación positiva, mayores temperaturas mayores alturas y volúmenes de las plantas. Adicionalmente se evaluó la diversificación en términos de nicho climático y morfológico. Estos resultados muestran que estos rasgos han evolucionado lo que les ha dado una ventaja adaptativa a estas plantas para colonizar nuevos lugares y sobrevivir en el tiempo e ir diversificándose. Además, encontramos que hay tipos de raíces y tallos asociados a clados específicos, lo que nos indica que estos juegan un papel importante en la adaptación de las especies.

#### **Palabras claves**

Cactáceas, Rasgos morfológicos, Variables ambientales, Método comparado filogenético.

### III.2 Introducción

Las zonas áridas y semi-áridas, cubren aproximadamente el 40% de la superficie terrestre (Goettsch et al., 2015). Esta área contiene una gran biodiversidad (Goettsch et al., 2018). Siete de los 25 puntos calientes (“hotspot”) de biodiversidad y un 30% de los centros globales de diversidad de plantas se encuentran en zonas áridas (Myers et al., 2000; Arroyo et al., 2008).

Las zonas áridas se caracterizan por niveles extremos de bajas precipitaciones, baja humedad relativa y altas temperaturas. Estas condiciones generan limitaciones severas al crecimiento y probabilidad de sobrevivencia de plantas. Ante estas fuertes presiones selectivas, las plantas han evolucionado hacia una serie de estrategias que les permiten responder a la poca disponibilidad de agua, por ejemplo, gracias al metabolismo CAM (Metabolismo Ácido de las Crasuláceas) que les confiere la característica de reducir la pérdida de agua por transpiración durante las horas más calientes (Andrade et al., 2007).

Las suculentas presentan una clara relación entre los rasgos morfológicos y las condiciones climáticas (Hernández-Hernández et al., 2014; Edwards, 2019; Aliscioni et al., 2021). Hay estudios que indican que la diversificación de algunas especies de suculentas ocurrió primeramente como adaptaciones locales a microhábitats edáficos (o sea a condiciones del suelo principalmente). Posteriormente algunos individuos se adaptaron a otras condiciones climáticas y a partir de esto desarrollaron rasgos que les permitieron subsistir en estas nuevas condiciones (Guerrero et al., 2013). Un segundo evento, en la variación de un rasgo en suculentas, se da en respuesta a la evolución monocárpica y de polinización con murciélagos (Hernández-Hernández et al., 2014).

Por otro lado, el estudio de Arakaki et al., (2011) concluyeron que el origen y las principales radiaciones, en cuanto a diversificación y morfología, de cactus se llevaron a cabo junto a con las radiaciones del núcleo Ruschioideae en Sudáfrica y agaves en América del Norte, lo que sugiere que hay una asociación con la expansión global de ambientes áridos y semiáridos. Esto último implicó adaptación a la poca disponibilidad de agua lo que les confirió una ventaja para sobrevivir a una amplia variedad de condiciones ecológicas. Por otro lado, las fluctuaciones climáticas durante el Pleistoceno, donde se alternaron periodos de bajas temperaturas con periodos cálidos,

tuvieron un gran impacto en la distribución, evolución, diversidad genética y la estructura de poblaciones de plantas en la biota global fragmentando las poblaciones y provocando diversificación de las mismas (Bonatelli et al., 2014; Gutiérrez-Flores et al., 2016, Mortimer et al., 2022). Sin embargo, estudios que integren mecanismos evolutivos para explicar el origen de la diversidad morfológica de plantas en zonas áridas siguen siendo escasos (Sheng-Dan et al., 2018) pero muy necesarios para comprender cómo estas plantas se han adaptado a zonas consideradas históricamente difíciles para cualquier ser vivo.

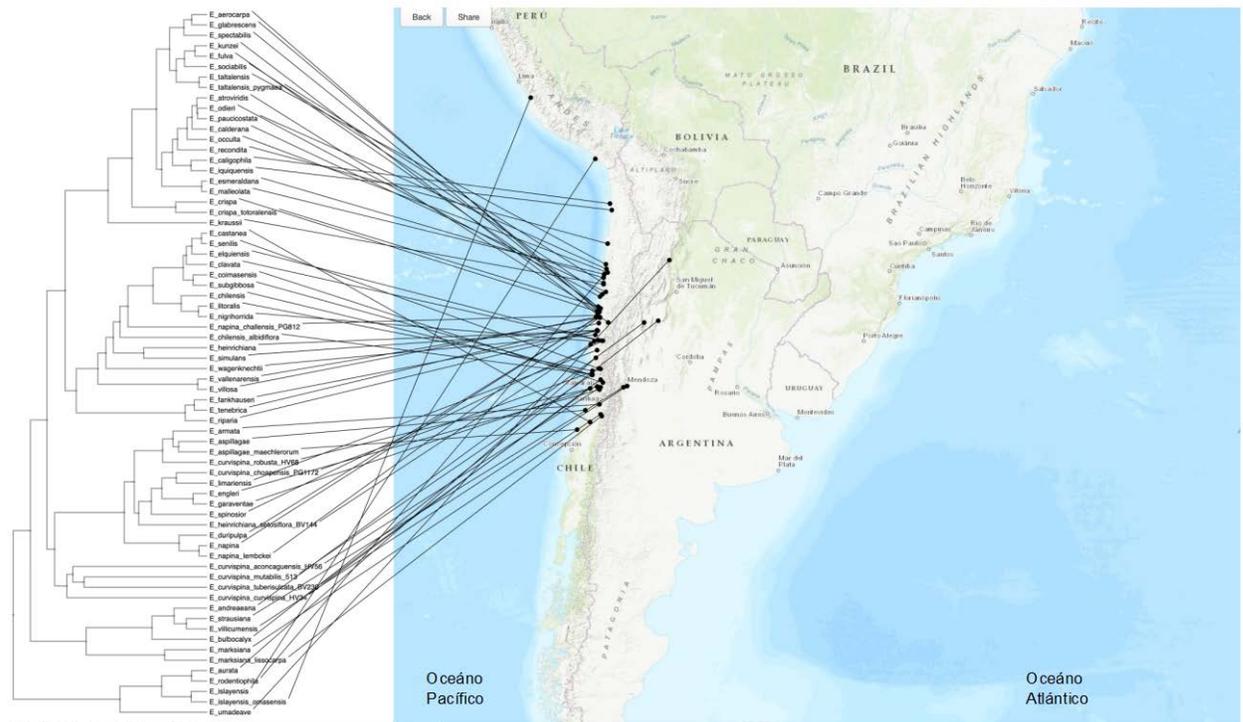
El género *Eriosyce sensu lato* (Cactaceae) está conformado por alrededor de 70 especies y presenta una distribución geográfica asociada al gradiente de aridez presente en la Diagonal Árida de Sudamérica (Figura 3.1). Este género se caracteriza por una gran heterogeneidad morfológica (Guerrero et al., 2019, Villalobos-Barrantes et al., 2022), pero aún se desconocen los factores y mecanismo subyacente que promovieron el origen de esta variación. La gran diversidad de formas que presenta este género ser el producto de la adaptación en un periodo de tiempo relativamente corto, combinado con las oscilaciones climáticas. Este tipo de patrón es lo que se ha observado para otros cactus (Hernández-Hernández et al., 2014; Larridon et al., 2015; Silva et al, 2017).

Por otro lado, se debe considerar la convergencia morfológica del grupo como mecanismo de adaptación al medio árido para aumentar la probabilidad la supervivencia y la reproducción (Futuyma & Kirkpatrick 2017). Rasgos como la altura, el volumen y la forma de la raíz y del tallo, son de suma importancia para estas plantas, pues por medio de las raíces y el tallo se obtiene y se almacena el agua, lo cual es fundamental para su supervivencia en ambientes áridos (Hernández-Hernández, et al, 2023). Sin embargo, actualmente se desconoce si el proceso de adaptación morfológica fue guiado principalmente por la temperatura o la cantidad de precipitación que caracterizan a los ambientes áridos. Adicionalmente, desconocemos si la morfología de los cactus cambió en forma conjunta o de manera independiente ante las presiones selectivas de los ambientes áridos. Esto último hecho radica en que el proceso de selección natural puede modificar los rasgos de los individuos de forma integrada o correlacionada, y también puede cambiar los rasgos de manera independiente.

Para responder si los rasgos morfológicos están relacionados a variables climáticas y si éstas últimas influyen en la diversificación de este género evaluamos la relación entre varios rasgos morfológicos de cactus con las condiciones de temperatura y precipitación de los ambientes que estos ocupan. Los rasgos morfológicos estudiados fueron la altura, volumen, tipo de raíz y tipo de tallo y las condiciones ambientales la temperatura y la precipitación (Mauseth & Plemons-Rodriguez, 1998)

Nuestra hipótesis es que la altura, el volumen, la forma de la raíz y la forma del tallo de los cactus varían como una respuesta adaptativa integrada frente a las presiones selectivas ejercidas tanto por la temperatura como la precipitación.

Una posible explicación es que, a mayor altura y volumen del tallo y raíces más grandes, los cactus podrían almacenar más agua para su supervivencia, bajo condiciones ambientales áridas. Por tanto, podría darse que: **i)** a mayores precipitaciones los cactus sean de mayor altura y volumen, **ii)** a mayores temperaturas los cactus sean de mayor altura y volumen, **iii)** a mayores precipitaciones los cactus estén asociados al tipo de raíz fibroso y al tipo de tallo geófito y **iv)** a mayores temperaturas los cactus están asociados al tipo de raíz fibroso y a la forma de tallo geófito.



**Figura 3.1.** Distribución de las muestras del género *Eriosyce s.l.* usadas en este estudio.

### III.3 Métodos

#### III.3.1 Datos morfológicos y climáticos

Compilamos datos morfológicos a partir de la información reportada en la literatura principalmente de Ritter (1980), Hoffman & Walter (2004) y datos de los cactus del invernadero del Laboratorio Biomas en Hualpén (dentro de la Estación Biológica de la Universidad de Concepción, Hualpén, Chile) y fue usado el valor medio del rango indicado para un total de 68 especies del género *Eriosyce s.l.* Estos datos corresponden a la altura, diámetro del tallo, forma de tallo, tipo de raíz, tipo de tallo, además de los

datos de localización geográfica. Posteriormente se calculó para cada especie el volumen (a partir del largo, ancho y altura) de cada uno. Los valores de todas estas variables se transformaron a logaritmo en base 10 ( $\log_{10}$ ) para ser usados en los análisis de regresión.

De acuerdo a la forma de crecimiento de cada taxón se le asignó una forma geométrica simple, cono, esfera o cilindro y en conjunto con los valores de diámetro y altura de cada taxón se calculó el área, el volumen y la razón área/volumen de cada especie.

El corno corto (“short turbinate”) raíz central pivotante ancha en el cuello y que rápidamente se hace angosto hacia el extremo. El cono alargado (“elongate turbinate”) donde es ancha en el cuello y se angosta suavemente hacia el extremo.



**Figura 3.2:** Diferentes especies del género *Eriocyce* y las distintas formas de raíces y tallos. A) *E. occulta* con raíz tuberosa y tallo geófito, B) *E. engleri* con raíz fibrosa y tallo subcolumnar, C) *E. curvispina* subsp. *tuberisulcata* con tallo subglobular, D) *E. curvispina* var. *curvispina* con tallo subglobular, E) *E. napina* con tallo geófito y F) *E. eriosyzoides* con tallo subcolumnar. (Tomado de Hoffman y Walter, 2004).

Los datos de latitud y longitud (las ocurrencias de cada especie) fueron usados en el programa Diva-Gis 7.1 (Hijmans et al., 2004) para obtener los valores de la temperatura promedio anual (BIO1 = Annual Mean Temperature) y precipitación anual (BIO12 =

Annual Precipitation) (Hijmans et al., 2005). Utilizamos estas variables climáticas en las regresiones filogenéticas para evaluar su efecto sobre las variables morfológicas de los cactus

### III.3.2 Inferencias filogenéticas basadas en secuencias

Para efectuar las regresiones de mínimos cuadrados generalizados filogenéticos (PGLS) se utilizó una filogenia calibrada temporalmente, la cual fue inferida con el programa BEAST 2.0 (Bouckaert et al., 2019). Esta filogenia contiene 68 especies, sin grupo externo. Esta filogenia se obtuvo de la filogenia descrita en el Capítulo II, sección II.3.2, de esta tesis, donde amplificamos tres marcadores cloroplásticos no codificantes (*rpl32-trnL*, *trnH-psbA*, *trnL-trnF*), un gen plastidial (*ycf1*) y un gen nuclear (PHYC) siguiendo el protocolo descrito en Guerrero et al., (2019b).

Evaluamos cuatro modelos de evolución molecular disponibles en BEAST (Villalobos-Barrantes et al., 2022). El mejor modelo de evolución molecular fue el Reloj Relajado Exponencial, determinado por el valor de L-marginal dado por la aplicación PathSampler. El árbol consenso se obtuvo con TreeAnnotator. Ambas aplicaciones dentro del paquete BEAST. La Figura 3.3 muestra la filogenia completa con fechas en cada nodo.

### III.3.3 Regresiones filogenéticas

Para evaluar la relación entre las variables altura y volumen de los cactus con la temperatura y precipitación (medidas anuales), se efectuaron modelos mínimos cuadrados generalizados filogenéticos (PGLS) con inferencia Bayesiana, utilizando el programa BayesTraits 3.0 (Pagel, 1997 y 1999). Se realizaron 51.000.000 de iteraciones, con una frecuencia de muestreo de 50.000, eliminando 1.000.000 de iteraciones. La convergencia de las inferencias se revisa utilizando el programa Tracer v1.7.1 (Rambaut et al., 2018)

Las regresiones filogenéticas se evaluaron bajo los modelos Brownian Motion (**BM**), Lambda (**LA**), Lambda cero (**LA0**), Variable Rate o Tasas Variables (**VR**) y Lambda con Variable Rate (**LAVR**) como se observa en las Tablas 3.1 y 3.3.

Se escogieron las variables significativas comparando la verosimilitud marginal de modelos sin variables predictoras y modelos de regresión con variables predictoras (Rendón-Macías et al., 2018). Para esto, se efectuó el cálculo del Bayes Factor (BF) como criterio para definir si una variable predictora es significativa. El cálculo del Bayes Factor se hace de la siguiente forma:  $BF = 2 * (\text{la verosimilitud marginal del modelo respectivo con la covariable menos la verosimilitud marginal del modelo que no incluye la covariable en cuestión})$ . Si el valor del BF es mayor 2 significa que el modelo que contiene la variable predictora tiene un mejor ajuste que el modelo que no la tiene y, por lo tanto, la variable predictora es considerada significativa (Tabla 3.2).

Para evaluar la relación entre las variables tipo de raíz y tallo de los cactus con la temperatura y precipitación, utilizando regresiones filogenéticas con los modelos de evolución BM, LA, LA0, VR, y LAVR, se consideró como variable de respuesta el logaritmo en base 10 (log10) de la temperatura y la precipitación, y el tipo de raíz y tallo de los cactus como variable predictora.

**Tabla 3.1.** Datos de especies del género *Eriosyce* con tipo de tallo y raíz, altura y volumen de cada taxa y las variables climáticas Temperatura media anual (BIO1 = Annual Mean Temperature) y Precipitación anual (BIO12 = Annual Precipitation)

Especie filogenia	Forma de tallo	Sistema raíz	Altura de cactus (Log10)	Volumen de cactus (Log10)	BIO1 = Annual Mean Temperature (Log10)	BIO12 = Annual Precipitation (Log10)
<i>E. aerocarpa</i>	Geophyte	Tuberous	1,50515	4,6044	2,2	1,669
<i>E. andreaeana</i>	Subglobular	Fibrous	2,04139	5,7427	2,2	2,5
<i>E. armata</i>	Subglobular	Fibrous	2,39794	6,8036	2,1	2,8
<i>E. aspillagae</i>	Subglobular	Short-turbinate	1,77815	5,9655	2,1	2,9
<i>E. aspillaga</i> subsp. <i>maechlerorum</i>	Subglobular	Short-turbinate	1,77815	6,0254	2,2	1,7
<i>E. atroviridis</i>	Subglobular	Tuberous	1,65321	5,3545	2,1	2,2
<i>E. aurata</i>	Globular	Fibrous	2,74036	8,1162	2,3	2,6
<i>E. bulbocalyx</i>	Subglobular	Fibrous	2,30103	6,3545	2,3	1,7
<i>E. calderana</i>	Subglobular	Short-turbinate	1,76343	5,4647	2,2	1,0
<i>E. caligophila</i>	Subglobular	Short-turbinate	1,60206	5,1362	2,2	2,5
<i>E. castanea</i>	Subcolumnar	Fibrous	2,20412	6,4514	2,2	2,4

<i>E. chilensis</i>	Subglobular	Fibrous	2,07918	5,9743	2,2	2,0
<i>E. chilensis</i> var. <i>albidiflora</i>	Subglobular	Fibrous	2,07918	5,9743	2,2	2,5
<i>E. clavata</i>	Subcolumnar	Fibrous	2,77815	6,6732	2,2	1,6
<i>E. coimasensis</i>	Subglobular	Tuberous	2,41497	6,3101	2,2	1,7
<i>E. crispa</i>	Subglobular	Tuberous	1,65321	5,2385	2,1	2,5
<i>E. crispa</i> subsp. <i>totoalensis</i>	Subglobular	Tuberous	1,66276	4,9558	2,2	2,7
<i>E. curvispina</i> var. <i>curvispina</i> HV34	Subglobular	Fibrous	2,30103	6,7982	2,2	2,6
<i>E. curvispina</i> var. <i>aconcaguensis</i> HV56	Subglobular	Fibrous	2,00000	0,0000	2,2	2,5
<i>E. curvispina</i> var. <i>choapensis</i> PG1172	Subglobular	Fibrous	0,0000	0,0000	2,2	2,4
<i>E. curvispina</i> var. <i>mutabilis</i> 513	Subglobular	Fibrous	2,07918	0,0000	2,2	2,5
<i>E. curvispina</i> var. <i>robusta</i> HV68	Subcolumnar	Fibrous	2,17609	0,0000	2,1	2,6
<i>E. curvispina</i> subsp. <i>tuberisulcata</i> BV230	Subglobular	Fibrous	1,90309	5,7982	2,2	1,7
<i>E. duripulpa</i>	Geophyte	Tuberous	1,84510	5,0466	2,1	2,0
<i>E. elquiensis</i>	Subglobular	Tuberous	2,07918	5,9297	1,9	2,7
<i>E. engleri</i>	Subcolumnar	Fibrous	2,47712	6,8828	2,2	1,5
<i>E. esmeraldana</i>	Geophyte	Elongate-tubinate	1,39794	4,4972	2,2	1,7
<i>E. fankhauseri</i>	Geophyte	Tuberous	1,30103	4,7524	2,2	1,7
<i>E. fulva</i>	Geophyte	Short-turbinate	1,25527	4,6311	2,1	2,7
<i>E. garaventa</i>	Subcolumnar	Fibrous	2,04139	6,0948	2,2	1,7
<i>E. glabrescens</i>	Geophyte	Short-turbinate	1,39794	4,8493	2,2	1,9
<i>E. heinrichiana</i>	Subglobular	Tuberous	1,76343	5,4647	2,2	1,0
<i>E. heinrichiana</i> var. <i>setosiflora</i> BV144	Subglobular	-	1,60206	0,0000	2,2	2,1
<i>E. iquiquensis</i>	Geophyte	Short-turbinate	1,60206	5,0535	2,3	1,3
<i>E. islayensis</i>	Subglobular	Fibrous	2,84510	6,8986	2,2	1,8
<i>E. islayensis</i> subsp. <i>omasensis</i>	Subglobular	Fibrous	2,20412	6,1820	2,2	1,7
<i>E. kraussii</i>	Geophyte	Elongate-tubinate	0,95424	4,0535	2,1	2,0
<i>E. kunzei</i>	Subglobular	Fibrous	2,09691	6,2199	2,2	2,1
<i>E. limariensis</i>	Subglobular	Fibrous	2,17026	6,4175	2,2	2,2
<i>E. litoralis</i>	Subcolumnar	Fibrous	2,20412	5,9054	2,2	1,6
<i>E. malleolata</i>	Geophyte	Short-turbinate	0,90309	4,1961	2,1	3,0
<i>E. marksiana</i>	Subglobular	Fibrous	2,41497	7,0705	2,0	2,9
<i>E. marksiana</i> var. <i>lissocarpa</i>	Subglobular	Fibrous	2,39794	7,0889	2,2	1,7
<i>E. napina</i>	Geophyte	Tuberous	1,81291	5,2643	2,2	1,7
<i>E. napina</i> subsp. <i>challensis</i> PG812	Geophyte	Tuberous	2,30103	0,0000	2,2	1,7
<i>E. napina</i> subsp. <i>lembckeii</i>	Geophyte	Tuberous	1,69897	4,9005	2,2	2,1
<i>E. nigrihorrida</i>	Subcolumnar	Fibrous	2,55630	6,4514	2,2	1,5

<i>E. occulta</i>	Geophyte	Tuberous	1,44716	5,0324	2,2	1,7
<i>E. odieri</i>	Geophyte	Short-turbinate	1,65321	5,1741	2,2	1,2
<i>E. paucicostata</i>	Subglobular	Short-turbinate	2,47712	6,1784	2,2	1,2
<i>E. recondita</i>	Geophyte	Short-turbinate	1,25527	4,4568	2,2	1,8
<i>E. riparia</i>	Geophyte	Tuberous	1,04139	4,2034	2,2	1,5
<i>E. rodentiophila</i>	Globular	Fibrous	2,60206	7,5075	2,2	2,3
<i>E. senilis</i>	Subglobular	Tuberous	2,27875	6,0327	2,2	1,8
<i>E. simulans</i>	Subglobular	-	2,30103	6,0023	2,2	1,8
<i>E. sociabilis</i>	Subcolumnar	Short-turbinate	2,60206	6,4056	2,2	1,7
<i>E. spectabilis</i>	Subglobular	-	1,39794	4,6910	2,2	2,1
<i>E. spinosior</i>	Subglobular	Tuberous	1,65321	4,8547	2,1	2,3
<i>E. strausiana</i>	Subglobular	Fibrous	2,30103	6,5483	2,2	2,7
<i>E. subgibbosa</i>	Subcolumnar	Fibrous	3,00000	7,6910	2,1	2,9
<i>E. taltalensis</i>	Subcolumnar	Short-turbinate	1,90309	5,6044	2,2	1,5
<i>E. taltalensis</i> subsp. <i>pygmaea</i>	Subglobular	Short-turbinate	1,77815	5,3634	2,3	1,6
<i>E. tenebrica</i>	Geophyte	Tuberous	1,47712	5,0624	2,2	1,7
<i>E. umadeave</i>	Subglobular	Fibrous	2,60206	7,0992	2,0	2,7
<i>E. vallenarensis</i>	Subcolumnar	Fibrous	2,47712	5,9285	2,2	1,7
<i>E. villicumensis</i>	Subglobular	Tuberous	2,00000	5,8036	2,2	2,1
<i>E. villosa</i>	Subcolumnar	Tuberous	2,41497	6,3101	2,2	1,7
<i>E. wagenknechtii</i>	Subglobular	Fibrous	2,47712	6,4550	2,2	1,9

Esto último se debe a que actualmente no existen aproximaciones de regresiones filogenéticas, con los diferentes modelos de evolución, que consideren una variable discreta, como el tipo de raíz y tallo de los cactus como variable predictora versus una variable respuesta de tipo continua (Temperatura o Precipitación).

A través de este análisis se puede determinar qué tipo de raíz y tallo de los cactus están presentes a determinada temperatura y precipitación e implícitamente se está evaluando si hay diferencias en los niveles de temperatura y precipitación a través de los diferentes tipos de raíz y tallo.

### III.3.4 Análisis diversificación y linajes en tiempo

Usando la filogenia calibrada con 68 taxa (Figura 3.2) inferida en Beast 2.0 (Bouckaert et al., 2019) se procedió a hacer el análisis de tasas de diversificación usando el programa Bayesian Analysis of Macroevolutionary Mixtures (BAMM v.2.5.0, Rabosky 2014) con las variables climáticas de Temperatura (BIO1 = Annual Mean Temperature) y Precipitación (BIO12 = Annual Precipitation) (Hijmans et al., 2005) utilizando el paquete BAMMtools en R (Rabosky et al., 2014). Con la función “setBAMMpriors” se determinaron los valores adecuados para el análisis con la instrucción diversificación. Una vez calculados estos parámetros y con este mismo paquete (BAMMtools), se genera el archivo (“divcontrol.txt”) con todos los parámetros necesarios que utiliza BAMM para correr 10 millones de iteraciones y generar los varios archivos de salida que se analizan en R.

Utilizando el paquete BAMMtools se procede a eliminar el 25 % de muestras de la MCMC y se corrobora que las corridas lleguen a convergencia utilizando el programa Tracer v1.7.1 (Rambaut et al., 2018). Posteriormente se usa el paquete CODA en R (Plummer et al., 2006) que permite calcular el tamaño efectivo de la muestra, los valores de logaritmos de la verosimilitud y en número de tasas de cambio durante la simulación de MCMC. Los resultados de este análisis muestran un filograma de colores con los valores de las tasas de diversificación y un gráfico de tasa de diversificación en el tiempo (Figura 5.1).

Para determinar si las variables climáticas de Temperatura (BIO1 = Annual Mean Temperature) y Precipitación (BIO12 = Annual Precipitation) tienen incidencia sobre las tasas de diversificación, se procede a realizar el análisis de BAMM de la filogenia con los datos continuos en logaritmo base 10 de éstas variables (Tabla 3.1) de la misma forma que se describió anteriormente pero utilizando en los antecedentes (priors) que se trata de un rasgo, tanto para calcular los valores adecuados del análisis como el análisis de los datos de salida (Figuras 3.6 y 3.7).

De igual forma se procede a realizar el análisis de diversificación con datos de altura y volumen de los cactus presentes en la filogenia. La determinación de los parámetros y el análisis de los datos de salida se hacen tal como se describió para las anteriores variables .

## III.4 Resultados

### III.4.1 Filogenia

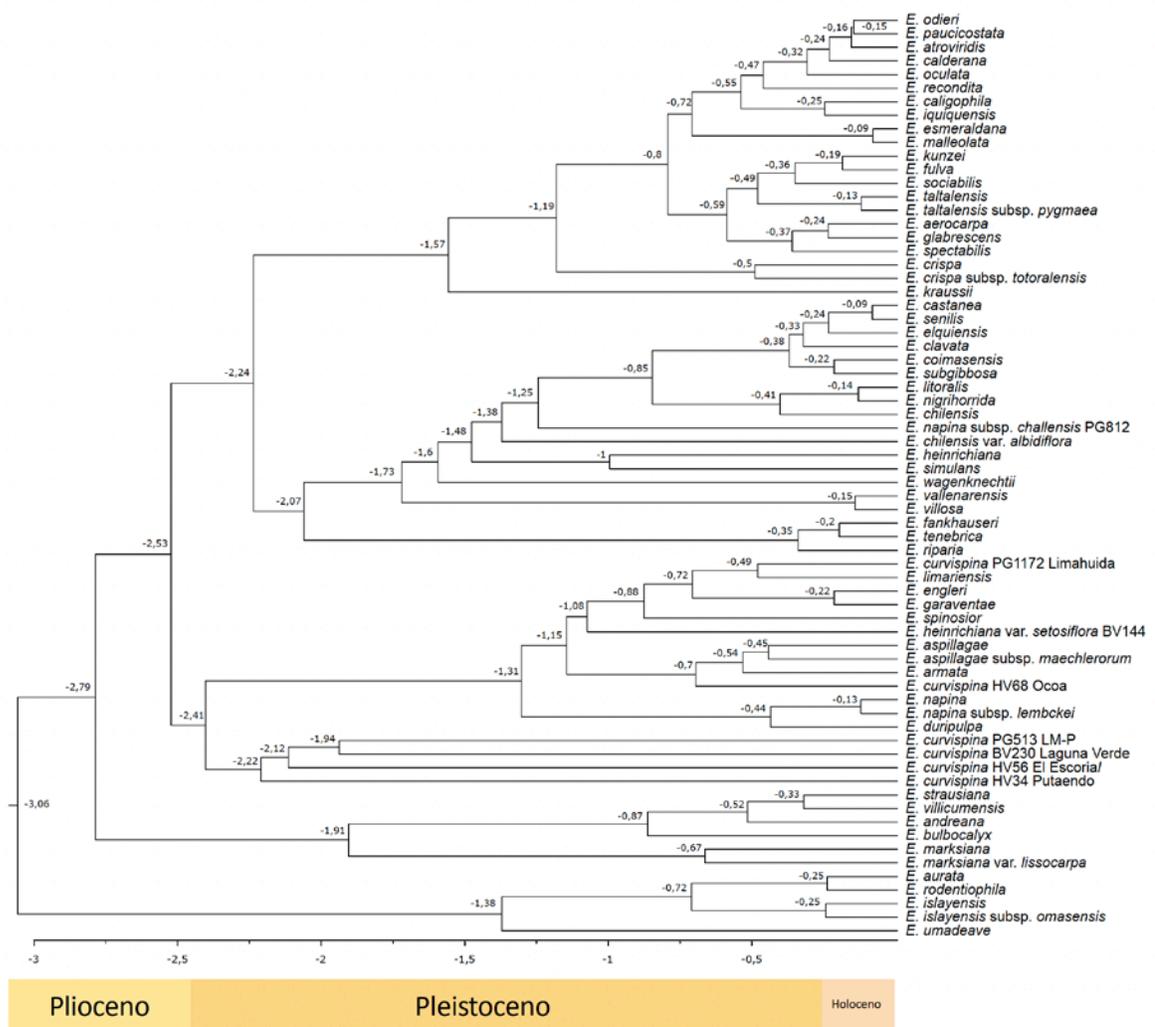
La Figura 3.3 muestra la filogenia calibrada para 68 especies del género *Eriosyce*. Los valores de fechas en cada nodo para esta filogenia. La filogenia muestra que el género es monofilético, con siete clados internos bien definidos y que se obtuvo como se describe en la sección II.3. 2 (Inferencias filogenéticas basadas en secuencias).

### III.4.2 Relación entre Altura y Volumen de los cactus con la Precipitación y Temperatura

En las regresiones multivariadas, el modelo lambda (LA) tuvo el mejor ajuste para todas las regresiones, aunque el valor es no significativo (Tabla 3.2). Por otro lado, los resultados del Factor de Bayes (Bayes Factor), muestran que los modelos de regresión que incluyen la temperatura como variable predictora, poseen valores de verosimilitud marginalmente mayor tanto para la altura como volumen de los cactus (Tabla 3.3). Esto significa que sólo la variable temperatura tiene un efecto significativo sobre la altura y volumen de los cactus. La pendiente de la relación fue positiva lo cual indica que la altura y volumen de los cactus es mayor a mayores temperaturas.

En el caso de las regresiones bivariadas con los tipos de raíz y tallo de los cactus, como variable predictora versus las variables temperatura y precipitación como variables respuesta, con los diferentes modelos de evolución, muestran que la variable precipitación bajo el modelo LA0 (lambda cero) tiene un mejor ajuste. Las raíces tipo cono corto y tuberosa se presentan a menor precipitación que el tipo de raíz fibrosa. Y para los tipos de tallo, el tipo subcolumnar y subglobular se presentan a mayor precipitación que el tipo geófito (Tabla 3.4).

Con la variable temperatura, el modelo que presentó un mejor ajuste fue el modelo conjunto de Lambda más Tasas Variables (LAVR). Sin embargo, la temperatura no tuvo un efecto significativo para ningún tipo de raíz y tallo. Esto significa que la temperatura no tiene un efecto sobre este tipo de rasgos (Tabla 3.4).



**Figura 3.3.** Filogenia calibrada para 68 especies del género *Eriocyce* con valores de fechas en los nodos. Los valores negativos significan las fechas antes del presente

**Tabla 3.2.** Regresiones multivariadas para la Altura y Volumen de las especies de cactus del género *Eriosyce* vs. Precipitación\* más la Temperatura\*.

	Lh	Altura	Precipitación	Temperatura			%<0	%<0
Altura vs. Prec + Temp*	Marginal	Alpha	Beta 1	Beta 2	R^2	Lambda	Beta 1	Beta 2
BM	-50,2564	1,0142	-0,1397	0,6645	0,0693		92,2	18,4
LA	-42,7146	0,6636	-0,0293	0,7087	-0,0095	0,6571	59,9	18,6
LA0	-55,3715	0,1460	0,1119	0,7429	-0,0221	0,0000	22,6	24,7
VR	-46,5451	1,3172	-0,0806	0,4726	0,0455		77,4	20,5
LAVR	-43,2535	0,6601	0,0144	0,6757	-0,0074	0,7150	43,2	17,6

	Lh	Altura	Precipitación	Temperatura			% < 0	% < 0
Volumen vs. Prec + Temp*	Marginal	Alpha	Beta 1	Beta 2	R^2	Lambda	Beta 1	Beta 2
BM	-78,3019	1,2572	0,1364	2,1592	0,0052		21,5	4,6
LA	-74,8129	0,7428	0,2255	2,2978	0,0017	0,7704	12	5,6
LA0	-89,3017	-0,0773	0,5189	2,2252	0,0275	0,0000	2,7	14
VR	-77,8713	1,6841	0,1367	1,9644	0,0092		23	5,8
LAVR	-76,4352	1,1960	0,2170	2,1048	0,0113	0,7973	15	6,6

\*Prec = Precipitación anual, Temp = Temperatura media anual

**Tabla 3.3.** Comparación de los valores de verosimilitud marginal (Lh) de las variables Altura y Volumen de los cactus con sus respectivas covariables vs. las variables sin covariable a través de Bayes Factor.

	Lh	BF	Cálculo de Bayes Factor	
Altura	-46,9402			
Altura vs Prec*	-38,7024	16,4756	2*(Altura vs. Prec /Altura)	**
Altura vs Temp*	-35,4101	23,0602	2*(Altura vs. Prec /Altura)	**
Altura vs Prec+Temp*	-42,7146	8,4511	2*(Altura vs. Prec + Temp /Altura)	**

	Lh	BF	Cálculo de Bayes Factor	
Volumen	-78,5386			
Volumen vs Prec*	-72,0568	12,9635	2*(Volumen vs. Prec /Volumen)	**
Volumen vs Temp*	-69,4775	18,1221	2*(Volumen vs. Prec /Volumen)	**
Volumen vs Prec+Temp*	-74,8129	7,4513	2*(Volumen vs. Prec+Temp /Volumen)	**

\*Prec = Precipitación anual, Temp = Temperatura media anual, \*\*significativo

**Tabla 3.4.** Regresiones bivariadas para tres tipos de raíz: A: Fibrosa, B: Corno corto C: Turberosa y tres tipos de tallo: D: Geófito, E: Subcolumnar, F: Subglobular de las especies del género *Eriosyce* vs. Precipitación y Temperatura

Temperatura vs. Raíz	Lh Marginal	Fibrosa Alpha	Cono Corto Beta 1	Tuberosa Beta 2	R <sup>2</sup>	Lambda	% < 0 Beta1	% < 0 Beta2
BM	48,0964	2,1765	-0,0005	-0,0323	0,008		51,7	93,7
LA	63,2883	2,1841	0,0059	-0,0227	-0,013	0,1441	40,1	86,5
LA0	65,3281	2,1833	0,0094	-0,0201	-0,014	0,0000	33,8	83,8
VR	101,8661	2,1943	0,0199	0,0000	-0,013		20,6	49,3
LAVR	111,4903	2,2000	-0,0056	0,0000	-0,034	0,0018	64,3	51,3

Temperatura vs. Tallo	Lh Marginal	Geófito Alpha	Subcolumnar Beta 1	Subglobular Beta 2	R <sup>2</sup>	Lambda	% < 0 Beta1	% < 0 Beta2
BM	49,8107	2,1648	-0,0030	-0,0027	-0,038		54,0	53,6
LA	68,7113	2,1773	0,0069	-0,0062	-0,039	0,1303	39,6	62,6
LA0	70,7390	2,1821	0,0007	-0,0089	-0,035	0,0000	49,3	68,6
VR	94,0793	2,1981	0,0000	0,0000	-0,040		51,4	47,8
LAVR	124,5173	2,2000	0,0000	0,0000	-0,036	0,0008	51,0	49,7

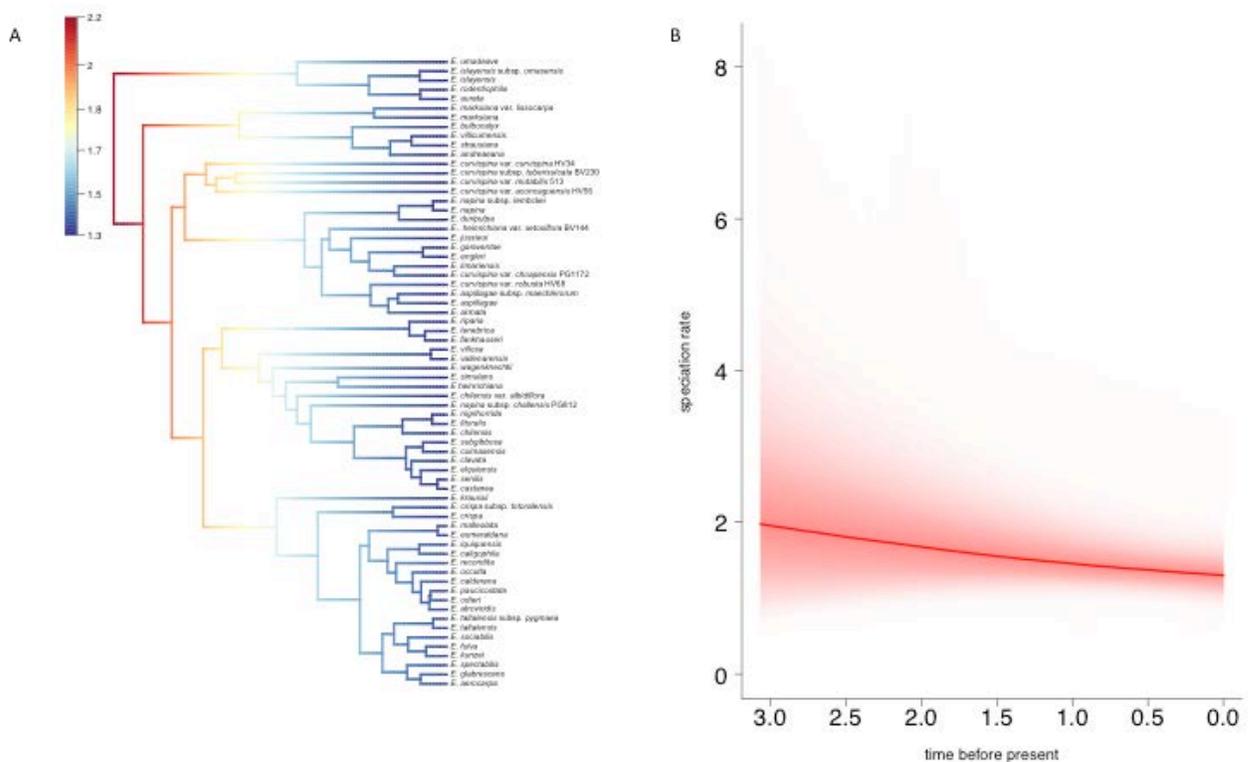
Precipitación vs. Raíz	Lh Marginal	Fibrosa Alpha	Cono Corto Beta 1	Tuberosa Beta 2	R <sup>2</sup>	Lambda	% < 0 Beta1	% < 0 Beta2
BM	-69,8790	2,2534	-0,4105	-0,2077	0,006		98,4	91,6
LA	-58,7863	2,1924	-0,3090	-0,2224	-0,008	0,1969	94	92,3
LA0**	-57,1801	2,1787	-0,3214	-0,2627	0,025	0,0000	97,5	96,6 *
VR	-67,8215	2,2491	-0,3270	-0,2164	0,002	0,0255	89,4	93,9
LAVR	-60,9980	2,2003	-0,3189	-0,2350	0,003	0,2142	93,4	95,7

Precipitación vs. Tallo	Lh Marginal	Geófito Alpha	Subcolumnar Beta 1	Subglobular Beta 2	R <sup>2</sup>	Lambda	% < 0 Beta1	% < 0 Beta2
BM	-81,5779	2,0492	0,1776	0,1088	-0,028		22,7	24,4
LA	-59,0887	1,9072	-0,0136	0,2335	0,017	0,1603	52	7
LA0**	-57,3678	1,8454	0,0219	0,2841	0,040	0,0000	44,8	2,1 *
VR	-71,0643	1,9872	-0,0353	0,2003		0,0411	55,2	17,2
LAVR	-60,6280	1,8806	-0,0356	0,2828	0,068	0,1686	57	3,6

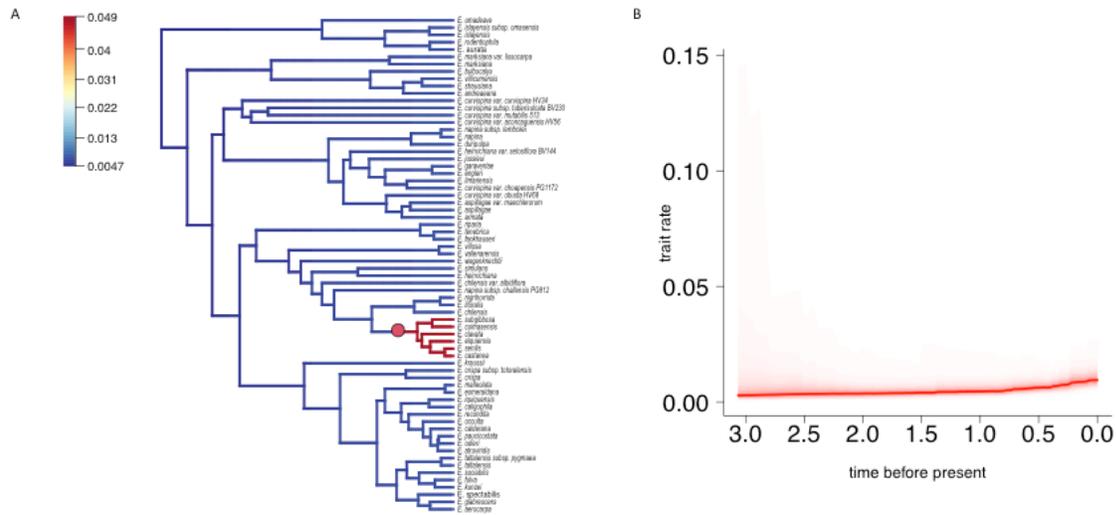
\*Prec = Precipitación anual, Temp = Temperatura media anual, \*\*significativo

### III.4.3 Análisis diversificación

La tasa de diversificación neta promedio para el género *Eriosyce* no varía significativamente entre las diferentes ramas de la filogenia (Figura 3.5A), pero disminuye ligeramente hacia el presente como se observa en la Figura 3.5B. Cuando se estima la tasa de diversificación del género en función de la temperatura, vemos un cambio significativo que ocurren a los 0.6 Mya y además se observa un leve aumento de la tasa del rasgo hacia el presente a partir de los 0.5 Mya (Figura 3.6 y Tabla 3.5).



**Figura 3.5.** A) Tasas de diversificación neta promedio y B) Tasa de evolución en el tiempo para el género *Eriosyce*

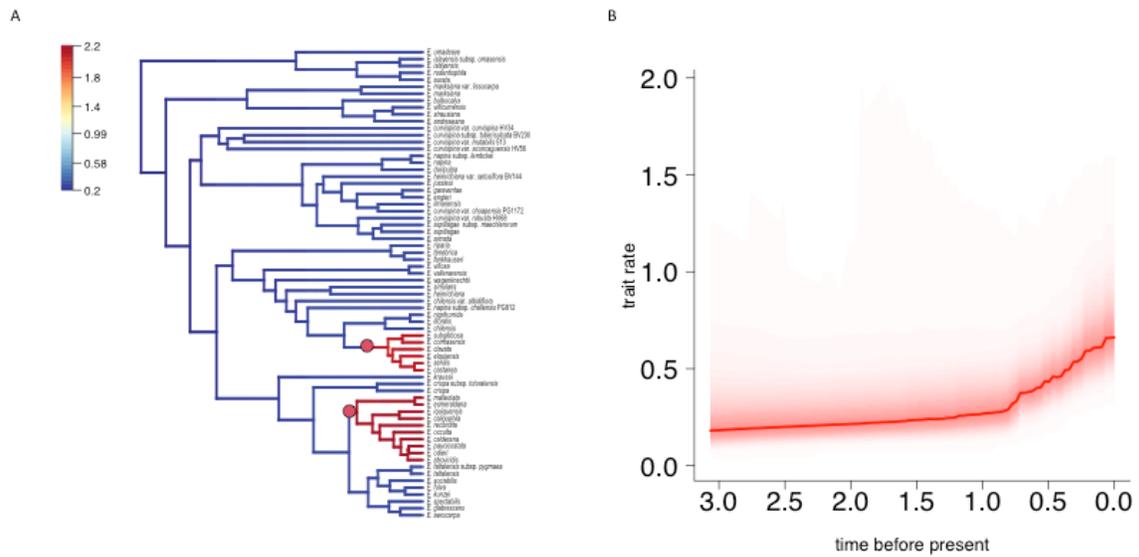


**Figura 3.6.** A) Tasas de diversificación y B) Tasa de evolución en el tiempo para la Temperatura Media Anual (BIO1)

**Tabla 3.5.** Valor de los cambios en tasas de diversificación en género *Eriosyce*

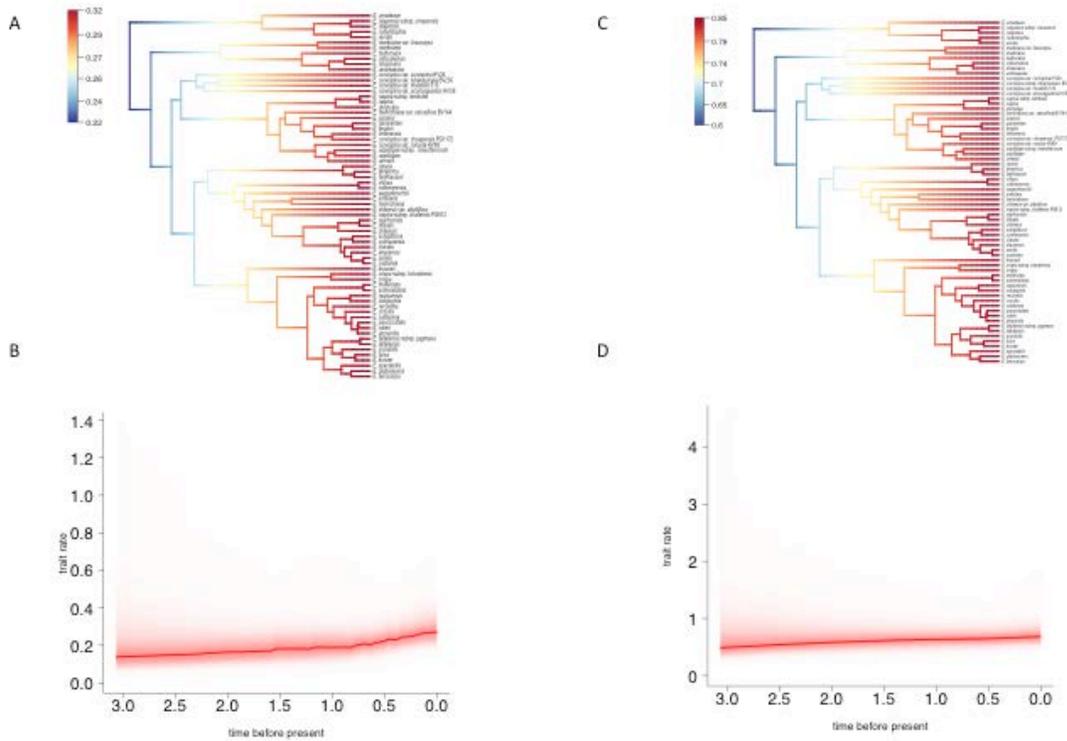
Rasgo	node	Tiempo Mya	Tiempo del cambio Mya
Diversificación neta promedio	69	0	-
Precipitación	83	2.307207	0.757632
	100	2.481782	0.583057
Temperatura	100	2.466361	0.598478
Altura	69	0	-
Volumen	69	0	-

Al estimar la tasa la de diversificación del género en función de la precipitación, vemos dos cambios significativos que ocurren a los 0.6 y 0.75 Mya y con un aumento pronunciado en la tasa del rasgo hacia el presente a partir de los 0.7 Mya (Figura 3.7 y Tabla 3.5). El cambio que ocurre hace 0.6 Mya coincide para ambos rasgos, Temperatura Media Anual (BIO1) y Precipitación Anual (BIO12).



**Figura 3.7.** A) Tasas de diversificación y B) Tasa de evolución en el tiempo para la Precipitación Anual (BIO12).

Para las tasas de diversificación debido a rasgos como la altura y el volumen de los cactus no se presenta ningún cambio significativo a lo largo de las ramas y sólo a lo largo del tiempo con un leve aumento a partir de los 0.7 Mya, principalmente para la altura, ya que para el volumen en cambio es leve pero no pronunciado como lo muestra la Figura 3.8.



**Figura 3.8.** A) Tasas de diversificación y B) Tasa de evolución en el tiempo para la altura; C) Tasas de diversificación y D) Tasa de evolución en el tiempo para el volumen.

### III.5 Discusión

#### III.5.1 Relaciones entre variables

Las covariables temperatura y precipitación son significativas cuando se analizan contra las variables morfológicas como son la altura y volumen, lo cual significa que ambas variables ambientales tienen un impacto sobre la altura y el volumen de los cactus, siempre y cuando éstas covariables actúan solas y no en conjunto como se muestra en la Tabla 3.3. Siendo los valores de la verosimilitud marginal (Lh) de la altura y volumen de los cactus vs. la temperatura (covariable) el mejor valor.

Este resultado nos muestra que la temperatura tiene un impacto mayor sobre los rasgos morfológicos de altura y volumen de los cactus, que la precipitación, siendo este impacto positivo lo que quiere decir que a mayor temperatura mayor es la altura y el

volumen de los cactus o, dicho de otra forma, que la altura y volumen de los cactus cambian de acuerdo a diferentes condiciones de temperatura principalmente. Esto sugiere que mayor altura y volumen de la planta serían respuestas adaptativas a mayores niveles de temperatura o que responden a mayores temperaturas (Achimón et al., 2018; Ackerly, 2009).

Al evaluar los diferentes tipos de raíz y tallo de los cactus versus las variables precipitación y temperatura observamos que los resultados muestran que la raíz tipo fibrosa es significativamente más frecuente a mayor temperatura que las raíces tipo cono corto (CC) y tuberosa (T). Esto puede explicarse de la siguiente forma, a mayor precipitación las raíces tienen mayor disponibilidad de agua y no tienen que ser almacenadoras de agua como las cono corto y tuberosa (Figura 3.2). Otra forma de explicar este resultado es que las raíces tipo CC y T se presentan a menores precipitaciones que la raíz tipo fibrosa. Lo cual sugiere que le confiere una ventaja para adaptarse a estas condiciones.

Respecto a los diferentes tipos de tallos, los resultados nos muestran que el tipo de tallo subglobular (SG) está presente más que respecto a los otros dos: geófito (G) y subcolumnar (SC), lo cual sugiere que la forma SG permite almacenar mayor cantidad de agua para que la planta sobreviva en condiciones de mayor precipitación. En otras palabras, se puede decir que esta forma de tallo tiene la mejor relación área-volumen para su sobrevivencia (Figura 3.2).

Los resultados de las regresiones bivariadas de la variable temperatura versus tipo de raíz y tipo de tallo no son significativas y por lo que podemos decir que la temperatura no tiene una incidencia importante en estos rasgos y estos resultados nos permiten aceptar la hipótesis parcialmente (Tabla 3.4).

Con todos los resultados de los PGLS tenemos la evidencia de que la temperatura tiene una clara incidencia en la altura y volumen de los cactus, mientras que la precipitación en la forma de raíz y tallo, por lo que podemos aceptar parcialmente la hipótesis. Por tanto, la raíz fibrosa y el tallo SG son mayores a mayor precipitación, mientras que para la temperatura ningún tipo de raíz o tallo mostró ser predominante.

### III.5.2 Análisis diversificación

Las tasas de diversificación neta para el género *Eriogyne* no presenta ningún cambio significativo (Figura 3.5) pero si una leve disminución hacia el presente desde los 3 Mya (valor del máximo nodo de la filogenia). Esto significa que el tasa de variación de éste género ha venido disminuyendo hacia el presente, lo cual se puede ser consecuencia de la pérdida de habitat debido a la fragmentación del espacio que ocupaban las especies en el pasado. La radiación o diversificación de cactus se presentó claramente en dos periodos de tiempo, uno hace 20 Mya y otro a los 10 Mya, debido a la diferenciación de nicho (Arakaki et al., 2011; Hernández-Hernández et al., 2014; Moen & Morlon, 2014) pero esto no fue suficiente para contrarrestar la disminución en la tasa de diversificación que observamos desde los 2.5 Mya (Figura 3.5).

Cuando se evalúa las tasas de evolución en base a las variables climáticas precipitación y temperatura, se observa que ambas presentan cambios significativos en un periodo reciente, entre los 0.7 y 0.6 Mya y en dos nodos específicos, y en ambas el nodo 100 es común y además, donde para las especies de este clado el tipo de tallo subcolumnar o subglobular y el tipo de raíz tuberosa o fibrosa se presenta con mayor frecuencia. Este resultado se puede explicar debido a los cambios climáticos que se presentaron en durante el Último Máximo Glacial (LGM) que es el más reciente de una serie de más de 20 periodos interglaciares que caracterizan el Cuaternario y cuyo rol ha promovido la especiación y cambios en la distribución de las diferentes especies (Silva et al., 2018). En estos periodos las especies han sufrido expansiones y contracciones, se han formado refugios de vegetación que luego se expanden en los periodos interglaciares y de esto contribuye a los patrones de diversificación que vemos en la actualidad (Ramírez-Barahona & Eguiarte, 2012).

Por otro lado, tenemos las diferencias en precipitaciones presentes en el región Central-Sur de los Andes, que junto a su compleja geografía nos ayudan a explicar porque se presentan diferencias de precipitación en una misma región (Orellana et al., 2023) y como consecuencia las diferencias que observamos dentro del género *Eriogyne*.

Cuando analizamos los resultados de la evolución morfológica, las variables continuas de altura y el volumen de los cactus, observamos que estas no presentan ningún cambio significativo a lo largo de las ramas, pero si un leve aumento de las tasas en el tiempo, por lo tanto, la evolución de este género se ve influenciada más por las variables ambientales (temperatura y precipitación) que las morfológicas (altura y volumen de cactus).

Por otro lado, con los resultados de las regresiones filogenéticas se observa que la temperatura tiene una clara incidencia en la altura y volumen de los cactus, mientras que la precipitación en la forma de raíz y tallo, y esto nos lleva a aceptar parcialmente la hipótesis ya que la raíz fibrosa y el tallo SG son mayores a mayor precipitación, mientras que para la temperatura ningún tipo de raíz o tallo mostró valor significativo.

Las principales conclusiones de este trabajo son: i) que las variables climáticas o nicho climático (precipitación y temperatura) tienen impacto sobre rasgos morfológicos de los cactus del género *Eriosyce*, pero no actuando juntas y no sobre el mismo rasgo y ii) que la evolución de género se ve influenciada por la temperatura y la precipitación.

Por último, el principal aporte de este estudio es el análisis de aproximaciones de regresiones filogenéticas (PGLS) que consideren los diferentes modelos de evolución cuando la variable respuesta es de tipo discreta, como el tipo de raíz y tallo versus variables continuas como la temperatura y precipitación.

## CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN GENERAL

En esta tesis se analizó la relación ancestro descendiente dentro del género *Eriosyce* s. l. completándose la filogenia del género para estudiar los mecanismos que dan origen a los patrones de divergencia que observamos hoy y la contribución de las variables climáticas, precipitación y temperatura, como posibles impulsores de diversificación las Cactáceas que van desde el Desierto de Atacama a Chile mediterráneo. Los resultados reflejan que: i) el género *Eriosyce* es mucho más diverso de lo que hasta hoy se estimaba, ii) que se presenta convergencia morfológica en algunas de las especies y iii) que la temperatura y la precipitación tienen una incidencia en la evolución del género y en los caracteres morfológicos analizados.

### IV.1 Delimitación de especies

La existencia de complejos de especies apenas distinguibles es un fenómeno bien conocido en varios grupos de angiospermas (Henriquez et al., 2014; Grant, 1981), pero en Cactaceas este fenómeno apenas empieza a comprenderse tras las importantes revisiones de la familia que han agrupado gran parte de su diversidad (Hunt et al., 2006).

Una delimitación precisa de las especies es de gran importancia para establecer hipótesis precisas sobre el modo y el ritmo del origen evolutivo de las especies. En *E. curvispina* pueden delinearse dos hipótesis contrapuestas, un origen único con posterior di-vergencia de taxones intraespecíficos, o eventos de especiación independientes en los que se revelaría una mayor diversidad a nivel de especie.

Entre los resultados más importantes están i) que la "*E. curvispina*" local ha experimentado una reducción de su hábitat, lo que ha aumentado las posibilidades de endogamia y la reducción de la diversidad genética. ii) por otro lado, la reconstrucción filogenética con marcadores de ADNcp y ADNnucleares recuperó fuertes relaciones de los taxones dentro de *Eriosyce*, y muestra que el complejo *Eriosyce curvispina* es un grupo polifilético que agrupa al menos cuatro linajes evolutivos.

Estos resultados mejoran nuestra comprensión sobre el origen de un rico grupo endémico de cactáceas, para dimensionar más claramente su biodiversidad, y sugieren que una fracción de la flora del punto caliente de biodiversidad de Chile central mediterráneo puede ser críptica.

#### **IV.2 Evolución de rasgos climáticos y morfológicos.**

Las zonas áridas se caracterizan por niveles extremos de bajas precipitaciones, baja humedad relativa y altas temperaturas. Estas condiciones generan limitaciones severas al crecimiento y probabilidad de sobrevivencia de plantas. Ante estas fuertes presiones selectivas, las plantas han evolucionado hacia una serie de estrategias que les permiten responder a la poca disponibilidad de agua.

Las variaciones suculentas presentan una clara relación entre sus rasgos morfológicos y condiciones climáticas (Edwards, 2019; Aliscioni et al., 2021). Sin embargo, estudios que integren mecanismos evolutivos para explicar el origen de la diversidad morfológica de plantas en zonas áridas siguen siendo escasos pero muy necesarios para comprender cómo estas plantas se han adaptado a zonas consideradas históricamente difíciles para cualquier ser vivo. Planteamos la hipótesis que la altura, el volumen, la forma de la raíz y la forma del tallo de los cactus se originaron como una respuesta adaptativa integrada frente a las presiones selectivas ejercidas tanto por la temperatura como la precipitación.

Los resultados de las regresiones filogenéticas (PGLS) nos permiten concluir que la temperatura tiene una clara incidencia en la altura y volumen de los cactus, mientras que la precipitación en la forma de raíz y tallo, por lo que podemos aceptar parcialmente la hipótesis ya que la raíz fibrosa y el tallo subglobular son mayores a mayor precipitación. Mientras que para la temperatura ningún tipo de raíz o tallo mostró valor significativo.

La principal conclusión es que las variables climáticas (precipitación y temperatura) tienen impacto sobre rasgos morfológicos de los cactus del género *Eriosyce*, pero no actuando en sinergia. Este resultado nos muestra que estas variables tienen un efecto sobre la evolución del género.

A pesar de la amplia distribución e importancia de las zonas áridas y semiáridas, los estudios filogenéticos y de genética de poblaciones son todavía escasos, especialmente los que abordan los mecanismos que posibilitaron la diversidad genética que observamos en la actualidad (Toro-Nuñez, et al., 2020; Silva et al., 2018; Arakaki et al., 2011). La combinación de factores geográficos (topografía y variaciones climáticas) sumada a la variación de los gremios de polinización y, en épocas más recientes, a las actividades agrícolas, pueden ser factores importantes que estructuren la diversidad genética actual de las cactáceas, que es mayor de lo que lo que está reportada.

Esta información es fundamental para evaluar con precisión el riesgo de extinción y diseñar acciones de conservación eficientes, evitando pasar por alto especies altamente amenazadas en un paisaje cada vez más presionado por las actividades humanas.

Nuestro estudio aporta información que es vital y novedosa para entender la evolución de las cactáceas presentes en Chile.



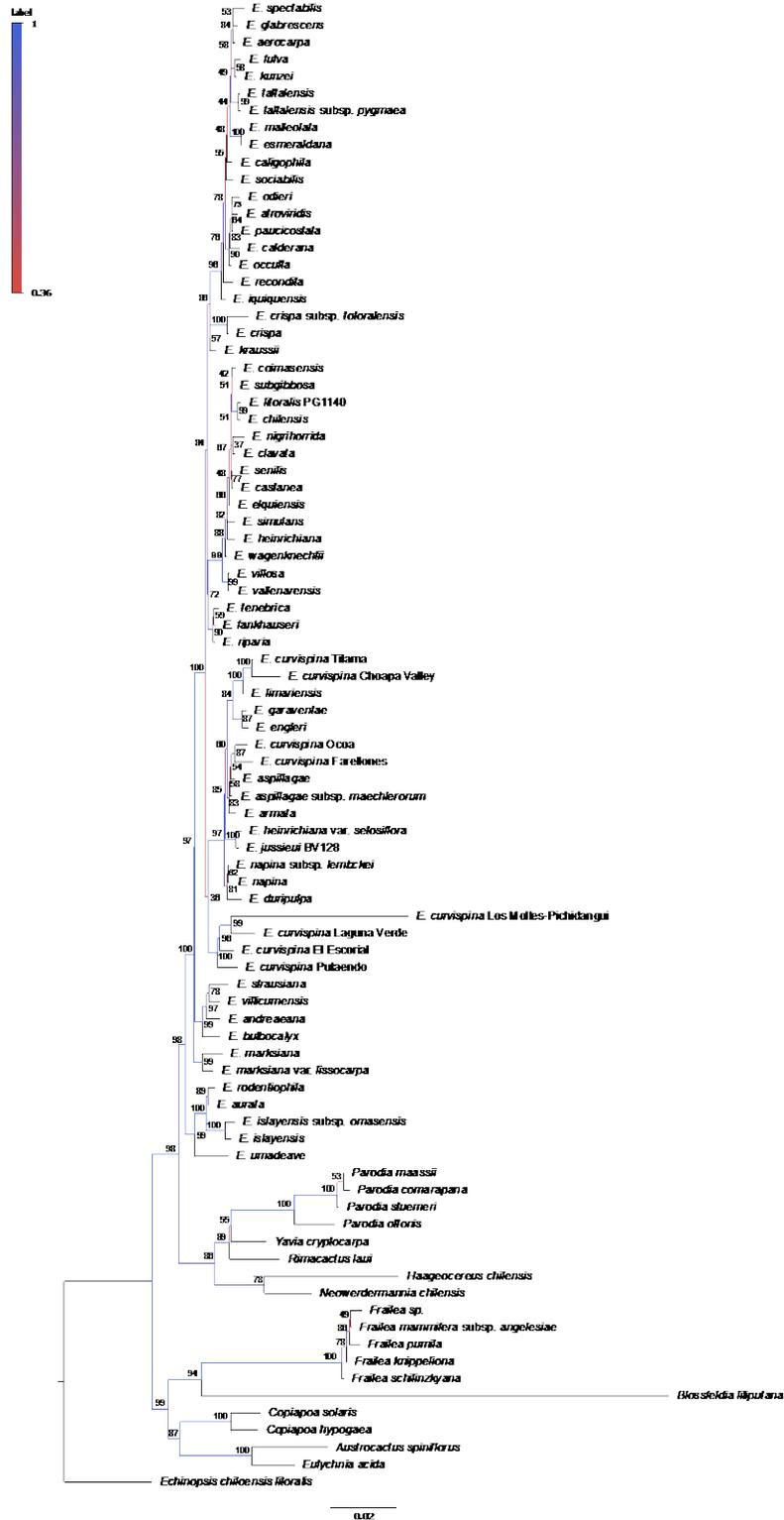
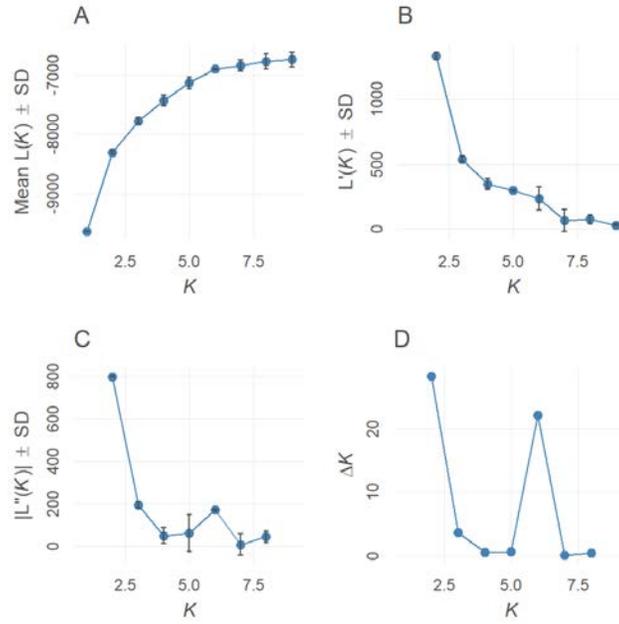
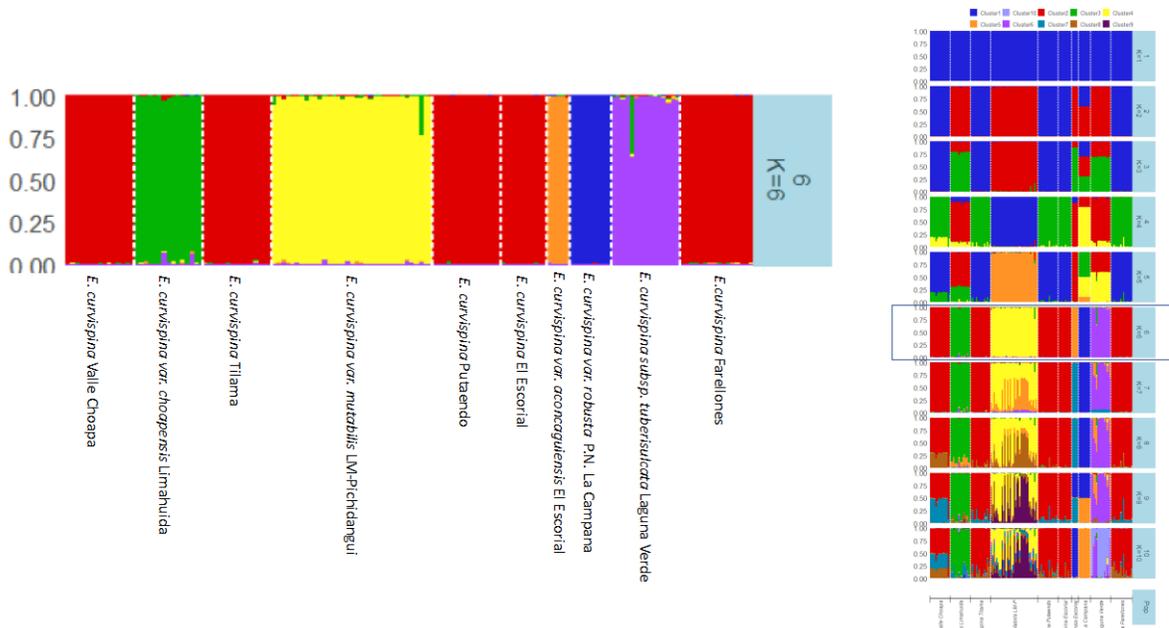


Figura S2: : Filogenia de *Eriosyce s.l.* con 117 individuos inferida con raxmlGUI con 30 millones de iteraciones y valores de bootstrap en los nodos.





**Figura S4:** Gráficos de Evanno correspondientes al análisis de microsatélites con STRUCTURE para 150 individuos del complejo *Eriosyce curvispina* con 12 microsatélites.



**Figura S5:** Gráfico de barras correspondientes al análisis de microsatélites con STRUCTURE para 150 individuos del complejo *Eriosyce curvispina* con 12 microsatélites donde K = 6 es valor que mejor representa el número de poblaciones.

**Tabla S1:** Imprimadores (primers) diseñados para el análisis de microsatélites con multiplex

<b>Nombre</b>	<b>Motivo</b>	<b>Secuencia Primer Izquierdo (5')</b>	<b>Secuencia Primer Derecho (3')</b>	<b>Ta (°C)</b>
<b>PS5</b>	CG	AACTAGGGAGTAGGAGTGTGTCAT	TGGGCTGCTAAAGGAAGAGA	61
<b>PS9</b>	GT	AAATCCCAAATCTGCGCAAC	ACGCCTGCTAAATTCTAGGGT	58
<b>PC2</b>	AG	TGTCGATTGGGCAAACATT	GCACTATGATCAGGTAAGTACC	58
<b>PC11</b>	TG	CAGCACAGTTAAGACTCAGGTCA	TAGACGGTCAAAGTGCTGCT	61
<b>PM10</b>	TC	GACTAGTTGGAGTCCGAAGCC	CCAGAAGTAGAGGAACCTACCC	61
<b>PA12</b>	TGC	GTGGGCCCTACAGGATGAT	CGGTAAGTATCGGAGCAA	58
<b>PM8</b>	GT	CCTAATGCAATGTCGCTCCT	CACATGTGGTCCCACACAAT	58
<b>PC10</b>	TC	GTTGTTCTGGGTACGGTTGG	TTTGTATGGCCGCTTGTTT	58
<b>PM6</b>	CT	ATGTCATGCACAATGCAGGT	AGTAATGGGCTGTGCGATTGG	61
<b>PC7</b>	GA	TCATTGTGGAACAATAGAGGGA	CTTCTGCCAGACCCATTGAT	58
<b>PM7</b>	GA	CAACCGTGAATAATGGAGAGA	ATGAGCCCAGCCTACCCT	58
<b>PA6</b>	GA	CATGCATAGTGCCATGAAGC	TGCATTCAAGCACAACCTCC	58

Ta = Temperatura de hibridación (annealing temperature)

## REFERENCIAS

- Aliscioni, N.L., Delbón, N.E., Gurvich, D.E. (2021) Spine function in Cactaceae, a review. *JPACD* 23, 1-11.
- Achimón, F., Johnson, L.A., Cocucci, A.A. *et al.* (2018) Species tree phylogeny, character evolution, and biogeography of the Patagonian genus *Anarthrophyllum* Benth. (Fabaceae). *Org Divers Evol* 18, 71–86. <https://doi.org/10.1007/s13127-017-0355-1>
- Ackerly, D (2009) Conservatism and diversification of plant functional traits: Evolutionary rates versus phylogenetic signal. *Proc Natl Acad Sci* 106:19699–19706. <https://doi.org/10.1073/pnas.0901635106>
- Amaral, D. T.; Minhós-Yano, I.; Oliveira, J. V. M.; Romeiro-Brito, M.; Bonatelli, I. A. S.; Taylor, N. P.; Zappi, D. C.; Moraes, E. M.; Eaton, D.; Franco, F. F. (2021) Tracking the xeric biomes of South America: The spatiotemporal diversification of Mandacaru cactus. *J. Biogeogr.* 48, 3085– 3103. DOI: 10.1111/jbi.14265
- Andrade, J. L., Barrera, E. D. L., ReyesGarcía, C., Ricalde, M. F., VargasSoto, G., & Cervera, J. C. (2007). El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (81),37-50. ISSN: 0366-2128.
- Anthelme, F., & Peyre, G. (2020). Biogeography of South American highlands, in *Earth Systems and Environmental Sciences*.
- Antonelli, A., Zizka, A., Carvalho, F.A., Scharna R., Bacon, C.D., Silvestro, D. & Condamine, F.L. (2018) Amazonia is the primary source of Neotropical biodiversity *PNAS*, 115(23), 6034-6039.
- Antonelli, A., & Sanmartín, I. (2011). Why are there so many plant species in the Neotropics? *Taxon*, 60(2), 403-414. <https://doi.org/10.1002/tax.602010>
- Arakaki, M., Christin, P.-A., Nyffeler, R., Lendel A., Eggli U., Ogburn R.M., Spriggs, E., Moore M.J. & Edwards, E.J. (2011) Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages *PNAS*, 108(20), 8379-8384.
- Arroyo, M.T.K., Marquet, P., Marticorena, C., Somoneti, J., Cavieres, L., Sequeo, F., Rozzi, R. & Massardo, F. (2008) El hotpot chileno, prioridad mundial para la conservación. pp. 90-93. In: Ugalde, R.J. & Stutzin, M. (eds). *Biodiversidad de Chile, Patrimonio y Desafíos*, CONAMA, Ocho libros editores, Santiago, Chile.
- Arroyo, M.T.K.; Primack, R.; Armesto, J. (1982) Community studies in pollination ecology in the high temperate andes of central Chile. I. Pollination mechanism and altitudinal variation. *Am. J. Bot.*, 69, 82-97. DOI: 10.1002/j.1537-2197.1982.tb13237.x
- Axelrod, D. I. (1967). Drought, diastrophism, and quantum evolution. *Evolution* 21(2), 201–209. [doi.org/10.1111/j.1558-5646.1967.tb00149.x](https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1967.tb00149.x)
- Bacon, C.D.; Velásquez-Puentes, F.J.; Hinojosa, L.F.; Schwartz, T.; Oxelman, B.; Pfeil, B.; Arroyo, M.T.K.; Wanntorp, L.; Antonelli A. (2018) Evolutionary persistence in *Gunnera* and the contribution of southern plant groups to the tropical Andes biodiversity hotspot. *PeerJ*, 6: e4388. DOI: 10.7717/peerj.4388
- BLAST <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

- Bickford, D.; Lohman, D.J.; Sodhi, N.S.; Ng, P.K.; Meier, R.; Winker, K.; Ingram, K.K.; Das, I. (2007) Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends Ecol. Evol.*, 22, 148–155. DOI: 10.1016/j.tree.2006.11.004
- Bogarín, D.; Pérez-Escobar, O.A.; Groenenberg, D.; Holland, S.D.; Karremans, A.P.; Lemmon, E.M.; Lemmon, A.R.; Pupulin, F.; Smets, E.; Gravendeel, B. (2018) Anchored hybrid enrichment generated nuclear, plastid and mitochondrial markers resolve the *Lepanthes horrida* (Orchidaceae: Pleurothallidinae) species complex. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 129, 27-47. DOI: 10.1016/j.ympev.2018.07.014
- Bolger, A. M.; Lohse, M.; Usadel, B. (2014) Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina Sequence Data. *Bioinformatics*, btu170. DOI: 10.1016/j.tree.2006.11.004
- Bonatelli, I.A.S., Perez, M.F., Peterson, A.T., Taylor, N.P., Zappi, D.C., Machado, M.C., Koch, I., Pires, A.H.C. and Moraes, E.M. (2014), Interglacial microrefugia and diversification of a cactus species complex: phylogeography and palaeodistributional reconstructions for *Pilosocereus aurisetus* and allies. *Mol Ecol*, 23: 3044-3063. <https://doi.org/10.1111/mec.12780>
- Böhnert, T., Luebert, F., Merklinger, F. F., Harpke, D., Stoll, A., Schneider, J. V., & Weigend, M. (2022). Plant migration under long-lasting hyperaridity—phylogenomics unravels recent biogeographic history in one of the oldest deserts on Earth. *New Phytologist*, 234(5), 1863-1875. <https://doi.org/10.1111/nph.18082>
- Bouckaert, R.; Heled, J.; Kühnert, D.; Vaughan, T.; Wu, C-H.; Xie, D.; Suchard, MA.; Rambaut, A.; Drummond, A. J. (2014) BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. *PLoS Computational Biology*, 10, e1003537. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1003537
- Brown, J. H., & Lomolino, M. V. (1998). *Biogeography*. 2nd ed. Sinauer Associates Publishers.
- Cádiz-Véliz, A.; Verdessi, F.; Carballo, G.O. (2021) Shrub canopy matrix decreases reproductive output of a sheltered plant via pollinator exclusion. *Basic Appl. Ecol.*, 56, 419-430. DOI: 10.1016/j.baae.2021.04.013
- Chapuis, M.P.; Estoup, A. (2007) Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol. Biol. Evol.*, 24, 621-631.
- Cavender-Bares, J. (2019) Diversification, adaptation, and community assembly of the American oaks (Quercus), a model clade for integrating ecology and evolution. *New Phytologist*, 221, 669–692. DOI: 10.1111/nph.15450.
- Cowling, R.M.; Rundel, P.W.; Lamont, B.B.; Arroyo M.K.; Arianoutsou, M. (1996) Plant diversity in mediterranean-climate region. *TREE*, 11, 362-366. DOI: 10.1016/0169-5347(96)10044-6
- Cardoso, S. D., Gonçalves, D., Robalo, J. I., Almada, V. C., Canário, A. V., & Oliveira, R. F. (2013). Efficient isolation of polymorphic microsatellites from high-throughput sequence data based on number of repeats. *Marine Genomics*, 11, 11-16. <https://doi.org/10.1016/j.margen.2013.04.002>
- Castro-Insua, A., Gómez-Rodríguez, C., Wiens, J.J. & Baselga, A. (2018) Climatic niche divergence drives patterns of diversification and richness among mammal families. *Scientific Reports*, 8, 8781
- Dominguéz, J.I.; Vergara, M.M.; Aguirre, R.; Barrera, D.; Montero, J.; Cáseres, L.; Egullor, P.; Espinoza, A.; García, A.; Reyes, A.; Pino, G.; Pizarro, M.J.; Tapia, B.; Acuña, D.; Laval, E.; Yañez, L.; Muñoz, M.; Cartes, G.; Contreras, P.; Valdés, A.; Galán, M. (2019) Panorama de la agricultura chilena., <https://www.odepa.gob.cl/>

- Donoghue, M.J., & Edwards, E.J. (2014). Biome shifts and niche evolution in plants. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 45, 547-572.
- Edwards, E.J. (2019) Evolutionary trajectories, accesibility and othes metaphors: the case of C<sub>4</sub> and CAM photosynthesis. *New Phytologist*, 223:1742-1755.
- Edwards, D. L., & Knowles, L. L. (2014). Species detection and individual assignment in species delimitation: can integrative data increase efficacy? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1777), 20132765. doi.org/10.1098/rspb.2013.2765
- Evanno, G.; Regnaut, S.; Goudet, J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Mol. Ecol.*, 14, 2611–2620. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x <http://pritch.bsd.uchicago.edu/structure.html>
- Evans, M. E., Smith, S. A., Flynn, R. S., & Donoghue, M. J. (2009). Climate, niche evolution, and diversification of the “bird-cage” evening primroses (*Oenothera*, sections *Anogra* and *Kleinia*). *The American Naturalist*, 173(2), 225-240. doi.org/10.1086/595757
- Finot, V.; Baeza, C.; Muñoz-Schick, M.; Ruiz, E.; Espejo, J.; Alarcón, D.; Carrasco, P.; Novoa, P.; Eyzaguirre, M.T. Guía de Campo Alstroemerias Chilenas. Corporación Chilena de la Madera: Concepción, Chile, 2018; pp. 1-292.
- Francis, R. M. (2017) pophelper: an R package and web app to analyse and visualize population structure. *Mole. Ecol. Resour.*, 17, 27–32. DOI: 10.1111/1755-0998.12509
- Futuyma, D.J. & Kirkpatrick, M., (2017) *Evolution*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, USA.
- García-Mendoza, A.J. (2010) Especie nueva de *Hymenocallis* (Amaryllidaceae) de Oaxaca y Puebla, Méxio. *Revista mexicana de biodiversidad*, 81, 625-628.
- Glade-Vargas, N.S.; Rojas, C.; Jara-Arancio, P.; Vidal, P.; Arroyo, M.T.K.; Hinojosa, L.F. (2021) Biography of *Argylia* D. Don (Bignoniaceae): Diversificación, Andean Uplift and Niche Conservatism. *Frontiers in Plant Science*, 12, 724058. DOI: 10.3389/fpls.2021.724058
- Grant, V. *Plant speciation*, 2nd ed., Columbia University Press, New York, NY, USA 1981.
- Giehl, E. L. H., & Jarenkow, J. A. (2012). Niche conservatism and the differences in species richness at the transition of tropical and subtropical climates in South America. *Ecography*, 35(10), 933-943. doi.org/10.1111/j.1600-0587.2011.07430.x
- Goettsch, B., Hilton-Taylor, C., Cruz-Piñón, G. et al., (2015) High proportion of cactus species threatened with extinction. *Nature Plants* 1(15142) <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.1427/doi:10.1038/nplants.2015.142>
- Goettsch, B., Durán, A.P. & Gaston, K.J. (2018) Global gap analysis of cactus species and priority sites for their conservation. *Conservation Biology*, 0(0), 1-8.
- Guerrero, P.C., Durán, A.P. & Walter, H.E. (2011a) Latitudinal and altitudinal patterns of the endemic cacti from the Atacama desert to Mediterranean Chile. *Journal of Environments* 75, 991-997. DOI: 10.1016/j.jaridenv.2011.04.036
- Guerrero, P.C., Arroyo, M.T.K., Bustamante, R.O., (2011b) Phylogenetics and predictive distribution modeling provide insights into the geographic divergence of *Eriosyce* subgen. *Neoporteria* (Cactaceae) *Plant Syst. Evol.* 297: 113–128.
- Guerrero, P.C., Arroyo, M.T.K., Bustamante, R.O., Duarte, M., Hagemann, T.K., Walter, H.E.

- (2011c). Phylogenetics and predictive distribution modeling provide insights into the geographic divergence of *Eriogyne* subgen. *Neoporteria* (Cactaceae). *Plant Syst Evol* **297**, 113  
<https://doi.org/10.1007/s00606-011-0512-5>
- Guerrero, P. C., Rosas, M., Arroyo, M. T., & Wiens, J. J. (2013). Evolutionary lag times and recent origin of the biota of an ancient desert (Atacama–Sechura). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(28), 11469-11474. doi.org/10.1073/pnas.13087211
- Guerrero, P.C.; Majure, L.C.; Cornejo-Romero, A.; Hernández- Hernández, T. (2019a). Phylogenetic Relationships and Evolutionary Trends in the Cactus Family. *Journal of Heredity*, *10*, 4–21. DOI: 10.1093/jhered/esy064
- Guerrero, P.C., Walter. H.E., Arroyo, M.T.K., Peña, C.M. Tamburrino, I. De Benidictis, M. & Larridon, I. (2019b). Molecular phylogeny of the large South American genus *Eriogyne* (Notocactaceae, Cactaceae): Generic delimitation and proposed changes in infrageneric and species ranks. *Taxon*, *68*(3): 557-5573. <https://onlinelibrary.wiley.com/toc/19968175/2019/68/3>.
- Guerrero, P.C., Antinao, C.A., Vergara-Meriño, B., Villagra, C.A., Carvallo, G.O. (2019c) Bees may drive the reproduction of four sympatric cacti in a vanishing coastal mediterranean-type ecosystem. *PeerJ*, *7*: e7865. DOI: 10.7717/peerj.7865.
- Gurvish, D.E.; Zeballos, S.R.; Demaio, P.H. (2014) Diversity and composition of cactus species along and altitudinal gradient in the Sierras del Norte Mountains (Córdoba, Argentina). *South African J. of Bot.*, *93*, 142-147. DOI: 10.1016/j.sajb.2014.03.018
- Gutiérrez-Flores, C.; García-De-León, F.J.; León-De la Luz, J.L.; Cota-Sánchez, J.H. (2016) Microsatellite genetic diversity and mating systems in the columnar cactus *Pachycereus pringlei* (CACTACEAE). *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.*, *22*, 1-10. DOI: 10.1016/j.ppees.2016.06.003
- Harrison, S., & Glasser, N. F. (2011). The Pleistocene glaciations of Chile. In *Developments in Quaternary Sciences* (Vol. 15, pp. 739-756). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S1571-0866\(04\)80115-5](https://doi.org/10.1016/S1571-0866(04)80115-5)
- Henriquez, C.L., Arias, T., Pires, J.C., Croat, T.B. & Schaal, B.A., (2014) Phylogenomics of the plant family Araceae. *Mol. Phylogenet. Evol.*, *75*, 91-102.
- Hernández-Hernández, T., Brown, J.W., Schlumberger, B. O., Eguiarte, L.E. & Magallón, S. (2014) Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the New World Succulent Biome. *New Phytologist*, *202*, 1382-1397.
- Hernández-Hernández, T. (2019) Evolutionary rates and adaptive radiations. *Biol. Philos.* *34*, 41. doi.org/10.1007/s10539-019-9694-y
- Hernández-Hernández, T., Miller, E. C., Román-Palacios, C. & Wiens, J. J. (2021) Speciation across the Tree of Life. *Biol. Rev.* *96*, 1205–1242. doi: 10.1111/brv.12698.
- Hernández-Hernández, T., Vásquez-Cruz, M., Loera, I., DelAngel, M. & Nakamura, M. (2023) Climatic niches provide insights into the evolutionary origins and ecological significance of the succulent CAM syndrome around the world. *bioRxiv* (n.d.) doi:10.1101/2023.05.02.539181.
- Hijmans, R.J., Guarino, L., Bussink, C., Mathur, P., Cruz, M., Barrentes, I., Rojas, E. (2004) DIVA-GIS. A geographic information system for the analysis of species distribution data. <http://www.diva-gis.org/>
- Hijmans, R.J., Cameron, S.E., Parra, J.L., Jones, P.G. & Jarvis, A. (2005) Very high resolution interpolated climate surfaces from global land areas. *International Journal of Climatology*, *25*, 1965–1978.

- Hinojosa, F.; Villagrán, C. Historia de los bosques del sur de Sudamérica, I: Antecedentes paleobotánicos, geológicos y climáticos del Terciario del cono sur de América. *Revista Chilena de Historia Natural*, 1997, 70, 225-239. <http://rchn.biologiachile.cl/es/contents/1997v70n2.php>
- Hinojosa, F., Villagrán, C., & Armesto, J.J. (2006) Are Chilean coastal forests pre-Pleistocene relicts? Evidence from foliar physiognomy, palaeoclimate, and phytogeography. *J. Biogeog.*, 33, 331-341. DOI: 10.1111/j.1365-2699.2005.01350.x
- Hinojosa, F.; Pérez, F.; Rougier, D.; Villagrán, C.; Armesto, J.J. Legados Históricos de la Vegetación de Bosque en Chile. In: *Ciencias Ecológicas 1983-2013 Treinta años de investigaciones chilenas*, Montecinos, V., Orlando, J., Eds.; Editorial Universitaria, Santiago, Chile, 2015, pp. 123-138. <https://www.researchgate.net/publication/282094231>
- Hoffman, A.E. & Walter, H.E. (2004) *Cactaceas en la flora silvestre de Chile*. Santiago, Chile: Ediciones Fundación Claudio Gay
- Hoorn, C., Palazzesi, L., & Silvestro, D. (2022). Editorial Preface to Special Issue: Exploring the impact of Andean uplift and climate on life evolution and landscape modification: From Amazonia to Patagonia. *Global and Planetary Change*, 211, 103759. [doi.org/10.1016/j.gloplacha.2022.103759](https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2022.103759)
- <https://australomics.cl/>
- [https://intarch.ac.uk/journal/issue11/rayadams\\_toc.html](https://intarch.ac.uk/journal/issue11/rayadams_toc.html)
- <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- <https://www1.montpellier.inra.fr/CBGP/software/FreeNA/>
- <https://www.r-project.org/> R version 3.6.3
- Hunt, D.R.; Taylor, N.; Charles, G. Eds. *The new cactus lexicon*, 1st ed., 2 vols. DH Books Milborne Port, U.K., 2006.
- IPBES. The IPBES regional assessment report on biodiversity and ecosystem services for the Americas. Rice, J., Seixas, C. S., Zaccagnini, M. E., Bedoya-Gaitán, M. Valderrama N., Eds.; Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services: Bonn, Germany, 2018; pp. 1-656. DOI: 10.5281/zenodo.3236252
- Jombart, T. (2008) Adegenet: A R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24, 1403–1405. DOI: 10.1093/bioinformatics/btn129
- Jombart, T., Devillard, S. & Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genet* 11, 94. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94>
- Katermann, F. (1994) *Eriosyce* (Cactaceae) The genus revised and amplified. Royal Botanical Garden, Kew, UK.
- Koch, M.A.; Kleinpeter, D.; Auer, E.; Siegmund, A.; del Rio, C.; Osses, P.; García, J-L.; Marzol, M.V.; Georg Zizka, G.; Kiefer, C. (2019) Living at the dry limits: ecological genetics of *Tillandsia landbeckii* lomas in the Chilean Atacama Desert. *Plant Syst. Evol.*, 305, 1041–1053. DOI: 10.1007/s00606-019-01623-0

- Korotkova, N.; Aquino, D.; Arias, S.; Eggli, U.; Franck, A.; Gómez-Hinostrosa, C.; Guerrero, P.C.; Hernández, H.M.; Kohlbecker, A.; Köhler, M.; Luther, K.; Majure, L.C.; Müller, A.; Metzinger, D.; Nyffeler, R.; Sánchez, D.; Schlumpberger, B.; Berendsohn, W. G. (2020) Cactaceae at Caryophyllales.org – a dynamic online species-level taxonomic backbone for the family. *Willdenowia*, 51, 251-270. DOI: 10.3372/wi.51.51208
- Lanfear, R., Frandsen, P. B., Wright, A. M., Senfeld, T., Calcott, B. (2016) PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. *Molecular biology and evolution*. DOI: dx.doi.org/10.1093/molbev/msw260
- Larridon, I., Walter, H.E., Guerro, P.C., Duarte, M., Cisternas, M.A., Peña-Hernández, C., Bauters, K., Asselman, P., Goetghebeur, P. & Samarin, M.-S. (2015) An integrative approach to understanding the evolution and diversity of Copiapoa (Cactaceae), a threatened endemic Chilean genus from Atacama Desert. *American Journal of Botany*, 102(9), 1506-1520.
- Lazo-Cancino, D., Rivera, R., Paulsen-Cortez, K., González-Berríos, N., Rodríguez-Gutiérrez, R., & Rodríguez-Serrano, E. (2020). The impacts of climate change on the habitat distribution of the vulnerable Patagonian-Fuegian species *Ctenomys magellanicus* (Rodentia, Ctenomyidae). *Journal of Arid Environments*, 173, 104016. DOI: 10.1016/j.jaridenv.2019.104016
- Li, B.; Lin, F.; Huang, P.; Guo, W.; Zheng, Y. (2020) Development of nuclear SSR and chloroplast genome markers in diverse *Liriodendron chinense* germplasm based on low-coverage whole genome sequencing. *Biol. Res.*, 53, 21. DOI: 10.1186/s40659-020-00289-0
- Li, W.; Liu, Y.; Yang, Y.; Xie, X.; Lu, Y.; Yang, Z.; Jin, X.; Dong, W.; Suo, Z. (2018) Interspecific chloroplast genome sequence diversity and genomic resources in *Diospyros*. *BMC Plant Biol.*, 18, 210. DOI: 10.1186/s12870-018-1421-3
- Luebert, F. (2021) The two South American dry diagonals. *Frontiers of Biogeography*, 13.4, e51267. DOI: 10.21425/F5FBG51267
- Magallón, S. & Vargas, P. (2012) Eucoliedoneas. In book: *El árbol de la vida: sistemática y evolución de los seres vivos*. Publisher: Impulso, S. A. Editors: Pablo Vargas and Rafael Zardoya.
- Masella, A.P.; Bartram, A.K.; Truszkowski, J.M.; Brown, D.G.; Neufeld, J.D. (2012) PANDAseq: paired-end assembler for illumina sequences. *BMC Bioinformatics*, 13. 31. DOI: 10.1186/1471-2105-13-31.
- Mauseth, J.D. and Plemons-Rodriguez, B.J. (1998), Evolution of extreme xeromorphic characters in wood: a study of nine evolutionary lines in Cactaceae. *Am. J. Bot.*, 85: 209-218. <https://doi.org/10.2307/2446308>
- Megléczy, E.; Pech, N.; Gilles, A.; Dubut, V.; Hingamp, P.; Trilles, A.; Grenier, R.; Martin, JF. (2014) QDD version 3.1: A user friendly computer program for microsatellite selection and primer design revisited: experimental validation of variables determining genotyping success rate. *Mol. Ecol. Resour.*, 14, 1302-13. DOI: 10.1111/1755-0998.12271
- Meirmans, P.G. (2020) GENODIVE version 3.0: Easy-to-use software for the analysis of genetic data of diploids and polyploids, *Mol. Ecol. Resour.*, 20, 1126-1131. DOI: 10.1111/1755-0998.13145.
- Merklinger, F. F., Böhnert, T., Arakaki, M., Weigend, M., Quandt, D., & Luebert, F. (2021). Quaternary diversification of a columnar cactus in the driest place on earth. *American Journal of Botany*, 108(2), 184-199. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1608>
- Moen, D., & Morlon, H. (2014). Why does diversification slow down? *Trends in Ecology & Evolution*, 29(4), 190-197. Doi: 10.1016/j.tree.2014.01.010

- Mortimer, S.M.E., Boyko, J., Beaulieu, J.M., Tank, D.C. (2022) Synthesizing Existing Phylogenetic Data to Advance Phylogenetic Research in Orobanchaceae. *Systematic Botany*, 47, 533-544. Doi:10.1600/036364422X16512564801560
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Da Fonseca, G. A., & Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403(6772), 853-858. <https://doi.org/10.1038/35002501>
- Orellana, H., Latorre, C., García, J. L., & Lambert, F. (2023). Spatial analysis of paleoclimate variations based on proxy records in the south-central Andes (18°-35° S) from 32 to 4 ka. *Quaternary Science Reviews*, 313, 108174. <https://doi.org/10.1016/j.quodiascirev.2023.108174>
- Orme, D., Freckleton, R., Thomas, G., Petzoldt, T., Fritz, S., Isaac, N., Pearse, W. (2018) <https://cran.r-project.org/web/packages/caper/index.html>
- Ornelas, J.F; Rodríguez-Gómez, F. (2015) Influence of Pleistocene Glacial/Interglacial Cycles on the Genetic Structure of the Mistletoe Cactus *Rhipsalis baccifera* (Cactaceae) in Mesoamerica. *J. Hered.*, 106, 196-210. DOI: 10.1093/jhered/esu113.
- Ortega-Baes, P.; Sühling, S.; Sajama, J.; Sotola, E.; Alonso-Pedano, M.; Bravo, S.; Godínez-Alvarez, H. (2010) Diversity and Conservation in the Cactus Family. In: Desert Plants; Ramawat K. Ed.; Springer: Berlin, Germany, pp. 157-173. DOI: 10.1007/978-3-642-02550-1\_8
- Ossa, C.G.; Montenegro, P.; Larridon, I.; Pérez, F. (2019) Response of xerophytic plants to glacial cycles in southern South America. *Ann. Bot.*, 124, 15-25. DOI: 10.1093/aob/mcy235
- Pagel, M. (1997) Inferring evolutionary processes from phylogenies. *Zoologica Scripta* 26(4): 331-348.
- Pagel, M. (1999) Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature* 401(6756): 877-884. <http://www.evolution.rdg.ac.uk/BayesTraitsV3.0.2/BayesTraitsV3.0.2.html>
- Pennell, M.W., Eastman, J.M., Slater, G.J., Brown, J.W., Uyeda, J.C. FitzJohn, R.G., Alfaro, M.E., Harmon, L.J. (2014) *Bioinformatics*, 30(15): 2216–2218. doi:10.1093/bioinformatics/btu181
- Peakall, R.; Smouse P.E. (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28, 2537-2539.
- Pérez-Escobar, O. A., Zizka, A., Bermúdez, M. A., Meseguer, A. S., Condamine, F. L., Hoorn, C., & Chomicki, G. (2022). The Andes through time: evolution and distribution of Andean floras. *Trends in Plant Science*. doi.org/10.1016/j.tplants.2021.09.010
- Pritchard, J.K.; Stephens, M.; Donnelly, P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945–959. DOI: 10.1093/genetics/155.2.945
- Rabosky, D.L. (2014) Automatic Detection of Key Innovations, Rate Shifts, and Diversity-Dependence on Phylogenetic Trees. *PLoS ONE* 9(2): e89543. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089543>
- Rambaut, A.; Drummond, A.J.; Xie, D.; Baele, G.; Suchard, M.A. (2018) Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer1.7. *Syst. Biol.*, 67, 901–904. Doi: 10.1093/sysbio/syy032.
- Ramírez-Barahona, S., & Eguiarte, L. E. (2013). The role of glacial cycles in promoting genetic diversity in the Neotropics: the case of cloud forests during the Last Glacial Maximum. *Ecology and evolution*, 3(3), 725-738. <https://doi.org/10.1002/ece3.483>

- Rendón-Macías, M. E., Riojas-Garza, A., Contreras-Estrada, D., & Martínez-Ezquerro, J. D. (2018). Análisis bayesiano. Conceptos básicos y prácticos para su interpretación y uso. *Revista Alergia México*, 65(3), 285–298. <https://doi.org/10.29262/ram.v65i3.512>
- Revell, L.J. (2012) phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution*, 3, 217-223.
- Ricklefs, R.E. (2007). Estimating diversification rates from phylogenetic information. *Trends in ecology & evolution*, 22(11), 601-610.
- Ritter, F. (1980) Kakteen in Südamerika 3. Chile. Spangenberg: Friedrich Ritter auto-publicación.
- Ronquist, F.; Teslenko, M.; Van der Mark, P.; Ayres, D.L.; Darling, A.; Höhna, S.; Larget, B.; Liu, L.; Suchard, M.A.; Huelsenbeck, J.P. (2012) MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst. Biol.*, 61, 539–542 DOI: 10.1093/sysbio/sys029
- Rose L. A.; Rieseberg. L. H. (2013) Divergence is focused on few genomic regions early in speciation: incipient speciation of sunflowers ecotypes. *Evolution*, 67, 2468–2482. [doi.org/10.1111/evo.12106](https://doi.org/10.1111/evo.12106)
- Rozen, S.; Skaletsky, H. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In: *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*; Krawetz, S.; Misener, S., Eds.; Humana Press, Totowa, NJ, 2000; 132, pp. 365-386
- Rozzi, R.; Arroyo, M.K.; Armesto, J.J. (1997) Ecological factors affecting gene flow between populations of *Anarthrophyllum cumingii* (Papilionaceae) growing on equatorial- and polar-facing slopes in the Andes of Central Chile. *Plant Ecology*, 132, 171–179. DOI: 10.1023/A:1009747118914
- Ruiz, E.; Balboa, K.; Negritto, M.A.; Baeza, C.M.; Fuentes, G.; Briceño, V. (2010) Variabilidad genética y morfología y estructuración poblacional en *Alstroemeria hookeri* subsp. *hookeri* (Alstroemeriaeae), endémica de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 83, 605-616.
- Rull, V. (2011). Neotropical biodiversity: timing and potential drivers. *Trends in ecology & evolution*, 26(10), 508-513. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.05.011>
- Sauquet, H., Weston, P. H., Anderson, C. L., Barker, N. P., Cantrill, D. J., Mast, A. R., & Savolainen, V. (2009). Contrasted patterns of hyperdiversification in Mediterranean hotspots. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(1), 221-225. <https://doi.org/10.1073/pnas.0805607106>
- Sassone, A.B.; Arroyo-Leuenberger, S.C.; Giussani, L.M. (2014) Nueva circunscripción de la tribu Leucocoryneae (Amaryllidaceae, Alliodeae). *Darwiniana*, 2, 197-206. DOI: [dx.doi.org/10.14522/darwiniana/2014.22.584](https://doi.org/10.14522/darwiniana/2014.22.584)
- Schemske, D. W., Mittelbach, G. G., Cornell, H. V., Sobel, J. M., & Roy, K. (2009). Is there a latitudinal gradient in the importance of biotic interactions?. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 40, 245-269. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173430>
- Schmieder, R.; Edwards, R. (2011) Quality control and preprocessing of metagenomic datasets. *Bioinformatics*, 27, 863-864. DOI: 10.1093/bioinformatics/btr026
- Schnitzler, J., Graham, C.H., Dormann, C.F., Schiffers, K. & Linder, H.P. (2012) Climatic niche evolution and species diversification in the Cape flora, South Africa. *Journal of Biogeography*, 39, 2201-2211.
- Scholl, J.P. & Wiens, J.J. (2016) Diversification rates and species richness across the Tree of Life. *Proc. R. Soc. B*, 283, 20161334.

- Segovia-Cortes, R. A. (2010). Filogeografía de *eucryphia cordifolia*: historia glacial y diversidad genética en los bosques templado lluviosos del sur de sudamérica.
- Seyfried, H., Worrier, G., Uhlig, D., Kohler, I., & Calvo, C. (1998). Introducción a la geología y morfología de los Andes en el norte de Chile. *Chungará (Arica)*, 30(1), 7-39  
<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-73561998000100002>
- Sheng-Dan, W., Lin-Jing Z., Li, L., Sheng-Xiang Y., Zhi-Duan C., & Wei, W. (2018) Insights into the historical assembly of global dryland floras: the diversification of Zygophyllaceae. *BMC Evolutionary Biology*, 18, 166.
- Silva, G.A.R.; Antonelli, A.; Lendel, A.; de Moraes, E.M.; Manfrin M.H. (2018) The impact of early Quaternary climate change on the diversification and population dynamics of a South American cactus species. *J. Biogeogr.*, 45, 76-88. DOI: 10.1111/jbi.13107
- Síntesis Agropecuaria-Encuestas Intercensales agropecuarias 2020-2021.  
<https://www.ine.cl/estadisticas/economia/agricultura-agroindustria-y-pesca>.
- Suo, Z.; Zhang, C.; Zheng, Y.; Zheng, Y.; He, L.; Jin, X.; Hou, B.; Li, J. (2012) Revealing genetic diversity of tree peonies at micro-evolution level with hyper-variable chloroplast markers and floral traits. *Plant Cell Rep.*, 31, 2199–2213. DOI: 10.1007/s00299-012-1330-0
- Testo, W.L. & Sundue, M.A. (2018) Are rate of species diversification and body size evolution coupled in the ferns? *American Journal of Botany*, 105(3), 1-11.
- Toro-Núñez, O.; Al-Shehbaz, I.A.; Mort, M.R. (2015) Phylogenetic study with nuclear and chloroplast data and ecological niche reveals Atacama (*Brassicaceae*), a new monotypic genus endemic from the Andes of the Atacama Desert, Chile. *Plant Syst. Evol.*, 301, 1377-1396. DOI 10.1007/s00606-014-157-y
- Toro-Núñez, O.; Lira-Noriega, A. (2020) Discordant phylogenetic endemism patterns in a recently diversified *Brassicaceae* lineage from the Atacama Desert: When choices in phylogenetics and species distribution information matter. *J. Biogeogr.*, 47, 1792-1804. DOI: 10.1111/jbi.13846
- Urbina, M.A.; Guerrero, P.C.; Jerez, V.; Lisón, F.; Luna-Jorquera, G.; Matus-Olivares, C.; Ortiz, J.L.; Pavez, G.; Pérez-Alvárez, M.J.; Riquelme-Bugueño, R.; Santos-Carvalho, M.; Sepúlveda, M.; Victoriano, P.F.; Gómez-Uchida, D. (2021) Extractivist policies hurt Chile's ecosystems. *Science*, 373(6560). DOI: 10.1126/Science.abm0157.
- Vallejos-Garrido, P., Pino, K., Espinoza-Aravena, N., Pari, A., Inostroza-Michael, O., Toledo-Muñoz, M., Castillo-Ravanal, B., Romero-Alarcón, V., Hernández, C. E., Palma, R. E. & Rodríguez-Serrano, E. (2023). The importance of the Andes in the evolutionary radiation of Sigmodontinae (Rodentia, Cricetidae), the most diverse group of mammals in the Neotropics. *Scientific Reports*, 13(1), 2207. doi.org/10.1038/s41598-023-28497-0
- Villagran, C. (2001). Un modelo de la historia de la vegetación de la Cordillera de La Costa de Chile central-sur: la hipótesis glacial de Darwin. *Revista chilena de historia natural*, 74(4), 793-803.
- Villagrán, C. (2018). Biogeografía de los bosques subtropical-templados del sur de Sudamérica. Hipótesis históricas. *Magallania (Punta Arenas)*, 46(1), 27-48. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-22442018000100027>
- Villagrán Moraga, C., & Armesto, J. J. (2005). Fitogeografía histórica de la Cordillera de la Costa de Chile.

Villagrán, C.; Hinojosa, F., Historia de los bosques del sur de Sudamérica, II: Análisis fitogeográfico. *Revista Chilena de Historia Natural*, 1997, 70, 241-267. <http://rchn.biologiachile.cl/es/contents/1997v70n2.php>

Villalobos-Barrantes, H.M., Meriño, B.M., Walter, H.E., Guerrero, P.C. (2022) Independent Evolutionary Lineages in a Globular Cactus Species Complex Reveals Hidden Diversity in a Central Chile Biodiversity Hotspot. *Genes*, 13, 240. <https://doi.org/10.3390/genes13020240>.

Walter, H. & Guerrero, P.C. (2022) Towards a unified taxonomic catalogue for the Chilean cacti: assembling molecular systematics and classical taxonomy. *Phytotaxa*, 550, 079-098.

Wang, Q., Wu, S., Su, X., Zang, L., Xu, X., Lyu, L., Cai, H., Shrestha, N., Liu, Y., Wang, W. & Wang, Z. (2018) Niche conservatism and elevated diversification shape species diversity in drylands: evidence from Zygophyllaceae. *Proceedings Royal Society B*, 285, 20181742

Wang, Y., & Yan, G. (2014) Molecular Phylogeography and Population Genetic Structure of *O. longilobus* and *O. taihangensis* (Opisthopappus) on the Taihang Mountains. *PLOS ONE*, 9(8), e104773. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104773>

Wiens, J.J. (2004) Speciation and ecology revisited: Phylogenetic niche conservatism and origin of species. *Evolution*, 58(1), 193-197.

Wiens, J.J. & Donoghue, M.J. (2004) Historical biogeographic ecology and species richness. *Trends Ecology and Evolution*, 19, 639-644.

Wiens, J.J., (2007) Species Delimitation: New Approaches for Discovering Diversity *Systematic Biology*, 56(6), 875–878. <https://doi.org/10.1080/10635150701748506>

WordClim (<http://www.worldclim.org/>)

Zalapa, J.E.; Price, D.L.; Kaeppeler, S.M.; Tobias, C.M.; Okada, M.; Casler, M.D. (2011) Hierarchical classification of switchgrass genotypes using SSR and chloroplast sequences: ecotypes, ploidy, gene pools, and cultivars. *Theor. Appl. Genet.*, 122, 805–817. DOI: 10.1007/s00122-010-1488-1