

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
CAMPUS LOS ÁNGELES
ESCUELA DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA VEGETAL**



**RECONSTRUCCIÓN DE LA HISTORIA EVOLUTIVA DE *MEGALACHNE* STEUD.
(POACEAE), GÉNERO ENDÉMICO DEL ARCHIPIÉLAGO DE JUAN FERNÁNDEZ**



**MEMORIA DE TÍTULO PARA
OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO
EN BIOTECNOLOGÍA VEGETAL**

**COLOMBA ROCÍO OLIVA ROCHA
LOS ÁNGELES-CHILE**

2022

Reconstrucción de la historia evolutiva de *Megalachne* Steud. (Poaceae), género endémico del Archipiélago de Juan Fernández.

Alumna

**Colomba Oliva Rocha
Ingeniero en Biotecnología Vegetal**

Profesora Guía

**MSc. Carol Peña Hernández
Colaboradora Docente
Bióloga**

Evaluador Externo

**Dr. Fernando Carrasco Urra
Académico Conferenciante
Biólogo**

Evaluador Externo

**Dra. Karen Balboa Silva
Profesora Asistente
Bióloga**

Jefe de Carrera

**Ing. Pedro Quiroz Hernández
Profesor Instructor
Ingeniero de Ejecución Forestal**

Directora de Departamento

**Dra. Marely Cuba Díaz
Profesora Titular
Bióloga**



Agradecimientos

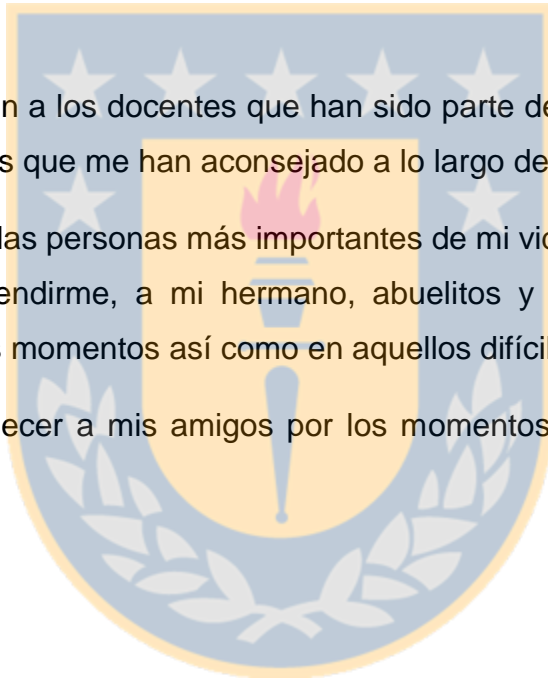
En primer lugar quisiera agradecer a todas aquellas personas que han sido parte de mi vida universitaria y por las experiencias vividas que me han traído hasta la culminación de esta etapa.

Comenzando con mi profesora guía Carol Peña por su constante apoyo, orientación y motivación durante estos últimos años de carrera, sobre todo por la paciencia así como la disponibilidad para aclarar dudas no solo con respecto a esta memoria de título, sin duda estoy muy agradecida por haber realizado este último proyecto junto a una excelente docente.

Agradecer también a los docentes que han sido parte de mi formación académica y especialmente a aquellos que me han aconsejado a lo largo de estos años.

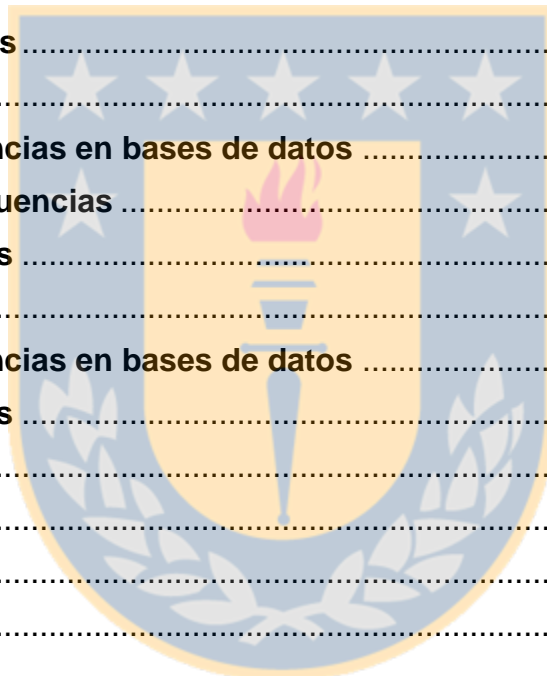
Dar las gracias a las personas más importantes de mi vida, mi mamá por su apoyo y enseñanza de nunca rendirme, a mi hermano, abuelitos y familia por su apoyo y su compañía en los buenos momentos así como en aquellos difíciles.

Finalmente agradecer a mis amigos por los momentos compartidos, las risas, los consejos y el apoyo.



Índice de Contenidos

	Páginas
Resumen	6
Abstract.....	2
Introducción.....	3
Marco Teórico	6
Hipótesis	11
Objetivos	12
Objetivo General.....	12
Objetivos Específicos.....	12
Metodología	13
Búsqueda de secuencias en bases de datos	13
Alineamiento de secuencias	13
Análisis filogenéticos	13
Resultados	15
Búsqueda de secuencias en bases de datos	15
Análisis filogenéticos	15
Discusión	19
Conclusiones	22
Bibliografía.....	23
Anexo	32

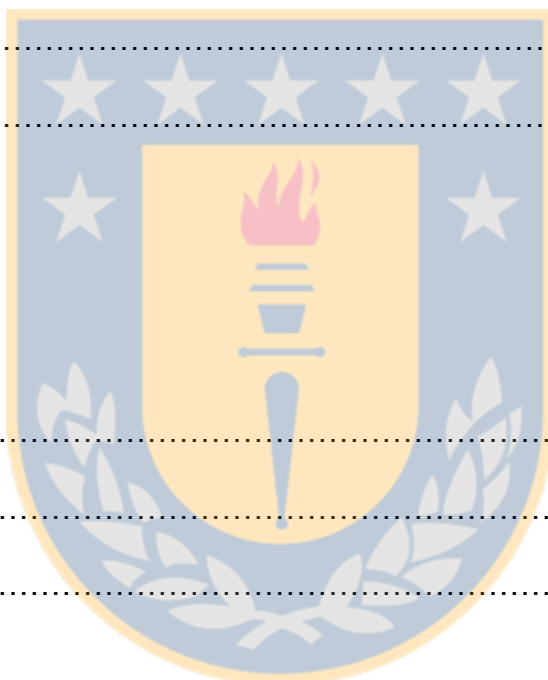


Índice de Figuras

	Páginas
Figura 1.....	7
Figura 2.....	8
Figura 3.....	10
Figura 4.....	16
Figura 5.....	17
Figura 6.....	18

Índice de Tablas

	Páginas
Tabla 1.....	32
Tabla 2.....	35
Tabla 3.....	36



Lista de Abreviaturas

ITS: Espaciador Transcrito Interno

ETS: Espaciador Transcrito Externo

matK: gen maturasa K

rbcL: gen Ribulosa 1, 5-Bisfosfato Carboxilasa/oxigenasa (RuBisCo)

MMA: Ministerio del Medio Ambiente

NGS: Secuenciación de nueva generación

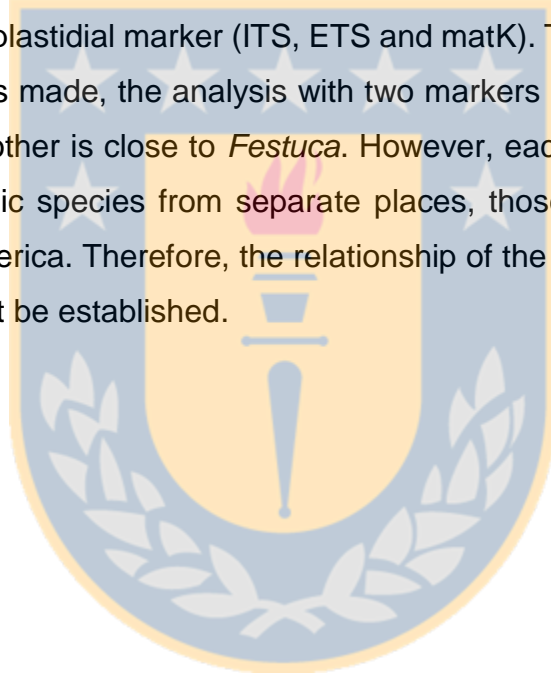


Resumen

Megalachne es un género endémico del archipiélago de Juan Fernández perteneciente a la familia Poaceae fue descrito en 1854 por Steudel y cuenta con 4 especies, las que se encuentran calificadas en riesgo de extinción de acuerdo a las categorías de amenazas establecidas por el MMA. Desde que fue descrito el género ha pasado por diversas posiciones filogenéticas debido a que no ha existido un consenso, por lo cual no se han podido tomar las medidas correspondientes de acuerdo al riesgo de extinción que poseen. En la actualidad se ha establecido al género *Megalachne* como cercano al género *Festuca* así como en otros casos se ha catalogado como parte de dicho género. Por lo cual para esclarecer la filogenia se utilizaron 2 marcadores moleculares nucleares (ITS y ETS) y 1 marcador molecular cloroplastidial (*matK*). Para determinar la filogenia se realizó un análisis bayesiano donde se obtuvo que dos de los tres árboles presentaban al género como cercano a *Vulpia*, mientras que uno lo presentaba cercano a *Festuca*. Sin embargo, cada uno de los árboles estableció relación con especies endémicas de distintos lugares, siendo estos Europa-Asia, Norte America y America del Sur. Por lo cual no se pudo establecer la relación del género *Megalachne* con el género *Festuca*.

Abstract

Megalachne is an endemic genus from Juan Fernandez Island located in the Poaceae Family, It was described in 1854 by Steudel, and comprises 4 species, all of them are classified as at risk of extinction according to the category of threats determined by the MMA. Since the genus was described, it has been located in different phylogenetics positions, the lack a consensus, have been made difficult to take accurate measures according to the extinction risk of species have. Currently, the genus *Megalachne* has been established closes to *Festuca*, as well as in other cases it has been cataloged as part of the genus. The goal of this study is to clarify the phylogeny position of *Megalachne*, for that was used two nuclear markers and one chloroplastidial marker (ITS, ETS and matK). To determine the phylogeny, a Bayesian analysis was made, the analysis with two markers *Megalachne* is placed close to *Vulpia*, and with the other is close to *Festuca*. However, each of the trees established a relationship with endemic species from separate places, those being Europe-Asia, North America, and South America. Therefore, the relationship of the genus *Megalachne* with the genus *Festuca* could not be established.



Introducción

La familia Poaceae es cosmopolita con 11.506 especies, 768 géneros, 12 subfamilias, 52 tribus y 90 subtribus (Kellogg, 2015; Soreng et al., 2015, 2017). De las 12 subfamilias que actualmente se reconocen en la familia Poaceae, la subfamilia Pooideae es la más grande, comprende 202 géneros, 15 tribus y 3.968 especies distribuidas en todo el mundo (Soreng et al., 2017). Dentro de estas subfamilias, la Pooideae es la más importante desde el punto de vista económico y ecológico de todas las gramíneas de climas templados y han demostrado ser monofiléticas en todas las filogenias moleculares hasta la fecha (Kellogg, 2015). En los últimos años se han realizado estudios filogenéticos que han permitido comprender la historia, evolución y clasificación de este grupo, sin embargo, existen desacuerdos en la posición filogenética en algunos de los géneros que la conforman (Kellogg, 2015; Soreng et al., 2015, 2017), en especial en grupos sin importancia económica que han sido poco estudiados, como es el caso del género *Megalachne* Steud. El cual a pesar de no poseer importancia económica presenta una importancia desde el punto de vista genético.

Megalachne es un género endémico del Archipiélago de Juan Fernández, descrito por Steudel en 1854 y cuenta con 4 especies, las cuales se encuentran presentes en las Islas de Robinson Crusoe (Masatierra) *M. berteroniana* Steud. y *M. robinsoniana* C. Peña y Alejandro Selkirk (Masafuera) *M. masafuerana* (Skotts. & Pilg. Ex. Pilg) Matthei y *M. dantonii* Penneck. & Gl. Rojas. Los autores que han realizado estudios en este género desde que fue descrito hasta la fecha no han llegado a un consenso sobre la posición filogenética de *Megalachne*. Se han propuesto diferentes posiciones dentro de la familia Poaceae, esto basado principalmente en la morfología, existen algunos estudios que han trabajado con los marcadores de ADN nuclear no codificante como el espaciador transcrito interno (ITS) y marcadores cloroplastidiales como el gen *maturasa* K (*matK*), pero el número de taxones incorporados ha sido variable, por lo que los resultados son variables también (Moreno-Aguilar et al., 2020; Peña, 2007; Schneider et al., 2011, 2012).

Los marcadores moleculares han demostrado ser muy útiles para definir o separar taxones ellos corresponden a secuencias de ADN en regiones específicas del genoma (Dar et al., 2019), estos se han utilizado en las últimas décadas como herramientas poderosas

para el análisis de la variación genética. La región de ADN nuclear no codificante que se ha utilizado ampliamente para la reconstrucción filogenética a nivel genérico y específico es el espaciador transcrito interno (ITS). ITS es ampliamente utilizado en la taxonomía de especies de diferentes grupos de plantas para la individualización y estudios filogenéticos moleculares debido a su naturaleza ubicua y rápida evolución (Ghosh et al., 2017). El uso de marcadores moleculares, sobre todo de ITS ha ayudado a esclarecer la filogenia en diversas familias, subfamilias, tribus, subtribus y especies de plantas (Alaklabi, 2021; Chantarasuwan et al., 2015; Choo et al., 2009; Cossard et al., 2016; Marakli, 2018; Sang et al., 1995). Una ventaja de usar la región ITS como marcador estándar es que muchas especies de plantas se han identificado en base a esta región genómica (Marakli, 2018).

Como parte de la misma unidad transcripcional, el espaciador transcrito externo (ETS) también ha sido útil en filogenia de las plantas, ya que comparte las mismas características favorables que ITS, sin embargo, ETS evoluciona más rápido y contiene más señales filogenéticas que ITS en plantas, también las comparaciones de secuencias de ETS indican que representa un instrumento más valioso para el análisis filogenético que ITS (Fijridiyanto & Murakami, 2019; Poczai & Hyvönen, 2009). Las secuencias del marcador ETS combinadas con otros marcadores han sido importantes para resolver relaciones filogenéticas de varios taxones de diferentes grupos de angiospermas (Baldwin & Markos, 1998; Barrett et al., 2018; Markos & Baldwin, 2001; Nauheimer et al., 2019; Čalasan et al., 2022). Sin embargo, hay menos secuencias disponibles para el marcador ETS en comparación con ITS.

Los marcadores cloroplastidiales son ampliamente usados, el gen *maturasa K* (*matK*) debido a su eficacia, a su tasa de mutación y a un nivel de precisión más específico que otros genes se utiliza ampliamente para la identificación, por lo cual ha sido considerado como un gen invaluable en estudios sistemáticos y evolutivos de plantas (Chattopadhyay et al., 2017; Dermawan et al., 2020; Probojati et al., 2021; Suriani et al., 2021). Debido a esto *matK* se está utilizando como marcador molecular en la sistemática vegetal para reconocer la diversidad entre plantas (Thakar et al., 2016).

En este trabajo se seleccionaron los tres marcadores moleculares más utilizados, ITS, ETS y *matK*, con los cuales se realizaron análisis filogenéticos obteniendo árboles filogenéticos para compararlos entre ellos con el objetivo de establecer el probable linaje continental más cercano al género *Megalachne*.



Marco Teórico

Las plantas endémicas se caracterizan por tener una distribución geográfica limitada a un área única, en la que se encuentran de forma natural (Coelho et al., 2020). Las especies endémicas se pueden clasificar de acuerdo al tamaño del área donde residen, van desde endémicas locales hasta endémicas continentales. Las especies que viven en un área geográfica restringida se encuentran especialmente vulnerables, esto es aún mayor en las especies que viven en territorios insulares aumentando su riesgo de extinción (Coelho et al., 2020; Finot et al., 2017). Las especies endémicas son de gran importancia biológica porque proporcionan una diversidad genética única. En este aspecto, Chile se caracteriza por tener un alto porcentaje de flora endémica; en promedio, en el territorio se encuentran un total de 2145 (39,2%) plantas endémicas, de las que 1330 (62%) se encuentran en islas oceánicas (Arroyo et al., 2008; Finot et al., 2017; Rodríguez et al., 2018; Stuessy et al., 1992).

El Archipiélago de Juan Fernández es un conjunto de islas oceánicas ubicado en el océano Pacífico al oeste de la costa de Chile central, frente al puerto de San Antonio (Stuessy, 2020; Vargas-Gaete et al., 2014). La vegetación que se encuentra presente se debe a una colonización de especies de diferentes orígenes y ecosistemas, las cuales al quedar resguardadas en el Archipiélago y debido al aislamiento geográfico de este, es que produjo una especiación en las islas diferenciándose de sus ancestros (Penneckamp, 2018; Stuessy, 2020; Vargas-Gaete et al., 2014). La flora de Juan Fernández es uno de los ecosistemas insulares con mayor cantidad de especies endémicas por kilómetro cuadrado a nivel mundial, esta biodiversidad corresponde a más del 5% de las plantas vasculares endémicas de Chile en sólo el 0,01% de su territorio (Vargas *et al.* 2011). La flora (nativas y endémicas) del Archipiélago considerando de manera independiente (taxones), especies, subespecies y variedades se compone de: 66 helechos, 41 monocotiledóneas y 120 dicotiledóneas, siendo en total 227 taxones silvestres de los cuales 135 (65%) son endémicos y 73 (35%) nativos (Penneckamp, 2019; Stuessy, 2018, 2020).

Megalachne del griego μέγα, mega, grande y achne, arista; en alusión al tamaño de éstas, es un género endémico del Archipiélago de Juan Fernández perteneciente a la familia Poaceae. Este género cuenta con 4 especies *M. berteroniana* Steud y *M. robinsoniana* C. Peña (fig.1) endémicas de la isla Robinson Crusoe (Masatierra), *M. masafuerana* (Skotts. & Pilg.) Matthei y *M. dantonii* Penneck. & Gl. Rojas, endémicas de la Isla Alejandro Selkirk (Masafuera) (fig. 2). Las cuatro especies actualmente se encuentran calificadas en riesgo de extinción, *M. berteroniana* está clasificada como vulnerable (DS 33/2011 MMA), *M. robinsoniana* en peligro (Stuessy et al., 2018), *M. masafuerana* (DS 33/2011 MMA) y *M. dantonii* en peligro crítico (Penneckamp & Rojas, 2019).

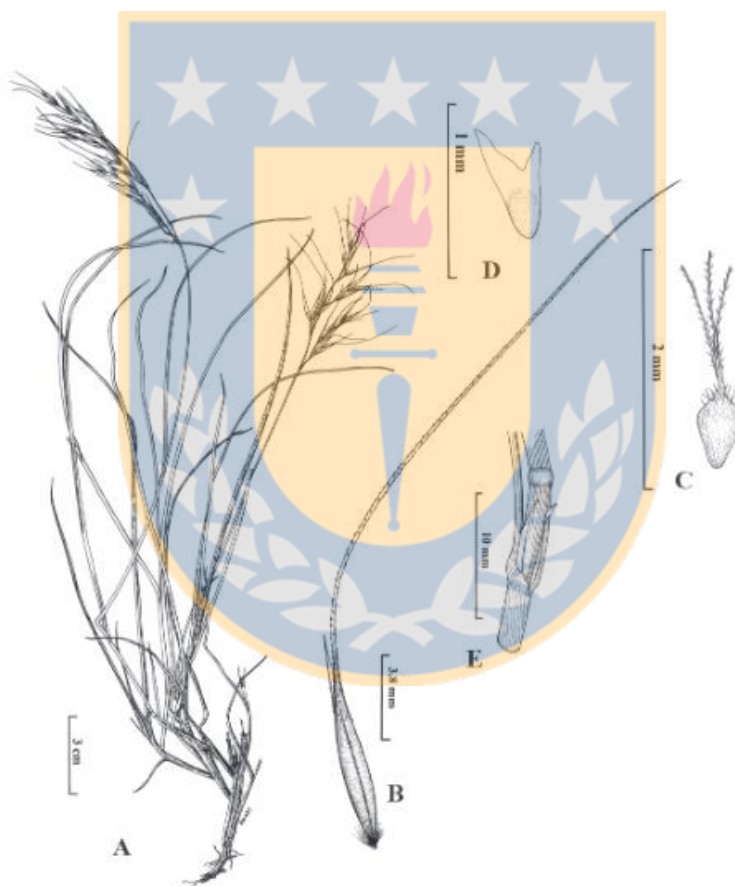


Figura 1. *Megalachne robinsoniana*. A. Planta; B. Antecio; C. Ovario; D. Lodícula; E. Lígula (A-E tipo, Faúndez s.n) (Peña et al., 2017).

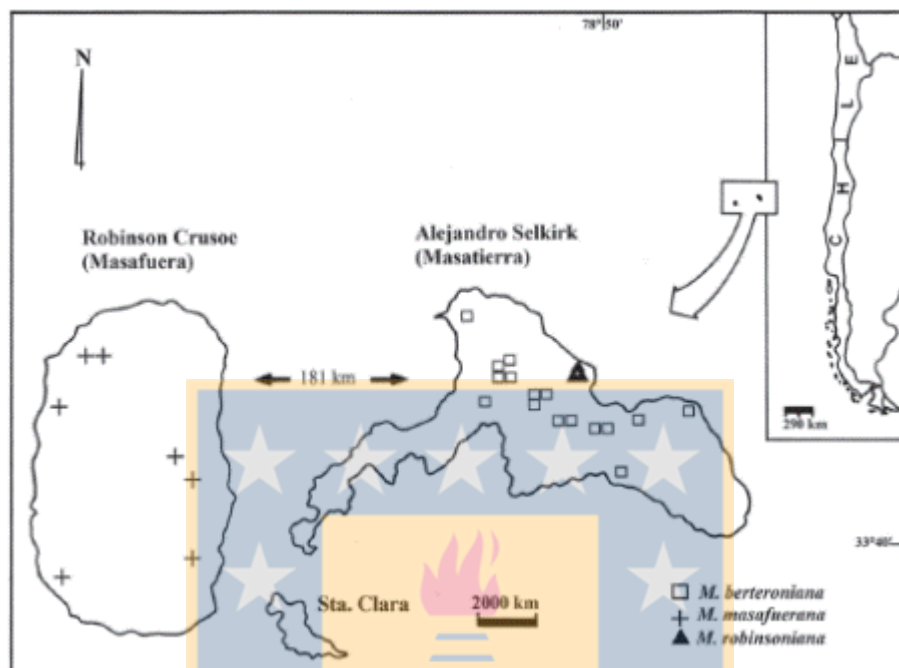


Figura 2. Mapa de distribución de las especies de *Megalachne* en el archipiélago de Juan Fernández (Peña et al., 2017).

El género fue descrito por Steudel en 1854 como cercano al género *Bromus*. En la actualidad se encuentra dentro de la tribu Poeae, perteneciente a la familia Poaceae. Sin embargo, desde que fue descrito hasta la actualidad se ha considerado miembro de diferentes tribus e incluso se ha llegado a considerar como sinónimo de otro género. R. A. Phillipi en 1856 describe el género *Pantathera*. Sin embargo, Hackel en 1887 trata al género *Pantathera* como sinónimo de *Megalachne*. Pilger, 1920 transfiere *Megalachne* a *Bromus* debido a que algunas características morfológicas muestran relación con la sección *Ceratochloa*. Skottsberg en 1922 transfiere *Pantathera* a *Bromus*. Sin embargo, Pilger en 1954 reconoce a *Megalachne* como un género diferente a *Bromus*. Tateoka en 1962 sugiere la cercanía del género *Megalachne* a *Festuca*. Matthei en 1974 reconoce a *Megalachne* como un género independiente de *Bromus* debido a diferencias morfológicas entre los géneros como la formación de estilos el cual en *Megalachne* ocurre en el ápice del ovario mientras que en *Bromus* es en la parte lateral del ovario. Soreng et al., 2003 asigna al género

a la tribu Stipeae subtribu Duthieinae. Peña en 2007 comprueba cercanía entre *Megalachne* y géneros de la tribu Poeae mediante análisis morfológicos y moleculares. Schneider en 2011 sugiere que el género pertenece al complejo Aveneae/Poeae debido a diferencias moleculares y morfológicas con la tribu Duthieae, tales como la arista de la lemma que en *Megalachne* es apical, mientras que en Duthieae surge de un seno en el ápice. Schneider en 2012 mediante análisis moleculares señala que los datos corroboran que *Megalachne* es un elemento del linaje *Festuca*, en el mismo año Romaschenko demuestra mediante datos moleculares y extensión morfológica que el género debe ser incluido en la tribu Poeae subtribu Loliinae.

Moreno-Aguilar et al. (2020) reconstruyeron las relaciones entre los taxones de *Megalachne* y *Podophorus* e infirieron su filogenia, identificando los parientes más cercanos de las gramíneas fernandezianas, estimaron los tiempos de divergencia de los linajes e infirieron los patrones de colonización y eventos de especiación de *Megalachne* y *Podophorus* en el Archipiélago de Juan Fernández. De hecho, muestran que *Megalachne* y *Podophorus* son géneros hermanos y se encuentran en el clado fernandeziano, cercano a *Festuca* debido a que comparten fenotipo “vulpioide” el cual podría deberse a un ancestro común. Este estudio se realizó utilizando muestras representativas de *Megalachne* (*M. berteroriana* y *M. masafuerana*), *Podophorus* y otros géneros de Loliinae (en su mayoría muestras del género *Festuca*) donde se obtuvo una división principal de linajes Loliinae de hoja ancha frente a hoja fina y se establece el clado fernandeziano, el cual queda entre los clados de *Festucas* y no como un clado independiente de este género (fig. 3).

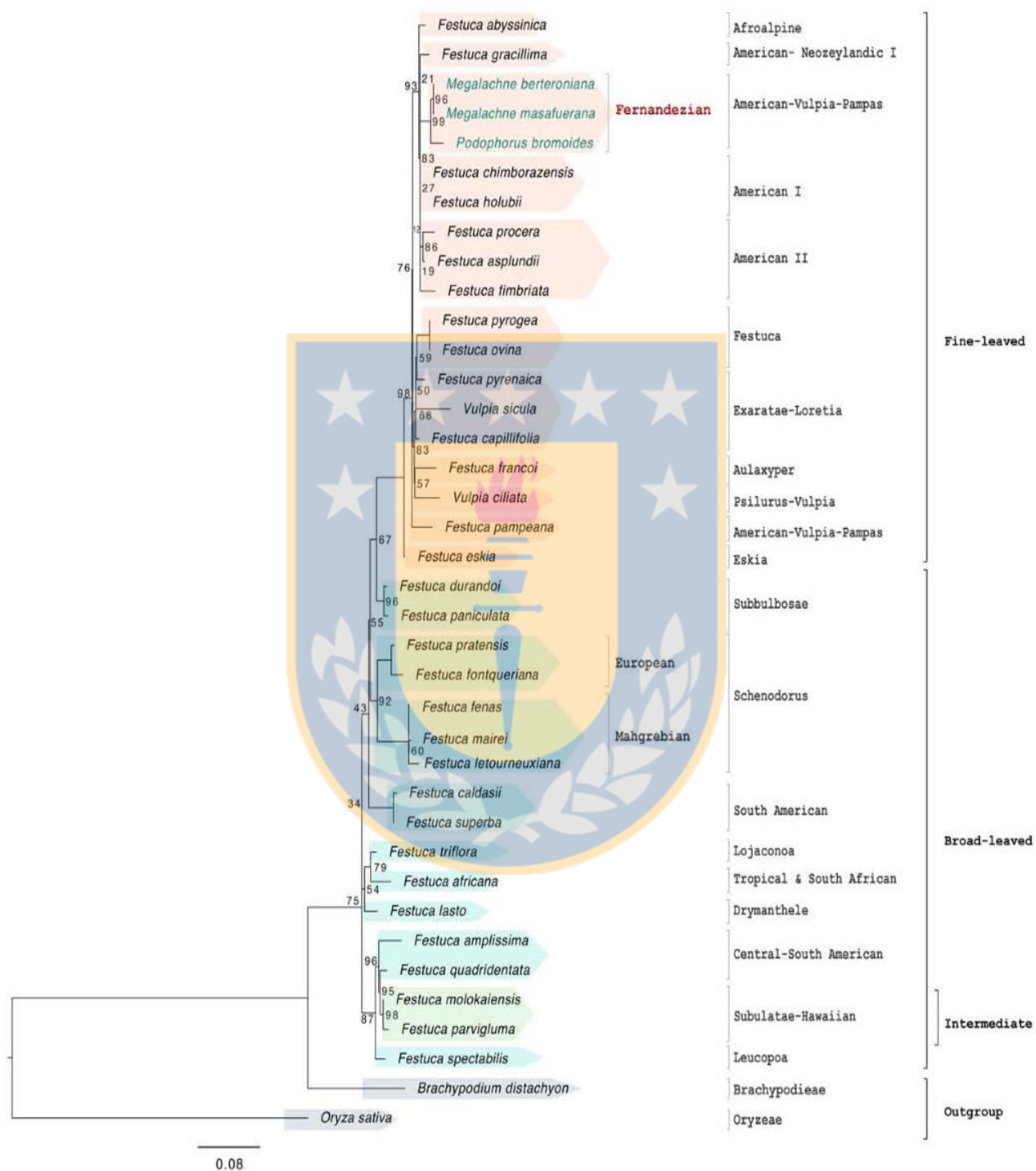


Figura 3. Árbol filogenético basado en secuencias de ITS donde se puede observar los géneros *Megalachne* y *Podophorus* como un clado monofilético dentro del género *Festuca* (Moreno-Aguilar et al., 2020).

Debido a que desde que se describió este género a la fecha ha pasado por diferentes posiciones dentro de la familia Poaceae y que se han realizado estudios usando solo algunos géneros o tribus que podrían estar relacionadas (Moreno-Aguilar et al., 2020; Romaschenko et al., 2012; Schneider et al., 2011, 2012) incluyendo solo parte de la información disponible, es que se busca realizar un análisis más amplio. Lo anterior nos permitiría establecer cuál podría ser el linaje continental más cercano a *Megalachne* se comparará con las distintas tribus en las cuales ha estado ubicado, para esto se utilizarán secuencias provenientes de GenBank, así como secuencias propias de *Megalachne* sin publicar, las cuales posteriormente serán subidas a esta base de datos, la que es el repositorio de secuencias más completo y ampliamente utilizado en el campo de la investigación.



Hipótesis

El género *Megalachne* pertenece a la tribu Poeae siendo cercano al género *Festuca*, con el que comparte un ancestro reciente pero es independiente de este.

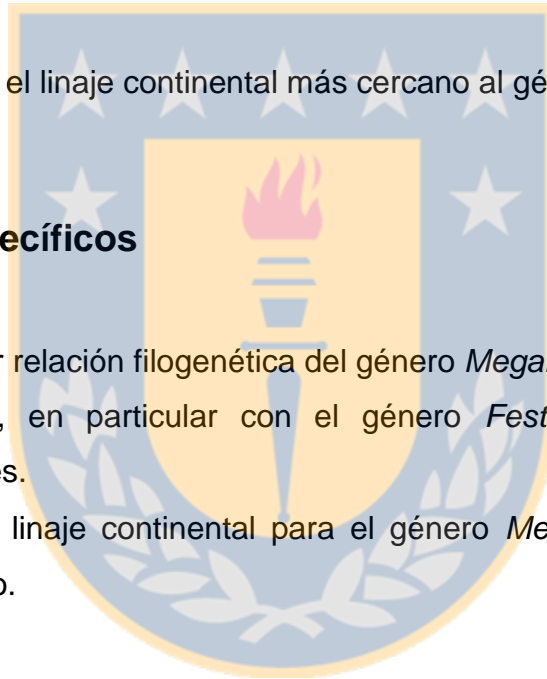
Objetivos

Objetivo General

- Establecer el linaje continental más cercano al género *Megalachne*.

Objetivos Específicos

- Determinar relación filogenética del género *Megalachne* con otros géneros de gramíneas, en particular con el género *Festuca* utilizando marcadores moleculares.
- Establecer linaje continental para el género *Megalachne* mediante análisis filogenético.



Metodología

Búsqueda de secuencias en bases de datos

Para los análisis bioinformáticos se utilizaron secuencias provenientes de Genbank, donde se buscaron los marcadores disponibles para *Megalachne*. En total se encontraron 4 marcadores, los cuales fueron ITS (63 géneros, 239 especies), ETS (38 géneros, 119 especies), *matK* (58 géneros, 208 especies) y *rbcL* (3 géneros, 8 especies) de los que solo se utilizaron los primeros 3 para los diferentes géneros que se analizaron en el estudio. Se determinó que las especies que se utilizaron en este estudio son aquellas con las que se ha relacionado al género *Megalachne* ya sea por tribu o porque se consideraba dentro de otro género.

Alineamiento de secuencias

Las secuencias se alinearon utilizando MAFFT7 ver. Online (Kuraruru et al., 2013; Kato et al., 2017) y se editaron manualmente en Bioedit ver. 7.2.5 (Hall, 2013). El alineamiento se realizó para cada marcador nuclear y cloroplastidial, primero por género donde se verificó que ninguna secuencia presentara conflicto, así como verificar que todas las secuencias estuvieran en el mismo sentido

Análisis filogenéticos

Para los análisis filogenéticos se realizaron tres matrices, una para cada uno de los marcadores ITS, ETS y *matK*. Para cada una de las matrices se realizó un análisis bayesiano, primero se obtuvo el modelo de sustitución nucleotídica utilizando MEGA-X ver. 10.2.6 (Kumar et al., 2018), posteriormente se realizó el análisis bayesiano mediante MrBayes ver. 3.2.7a (Ronquist et al., 2012) para el cual se analizaron cuatro cadenas de Markov Monte Carlo, MCMC, a lo largo de un millón de generaciones para cada conjunto de datos, esto de acuerdo a las recomendaciones del manual del programa MrBayes

(Ronquist et al., 2020). Finalmente se visualizaron y editaron los árboles obtenidos en FigTree v1.4.4. Los árboles filogenéticos correspondientes a los marcadores ITS y *matK* se enraizaron con el género *Chusquea* mientras que el árbol filogenético correspondiente al marcador ETS se enraizó con el género *Nassella*, la diferencia de grupos externos para los marcadores ITS, *matK* con el marcador ETS se debió a que no se encontraron secuencias correspondientes al género *Chusquea* para el marcador ETS.



Resultados

Búsqueda de secuencias en bases de datos

Las secuencias obtenidas desde GenBank variaron para cada marcador. Para el marcador ITS se encontraron un total de 1738 secuencias correspondientes a 63 géneros. Se utilizaron 157 secuencias de solo 27 géneros (Tabla 1, anexo). En el caso del marcador ETS, fueron 207 las secuencias obtenidas para 38 géneros, de estos se ocuparon 63 secuencias provenientes de 13 géneros (Tabla 2, anexo). Para el marcador *matK* en cambio, en 58 géneros se hallaron 1311 secuencias, se utilizaron 160 secuencias procedentes de 30 géneros (Tabla 3, anexo). Para el marcador *rbcL* se encontraron 42 secuencias en 3 géneros, de las cuales 1 correspondía a una secuencia nucleotídica mientras que el resto correspondía a secuencias proteicas. Las secuencias que no fueron utilizadas para los marcadores (2876 secuencias) se debió a que no eran de buena calidad, presentaron un porcentaje alto de N, así como secuencias idénticas de la misma especie.

Análisis filogenéticos

Cada matriz fue analizada en MEGA-X para obtener el modelo de sustitución nucleotídica, siendo GTR+G+I para el marcador ITS, K2+G para el marcador ETS y T92+G+I para el marcador *matK*. No se concatenaron las matrices debido a que las secuencias utilizadas no provenían de los mismos estudios y por ende no corresponden al mismo individuo. El árbol de ITS (fig. 4) obtenido desde MrBayes muestra al género *Megalachne* dentro del clado del género *Festuca*, este clado está compuesto por especies endémicas de Chile y Argentina. Para los árboles filogenéticos obtenidos a partir de los marcadores ETS (fig. 5) y *matK* (fig. 6) se observa al género *Megalachne* como cercano al género *Vulpia*, específicamente a especies endémicas del hemisferio norte.

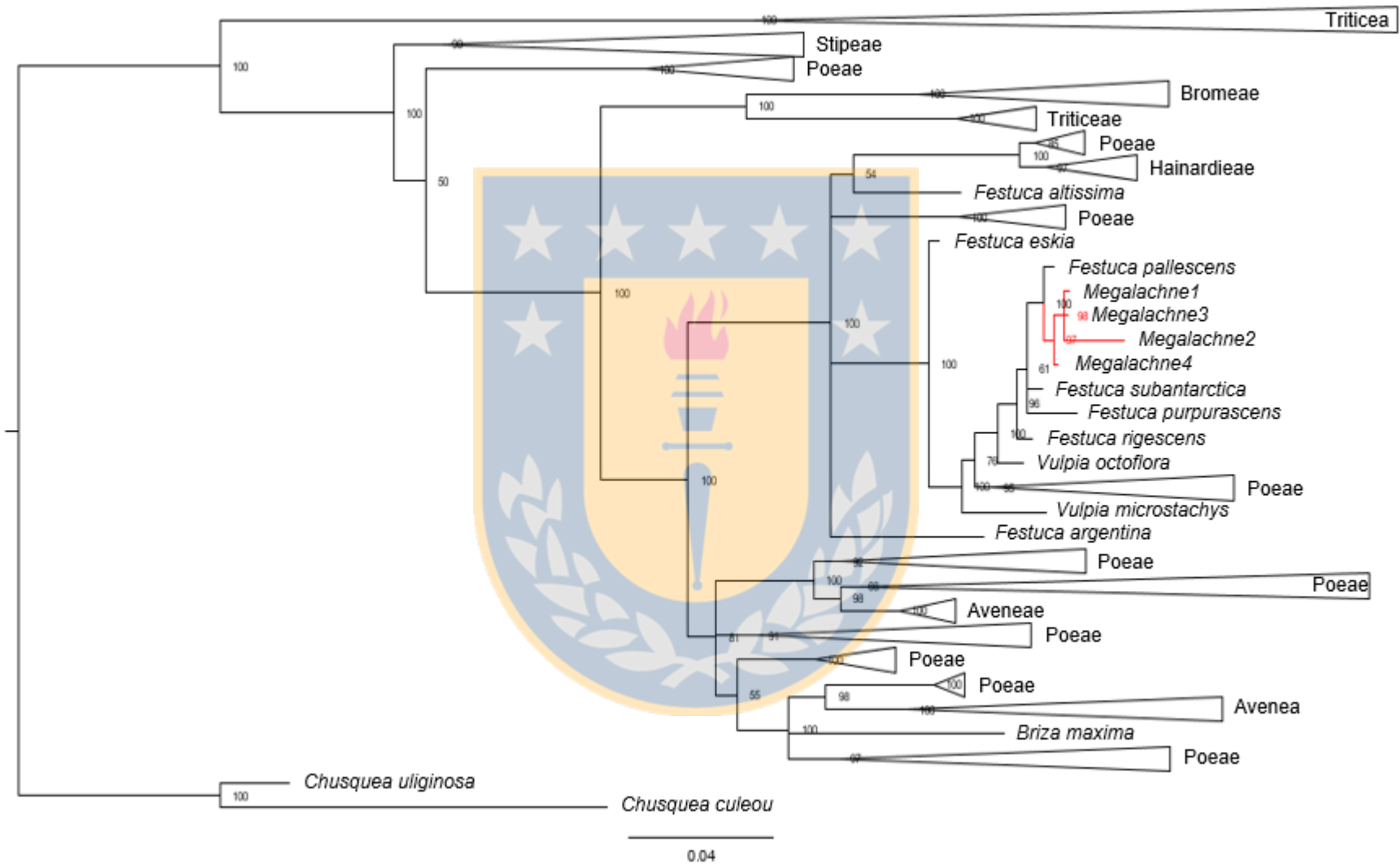


Figura 4. Árbol filogenético del marcador ITS donde se observa el género *Megalachne* como un clado dentro del género *Festuca* compuesto por especies endémicas de América del Sur.

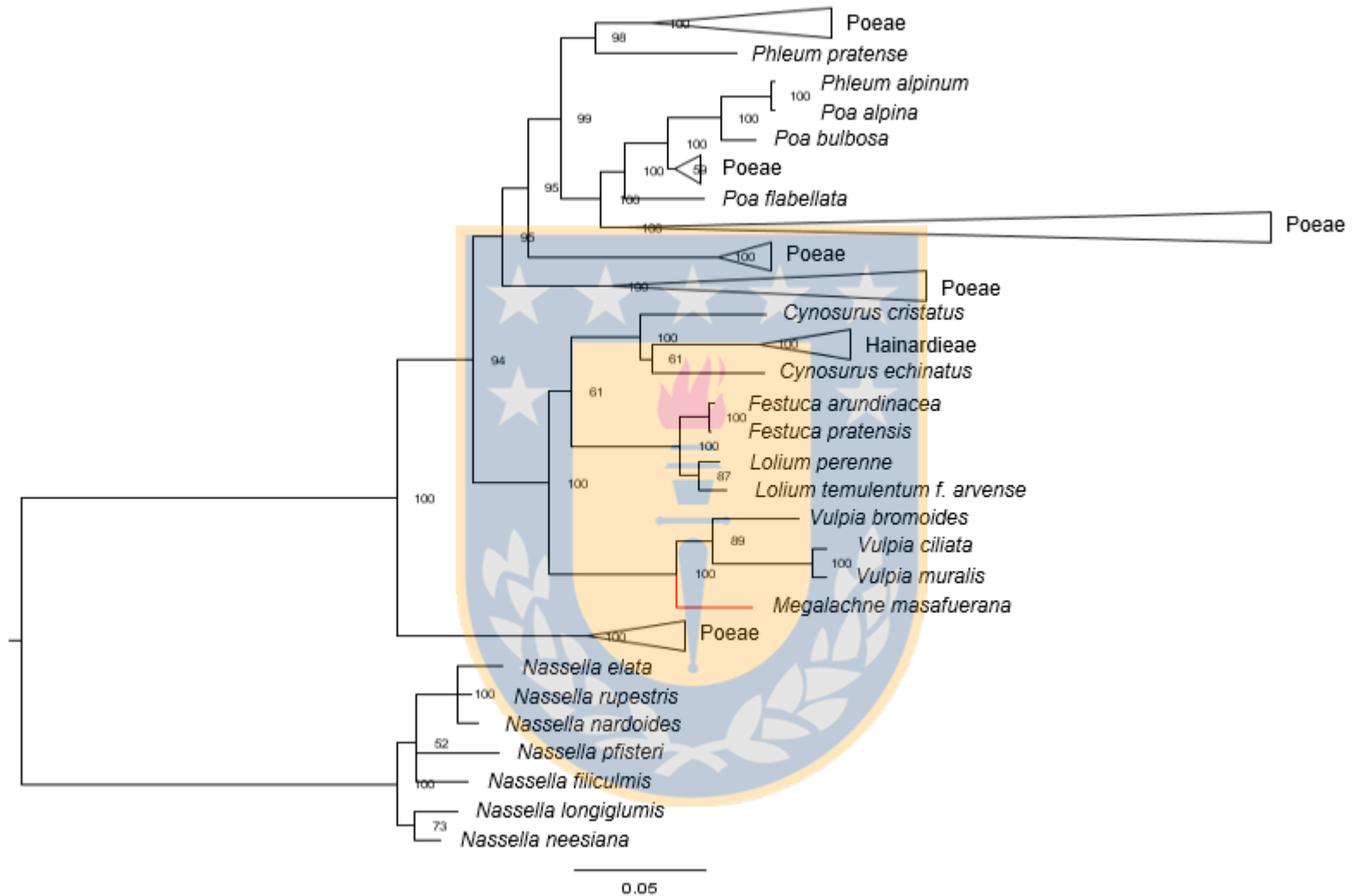


Figura 5. Árbol filogenético del marcador ETS donde se observa el género *Megalachne* como cercano al género *Vulpia*, compuesto por especies endémicas de Europa y Asia.

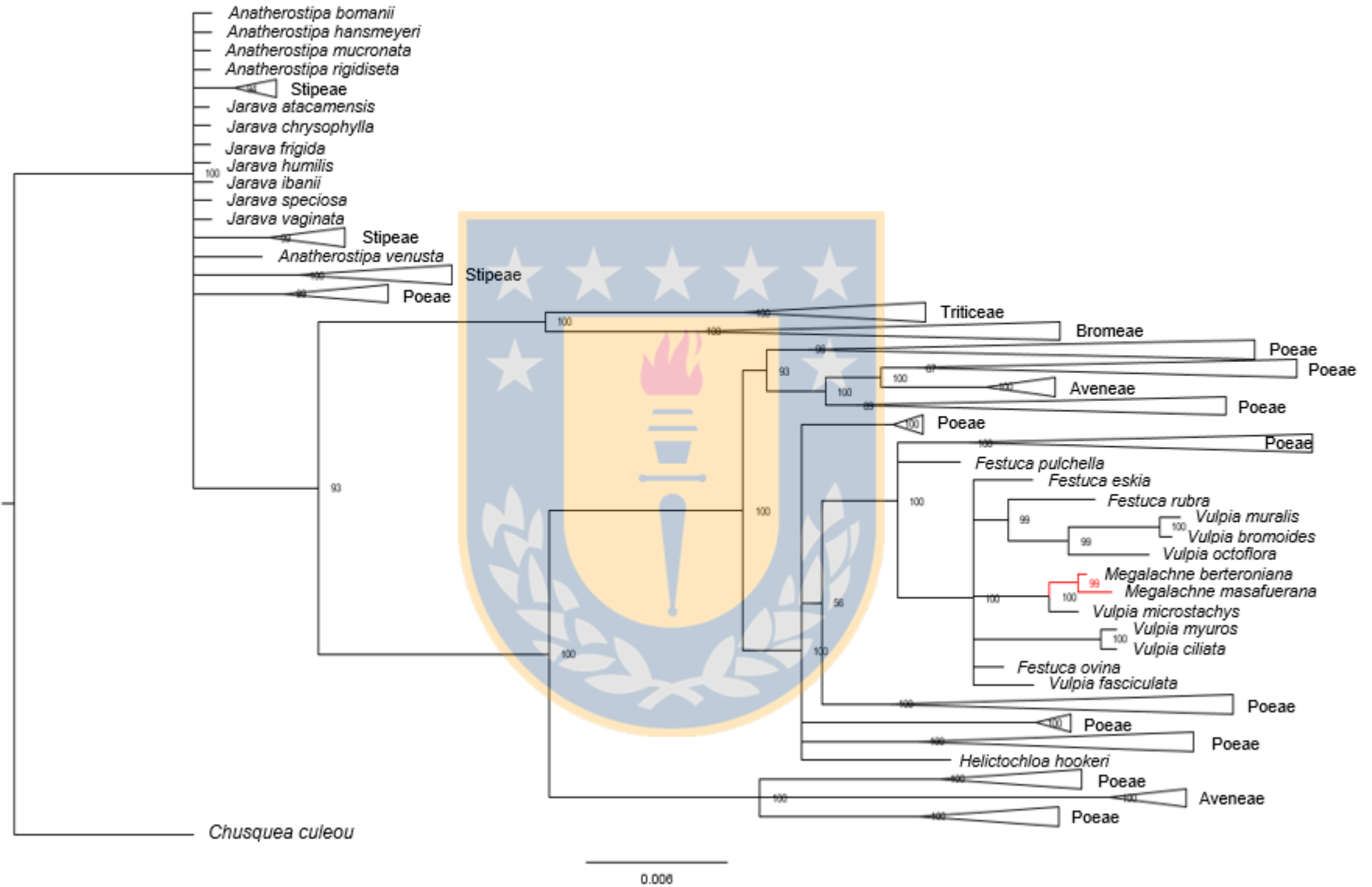


Figura 6. Árbol filogenético del marcador *matK* en el que se observa al género *Megalachne* como un clado dentro del género *Vulpia*, compuesto por especies endémicas de Norte América.

Discusión

Los estudios en base a marcadores moleculares ha incrementado a través del tiempo debido al desarrollo y aplicación durante los últimos años, siendo muy apreciados en la investigación debido a que son utilizados ampliamente para evaluaciones de diversidad genética, filogenia, identificación de familias, géneros, especies, variedades, cultivares, individuos cercanos, así como similitudes y divergencias entre plantas, lo cual ha permitido esclarecer las relaciones filogenéticas (Idrees & Irshad, 2014; Adhikari et al., 2017; Grover & Sharma, 2016). Sin embargo, en la familia Poaceae pese a que los marcadores moleculares han sido de gran utilidad para esclarecer la filogenia en diversas familias, subfamilias, tribus, subtribus y géneros aún quedan algunas incertidumbres filogenéticas, como es el caso en las relaciones a nivel tribal y de género en la subfamilia Poideae, las que no han sido resueltas por completo debido a la falta de estudios (Huang et al., 2022).

Al comparar los resultados obtenidos a partir de diferentes marcadores moleculares, en los árboles filogenéticos generados, se observa una discrepancia entre ellos, esto puede deberse a los marcadores utilizados ya que dos de ellos corresponden a marcadores nucleares y uno a un marcador cloroplastidial.

Los marcadores nucleares detectan polimorfismos en el ADN nuclear, entre estos marcadores se encuentran ITS y ETS, en los que existe una diferencia, el primero es ampliamente utilizado ya que muchas plantas han sido identificadas en base a esta región genómica, así como por su rápida evolución y su naturaleza ubicua (Ghosh et al., 2017; Marakli, 2018), sin embargo, en algunos casos los resultados obtenidos a partir de ITS son débiles como es el caso de los linajes evolucionados recientemente (Fijridiyanto & Murakami, 2019), es por esto que en el último tiempo se ha comenzado a utilizar con mayor frecuencia el marcador ETS, el cual comparte las mismas características favorables que ITS con la diferencia que ETS evoluciona más rápido y contiene más señales filogenéticas que ITS en plantas (Fijridiyanto & Murakami, 2018; Poczai & Hyvönen, 2009). Mientras que los marcadores cloroplastidiales son utilizados debido a que se conservan en el tiempo ya que son uniparentales por lo cual las sustituciones nucleotídicas ocurren con pocos reordenamientos permitiendo resolver de manera más confiable relaciones filogenéticas en

distintos niveles taxonómicos así como relaciones evolutivas complejas e identificar especies ambiguas (Dong et al., 2017, 2018; Patwardhan et al., 2014).

El resultado entregado para el árbol filogenético del marcador ITS (fig. 4) revela que el género *Megalachne* pertenece al clado del género *Festuca*, específicamente a las que se encuentran en América del Sur. Los resultados obtenidos por Schneider et al. (2012) concuerdan con lo obtenido por el marcador ITS ya que señalan que el género *Megalachne* se ubica en el linaje *Festuca*, y se suma con lo obtenido por Moreno-Aguilar et al. (2020), que establecen que el género *Megalachne* se encuentran en el clado fernandeziano, siendo cercano a *Festuca* debido a que comparten fenotipo.

Por otro lado, los árboles filogenéticos obtenidos de los marcadores ETS (fig. 5) y *matK* (fig. 6) muestran que en ambos casos al género *Megalachne* como cercano al género *Vulpia*. Schneider et al. (2012) obtienen con el marcador *matK* que el género *Megalachne* es un grupo hermano del clado *Narduroides/Psilurus/Vulpia*. En cambio, con el marcador ETS no se encontró ningún trabajo publicado para el género *Megalachne*.

Trabajos recientes sugieren que algunas especies de *Vulpia*, o incluso el género completo, al igual que *Megalachne* debiesen ser transferidos a *Festuca*, esto debido a que la filogenia de *Festuca*, no ha sido resuelta y presenta conflictos en su delimitación y la de sus especies, lo que ha llevado a estar en constante cambio. Una de las razones podría deberse principalmente a la hibridación que presenta con otros géneros como *Lolium* y *Vulpia* (Tabaripour et al., 2022). Los principales cambios que han establecido estudios recientes es para el género *Megalachne* al cual incluyen en su totalidad en el género *Festuca* (Soreng et al., 2022; Tkach et al., 2020). También se incluye en algunos casos especies del género *Vulpia* en el género *Festuca* debido a la cercanía de estos, la hibridación que presentan y que el género *Festuca* es parafilético con *Vulpia* (Soreng et al., 2022). Cabe destacar que a pesar de que autores incluyen al género *Vulpia* dentro de *Festuca*, aún se consideran géneros separados.

Sin embargo, pese a que recientemente algunos autores incluyeron a *Megalachne* dentro del género *Festuca* existen claras diferencias morfológicas entre ellos como es el caso de la gluma que en *Festuca* es lanceolada u ovada mientras que en *Megalachne* es aristada – aristulada. Otra diferencia morfológica entre ambos géneros es la lemma que es

coriácea o membranácea para *Festuca* y lanceolada para *Megalachne*, en cuanto a la lámina en *Festuca* es plana, conduplicada o involuta, en *Megalachne* la lámina es plana, convoluta (Ospina et al., 2013; Penneckamp, 2018; Peña et al., 2017; Stancík, 2003). Por otro lado, las especies endémicas del Archipiélago presentan un patrón común el cual consiste en una rápida radiación morfológica, sin cambios en el genoma como es el caso del género *Dendroseris* (Myong-Suk et al., 2020). Esto podría verse reflejado también en *Megalachne* y explicaría las diferencias morfológicas con los géneros *Vulpia* y *Festuca*.

Lo anteriormente mencionado podría explicar la incongruencia obtenida en los árboles filogenéticos ya que al no estar aclarada la relación entre los géneros *Festuca*, *Megalachne* y *Vulpia*, estos no se pueden delimitar y por ende no se puede llegar a un consenso.



Conclusiones

Los resultados obtenidos en los distintos árboles filogenéticos como lo encontrado en la literatura muestran que la relación entre los géneros *Festuca* y *Megalachne*, permanece sin resolverse. Para poder esclarecer la posición filogenética de *Megalachne*, es necesario que la relación entre los géneros *Vulpia* y *Festuca* sea resuelta, ya que algunos autores sugieren que son parte de un mismo género.

En los análisis realizados en este trabajo se pudo observar que la posición de *Megalachne* variaba dependiendo del marcador utilizado. Con *matK* y ETS aparece como cercano a *Vulpia*, mientras que con ITS está en un clado con *Festuca*.

Para poder establecer de forma precisa la relación entre *Festuca*, *Vulpia* y *Megalachne* se sugiere realizar análisis con secuenciación de nueva generación (NGS).

De considerarse *Festuca* y *Vulpia* como géneros diferentes, y debido a la evidencia de hibridación que existe entre ellos. Otra opción de interpretar los resultados obtenidos, así como la información existente en la literatura, podría plantearse como futura hipótesis que el género *Megalachne* corresponde a una hibridación entre *Vulpia* y *Festuca*, y debido a su aislación del continente, este presentó una diferenciación morfológica de sus ancestros continentales.

Bibliografía

- Adhikari, S., Saha, S., Biswas, A., Rana, T. S., Bandyopadhyay, T. K., & Ghosh, P. (2017). Application of molecular markers in plant genome analysis: a review. *Nucleus (India)*, 60(3), 283–297. Doi: 10.1007/s13237-017-0214-7
- Alaklabi, A. (2021). Ficus Species Genetic Diversity Based on Internal Transcribed Spacer (ITS) Region Analysis. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, H. Botany*, 12(1), 21–27. <https://doi.org/10.21608/eajbsh.2021.148134>
- Arroyo, M., Marquet, P., Marticorena, C., Simonetti, J., Cavieres, L., Squeo, F., Rozzi, R., & Massardo, F. (2008) El hotspot chileno, prioridad mundial para la conservación. *Biodiversidad de Chile, patrimonio y desafíos*, 90-93.
- B. Thakar, S., J. Dhanavade, M., & D. Sonawane, K. (2016). Phylogenetic, Sequence Analysis and Structural Studies of Maturase K Proteins from Mangroves. *Current Chemical Biology*, 10(2), 135–141. Doi: 10.2174/2212796810666161103111338
- Baldwin, B. G. & Markos, S. (1998) Phylogenetic Utility of the External Transcribed Spacer (ETS) of 18S–26S rDNA: Congruence of ETS and ITS Trees of Calycadenia (Compositae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 10(3): 449-463. Doi:10.1006/mpev.1998.0545
- Barrett, R. A., Bayly, M. J., Duretto, M. F., Forster, P. I., Ladiges, P. Y., & Cantrill, D. J. (2018). Phylogenetic analysis of Zieria (Rutaceae) in Australia and New Caledonia based on nuclear ribosomal DNA shows species polyphyly, divergent paralogues and incongruence with chloroplast DNA. *Australian Systematic Botany* 31(1): 16-47. Doi:[10.1071/SB16034](https://doi.org/10.1071/SB16034)
- 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 in ecology & evolution* 22(3): 148-155. Doi: 10.1016/j.tree.2006.11.004

- Chantarasuwan, B., Berg, C. C., Kjellberg, F., Rønsted, N., Garcia, M., Baider, C., & Van Welzen, P. C. (2015). A new classification of *Ficus* subsection *Urostigma* (Moraceae) based on four nuclear DNA markers (ITS, ETS, G3pdh, and ncpGS), morphology and leaf anatomy. *PLoS ONE*, 10(6). Doi: 10.1371/journal.pone.0128289
- Chattopadhyay, P., Banerjee, G., & Banerjee, N. (2017). Distinguishing Orchid Species by DNA Barcoding: Increasing the Resolution of Population Studies in Plant Biology. *OMICS A Journal of Integrative Biology*, 21(12), 711–720. Doi: 10.1089/omi.2017.0131
- Choo, B. K., Moon, B. C., Ji, Y., Kim, B. B., Choi, G., Yoon, T., & Kim, H. K. (2009). Development of SCAR markers for the discrimination of three species of medicinal plants, *Angelica decursiva* (*Peucedanum decursivum*), *Peucedanum praeruptorum* and *Anthriscus sylvestris*, based on the internal transcribed spacer (ITS) sequence and random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32(1), 24–30. Doi:10.1248/bpb.32.24
- Coelho, N., Gonçalves, S., & Romano, A. (2020). Endemic Plant Species Conservation: Biotechnological Approaches. *Plants*, 9 (3), 345. Doi:10.3390/plants9030345
- Cossard, G., Sannier, J., Sauquet, H., Damerval, C., de Craene, L. R., Jabbour, F., & Nadot, S. (2016). Subfamilial and tribal relationships of Ranunculaceae: evidence from eight molecular markers. *Plant Systematics and Evolution*, 302(4), 419–431. Doi:10.1007/s00606-015-1270-6
- Čalasan, A. Ž., Hammen, S., Sukhorukov, A. P., McDonald, J. T., Brignone, N. F., Böhnert, T., & Kadereit, G. (2022). From continental Asia into the world: global historical biogeography of the saltbush genus *Atriplex* (Chenopodieae, Chenopodioideae, Amaranthaceae). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 125660. Doi:10.1016/j.ppees.2022.125660
- Dar, A. A., Mahajan, R., & Sharma, S. (2019). Molecular markers for characterization and conservation of plant genetic resources. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 89(11), 1755–1763.

- Dermawan, L. P., Faizal, I., Salamah, A., Sari, I. A., & Susilo, A. W. (2020). Identification of maturase K (matK) gene in trinitario cocoa (*Theobroma cacao* L.) from Lampung Province and Central Java, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 481(1). Doi: 10.1088/1755-1315/481/1/012037
- Dong, W., Xu, C., Li, W., Xie, X., Lu, T., Liu, Y., Jin, X., & Suo, Z. (2017). Phylogenetic Resolution in *Juglans* Base on Complete Chloroplast Genomes and Nuclear DNA Sequences. *Front. Plant Sci.* 8:1148. Doi: 10.3389/fpls.2017.01148
- Dong, W., Xu, C., Wu, P., Cheng, T., Yu, J., Zhou, S., & Hong, D. (2018). Resolving the systematic positions of enigmatic taxa: Manipulating the chloroplast genome data of Saxifragales. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 126, 321-330. Doi:10.1016/j.ympev.2018.04.033
- Fijridiyanto, I. A., & Murakami, N. (2019). Evaluating the Utility of External Transcribed Spacer (ETS) and Internal Transcribed Spacer Sequences (ITS) for Phylogenetic Analyses of *Litsea* Lam. (*Lauraceae*) and Related Genera. *Buletin Kebun Raya*, 22(1), 47-68.
- Finot, V., Marticorena, A., Rodríguez, R., & Muñoz, R. G. (2017). Endemic Species of the Family Poaceae in Chile: Taxonomy, Distribution, and Conservation. In A. Almusaed, & S. M. S. Al-Samaraee (Eds.), *Grasses Benefits, Diversities and Functional Roles*, IntechOpen, London, 63-86. Doi:10.5772/intechopen.68973
- Ghosh, J. S., Bhattacharya, S., & Pal, A. (2017). Molecular phylogeny of 21 tropical bamboo species reconstructed by integrating non-coding internal transcribed spacer (ITS1 and 2) sequences and their consensus secondary structure. *Genetica*, 145(3), 319–333. Doi: 10.1007/s10709-017-9967-9
- Grover, A., & Sharma, P. C. (2016). Development and use of molecular markers: Past and present. *Critical Reviews in Biotechnology*, 36(2), 290–302. Doi:10.3109/07388551.2014.959891
- Hackel, E. (1887). Gramineae. In: Engler, A., Prantl, K. (eds), *Die natürlichen Pflanzefamilien*, 2, 2-97.

- Hall, T. A. (1999-2013). Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium. Series*, 41, 95-98.
- Huang, W., Zhang, L., Columbus, J. T., Hu, Y., Zhao, Y., Tang, L., Guo, Z., Chen, W., McKain, M., Bartlett, M., Huang, C. H., Li, D. Z., Ge, S., & Ma, H. (2022). A well supported nuclear phylogeny of Poaceae and implications for the evolution of C4 photosynthesis. *Molecular Plant*, 15(4), 755–777. Doi:10.1016/j.molp.2022.01.015
- Idrees, M., & Irshad, M. (2014). Molecular Markers in plants for analysis of genetic diversity: A review. *European Academic Research*, 2(1), 1513–1540.
- Kellogg, E. A. (2015). Flowering plants, monocots, poaceae. In: Kubitski K ed. *The families and genera of vascular plants*. Cham: Springer International, 13, 1–416.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura K. (2018) MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 1547-1549
- Marakli, S. (2018). A Brief Review of Molecular Markers to Analyse Medically Important Plants. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 1(1), 29–36. Doi:10.38001/ijlsb.438133
- Markos, S., & Baldwin, B. G. (2001). Higher-level relationships and major lineages of *Lessingia* (Compositae, Astereae) based on nuclear rDNA internal and external transcribed spacer (ITS and ETS) sequences. *Systematic Botany*, 26(1), 168-183. Doi: 10.1043/0363-6445-26.1.168
- Matthei, O. (1974). El género *Megalachne* Steud. (Gramineae). *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción*, 48, 165-172.
- Moreno-Aguilar, M. F., Arnelas, I., Sánchez-Rodríguez, A., Viruel, J., & Catalán, P. (2020). Museomics Unveil the Phylogeny and Biogeography of the Neglected Juan Fernandez Archipelago *Megalachne* and *Podophorus* Endemic Grasses and Their Connection With Relict Pampean-Ventanian Fescues. *Frontiers in Plant Science*, 11(June), 1–18. Doi:10.3389/fpls.2020.00819

- Myong-Suk, C., Seon-Hee, K., JiYoung, Y., Crawford, D.J., Stuessy, T.F., López-Sepúlveda, P., & Seung-Chul, K. (2020). Plastid phylogenomic of *Dendroseris* (Cichorieae; Asteraceae): Insights into structural organization and molecular evolution of an endemic lineage from the Juan Fernández islands. *Frontiers in Plant Science* 11:1721. Doi:10.3389/fpls.2020.594272
- Nauheimer, L., Cui L., Clarke, C., Crayn, D. M., Bourke, G., & Nargar, K. (2019). Genome skimming provides well resolved plastid and nuclear phylogenies, showing patterns of deep reticulate evolution in the tropical carnivorous plant genus *Nepenthes* (Caryophyllales). *Australian Systematic Botany*, 32, 243-254. Doi:10.1071/sb18057
- Ospina, J., Aliscioni, S., & Denham, S. (2013). Estudios taxonómicos en el género *Festuca* L. (Poaceae) de Argentina y Chile. *Gayana Bot.*, 70(1), 1-15. Doi:10.4067/S0717-66432013000100001.
- Patwardhan A, Ray S, & Roy A (2014). Molecular Markers in Phylogenetic Studies-A Review. *Journal of Phylogenetics & Evolutionary Biology*, 02(02). Doi:10.4172/2329-9002.1000131.
- Peña, C. (2007). Posición tribal de *Megalachne* Steud. (Poaceae), basada en caracteres morfológicos y moleculares. Tesis. Magister en Ciencias mención Botánica.p Universidad de Concepción, Concepción, Chile, 75 pp.
- Peña, C., Negrito, M., Ruiz, E., Baeza, C., & Finot, V. (2017). Revisión de *Megalachne* Steud.(Poaceae: Pooideae: Poaeae), género endémico del Archipiélago de Juan Fernández, Chile. *Gayana Bot.*, 74(1), 189-199. Doi: 10.4067/S0717-66432017005000216.
- Pilger, I. R. (1920). LXIII. R. Pilger: Uebar einige. *vix*(468), 3–6
- Pilger, R. (1954). Das System der Gramineae. *Botanische Jahrbücherfur Systematik*, 76, 310-311.
- Phillipí, R. (1856). Observaciones sobre la flora de Juan Fernández. *Anales de la Universidad de Chile*, 13, 157-169.

- Penneckamp, D. (2018). Flora Vasculare Silvestre del Archipiélago Juan Fernández. Primera Edición (versión electrónica). Planeta de Papel Ediciones, Valparaíso, Chile, 723 pp.
- Penneckamp, D. (2019). Suplemento a la Flora Vasculare Silvestre del Archipiélago Juan Fernández (Primera Edición). Capítulo adicional, 724-750 pp.
- Penneckamp, D., & Rojas, G. (2019). A new species of *Megalachne* (Poaceae) endemic to Alejandro Selkirk Island, Juan Fernandez Archipelago, Chile. *Phytotaxa*, 418(3), 294-300. Doi: 10.11646/phytotaxa.418.3.5
- Poczai, P., & Hyvönen, J. (2010). Nuclear ribosomal spacer regions in plant phylogenetics: Problems and prospects. *Molecular Biology Reports*, 37(4), 1897–1912. Doi:10.1007/s11033-009-9630-3
- Probojati, R. T., Listyorini, D., Sulisetijono, S., & Wahyudi, D. (2021). Phylogeny and estimated genetic divergence times of banana cultivars (*Musa* spp.) from Java Island by maturase K (*matK*) genes. *Bulletin of the National Research Centre*, 45(1). Doi:10.1186/s42269-021-00492-3
- Rodríguez, R., Marticorena, C., Alarcón, D., Baeza, C., Cavieres, L., Finot, V., Fuentes, A., Kiessling, A., Mihoc, M., Pauchard, A., Ruiz, E., Sanchez, P., & Marticorena, A. (2018). Catálogo de las plantas vasculares de Chile. *Gayana Bot.*, 75(1), 1-430. Doi:10.4067/S0717-66432018000100001
- Romaschenko, K., Peterson, P. M., Soreng, R. J., Garcia-Jacas, N., Futorna, O., & Susanna, A. (2012). Systematics and evolution of the needle grasses (Poaceae: Pooideae: Stipeae) based on analysis of multiple chloroplast loci, ITS, and lemma micromorphology. *Taxon*, 61(1), 18–44. Doi:10.1002/tax.6110022
- 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 selection across a large model space. *Syst. Biol.*, 61, 539-542.

- Ronquist, F., Huelsenbeck, J., Teslenko, M., Zhang, J., & Nylander, J. (2020). MrBayes version 3.2 Manual: Tutorials and Model Summaries. Draft version, July 2020.
- Sang, T., Crawford, D. J., & Stuessy, T. F. (1995). Documentation of reticulate evolution in peonies (*Paeonia*) using internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA: Implications for biogeography and concerted evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(15), 6813–6817. Doi:10.1073/pnas.92.15.6813
- Schneider, J., Winterfeld, G., Hoffmann, M. H., & Röser, M. (2011). Duthieae, a new tribe of grasses (Poaceae) identified among the early diverging lineages of subfamily Pooideae: Molecular phylogenetics, morphological delineation, cytogenetics and biogeography. *Systematics and Biodiversity*, 9(1), 27–44. Doi:10.1080/14772000.2010.544339
- Schneider, J., Winterfeld, G., & Röser, M. (2012). Polyphyly of the grass tribe Hainardieae (Poaceae: Pooideae): Identification of its different lineages based on molecular phylogenetics, including morphological and cytogenetic characteristics. *Organisms Diversity and Evolution*, 12(2), 113–132. Doi:10.1007/s13127-012-0077-3
- Soreng, R. J., Peterson, P. M., Davidse, G., Judziewicz, E. J., Zuloaga, F. O., Filgueiras, T. S., & Morrone, O. (2003). Catalogue of New World Grasses (Poaceae): IV. Subfamily Pooideae. *Contributions from the United States National Herbarium*, 48(2003), 1–730.
- Soreng, R. J., Peterson, P. M., Romaschenko, K., Davidse, G., Teisher, J. K., Clark, L. G., Barberá, P., Gillespie, L. J., & Zuloaga, F. O. (2017). A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae) II: An update and a comparison of two 2015 classifications. *Journal of Systematics and Evolution*, 55(4), 259–290. Doi:10.1111/jse.12262
- Soreng, R. J., Peterson, P. M., Romaschenko, K., Davidse, G., Zuloaga, F. O., Judziewicz, E. J., Filgueiras, T. S., Davis, J. I., & Morrone, O. (2015). A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae). *Journal of Systematics and Evolution*, 53(2), 117–137. Doi:10.1111/jse.12150

- Soreng, R. J., Peterson, P. M., Zuloaga, F. O., Romaschenko, K., Clark, L. G., Teisher, J. K., Gillespie, L. J., Barberá, P., Welker, C. A. D., Kellogg, E. A., Li, D., & Davidse, G. (2022). A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae) III: An update. *Journal of Systematics and Evolution*, 60(3), 476–521. Doi: 10.1111/jse.12847
- Stancík, D. (2003). Las especies del género *Festuca* (Poaceae) en Colombia. *Darwiniana*, 41(1-4), 93-153.
- Steudel, E.G. (1854). *Syn. Pl. Glum. Stuttgart*. 2 vols Pars I. Gramineae. 474 pp.
- Stuessy, T. (2020). *Environmental History of Oceanic Islands: natural and human impacts on the vegetation of the Juan Fernández (Robinson Crusoe) Archipelago*. Berlin: Springer. Doi:10.1007/978-3-030-47871-1
- Stuessy, T., Crawford, D., López-Sepúlveda, P., Baeza, C., & Ruiz, E. (2018). *Plants of oceanic islands: evolution, biogeography, and conservation of the flora of the Juan Fernández (Robinson Crusoe) Archipelago*. Cambridge: Cambridge University Press. Doi: 10.1017/9781316841358
- Stuessy, T., Marticonera, C., Rodríguez, R., Crawford, D., & Silva, M. (1992). Endemism in the vascular flora of the Juan Fernández Islands. *Aliso*, 13, 297-307. Doi:10.5642/aliso.19921302.03
- Suriani, C., Prasetya, E., Harsono, T., Manurung, J., Prakasa, H., Handayani, D., Jannah, M., & Rachmawati, Y. (2021). Dna barcoding of andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) from north sumatra province of indonesia using *maturase k* gene. *Tropical Life Sciences Research*, 32(2), 15–28. Doi:10.21315/tlsr2021.32.2.2
- Tabaripour, R., Keshavarzi, M., & Ullah, F. (2022). Micromorphological characters variation of lemma and palea in subtribe of Loliinae (Poaceae). *Microscopy Research and Technique*, 85(1), 117–134. Doi:10.1002/jemt.23889
- Tateoka, T. (1962). Starch grains of the endosperm in grass systematics. *The Botanical Magazine (Tokyo)*, 75, 377-383.

Tkach, N., Schneider, J., Döring, E., Wölk, A., Hochbach, A., Nissen, J., Winterfeld, G., Meyer, S., Gabriel, J., Hoffmann, M. H., & Röser, M. (2020). Phylogenetic lineages and the role of hybridization as driving force of evolution in grass supertribe Pooideae. *Taxon*, 69(2), 234–277. Doi:10.1002/TAX.12204

Vargas, R., Reif, A., & Faúndez, M.J. (2011). The Forest of the Robinson Crusoe Island, Chile: an endemism hotspot in danger. *Bosque*, 32 (2), 61–70. Doi:10.4067/S0717-92002011000200006.

Vargas-Gaete, R., Smith-Ramírez, C., González, C., & Fernández, M. (2014). Reserva de la Biósfera Archipiélago Juan Fernández : endemismo para conservar. *Reservas de La Biosfera de Chile: Laboratorios Para La Sustentabilidad*, 17(2014), 126–143.



Anexo

Tabla 1. Número de accesión de las especies seleccionadas para el marcador ITS.

* Secuencias propias.

Accesión	Especie	Accesión	Especie
HQ600554.1	<i>Aira caryophyllea</i>	AY367943.1	<i>Bromus coloratus</i>
KP295972.1	<i>Aira cupaniana</i>	FM956470.1	<i>Bromus erectus</i>
FM179385.1	<i>Aira praecox</i>	HQ600541.1	<i>Bromus diandrus</i> var. <i>rigidus</i>
KX872898.1	<i>Agrostis brviculmis</i>	KM077296.1	<i>Bromus sterilis</i>
KU883482.1	<i>Agrostis tolucensis</i>	HQ600546.1	<i>Bromus tectorum</i>
MT396536.1	<i>Agrostis mertensii</i>	KX147517.1	<i>Bromus madritensis</i>
KX872909.1	<i>Agrostis scabra</i>	KU883457.1	<i>Bromus lanatus</i>
FJ377619.1	<i>Agrostis meyenii</i>	AY367951.1	<i>Bromus pellitus</i>
KP711070.1	<i>Agrostis gigantea</i>	KM077298.1	<i>Bromus hordeaceus</i>
FJ821782.1	<i>Agrostis stolonifera</i>	KM077299.1	<i>Bromus racemosus</i>
KU883481.1	<i>Agrostis castellana</i>	KM077302.1	<i>Bromus lanceolatus</i>
KM523758.1	<i>Alopecurus magellanicus</i>	KP987380.1	<i>Bromus squarrosus</i>
HQ600523.1	<i>Alopecurus pratensis</i>	AY367932.1	<i>Bromus scoparius</i>
KM523760.1	<i>Alopecurus myosuroides</i>	KM077304.1	<i>Bromus secalinus</i>
EU489097.1	<i>Anatherostipa bomanii</i>	KF945264.1	<i>Chusquea uliginosa</i>
GU254612.1	<i>Anatherostipa rigidiseta</i>	KF945229.1	<i>Chusquea culeou</i>
GU254613.1	<i>Anatherostipa venusta</i>	AM041224.1	<i>Deschampsia cespitosa</i>
EU489098.1	<i>Anatherostipa hansmeyeri</i>	AM041242.1	<i>Deschampsia setacea</i>
GU254611.1	<i>Anatherostipa mucronata</i>	KU883496.1	<i>Deschampsia foliosa</i>
EU252119.1	<i>Avena sterilis</i>	FM179399.1	<i>Desmazeria rigida</i> subsp. <i>rigida</i>
FJ794719.1	<i>Avena fatua</i>	EF584917.1	<i>Desmazeria sicula</i>
KU883488.1	<i>Avena barbata</i>	KF945264.1	<i>Chusquea uliginosa</i>
EU833819.1	<i>Avena strigosa</i>	KF945229.1	<i>Chusquea culeou</i>
KP711066.1	<i>Avena sativa</i>	AM041224.1	<i>Deschampsia cespitosa</i>
HQ600555.1	<i>Briza minor</i>	AM041242.1	<i>Deschampsia setacea</i>
KU883465.1	<i>Briza maxima</i>	KU883496.1	<i>Deschampsia foliosa</i>
KM077293.1	<i>Bromus berterianus</i>	FM179399.1	<i>Desmazeria rigida</i> subsp. <i>rigida</i>
KP987432.1	<i>Bromus gunckelii</i>	EF584917.1	<i>Desmazeria sicula</i>
KM077295.1	<i>Bromus catharticus</i>	KP296034.1	<i>Festuca eskia</i>

KX688222.1	<i>Festuca pallescens</i>	EU050653.1	<i>Lolium temulentum</i>
EF584966.1	<i>Festuca rigescens</i>		<i>Megalachne1*</i>
EF584973.1	<i>Festuca subantarctica</i>		<i>Megalachne2*</i>
EF584964.1	<i>Festuca purpurascens</i>		<i>Megalachne3*</i>
JQ972950.1	<i>Festuca ovina</i>		<i>Megalachne4*</i>
KY368830.1	<i>Festuca pyrogea</i>	HQ600513.1	<i>Milium effusum</i>
KY368829.1	<i>Festuca magellanica</i>	KU883514.1	<i>Milium vernale</i>
EF584962.1	<i>Festuca petraea</i>	KF294136.1	<i>Nassella caespitosa</i>
AF303422.1	<i>Festuca rubra</i>	KF294134.1	<i>Nassella asplundii</i>
EF584923.1	<i>Festuca argentina</i>	EU489158.1	<i>Nassella pubiflora</i>
AF303411.1	<i>Festuca altissima</i>	EU489160.1	<i>Nassella rupestris</i>
AF519976.1	<i>Festuca arundinacea</i>	KF294158.1	<i>Nassella tenuis</i>
KP296054.1	<i>Holcus annuus</i> subsp. <i>duriensis</i>	EU489157.1	<i>Nassella pfisteri</i>
KX873115.1	<i>Holcus lanatus</i>	KF294154.1	<i>Nassella philippii</i>
FM179411.1	<i>Holcus mollis</i>	KC129457.1	<i>Nassella neesiana</i>
AJ608031.1	<i>Hordeum parodii</i>	JQ972931.1	<i>Nassella laevissima</i>
AJ607949.1	<i>Hordeum lechleri</i>	EU489150.1	<i>Nassella filiculmis</i>
AJ608086.1	<i>Hordeum halophilum</i>	KX249671.1	<i>Nassella poeppigiana</i>
AJ607919.1	<i>Hordeum fuegianum</i>	FJ461269.1	<i>Nassella arcuata</i>
KU551935.1	<i>Hordeum chilense</i>	GU254666.1	<i>Ortachne breviseta</i>
KU551944.1	<i>Hordeum comosum</i>	GU254665.1	<i>Ortachne rariflora</i>
KU551998.1	<i>Hordeum pubiflorum</i>	KJ598945.1	<i>Parapholis incurva</i>
KU551968.1	<i>Hordeum muticum</i>	KJ598946.1	<i>Parapholis strigosa</i>
KU551971.1	<i>Hordeum patagonicum</i> subsp. <i>magellanicum</i>	GU444005.1	<i>Phleum alpinum</i>
JF697720.1	<i>Jarava annua</i>	MK804428.1	<i>Phleum pratense</i>
EU489110.1	<i>Jarava atacamensis</i>	JF697733.1	<i>Piptochaetium montevidense</i>
EU489116.1	<i>Jarava frigida</i>	EU489166.1	<i>Piptochaetium panicoides</i>
EU489121.1	<i>Jarava humilis</i>	FJ461287.1	<i>Piptochaetium bicolor</i>
EU489123.1	<i>Jarava ibarii</i>	JF904812.1	<i>Poa acinaciphylla</i>
EU489140.1	<i>Jarava speciosa</i>	GQ324489.1	<i>Poa atropidiformis</i>
EU489141.1	<i>Jarava vaginata</i>	EU792413.1	<i>Poa kurtzii</i>
EU489128.1	<i>Jarava leptostachya</i>	JF904854.1	<i>Poa pearsonii</i>
EU489136.1	<i>Jarava scabrifolia</i>	GQ324512.1	<i>Poa holciformis</i>
KJ598998.1	<i>Lolium multiflorum</i>	KX710310.1	<i>Poa ligularis</i>
EU050656.1	<i>Lolium rigidum</i>	MT273415.1	<i>Poa pratensis</i>
KF713249.1	<i>Lolium perenne</i>	KM523800.1	<i>Poa planifolia</i>

MW316606.1	<i>Poa lilloi</i>	GQ283153.1	<i>Puccinellia phryganodes</i>
JF904855.1	<i>Poa humillima</i>	KM523813.1	<i>Puccinellia pusilla</i>
EU792412.1	<i>Poa scaberula</i>	KM523810.1	<i>Puccinellia magellanica</i>
EU792427.1	<i>Poa serpaiana</i>	JF904808.1	<i>Puccinellia frigida</i>
EU792416.1	<i>Poa lepidula</i>	KP296115.1	<i>Sesleria autumnalis</i>
GQ324491.1	<i>Poa billardierei</i>	DQ539586.1	<i>Sesleria caerulea</i>
KX873135.1	<i>Poa gymnantha</i>	JF697736.1	<i>Stephanachne nigrescens</i>
EU792379.1	<i>Poa autumnalis</i>	JF697737.1	<i>Stephanachne pappophorea</i>
EU792374.1	<i>Poa alsodes</i>	AF019803.1	<i>Stipa ichu</i>
JF904861.1	<i>Poa perligulata</i>	KP083007.1	<i>Stipa neaei</i>
EU792381.1	<i>Poa flabellata</i>	EF584982.1	<i>Vulpia octoflora</i>
KY944710.1	<i>Poa glauca</i>	EF584981.1	<i>Vulpia microstachys</i>
GQ324555.1	<i>Poa trivialis</i>	AF478485.1	<i>Vulpia bromoides</i>
GQ324485.1	<i>Poa annua</i>	AF478486.1	<i>Vulpia ciliata</i>
KJ598912.1	<i>Poa infirma</i>	HQ600551.1	<i>Vulpia myuros</i>
FM179431.1	<i>Puccinellia fasciculata</i>	JQ972948.1	<i>Vulpia fasciculata</i>
EU792338.1	<i>Puccinellia glaucescens</i>		

Tabla 2. Número de accesión de las especies seleccionadas para el marcador ETS.

Accesión	Especie	Accesión	Especie
KP325229.1	<i>Aira caryophylla</i>	KU763461.1	<i>Poa yaganica</i>
KP325230.1	<i>Aira cupaniana</i>	KU763424.1	<i>Poa kurtzii</i>
KM523682.1	<i>Alopecurus magellanicus</i>	KU763390.1	<i>Poa atropidiformis</i>
KM523686.1	<i>Alopecurus pratensis</i>	KU763385.1	<i>Poa alopecurus</i>
KM523684.1	<i>Alopecurus myosuroides</i>	KU763400.1	<i>Poa cumingii</i>
KP325272.1	<i>Cynosurus cristatus</i>	KU763428.1	<i>Poa ligularis</i>
KJ599051.1	<i>Cynosurus echinatus</i>	KU763438.1	<i>Poa paposana</i>
KJ599101.1	<i>Festuca arundinacea</i>	KU763393.1	<i>Poa bonariensis</i>
KP325293.1	<i>Festuca pratensis</i>	GQ324296.1	<i>Poa billardierei</i>
KP325315.1	<i>Lolium perenne</i>	KU763440.2	<i>Poa pearsonii</i>
KJ599072.1	<i>Lolium temulentum f. arvense</i>	KU763445.2	<i>Poa planifolia</i>
KP325319.1	<i>Megalachne masafuerana</i>	GQ324375.1	<i>Poa scaberula</i>
KP325325.1	<i>Milium effusum</i>	GQ324330.1	<i>Poa holciformis</i>
GQ324274.1	<i>Milium vernale</i>	KU763451.2	<i>Poa serpaiana</i>
KC904298.1	<i>Nassella elata</i>	KU763420.1	<i>Poa humillima</i>
KC904326.1	<i>Nassella rupestris</i>	KU763425.2	<i>Poa laetevirens</i>
KC904306.1	<i>Nassella longiglumis</i>	KU763411.2	<i>Poa gymnantha</i>
KC904315.1	<i>Nassella neesiana</i>	KU763442.2	<i>Poa perligulata</i>
KC904314.1	<i>Nassella nardooides</i>	GQ324344.1	<i>Poa lepidula</i>
KC904321.1	<i>Nassella pfisteri</i>	KP325350.1	<i>Poa pratensis</i>
KC904299.1	<i>Nassella filiculmis</i>	GQ324294.1	<i>Poa autumnalis</i>
GQ324284.1	<i>Phleum pratense</i>	GQ324288.1	<i>Poa alsodes</i>
KP325341.1	<i>Phleum alpinum</i>	KP325342.1	<i>Poa annua</i>
KJ599054.1	<i>Parapholis incurva</i>	KP325347.1	<i>Poa infirma</i>
KJ599055.1	<i>Parapholis strigosa</i>	KM523738.1	<i>Puccinellia magellanica</i>
GQ324287.1	<i>Poa alpina</i>	KM523741.1	<i>Puccinellia pusilla</i>
GQ324297.2	<i>Poa bulbosa</i>	KJ599044.1	<i>Vulpia bromoides</i>
KP325345.1	<i>Poa compressa</i>	KJ599045.1	<i>Vulpia ciliata</i>
GQ324324.1	<i>Poa glauca</i>	KJ599047.1	<i>Vulpia muralis</i>
KY944698.1	<i>Poa nemoralis</i>		
KY378822.1	<i>Poa palustris</i>		
GQ324321.1	<i>Poa flabellata</i>		
KU763380.1	<i>Poa acinaciphylla</i>		
KU763443.1	<i>Poa pfisteri</i>		

Tabla 3. Número de accesión de las especies seleccionadas para el marcador *matK*.

Accesión	Especie	Accesión	Especie
FJ231112.1	<i>Agrostis capillaris</i>	DQ786892.1	<i>Briza minor</i>
DQ146825.1	<i>Agrostis stolonifera</i>	KU883539.1	<i>Briza maxima</i>
DQ146804.1	<i>Agrostis idahoensis</i>	MF064050.1	<i>Bromus catharticus</i>
FJ231113.1	<i>Agrostis vinealis</i>	MF597244.1	<i>Bromus racemosus</i>
KX873189.1	<i>Agrostis breviculmis</i>	AM234571.1	<i>Bromus secalinus</i>
KX873203.1	<i>Agrostis meyenii</i>	KJ529320.1	<i>Bromus squarrosus</i>
HQ593158.1	<i>Agrostis gigantea</i>	KJ529321.1	<i>Bromus tectorum</i>
KM212066.1	<i>Agrostis perennans</i>	KU883532.1	<i>Bromus lanatus</i>
KX873202.1	<i>Agrostis mertensii</i>	JN895533.1	<i>Bromus erectus</i>
KX873211.1	<i>Agrostis tolucensis</i>	HM850584.1	<i>Bromus diandrus</i> var. <i>rigidus</i>
MF597133.1	<i>Agrostis scabra</i>	HM850582.1	<i>Bromus hordeaceus</i>
KX873200.1	<i>Agrostis imberbis</i>	HM850583.1	<i>Bromus madritensis</i>
HM850553.1	<i>Agrostis castellana</i>	HM770812.1	<i>Bromus sterilis</i>
HE966874.1	<i>Aira elegantissima</i> subsp. <i>elegantissima</i>	HE575860.1	<i>Chusquea culeou</i>
DQ786878.1	<i>Aira caryophyllea</i>	HM850529.1	<i>Cynosurus cristatus</i>
AM234540.1	<i>Aira praecox</i>	KJ599278.1	<i>Cynosurus echinatus</i>
KJ529350.1	<i>Aira cupaniana</i>	KU883560.1	<i>Deschampsia cespitosa</i>
KM523830.1	<i>Alopecurus magellanicus</i>	FN908052.1	<i>Deschampsia foliosa</i>
HM850563.1	<i>Alopecurus geniculatus</i>	JN895038.1	<i>Deschampsia setacea</i>
HM850564.1	<i>Alopecurus pratensis</i>	AM234586.1	<i>Desmazeria rigida</i>
KJ204438.1	<i>Alopecurus myosuroides</i>	HE646576.1	<i>Desmazeria sicula</i>
EU489176.1	<i>Anatherostipa bomanii</i>	HM453070.1	<i>Festuca altissima</i>
EU489177.1	<i>Anatherostipa hansmeyeri</i>	KJ529399.1	<i>Festuca pulchella</i>
GU254697.1	<i>Anatherostipa mucronata</i>	JX438100.1	<i>Festuca eskia</i>
GU254699.1	<i>Anatherostipa rigidiseta</i>	DQ786911.1	<i>Festuca rubra</i>
GU254680.1	<i>Anatherostipa venusta</i>	HM850535.1	<i>Festuca pratensis</i>
KM523847.1	<i>Arctophila fulva</i>	MN450952.1	<i>Festuca ovina</i>
KM523850.1	<i>Arctopoa tibetica</i>	KJ599328.1	<i>Festuca arundinacea</i>
HM850559.1	<i>Avena barbata</i>	MF597187.1	<i>Helictochloa hookeri</i>
HM850560.1	<i>Avena fatua</i>	DQ786921.1	<i>Holcus annuus</i>
EU833859.1	<i>Avena strigosa</i>	MF597421.1	<i>Holcus mollis</i>
EU833856.1	<i>Avena sativa</i>	EU118386.1	<i>Hordeum chilense</i>
KU883557.1	<i>Avena sterilis</i>	EU118422.1	<i>Hordeum patagonicum</i> subsp. <i>magellanicum</i>

EU118416.1	<i>Hordeum fuegianum</i>	GU254674.1	<i>Ortachne breviseta</i>
EU118417.1	<i>Hordeum parodii</i>	GU254675.1	<i>Ortachne rariflora</i>
EU118392.1	<i>Hordeum jubatum</i>	MF597480.1	<i>Phleum alpinum</i>
EU118395.1	<i>Hordeum lechleri</i>	KM523886.1	<i>Phleum pratense</i>
EU118391.1	<i>Hordeum comosum</i>	JF697833.1	<i>Piptochaetium montevidense</i>
KM040709.1	<i>Hordeum pubiflorum</i>	EU489234.1	<i>Piptochaetium panicoides</i>
MZ731933.1	<i>Hordeum vulgare</i>	EF137509.1	<i>Piptochaetium bicolor</i>
HM850542.1	<i>Hordeum marinum</i>	MF597480.1	<i>Phleum alpinum</i>
EU489188.1	<i>Jarava atacamensis</i>	KM523886.1	<i>Phleum pratense</i>
EU489194.1	<i>Jarava chrysophylla</i>	JN895255.1	<i>Phleum arenarium</i>
EU489195.1	<i>Jarava frigida</i>	MG217022.1	<i>Poa bulbosa</i>
EU489200.1	<i>Jarava humilis</i>	MZ400478.1	<i>Poa alpina</i>
EU489201.1	<i>Jarava ibarii</i>	MG216968.1	<i>Poa trivialis</i>
EU489213.1	<i>Jarava speciosa</i>	KJ773019.1	<i>Poa annua</i>
EU489215.1	<i>Jarava vaginata</i>	KJ599248.1	<i>Poa infirma</i>
JF697822.1	<i>Jarava annua</i>	KM523892.1	<i>Poa flabellata</i>
EU489203.1	<i>Jarava ichu</i>	MF597571.1	<i>Poa secunda</i>
EU489204.1	<i>Jarava leptostachya</i>	MG216938.1	<i>Poa alsodes</i>
EU489207.1	<i>Jarava plumosula</i>	KM523889.1	<i>Poa autumnalis</i>
EU489210.1	<i>Jarava scabrifolia</i>	MW356994.1	<i>Poa acinaciphylla</i>
HM453062.1	<i>Lolium multiflorum</i>	MW357032.1	<i>Poa planifolia</i>
DQ786926.1	<i>Lolium rigidum</i>	MW357035.1	<i>Poa scaberula</i>
KJ772904.1	<i>Lolium perenne</i>	MW357036.1	<i>Poa serpaiana</i>
MF597456.1	<i>Lolium temulentum</i>	MT273313.1	<i>Poa pratensis</i>
KM523870.1	<i>Milium effusum</i>	MW357013.1	<i>Poa laetevirens</i>
HE646581.1	<i>Megalachne berteroniana</i>	MW357010.1	<i>Poa holciformis</i>
HE646582.1	<i>Megalachne masafuerana</i>	MW357015.1	<i>Poa lepidula</i>
EU489225.1	<i>Nassella manicata</i>	MW357006.1	<i>Poa gymnantha</i>
EU489228.1	<i>Nassella neesiana</i>	MW357014.1	<i>Poa lanuginosa</i> var. <i>lanuginosa</i>
EU489229.1	<i>Nassella pfisteri</i>	MW357017.1	<i>Poa lilloi</i>
EU489224.1	<i>Nassella filiculmis</i>	MW357028.1	<i>Poa pearsonii</i>
EU489220.1	<i>Nassella caespitosa</i>	MW357029.1	<i>Poa perligulat</i>
EU489230.1	<i>Nassella pubiflora</i>	MW356998.1	<i>Poa atropidiformis</i> var. <i>atropidiformis</i>
EU489227.1	<i>Nassella nardoides</i>	MT273300.1	<i>Poa compressa</i>
EU489226.1	<i>Nassella meyeniana</i>	KY944628.1	<i>Poa glauca</i>
AF164406.1	<i>Nassella tenuis</i>	KY944655.1	<i>Poa nemoralis</i>
AF164406.1	<i>Nassella tenuis</i>	MT273310.1	<i>Poa palustris</i>

KY378887.1	<i>Poa stenantha</i>	KC475582.1	<i>Puccinellia nuttalliana</i>
KY944630.1	<i>Poa hachadoensis</i> var. <i>pilosa</i>	HE966993.1	<i>Sesleria autumnalis</i>
KY944654.1	<i>Poa mendocina</i>	EF137511.1	<i>Sesleria caerulea</i>
LR606958.1	<i>Poa billardierei</i>	JN894510.1	<i>Vulpia fasciculata</i>
KM523907.1	<i>Puccinellia glaucescens</i>	KJ599270.1	<i>Vulpia ciliata</i>
KM523910.1	<i>Puccinellia magellanica</i>	HM850527.1	<i>Vulpia bromoides</i>
KM523927.1	<i>Puccinellia phryganodes</i>	KJ529394.1	<i>Vulpia microstachys</i>
KM523912.1	<i>Puccinellia pusilla</i>	AF164403.1	<i>Vulpia myuros</i>
M523914.1	<i>Puccinellia tenella</i> subsp. <i>langeana</i>	KJ529391.1	<i>Vulpia muralis</i>
JN895380.1	<i>Puccinellia maritima</i>	KJ773237.1	<i>Vulpia octoflora</i>
KJ599321.1	<i>Puccinellia fasciculata</i>		

