

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS

MAGÍSTER EN CIENCIAS MENCIÓN BOTÁNICA



**SELECCIÓN POSITIVA Y EVALUACIÓN DE CONVERGENCIA
MOLECULAR EN EL GENOMA CLOROPLASTIDIAL Y SU POTENCIAL
EFECTO SOBRE LA FILOGENIA DEL GÉNERO *ALSTROEMERIA* EN CHILE**

Tesis para obtener el grado académico de Magíster en Ciencias mención Botánica

Por

GABRIELA JOSEFA DÍAZ SÁNCHEZ

Profesor Guía: Dr. Óscar Toro Núñez

Concepción, Chile – 2026

DERECHOS DE AUTOR

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

*A Jeannette Zerene,
nos faltó tiempo...*

AGRADECIMIENTOS

Quisiera partir estos agradecimientos mencionando a quien me sostuvo emocional —y también económicamente— durante todo mi magíster: mi gran amor y compañero, Iván.

Gracias por tu contención constante, por tus sabios consejos y por ayudarme a mirar las cosas desde otra perspectiva. Gracias por permitirme tener a nuestros gatitos, quienes, sin duda, contribuyeron significativamente a mi bienestar durante este proceso. Podría enumerar muchísimas más razones por las que estoy agradecida, pero prefiero resumirlo en un sincero y público agradecimiento por tu maravilloso amor y apoyo incondicional.

Agradezco especialmente a mi profesor guía Dr. Oscar Toro Núñez, quien hizo posible mi ingreso a este magíster y me ha acompañado desde entonces (antes, desde la tesis de pregrado) a lo largo de todo este proceso. Agradezco mucho su apoyo, confianza y la oportunidad ofrecida al ingresar a este proyecto y pido disculpas si tal vez no estuve a la altura de lo que se esperaba de mí. Haber contado con su guía hizo de toda esta experiencia una instancia profundamente formativa, tanto en el ámbito académico como personal. Eso también se lo debo a mis compañeras y compañeros de laboratorio, a quienes les doy gracias por los gratos momentos que pasamos a lo largo de mi estancia en el magíster. Por lo vivido en las celebraciones de cumpleaños (mención honrosa a Óscar por comprarnos una tortita a cada uno cada vez que estábamos de cumpleaños!!), en los congresos, cuando nos encontrábamos “avanzando” en la salita o cuando salíamos a compartir una cervecita. Agradezco el compañerismo, la música, la comida y las conversaciones compartidas. Sin duda son un gran grupo humano y fue un placer conocerles, bueno y todo gracias a Óscar. Y como no mencionar a Caro, a quien le agradezco sus acertadas sugerencias y comentarios siempre muy amables.

Agradezco profundamente a mis padres Gabriela y Luis, y a mi hermano Nicolás, por creer en mí incluso en los momentos en los que yo misma dudaba. Gracias por estar siempre presentes, por viajar a visitarme y adaptarse con tal de que sigamos pasando tiempo juntos. Gracias por acompañarme y recordarme que siempre puedo contar con ustedes. Les dedico todos mis logros.

A mis amigos y amigas, gracias por los momentos de distracción siempre tan necesarios y por su comprensión a lo largo de este proceso. Gracias por el cariño constante, por las visitas, la comida rica, los juegos de mesa, las películas y el tiempo de calidad. No necesito nombrarles, su compañía fue fundamental para mantener el equilibrio durante esta etapa.

Agradezco a la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, en particular al Departamento de Botánica y quienes lo integran. Gracias por su eterna disposición a colaborar con quien lo necesite, son un grupo humano excepcional. Asimismo, agradezco al personal de la facultad, por su constante amabilidad y disposición a ayudar.

Agradezco a mi comisión evaluadora, compuesta por la Dra. Luisa Bascuñán, Dr. Eduardo Ruiz, Dr. Nicolás García y el Dr. Rodrigo Hasbún, por su tiempo, dedicación y valiosos comentarios. En particular, agradezco al Dr. Hasbún por su apoyo en mi formación de pregrado y por haberme presentado al Dr. Toro.

Finalmente, agradezco a la Asociación de Mujeres Universitarias de Concepción (AMUC) por el otorgamiento de la beca que hizo posible mi participación en el programa y al proyecto FONDECYT Iniciación 11220556 por el financiamiento de esta investigación. Asimismo, agradezco a la Dirección de Postgrado y a la Facultad de Ciencias Naturales y

Oceanográficas de la Universidad de Concepción por el apoyo económico brindado a la difusión de los resultados de esta investigación.

RESUMEN

La presente investigación examina la evolución del genoma cloroplastidial (plastoma) del género *Alstroemeria* en Chile, incorporando una evaluación explícita del rol de la selección natural en la señal filogenética inferida a partir de esta molécula. Tradicionalmente, los plastomas han sido considerados marcadores cercanos a la neutralidad; sin embargo, evidencia reciente sugiere que pueden estar sujetos a selección, lo que plantea la posibilidad de convergencia molecular y potenciales sesgos en la reconstrucción filogenética.

Para evaluar esta hipótesis, se secuenciaron, ensamblaron y anotaron 56 plastomas (54 de *Alstroemeria* y dos de *Bomarea* como grupo externo), cubriendo ampliamente la diversidad del género en Chile. A partir de estos datos, se reconstruyó una filogenia mediante máxima verosimilitud y se detectaron señales de selección en genes codificantes utilizando métodos basados en tasas de sustitución (dN/dS) implementados en HyPhy (FEL, FUBAR y MEME), permitiendo distinguir entre selección positiva pervasiva y episódica. Complementariamente, se evaluó la posible convergencia molecular adaptativa mediante análisis de congruencia filogenética, asociación con variables ambientales y estimaciones de divergencia temporal.

Los resultados muestran que el plastoma de *Alstroemeria* es altamente conservado en estructura y contenido génico, presentando la organización cuatripartita típica de angiospermas. La filogenia obtenida resolvió siete clados principales con alto soporte estadístico, proporcionando una hipótesis robusta sobre las relaciones evolutivas del plastoma dentro del género. Se identificaron 30 codones (sitios) bajo selección positiva en 19 genes, predominantemente bajo un régimen de selección pervasiva. No obstante, estos sitios no evidenciaron patrones repetidos entre clados ni asociación consistente con condiciones ambientales similares.

En conjunto, la evidencia no respalda la ocurrencia de convergencia molecular adaptativa en el plastoma de *Alstroemeria*, ni sugiere que la selección positiva esté generando artefactos filogenéticos. Por el contrario, la señal filogenética inferida a partir del plastoma refleja principalmente historia evolutiva compartida de esta molécula. Estos resultados

validan el uso del genoma cloroplastidial como herramienta robusta en estudios filogenómicos y aportan evidencia relevante sobre el rol de la selección en la evolución de genomas organelares.

ABSTRACT

This research examines the evolution of the chloroplast genome (plastome) of the genus *Alstroemeria* in Chile, incorporating an explicit assessment of the role of natural selection on the phylogenetic signal inferred from this molecule. Traditionally, plastomes have been considered near-neutral markers; however, recent evidence suggests they may be subject to selection, raising the possibility of molecular convergence and potential biases in phylogenetic reconstruction.

To test this hypothesis, 56 plastomes (54 from *Alstroemeria* and two from *Bomarea* as an outgroup) were sequenced, assembled, and annotated, broadly covering the diversity of the genus in Chile. Based on these data, a phylogeny was reconstructed using maximum likelihood, and signals of selection in coding genes were detected using substitution rate-based methods (dN/dS) implemented in HyPhy (FEL, FUBAR, and MEME), allowing for differentiation between pervasive and episodic positive selection. Additionally, potential adaptive molecular convergence was evaluated through phylogenetic congruence analysis, association with environmental variables, and divergence time estimations.

The results show that the *Alstroemeria* plastome is highly conserved in structure and gene content, exhibiting the typical quadripartite organization of angiosperms. The resulting phylogeny resolved seven major clades with high statistical support, providing a robust hypothesis regarding the evolutionary relationships of the plastome within the genus. Thirty codons (sites) under positive selection were identified across 19 genes,

predominantly under a pervasive selection regime. However, these sites showed neither repeated patterns across clades nor consistent associations with similar environmental conditions.

Taken together, the evidence does not support the occurrence of adaptive molecular convergence in the *Alstroemeria* plastome, nor does it suggest that positive selection is generating phylogenetic artifacts. On the contrary, the phylogenetic signal inferred from the plastome primarily reflects the shared evolutionary history of the molecule. These results validate the use of the chloroplast genome as a robust tool in phylogenomic studies and provide relevant evidence concerning the role of selection in the evolution of organellar genomes.

I. INTRODUCCIÓN

Determinar las relaciones evolutivas entre linajes no solo es fundamental para el ejercicio de la sistemática y taxonomía, sino también para diversas áreas de la biología (Stuessy, 2009). A partir de la necesidad de establecer relaciones ancestro-descendiente, se han empleado diversas fuentes de evidencia fenotípica (e.g., Berlocher, 2000; Cameron, 2005; Gibson & Horak, 1978). Sin embargo, con la aparición de la secuenciación directa, se produjo una rápida transición hacia el uso del ADN como principal carácter en la reconstrucción filogenética. Esto permitió acceder a distintas fuentes de datos genómicos con alta información filogenética, tales como la subunidad ribosomal 18S (Soltis et al., 2000), diferentes regiones de genomas organelares –cloroplasto y/o mitocondria– (Frye & Kron, 2003), y marcadores genéticos basados en la variabilidad y frecuencia de secuencias, como los AFLP (Aggarwal et al., 1999) e ISSR (Kochieva et al., 2002). Esto sólo cambió durante la última década con el auge de la secuenciación masiva, convirtiendo el uso de genomas completos en una práctica habitual para la inferencia filogenética en plantas (Guo et al., 2017).

1.1 Características del plastoma en Angiospermas

El desarrollo de las técnicas de secuenciación masiva (NGS) ha generado grandes volúmenes de información genómica, facilitando el uso del plastoma para inferir relaciones filogenéticas en plantas, convirtiéndolo en el nuevo estándar de estudio en

sistemática (Saarela et al., 2018). Gracias a esta tecnología, el plastoma se ha consolidado como una valiosa fuente de información genómica, siendo especialmente útiles en estudios de reconstrucciones filogenéticas, identificación molecular de especies y análisis de genómica evolutiva (Andrade et al., 2018, Hansen et al., 2007, Nguyen et al., 2017, Zhou et al., 2018), con múltiples ejemplos exitosos en diversos grupos de angiospermas y en distintos niveles taxonómicos (Guo et al., 2017; Zhang et al., 2018).

Aunque presenta numerosos genes transferidos hacia el genoma nuclear (Ku et al., 2015), aún conserva diversas familias génicas esenciales para su funcionamiento, las cuales están principalmente relacionadas con la maquinaria fotosintética (Wicke et al., 2011). En angiospermas, el plastoma tiene un tamaño aproximado de 150.000 pb (Gitzendanner et al., 2017) y alberga alrededor de 120-140 genes, de los cuales cerca de 80 codifican proteínas (CDS) (Rogalski et al., 2015). Su estructura es altamente conservada y presenta una organización cuatripartita, compuesta por una región de copia única grande (LSC), una región de copia única pequeña (SSC) y dos regiones repetidas invertidas (IRa e IRb) (Wicke et al., 2011). En este contexto, gracias a su estabilidad estructural y amplia disposición de regiones codificantes y no codificantes (Shaw et al. 2007, 2014), el uso del plastoma en análisis filogenéticos ha proporcionado nuevos elementos no solo para evaluar la evolución de los linajes, sino también la del propio genoma, en el cual diversos mecanismos confluyen y moldean el proceso evolutivo retratado en la variación de esta molécula.

1.2 Selección natural

A nivel del genoma, entre las principales fuerzas evolutivas que moldean la variación genética a escalas de poblaciones y linajes se encuentran las mutaciones, la selección natural y la deriva génica (Futuyma & Kirkpatrick, 2017). En este contexto, es común realizar estudios genómicos para determinar la presencia y prevalencia de estos mecanismos y evaluar sus efectos en distintas zonas del genoma (Fu & Akey, 2013; Nielsen, 2005). Entre estos procesos, la selección natural cobra especial relevancia por su rol en la diversificación de los linajes y su potencial contribución en el proceso de especiación, por lo que sus señales son frecuentemente investigadas en estudios filogenéticos y de evolución molecular (Pond *et al.*, 2009).

La selección natural se define como la diferencia no aleatoria en la supervivencia y la reproducción entre individuos, causada por diferencias en sus fenotipos (Futuyma & Kirkpatrick, 2017). Cuando se estudia a nivel genético, sus efectos pueden registrarse en los marcadores moleculares, revelando distintos modos y escalas de acción (Pybus & Shapiro, 2009). En términos generales, si la selección incrementa la frecuencia de una mutación beneficiosa hasta su fijación, se denomina selección positiva o diversificadora. En contraste, cuando reduce la frecuencia de variantes deletéreas hasta su eliminación, se habla de selección negativa o purificadora (Lemey *et al.*, 2009; Pybus & Shapiro, 2009).

Tanto la selección positiva como la purificadora modifican la estructura y distribución de la variación genética, generando patrones detectables que pueden inferirse principalmente mediante dos aproximaciones. La primera se basa en el análisis de las frecuencias alélicas

(polimorfismos), lo que permite identificar los efectos de la selección a nivel poblacional y en escalas temporales recientes, como a lo largo de generaciones (Derbyshire, 2020). Para este tipo de estudios se han empleado marcadores moleculares arbitrarios e hipervariables dominantes, tales como ISSR o AFLP (Grivet et al., 2011), así como marcadores codominantes como los SSR (Kalia et al., 2011).

La segunda aproximación se basa en el análisis de secuencias nucleotídicas, particularmente, en la variación presente en regiones codificantes o locus específicos, la cual puede evaluarse mediante la comparación de las tasas de sustitución sinónimas y no sinónimas (dN/dS) en tripletes de codones (Suzuki & Gojobori, 1999). Las sustituciones sinónimas (dS) se llaman así porque el cambio de base no altera el aminoácido codificado, mientras que en las sustituciones no sinónimas (dN) se producen cambios en el aminoácido codificado y, potencialmente, en la estructura o función de la proteína resultante (Lemey et al., 2009). Esta diferencia se explica por la degeneración del código genético, donde 64 codones codifican únicamente 20 aminoácidos (Nirenberg, 1963). En consecuencia, variaciones en las propiedades bioquímicas de los aminoácidos –como la hidrofobicidad o la carga eléctrica– pueden traducirse en efectos fenotípicos que influyen en el desempeño y la trayectoria evolutiva de un linaje (Lemey et al., 2009).

La relación dN/dS (ω) constituye un estimador del régimen de selección que actúa sobre una secuencia codificante: valores de $\omega < 1$ indican selección purificadora, $\omega = 1$ sugiere evolución neutra, mientras que $\omega > 1$ es consistente con selección positiva (Yang & Bielawski, 2000). De esta manera, el análisis de ω permite inferir no solo la intensidad,

sino también la dirección de la presión selectiva en distintos linajes o sitios codificantes. En determinados contextos, estos procesos pueden generar patrones repetidos de cambio molecular entre linajes independientes, fenómeno asociado a la convergencia adaptativa (Storz, 2016).

1.3 Convergencia molecular adaptativa

Los efectos de la selección en regiones codificantes pueden influir en la expresión del fenotipo molecular y generar consecuencias evolutivas relevantes. En algunos casos, esto puede manifestarse en reconstrucciones filogenéticas discordantes, como resultado de la acción de la selección natural en distintos linajes. Un ejemplo de este proceso es la evolución convergente, en la cual un rasgo evoluciona o se fija de manera independiente en dos o más linajes con estados ancestrales distintos y sin un ancestro común reciente, como respuesta a presiones ambientales similares (Stayton, 2015; Zakon, 2002). Aunque existen numerosos ejemplos de convergencia morfológica –como la evolución independiente de alas en aves y mamíferos– la convergencia a nivel genético-molecular parece estar menos documentada (Castoe et al., 2010).

Existen al menos tres mecanismos posibles que pueden dar lugar a la convergencia evolutiva a nivel genético: (i) la aparición independiente de mutaciones similares en distintos linajes; (ii) la fijación de un alelo que ya se encontraba presente como polimorfismo en una población ancestral común; y (iii) la transferencia de alelos entre poblaciones mediante hibridación, proceso conocido como introgresión (Stern, 2013). La ocurrencia de estos mecanismos puede generar similitudes moleculares entre linajes no

estrechamente emparentados, lo que tiene implicancias directas para la inferencia filogenética cuando los marcadores utilizados no evolucionan de manera estrictamente neutral.

Para que un marcador molecular sea útil en estudios filogenéticos, se asume tradicionalmente que sigue un modelo de evolución neutral (Kimura, 1968), es decir, que su variabilidad está determinada por deriva génica y no está sujeta a presiones de selección (Ohta, 2013). Debido a su estabilidad estructural, alto número de copias, baja recombinación y variación en las tasas de mutación, los marcadores de origen organelar – cloroplasto y mitocondria– han sido considerados tradicionalmente neutrales (Soltis *et al.*, 2000). Sin embargo, estudios basados en plastomas completos han revelado señales de selección en genes cloroplastidiales, lo que cuestiona esta suposición y destaca la necesidad de considerar el impacto de la adaptación local tanto en genes nucleares como citoplasmáticos (Bock *et al.*, 2014).

A menos que ocurra recombinación mediada por elementos móviles (Ku *et al.*, 2015), los genomas organelares suelen heredarse como una sola unidad no recombinante, lo que implica que sus genes siguen un patrón de herencia ligada (Bock *et al.*, 2014). En este contexto, si la selección actúa sobre ciertas regiones del genoma organelar, otras secuencias vinculadas –incluidos los marcadores filogenéticos– pueden verse afectadas. Esto plantea la interrogante de si las relaciones filogenéticas inferidas a partir de marcadores organelares, especialmente aquellos hipervariables (Shaw *et al.*, 2007),

reflejan efectivamente un patrón de ancestría y descendencia, o si pudiesen estar influenciadas por convergencia molecular derivada de procesos de selección.

Un caso ilustrativo es el estudio de Castoe et al. (2009), quienes identificaron más de 100 cambios de aminoácidos en 13 proteínas mitocondriales de serpientes y agámidos. En reconstrucciones filogenéticas basadas exclusivamente en datos mitocondriales, los agámidos –tradicionalmente agrupados con otros reptiles escamosos como iguanas y camaleones– aparecieron estrechamente relacionados con las serpientes, contradiciendo la monofilia del clado Iguania respaldada por evidencia morfológica y nuclear. Estos resultados llevaron a los autores a proponer que la convergencia molecular puede sesgar la reconstrucción de relaciones evolutivas cuando se emplean únicamente marcadores organelares (Castoe et al., 2009).

En plantas, la convergencia molecular también refleja el impacto de la selección natural en la evolución del genoma organelar (Sackton & Clark, 2019). Un ejemplo corresponde al análisis del plastoma en dos especies de *Cardamine* con hábitats contrastantes: *Cardamine resedifolia* de alta montaña y *Cardamine impatiens* de climas más templados. Se detectaron señales de selección en algunos genes fotosintéticos, como el gen *rbcL*, posiblemente asociados a cambios en la activación y especificidad enzimática de la RuBisCO en *Cardamine*. Además, las señales de selección fueron más notables en *C. resedifolia*, lo que se interpretó como una adaptación a las condiciones de ambientes de gran altitud (temperatura, radiación, entre otras) (Hu et al., 2015).

El impacto de la convergencia evolutiva suele considerarse mayormente a escalas filogenéticas amplias (i.e., desde especies hacia niveles jerárquicos superiores), particularmente cuando los genomas se interpretan como conjuntos de genes discretos e independientes (e.g., Doyle, 2022). Sin embargo, esta perspectiva puede subestimar los efectos del ligamiento génico y la evolución concertada. Dada la estructura altamente conservada y la naturaleza no recombinante del plastoma en angiospermas, es plausible que eventos de selección que actúan sobre loci específicos influyan indirectamente en la trayectoria evolutiva de regiones vinculadas, afectando así la señal filogenética global (Bock et al., 2014).

Por lo expuesto anteriormente, considerando que el plastoma constituye una unidad no recombinante y que puede estar sujeto a presiones selectivas capaces de generar convergencia molecular y potencial sesgo filogenético, resulta relevante evaluar estos procesos en linajes con alta diversificación y heterogeneidad ambiental. En este contexto, el género *Alstroemeria* representa un sistema particularmente adecuado para explorar la interacción entre selección, convergencia molecular y reconstrucción filogenética basada en plastomas completos.

1.4 *Alstroemeria*

El género *Alstroemeria* (Alstroemeriaceae), de origen sudamericano, está representado en Chile por cerca de 60 taxones, incluidas 11 subespecies y 10 variedades reconocidas (Chacón et al., 2012; Finot et al., 2018; Villalobos et al., 2024). De estos, 34 se encuentran

en el inventario nacional del Ministerio del Medio Ambiente, con un 86% de endemismo (MMA, 2024).

Distribución y Adaptación

En Chile, *Alstroemeria* se encuentra entre los 20°S (Región de Tarapacá) y los 53°S (Región de Magallanes), desde el nivel del mar hasta los 3950 m s.n.m., con su mayor diversidad concentrada entre los 28°S (Región de Coquimbo) y los 37°S (Región del Biobío) (Finot et al., 2018). Su amplitud ecológica se refleja en su presencia en diversos biomas, particularmente en zonas semiáridas y de clima mediterráneo.

La Región de Coquimbo alberga 26 taxones, lo que representa aproximadamente el 47% de las especies presentes en Chile, seguida por las regiones de Valparaíso (18), Atacama (14) y Metropolitana (14). Hacia los extremos latitudinales, la diversidad disminuye considerablemente. Al norte de Antofagasta solo se encuentran tres especies: *A. violacea*, *A. lutea* y *A. graminea*, siendo *A. violacea* la única que extiende su distribución hasta Perú (Hofreiter & Rodríguez, 2006).

En el sur, en la Región de La Araucanía, se registran seis taxones: *A. aurea*, *A. ligtu* subsp. *ligtu*, *A. presliana* subsp. *australis*, *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*, *A. revoluta* y *A. versicolor*. *A. aurea* alcanza la Región de Magallanes, donde coexiste con *A. patagonica*, la especie más austral del género (Finot et al., 2018).

Diversidad Genética y Filogenia

A pesar de su notable diversidad floral, la información molecular disponible para el grupo sigue siendo limitada. Los estudios realizados se han basado principalmente en isoenzimas (Ruiz et al., 2010), RAPD (Aros et al., 2019), secuencias de loci específicos como *rbcL*, *matK*, *matR* e ITS (Chacón et al., 2012), y en el reporte del genoma cloroplastidial completo de *A. aurea* (Kim & Kim, 2013). Estos marcadores han sido utilizados para caracterizar la diversidad genética, delimitar variedades y explorar relaciones filogenéticas (Han et al., 1999; Aegensen & Sanso, 2003; Chacón et al., 2012); sin embargo, los resultados obtenidos han mostrado una resolución limitada en contextos taxonómicos y filogenéticos.

A escala infraespecífica, se ha evidenciado una alta estructuración genética en complejos como *A. hookeri* y *A. presliana* (Fuentes et al., 2015; Ruiz et al., 2015). No obstante, estas diferencias se mantienen principalmente a nivel poblacional, sin una correlación consistente entre linajes. Factores como el aislamiento geográfico y la propagación vegetativa podrían estar promoviendo esta estructura genética local, limitando la dispersión a mayor escala y reduciendo la cohesión genética entre metapoblaciones (Finot et al., 2018; Ruiz et al., 2010).

A nivel interespecífico, las relaciones filogenéticas dentro del género también presentan baja resolución y discrepancias entre datos moleculares, morfológicos y citológicos (Aegensen & Sanso, 2003). Análisis basados en marcadores nucleares (ITS), cloroplastidiales (*matK*) y mitocondriales (*matR*) han evidenciado señales filogenéticas

débiles o inconsistentes. Mientras algunas especies brasileñas han sido confirmadas como monofiléticas (Han et al., 2000), en el grupo chileno la falta de resolución dificulta la delimitación taxonómica y la formulación de hipótesis robustas sobre su diversificación (Finot et al., 2018).

Asimismo, estudios preliminares sugieren que incluso marcadores cloroplastidiales hipervariables pueden presentar patrones conflictivos, los complejos como *A. magnifica*, *A. ligtu* y *A. garaventa* han resultado parafiléticos (Baeza et al., 2022). Estas inconsistencias cuestionan hipótesis previas y ponen de manifiesto la necesidad de profundizar en los mecanismos evolutivos que han modelado la diversidad genética del género (Finot et al., 2018). En este contexto, resulta relevante considerar si procesos adaptativos que actúan sobre el plastoma podrían estar contribuyendo a parte de estas discordancias filogenéticas.

1.5 Contexto

Dado que el genoma del cloroplasto de las angiospermas se hereda predominantemente como una unidad no recombinante, la acción de la selección positiva sobre genes codificantes específicos puede afectar no solo a los loci directamente involucrados en procesos adaptativos, sino también a la señal evolutiva del plastoma en su conjunto. Cambios aminoacídicos favorecidos por selección positiva en genes funcionalmente relevantes –particularmente aquellos asociados a procesos fotosintéticos y metabólicos– pueden fijarse de manera independiente en distintos linajes expuestos a presiones ambientales similares, generando patrones de convergencia molecular adaptativa.

Este tipo de similitud no asociada a ancestría común tiene el potencial de introducir discordancias o agrupamientos espurios en reconstrucciones filogenéticas basadas exclusivamente en marcadores cloroplastidiales. Por ello, resulta necesario evaluar el alcance evolutivo y sistemático de estos procesos adaptativos y su posible influencia en la inferencia de hipótesis filogenéticas.

El género *Alstroemeria* constituye un sistema particularmente adecuado para examinar estos fenómenos, dado que presenta una diversificación relativamente reciente (Chacón et al., 2012), una elevada proporción de complejos de especies y una amplia distribución a lo largo de gradientes ecológicos-ambientales contrastantes en Chile (Finot et al., 2018). En este escenario, es pertinente evaluar si las señales de selección detectadas en genes codificantes del plastoma pueden contribuir a patrones de convergencia molecular y, eventualmente, influir en la filogenia inferida a partir de genomas cloroplastidiales completos.

En función de estos antecedentes, se plantea como hipótesis de trabajo que la acción de selección positiva sobre genes codificantes del plastoma de *Alstroemeria* puede generar cambios convergentes en sitios funcionales, produciendo similitudes moleculares no asociadas a ancestría común reciente y alterando la señal filogenética inferida a partir del plastoma.

1.6 Objetivos

La presente tesis tiene como objetivo general determinar la presencia de selección positiva en genes codificantes del genoma cloroplastidial (plastoma) de *Alstroemeria* en Chile y evaluar el efecto que esta tiene al reconstruir sus relaciones evolutivas.

Los objetivos específicos son:

1. Inferir las relaciones ancestro-descendiente del plastoma de *Alstroemeria* en Chile.
2. Detectar y caracterizar señales de selección positiva en los genes codificantes del plastoma de taxones de *Alstroemeria*.
3. Determinar la influencia de la selección positiva y la convergencia molecular sobre la estabilidad de la señal filogenética del plastoma en el género *Alstroemeria*.

II. METODOLOGÍA

2.1 Material vegetativo

Los plastomas se obtuvieron a partir de un individuo representativo de cada taxón de *Alstroemeria* presente en Chile, identificado bajo la taxonomía propuesta del género (Finot et al., 2018; Muñoz-Schick et al., 2019; Rojas & Baeza, 2021). Las colectas se realizaron en localidades previamente registradas en la base de datos del Herbario de la Universidad de Concepción (CONC), complementadas también de datos obtenidos de estudios morfométricos y citológicos previos (Baeza et al., 2010, 2016, 2018). Se priorizó el uso de ejemplares colectados y verificados directamente en terreno, por sobre los identificados en herbario, para confirmar el fenotipo de los individuos analizados. Todos los ejemplares usados en este estudio fueron depositados en el herbario CONC, junto con una fotografía referencial del fenotipo observado (Tabla S1). Como complemento para los análisis realizados se usaron las lecturas, disponibles en NCBI, tanto para la especie chilena *A. pulchra* subsp. *pulchra* como para las brasileñas *A. monticola* (SAMN51256954), *A. psittacina* (SAMN51256956) y *A. uribiciensis* (SAMN51256952), generadas previamente por Nascimento et al. (2026).

Como grupo externo para los análisis filogenéticos, se eligió *Bomarea salsilla* y *B. ovallei*, siguiendo la posición basal observada en la propuesta filogenética de Chacón et al., (2012) y Tribble et al., (2024). Además, este muestreo fue complementado con la inclusión de

secuencias del genoma cloroplastidial de *B. edulis* (NC_025306) y *B. ovallei* (MW345247) descargadas desde GenBank. La extracción de ADN total se realizó a partir de 20 mg de material vegetativo fresco utilizando el DNeasy® Plant Mini Kit (QIAGEN, Dusseldorf, Alemania), siguiendo el protocolo del fabricante. La integridad del ADN extraído se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% (Boffey, 1984). Posteriormente, se cuantificó la concentración de ADN mediante tinción con fluorocromos usando el sistema fluorométrico QUBIT 2 (ThermoFisher Scientific, Massachusetts, USA), asegurando la obtención de al menos 300 ng de ADN, según los requisitos solicitados por la empresa de secuenciación.

Las muestras de ADN fueron secuenciadas por la empresa BGI (Shenzhen, Guangdong, China) mediante un enfoque de baja cobertura con la plataforma DNaseq, con un esquema de lecturas *pair-end* de 150 pb (PE150). Esto se planteó para recuperar la mayor cantidad de fragmentos de ADN repetitivo, tanto en profundidad como en cobertura, asociados al plastoma de las muestras objetivo (Dodsworth, 2015). Se obtuvo una lectura total promedio de 1 Gb por muestra, un umbral considerado aceptable siguiendo la experiencia de ensayos preliminares realizados en la reconstrucción de genomas organelares de *Alstroemeria* (Carrasco et al., datos no publicados).

2.2 Ensamble y anotación de plastomas

Las lecturas entregadas y procesadas previamente por BGI con niveles de calidad, QC > 30 y adaptadores removidos, además de aquellas conseguidas desde NCBI, fueron

ensambladas utilizando el pipeline GetOrganelle v1.7.7.0 (Jin et al., 2020). Este ensamblador fue seleccionado por su versatilidad y alta precisión en la inferencia de nucleótidos (Freudenthal et al., 2020), en comparación con otros especializados en genomas organelares, como NovoPlasty (Dierckxsens et al., 2017) o MitoHifi (Uliano-Silva et al., 2023). El ensamble se realizó siguiendo los parámetros establecidos por defecto. Los ensambles obtenidos fueron verificados estructuralmente con Bandage v.0.8.1 (Wick et al., 2015), permitiendo la exploración de posibles haplotipos alternativos que sugieran la presencia de heteroplasma (Chen et al., 2022; Lee et al., 2020). Es importante mencionar que la revisión se realizó sobre el ensamble final, el cual descarta potenciales fragmentos alternativos de menor cobertura (Jin et al., 2020). Finalmente, los plastomas ensamblados fueron anotados en la plataforma Chlorobox de GeSeq (Tillich et al., 2017), en donde se utilizó como referencia los genomas de *Alstroemeria aurea* (KC968976; Kim & Kim, 2013) y *Bomarea edulis* (NC_025306; Kim et al., 2016).

2.3 Análisis de datos

2.3.1 Preparación matriz de datos

El alineamiento de los plastomas completos se realizó con MAFFT v.7 usando parámetros por defecto, seleccionado por su alta precisión usando secuencias largas (>10.000 pares de bases (bp); Katoh et al., 2009). Los alineamientos fueron inspeccionados visualmente con el software de libre acceso AliView v.1.28 (Larsson, 2014). Posteriormente, los plastomas obtenidos se caracterizaron en términos de microsatélites en Krait2 v2.0.6 (Du

et al., 2018), regiones codificantes y contenido de GC mediante Geneious Prime v.2024.2. (<http://www.geneious.com>). Para evidenciar potenciales discordancias en las regiones invertidas de los plastomas ensamblados, se generó una visualización usando una muestra representativa por filogrupo (ver resultados) con IRscope (Amiryousefi et al., 2018).

2.3.2 Test de selección

Para evaluar la selección en un contexto filogenético, se requieren dos elementos fundamentales: (i) una topología filogenética de referencia y (ii) un alineamiento individual de cada gen codificante (Coding DNA Sequence o CDS).

Como marco filogenético general, se infirió un árbol mediante el criterio de máxima verosimilitud utilizando IQ-TREE v.1.6.12 (Minh et al., 2020), a partir del alineamiento de los plastomas completos, excluyendo una de las regiones repetidas invertidas. El modelo de sustitución nucleotídica más adecuado fue seleccionado con ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017), y el soporte de los clados fue evaluado mediante 1000 réplicas de bootstrap ultrarrápido (BB) y de un test de razón de verosimilitud aproximado (SH-aLRT), ambos propuestos como medidas complementarias de soporte en situaciones de reconstrucción filogenéticas complejas en un contexto de máxima verosimilitud (i.e., múltiples árboles de genes o matrices excesivamente largas; Guindon et al., 2010; Minh et al., 2013, 2020). Para definir a un clado como bien soportado, se consideró la combinación de $BB > 0.95$ y $SH-aLRT > 0.85$, siguiendo las sugerencias de los autores de IQ-TREE.

Para la detección de señales de selección, primero se generaron árboles filogenéticos referenciales basados en las regiones no codificantes de cada taxón, las cuales se asumen estar sujetas a una menor influencia a selección positiva en comparación con regiones codificantes (CDS; Wolfe et al., 1987; Bock et al., 2014). Posteriormente, se extrajeron los CDS a partir del alineamiento del plastoma completo –excluyendo una de las regiones repetidas invertidas (IR2)– de cada individuo y fueron almacenados como alineamientos independientes mediante Geneious Prime v.2024.2. En consideración a la presencia de plastomas recuperados como incompletos, se presentaron casos donde no todos los taxones fueron representados en los alineamientos de CDS, por lo que fue necesario acomodar los árboles filogenéticos en los análisis generados. Por lo mismo, se infirieron cuatro árboles filogenéticos independientes en IQ-TREE, correspondientes a cuatro matrices generadas para acomodar la ausencia de regiones codificantes en algunos taxones secuenciados de forma incompleta (Tabla 2; Tabla S2). Los análisis de selección se restringieron a taxones del género *Alstroemeria*, excluyendo a los representantes de *Bomarea*, utilizados previamente como grupo externo. Esta decisión se fundamenta en que los modelos de selección codónica asumen procesos evolutivos comparables entre las secuencias analizadas (Yang & Nielsen, 2002), y la inclusión de linajes filogenéticamente distantes puede introducir heterogeneidad excesiva en las tasas de sustitución, incrementando el riesgo de inferencias espurias de selección (Nielsen & Yang, 1998).

Con el árbol filogenético correspondiente a cada matriz y los alineamientos de las regiones codificantes individuales, se aplicaron tres pruebas de selección en HyPhy (Pond *et al.*, 2005), basadas en la estimación de tasas de sustitución a nivel de codón (Tabla 1). Se utilizó MEME (Mixed Effects Model of Evolution) el cual está diseñado para detectar selección positiva episódica, es decir, que afecta solo a algunas ramas del árbol filogenético. Este test utiliza un modelo de efectos mixtos, para estimar múltiples clases de tasas de sustitución (no sinónima (dN) y sinónima (dS)) por sitio, y realiza una prueba de máxima verosimilitud entre modelos nulo y alternativo para evaluar la significancia (Murrell *et al.*, 2012). Se usó el test FEL (Fixed Effects Likelihood), el que aplica un enfoque de máxima verosimilitud para inferir las tasas de sustitución no sinónima (dN) y sinónima (dS) en cada sitio del alineamiento. Este método asume que la presión de selección para cada sitio es constante y coordinado a través de toda la filogenia (i.e., selección pervasiva), y utiliza una prueba de máxima verosimilitud para determinar si un sitio está bajo selección (Kosakovsky *et al.*, 2005). Finalmente, se empleó el test FUBAR (Fast Unconstrained Bayesian AppRoximation) que usa una aproximación bayesiana para identificar las tasas de sustitución no sinónima (dN) y sinónima (dS) en cada sitio, bajo el mismo supuesto de presión de selección pervasiva a lo largo de la filogenia. A diferencia de FEL, reporta probabilidades posteriores en lugar de valores p. (Murrell *et al.*, 2013).

Tabla 1. Resumen con las características principales de cada test de selección.

Característica	FEL	FUBAR	MEME
Enfoque estadístico	Máxima verosimilitud (ML)	Bayesiano	Máxima verosimilitud con efectos mixtos
Modelo aplicado	MG94xREV por sitio	MG94xREV en grilla predefinida	Dos clases de ω por sitio y por rama
Tipo de selección detectada	Pervasiva (constante en todas las ramas)	Pervasiva (constante en todas las ramas)	Episódica (afecta solo algunas ramas)
Hipótesis de prueba	$dN \neq dS$ (por sitio)	$dN \neq dS$ con prob. posterior	$dN > dS$ en proporción de ramas por sitio
Medida estadística	LRT con valores p	Probabilidad posterior (> 0.9)	LRT entre modelos nulo y alternativo
Supuestos sobre la selección	Constante a lo largo de la filogenia	Constante a lo largo de la filogenia	Puede variar entre ramas
Sensibilidad	Moderada	Alta (para selección positiva débil)	Alta (para selección episódica)
Velocidad de ejecución	Lenta	Muy rápida	Intermedia
Tamaño de alineamiento recomendado	Pequeño a mediano	Grande (hasta miles de secuencias)	Pequeño a mediano
Recomendado para detectar	Selección negativa (purificadora) o positiva constante	Selección negativa (purificadora) o positiva constante	Selección positiva (diversificadora) episódica

A partir de los resultados obtenidos en las pruebas de selección, aquellos sitios que mostraron señales de selección positiva pervasiva y/o episódica fueron considerados para posteriores análisis del efecto de la convergencia. De modo exploratorio, se hizo una reconstrucción de estados de carácter ancestral mediante un enfoque de máxima verosimilitud con la función *contMap* del paquete phytools versión 2.4-4 en R (Revell,

2024), esto se llevó a cabo solo en los sitios que tuvieron evidencia de selección positiva pervasiva y episódica (ver resultados).

2.3.3 Exploración del contexto estructural de sitios bajo selección

Dado que las sustituciones aminoacídicas pueden tener efectos diferenciales sobre la estructura tridimensional de las proteínas, dependiendo de sus propiedades fisicoquímicas y de su ubicación relativa dentro de la molécula (Rehman et al., 2014), se realizó un análisis exploratorio del contexto estructural de algunos sitios bajo selección detectados en este estudio. Este análisis tuvo un carácter ilustrativo y descriptivo, y no tuvo por objetivo inferir efectos funcionales directos ni adaptaciones a nivel proteico.

Como caso de estudio se seleccionó el gen *rbcL*, debido a la amplia información funcional disponible en bases de datos públicas y a su rol central en el proceso fotosintético de las angiospermas (Allen et al., 2011). La secuencia codificante fue traducida a aminoácidos y se predijo la estructura tridimensional de la proteína mediante AlphaFold Server (Abramson et al., 2004). El modelo resultante fue visualizado en PyMOL (Schrödinger & DeLano, 2020), en la cual se destacaron los codones identificados bajo selección positiva pervasiva (328 y 449), indicando los aminoácidos correspondientes.

Adicionalmente, se consultó la base de datos UniProt (The UniProt Consortium, 2025) para obtener la anotación funcional de la copia de *rbcL* presente en *Alstroemeria aurea* (U5KCJ5), con el fin de contextualizar la posición relativa de los sitios bajo selección

dentro de la proteína. Este análisis se utilizó exclusivamente como complemento visual e interpretativo de los resultados de selección, sin implicar inferencias adaptativas directas.

2.3.4. Evaluación de efecto de convergencia molecular en la señal filogenética del plastoma de *Alstroemeria*

Considerando el potencial efecto de la selección natural sobre la señal filogenética —al generar similitudes asociadas a presiones adaptativas más que a la historia evolutiva compartida de un linaje—, se realizaron una serie de análisis independientes con el objetivo de evaluar la posible ocurrencia de convergencia molecular en la evolución del plastoma de *Alstroemeria*.

Para inferir un escenario de convergencia (o paralelismo) bajo efectos de selección, además de detectar la ausencia de monofilia, fue necesario establecer un marco de referencia que permitiera evaluar la congruencia entre patrones de adaptación climática y los patrones de divergencia observados entre linajes. Por lo mismo, se planteó un análisis en tres etapas para evaluar el escenario descrito: (1) congruencia filogenética de los genes cloroplastidiales en relación con el plastoma completo; (2) correlación entre variables ambientales y la evolución del plastoma y (3) estimación de fechas de divergencia coherentes con eventos climáticos documentados. El primer criterio consideró que la selección podría generar señales de discordancia filogenética, tanto a nivel intergénico como entre genes individuales y el plastoma. El segundo criterio evaluó si los eventos de selección detectados se asocian a condiciones ambientales locales, dado que los genes cloroplastidiales participan en procesos fotosintéticos potencialmente sensibles a

variaciones espaciales y temporales de temperatura y precipitación (e.g., Gu et al., 2023; Yang et al., 2023). Finalmente, con el fin de evaluar una posible asociación entre adaptación ambiental local y selección en escalas históricas y recientes, se examinó si las estimaciones temporales de divergencia son congruentes con el contexto paleoclimático del área de distribución de las especies del género.

Estos tres criterios fueron focalizados en aquellos complejos de especies de *Alstroemeria* que presentaron ausencia de monofilia, los cuales podrían ser más susceptibles de evidenciar procesos de convergencia molecular asociados a selección ambiental. Se asume esto a partir de su potencial origen reciente y filogenéticamente discordante, por lo que, los cambios repentinos basados en selección en plastomas deben estar potenciados por rápida adaptación climática divergente, al ser comparados con sus taxones infraespecíficos relacionados (e.g., Lowry & Willis 2010; Todesco et al., 2020; Wong et al. 2023).

2.3.4.1 Congruencia filogenética

Se evaluó la concordancia topológica entre el árbol filogenético de referencia y los árboles obtenidos a partir de cada gen individual, con el objetivo de detectar posibles discrepancias que pudieran atribuirse a efectos de selección genética, particularmente en escenarios que involucren evolución recombinante o transferencia intergenómica (e.g., Stageman et al., 2013; Cui et al., 2021).

Los genes fueron extraídos a partir de CDS identificados durante el proceso de anotación previo, utilizando Geneious Prime. Para cada gen se realizaron análisis filogenéticos independientes bajo los mismos parámetros de búsqueda y selección de modelo de sustitución nucleotídica implementados en IQTREE2. Para este caso, se utilizó un modelo de sustitución basado en codones, con el fin de ajustar adecuadamente la dinámica evolutiva de los tripletes en cada región (Lemey et al., 2009). Adicionalmente, se realizó un análisis con un conjunto de datos que incluyó todas las regiones codificantes y no codificantes (i.e., espaciadores intergénicos e intrones) concatenadas, asumiendo un esquema de partición a lo largo del alineamiento, inferido mediante PartitionFinder2 (Lanfear et al., 2017). Para explorar los efectos del uso de modelos de sustitución en la reconstrucción del árbol filogenético referencial, se evaluaron cuatro árboles resultantes de los siguientes alineamientos: 1) plastoma completo (sin partición), 2) plastoma completo no codificante (sin partición), 3) regiones particionado no codificante y 4) regiones particionado codificante. La congruencia entre los árboles individuales y concatenados se cuantificó utilizando la distancia generalizada de Robinson-Foulds, que estima la similitud topológica en función del número de particiones (*splits*) compartidas entre los árboles analizados (Smith, 2020a). Las distancias obtenidas fueron resumidas mediante un análisis de ordenación basado en un Escalamiento Dimensional Métrico (MDS) y los árboles se agruparon en cinco clusters predefinidos a partir de cuartiles de distancia utilizando un criterio de agrupamiento k-means (Smith, 2022).

Posteriormente, se seleccionó un árbol representativo por clúster predefinido, el cual correspondió a un árbol representativo de la mediana de las distancias por grupo. Esto se

hizo con la finalidad de comparar la congruencia filogenética representativa de árboles individuales (cuyo conjunto está resumido en el árbol de mediana de distancias por cluster) con los filogrupos descritos en el árbol de referencia (i.e., el árbol obtenido a partir del plastoma completo). Finalmente, se identificaron los árboles de genes que presentaron una similitud superior al 50% respecto de la distancia total observada en el conjunto de datos, los cuales fueron examinados individualmente para evaluar la congruencia de los filogrupos detectados en el árbol de referencia. Todos los análisis descritos fueron realizados en R utilizando los paquetes TreeDist v.2.11.1 (Smith, 2022b), Treetools v.2.0.0 (Smith, 2019) y protoclust v.1.6.4 (Tibshirani, 2002).

2.3.4.2 Correlación entre señal filogenética y variables ambientales

Para evaluar la correlación entre la señal filogenética y la diversidad ambiental, la cual propondría una potencial conexión con eventos de selección, se realizó un muestreo de temperatura y precipitación utilizando las capas bioclimáticas disponibles en la base de datos CHELSA-Bioclim (Brun et *al.*, 2022). Para esto, se llevó a cabo un Análisis de Componentes Principales (PCA) sobre las 19 capas bioclimáticas disponibles a una resolución de 30 arc-segundos (~ 1 km), las cuales fueron recortadas a una extensión que incluyó los países donde se distribuyen las especies consideradas en este estudio: Argentina, Brasil, Bolivia, Chile, Paraguay, Perú, Uruguay.

Para la extracción de valores climáticos asociados a los componentes principales resultantes, se utilizaron registros de colecta provenientes del Herbario de la Universidad de Concepción (CONC) y del portal GBIF ([GBIF.org](https://www.gbif.org) 2025) para las especies brasileñas,

considerando exclusivamente registros de herbarios reconocidos en el Index Herbariorum (Thiers, 2026). Los valores de cada componente principal fueron extraídos utilizando la media aritmética calculada sobre un buffer de 5 km alrededor de cada punto de coordenada de ocurrencia.

Se evaluó la señal filogenética contenida en los primeros seis componentes principales, los cuales explicaron hasta un 95% de la variación acumulada. Para ello, se estimó tanto la señal filogenética global como individual de cada componente, utilizando el índice λ de Pagel, que evalúa si la covarianza de un carácter se ajusta al patrón filogenético esperado bajo un modelo de evolución aleatorio (i.e., Browniano; Pagel, 1999), y el índice K de Bloomberg, que cuantifica el grado de similitud entre taxones cercanamente emparentados con relación a lo esperado bajo dicho modelo aleatorio (Bloomberg et al., 2003). Adicionalmente, se aplicó un Indicador Local de Asociación Filogenética basado en el estadístico de Morán (LIPA), con el fin de identificar sectores específicos del árbol que presentaran correlación filogenética significativa en las variables ambientales, permitiendo detectar patrones de divergencia o similitud ambiental local entre grupos de taxones cercanamente relacionados en una filogenia (Keck et al., 2016). Todos estos análisis fueron realizados en R utilizando los paquetes phylobase v.0.8.12 (Hackaton et al., 2024), phylosignal v.1.3.1 (Keck et al., 2016) y ape v.5.0 (Paradis & Shliep, 2019).

2.3.4.3 Estimación de fechas de divergencia

Finalmente, se estimaron las fechas de divergencia de los nodos correspondientes a los filogrupos recuperados en el árbol de referencia. Para ello, se realizaron análisis

independientes utilizando dos conjuntos de datos: (1) plastomas completos y (2) genes codificantes concatenados, con el objetivo de evaluar la posible asociación entre eventos climáticos del pasado y divergencias atribuibles a selección, así como la influencia del tipo de conjunto de datos en las estimaciones temporales.

Para la estimación de fechas, se evaluó el efecto de dos puntos de calibración secundarios asociados al ancestro común de *Alstroemeria*, estimados en 18,4 Ma (11,2-26,8 Ma; Chacón et al., 2012) y 6,2 Ma (2,91-10,9 Ma; Tribble et al., 2024). Estas calibraciones fueron implementadas mediante distribuciones log normales: para la estimación de Chacón et al. se utilizó $S = 2,852$, $u = 0,35$ y $\text{offset} = 0$; y para la de Tribble et al., $S = 1,8246$, $u = 0,32$ y $\text{offset} = 0$.

Para el conjunto de plastomas completos se asumió una partición única, mientras que para el conjunto de genes concatenados se evaluaron dos esquemas de partición: (1) tres particiones de genes inferidas mediante PartitionFinder2 y (2) un esquema basado en particiones de codón, separando (1+2) +3 (Lemey et al., 2009). En todos los casos, se asumieron modelos de sustitución y topologías ligadas durante el proceso de estimación. Con el fin de ajustar la heterogeneidad entre sitios y particiones, se utilizó un modelo de sustitución de GTR + G (cuatro categorías de tasas).

Dada la ausencia de fósiles atribuibles a *Alstroemeria* y *Bomarea*, el uso exclusivo de calibraciones secundarias podría sesgar las estimaciones temporales si no se incorpora información adicional que compense la incertidumbre inherente al carecer de puntos temporales de referencia corroborados (Simon et al., 2009; Edwards et al., 2020). Por esta

razón, se especificó un prior sobre la tasa de sustitución bajo un modelo de reloj molecular, distribución log normal relajado con una media de 0,001 sustituciones por sitio por millón de años, siguiendo como referencia valores reportados en estudios de evolución organelar y nuclear en angiospermas (Wolf et *al.*, 1989; De la Torre et *al.*, 2017).

Para permitir variación en las tasas entre particiones, se utilizó un prior basado en una distribución log normal con $\mu = -6,907755$ y $\sigma = 1$, y una desviación estándar modelada mediante una distribución exponencial media = 0,5 y valor inicial = 0,333, para acomodar la expectativa de heterogeneidad en tasas evolutivas entre genes cloroplastidiales (Robbins & Kelly, 2023). Finalmente, se optó por un modelo Yule para la evolución del árbol filogenético, ya que los análisis preliminares no detectaron diferencias de estimación de fechas significativas con modelos alternativos como el modelo Birth-Death. Para el muestreo, se ejecutaron cuatro cadenas de MCMC independientes de 40 millones de iteraciones, con un muestreo cada 5.000 generaciones. Las cadenas fueron combinadas utilizando LogCombiner v.1.10.4 y resumidas en un árbol de máxima credibilidad del clado (MCCT) con alturas de nodo promedio mediante TreeAnnotator v.1.10.4. La convergencia y el tamaño efectivo de muestra (ESS) fueron evaluados en Tracer v.1.7.2 asegurando valores ≥ 300 para todos los parámetros estimados (Rambaut et *al.*, 2018).

Finalmente, se realizó un análisis de sensibilidad para evaluar la influencia relativa de los *priors* y los datos moleculares en la estimación de la edad del ancestro común más reciente de *Alstroemeria*. Para ello, se ejecutó una corrida bajo la opción *prior-only* y controlando bajo una topología única, comparando con la estimación basada en los datos moleculares

(May *et al.*, 2021; Tribble *et al.*, 2024). Todos los análisis fueron realizados en BEAST X 10.5 (Suchard *et al.*, 2018).

III. RESULTADOS

3.1 Caracterización de plastomas

Se ensamblaron y anotaron 56 plastomas de taxones de la familia Alstroemeriaceae, de los cuales 54 corresponden al género *Alstroemeria* –51 de Chile y tres de Brasil– y dos a taxones del género *Bomarea*. Debido a limitaciones en la cantidad y calidad de las lecturas disponibles para la reconstrucción completa del genoma cloroplastidial, no fue posible obtener el plastoma completo en cinco especies (*A. angustifolia*, *A. garaventae* ssp. *garaventae*, *A. lutea*, *A. pseudopathulata* y *A. pulchra* spp. *lavandulacea*; Tabla 2). En el caso de *A. pulchra* ssp. *lavandulacea* fue posible ensamblar completamente una de las dos regiones repetidas invertidas (IR); por esta razón, en la tabla no se observan datos faltantes, a pesar de que este taxón presenta un plastoma incompleto.

Tabla 2. Plastomas ensamblados con sus principales características: cobertura de secuenciación de cada individuo (cov), tamaño total del plastoma en pares de bases (pb), tamaños de las regiones LSC, SSC e IR (en pb) y contenido de guanina-citosina (GC%). Los plastomas incompletos se destacan en rojo y presentan un guion (-) en aquellas regiones que no fue posible obtener información. Los taxones caracterizados desde Nascimento et al. (2026) llevan un asterisco (*) junto a su nombre.

Muestra	Cov. (x)	Tamaño (pb)	LSC (pb)	SSC (pb)	IR (pb)	% GC
<i>A_andina_CDS417</i>	500,4	150.258	81.476	15.598	26.592	38,30%
<i>A_andina_venustula_CDS791</i>	153,5	155.996	84.698	17.950	26.674	38,10%
<i>A_angustifolia_OTN250</i>	62,7	122.454	75.533	-	26.675	39,20%
<i>A_aurea_PCM22</i>	592,2	155.458	84.401	17.786	26.622	38,10%
<i>A_crispata_CDS442A</i>	320,1	149.580	83.948	15.579	29.023	38,40%
<i>A_cummingiana_OTN162</i>	301,1	150.195	84.498	15.585	26.645	38,30%
<i>A_diluta_chrysantha_OTN182</i>	277,2	149.513	83.930	15.580	26.617	38,40%

<i>A_diluta_diluta_PCM16</i>	404,5	149.691	83.974	15.579	29.046	38,40%
<i>A_esteparica_CS04</i>	73,5	155.595	86.764	15.559	26.636	38,00%
<i>A_exserens_MTK29140</i>	199,9	149.525	80.614	15.529	26.691	38,40%
<i>A_garaventae_garaventae_ASv1</i>	38,6	101.975	75.247	-	26.728	38,30%
<i>A_garaventae_longaviensis_OTN212</i>	123,3	155.890	84.483	17.911	29.076	38,00%
<i>A_graminea_CDS382</i>	499,7	151.721	83.922	15.427	26.667	38,20%
<i>A_hookeri_hookeri_OTN219</i>	224,6	155.928	79.934	17.908	29.043	38,00%
<i>A_hookeri_maculata_OTN158</i>	381	150.104	84.456	15.576	26.625	38,30%
<i>A_hookeri_recumbens_OTN175</i>	314,7	150.127	84.480	15.572	26.624	38,30%
<i>A_hookeri_sansebastiana_OTNAhsY</i>	226,6	150.188	84.497	15.583	26.643	38,30%
<i>A_kingii_PCM6</i>	287,7	149.592	83.925	15.581	29.019	38,40%
<i>A_leporina_CDS523</i>	323,3	150.118	84.472	15.576	26.667	38,30%
<i>A_ligtu_ligtu_PCM32</i>	252,9	155.713	84.443	17.892	26.599	38,00%
<i>A_ligtu_simsii_OTN173</i>	442,2	149.804	84.189	15.511	26.675	38,40%
<i>A_ligtu_splendens_OTN207</i>	1002,6	155.438	84.129	17.832	26.701	38,10%
<i>A_lutea_RP02</i>	35,3	71.310	-	15.557	26.678	40,20%
<i>A_magnifica_magenta_PCM15</i>	490,3	150.087	84.445	15.574	26.623	38,30%
<i>A_magnifica_magnifica_PCM14</i>	257,7	149.594	83.924	15.574	28.992	38,40%
<i>A_magnifica_sierrae_OTN156</i>	387,9	149.598	83.922	15.580	28.992	38,40%
<i>A_marticoarenae_OTN170</i>	307,3	150.188	84.500	15.576	26.645	38,30%
<i>A_monticola_JNassimento*</i>	145,7	150.170	81.185	15.607	26.689	38,30%
<i>A_nov_spp_OTN177</i>	227,2	150.189	84.500	15.577	26.645	38,30%
<i>A_pallida_JE35</i>	135,4	150.187	84.499	15.576	26.645	38,30%
<i>A_parvula_JE76</i>	273,9	155.295	84.031	17.882	26.691	38,10%
<i>A_pelegrina_OTN168</i>	365	150.123	84.480	15.575	26.668	38,30%
<i>A_philippii_adrianae_PCM9</i>	210,4	151.813	83.993	15.535	28.978	38,30%
<i>A_philippii_philippii_PCM5</i>	257,3	151.878	84.016	15.542	28.997	38,30%
<i>A_piperata_GLRo</i>	369,6	150.196	84.508	15.576	26.645	38,30%
<i>A_polyphylla_CDS526</i>	487,4	150.385	81.323	15.568	26.747	38,30%
<i>A_presliana_australis_PCM30</i>	261,2	149.845	80.913	15.536	26.698	38,40%
<i>A_presliana_presliana_PCM35</i>	325,4	155.475	86.565	15.548	26.681	38,10%
<i>A_pseudospathulata_JE85</i>	29,1	110.826	84.138	-	26.688	37,90%
<i>A_psittacina_JNassimento*</i>	226,2	149.995	81.089	15.508	26.699	38,30%
<i>A_pulchra_CDS410</i>	176,9	149.631	83.951	15.565	28.997	38,40%
<i>A_pulchra_lavandulacea_OTN200</i>	73,4	146.716	75.475	17.779	26.682	38,30%

<i>A_pulchra_pulchra_PCM116*</i>	320,1	149.982	84.374	17.838	26.647	38,30%
<i>A_revoluta_PCM26</i>	55,6	155.433	84.120	17.838	26.703	38,10%
<i>A_schizanthoides_MM01</i>	133,2	155.292	83.928	15.580	29.037	38,10%
<i>A_spathulata_JE78</i>	266,9	155.625	84.414	17.847	26.682	38,10%
<i>A_traudlieae_OTN157</i>	203,3	149.628	83.952	15.580	29.024	38,40%
<i>A_umbellata_MKA29141</i>	242	149.569	80.627	15.558	26.692	38,40%
<i>A_uribiciensis_JNassimento*</i>	160,5	149.977	84.361	15.559	26.671	38,30%
<i>A_versicolor_PCM40</i>	448,5	155.901	84.503	17.899	29.043	38,00%
<i>A_violacea_RP05</i>	57	154.799	85.895	15.572	26.666	38,20%
<i>A_werdermannii_flavicans_OTN154</i>	235,6	151.819	84.002	15.511	28.950	38,30%
<i>A_werdermannii_werdermannii_CDS 508</i>	138,8	151.889	84.021	15.546	29.026	38,30%
<i>A_zoellneri_DVV301</i>	104,9	155.344	84.124	17.840	26.702	38,10%
<i>B_ovallei_PCMBov</i>	411,3	149.377	80.634	15.441	26.651	38,40%
<i>B_salsilla_PCMBs</i>	479,1	149.179	80.485	15.396	26.649	38,40%

En términos generales, los plastomas de *Alstroemeria* poseen tamaños que oscilan aproximadamente entre las 149.513 pb (*A. diluta chrysantha*) y 155.996 pb (*A. andina venustula*), exhibiendo una configuración cuatripartita compuesta por una región de copia única grande (LSC), una región de copia única pequeña (SSC) y dos regiones repetidas invertidas (IRA e IRB). Por su parte, los plastomas de *Bomarea*, tienen un tamaño promedio de 149.278 pb y presentaron la misma estructura y número de genes que los de *Alstroemeria*. En promedio, los plastomas fueron secuenciados con una cobertura de 319.38 X por nucleótido (Tabla 2).

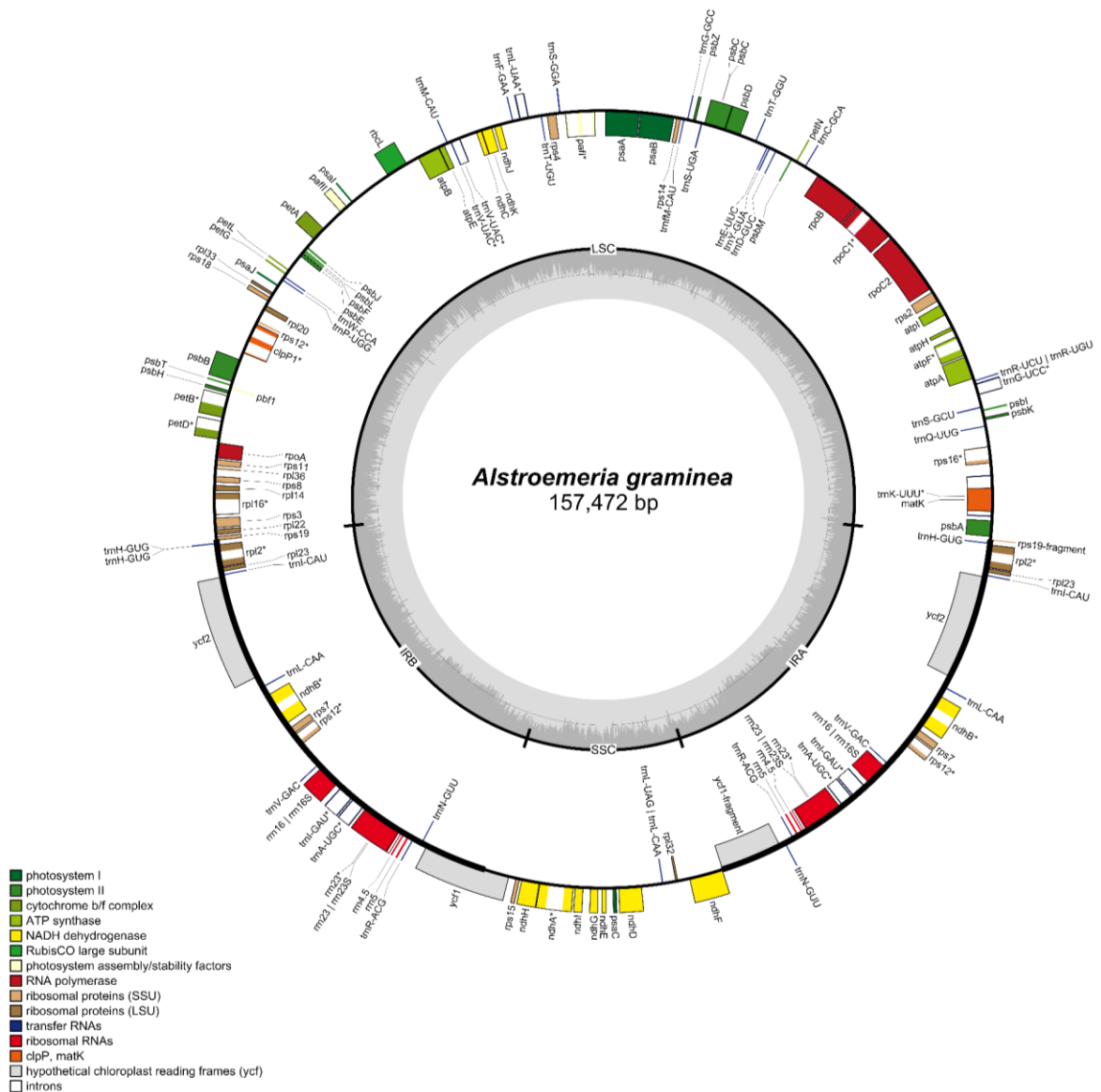


Figura 1. Mapa genético del genoma cloroplastidial de *Astroemeria graminea*. La forma en que los genes se sitúan en el círculo exterior representa la forma en que estos se transcriben, los que aparecen en la parte externa se transcriben en sentido antihorario, mientras que los internos se transcriben en sentido horario. Los códigos de colores representan diferentes grupos de genes funcionales. Las siglas círculo central representan las cuatro partes del plastoma; LSC se refiere a la región de copia única grande, IR se refiere a las regiones repetidas invertidas A y B, y SSC a la región de copia única pequeña. Dentro del círculo central, las variaciones de contenido de GC y AT se indican con gris más oscuro y claro, respectivamente.

Tabla 3. Genes identificados en el plastoma de *Alstroemeria*, agrupados según su función. Los asteriscos indican el número de intrones por gen: uno (*) o dos (**). La notación “x2” señala la duplicación del gen en las regiones repetidas invertidas (IR). Los genes pseudogenizados se destacan en negrita.

Función	Genes
ARN de transferencia	<i>trnA</i> -UGC (x2)**, <i>trnC</i> -GCA, <i>trnD</i> -GUC, <i>trnE</i> -UUC, <i>trnF</i> -GAA, <i>trnG</i> -GCC, <i>trnG</i> -UCC, <i>trnH</i> -GUG (x2), <i>trnI</i> -CAU (x2), <i>trnI</i> -GAU (x2)**, <i>trnK</i> -UUU*, <i>trnL</i> -CAA (x2), <i>trnL</i> -UAA*, <i>trnL</i> -UAG, <i>trnM</i> -CAU, <i>trnN</i> -GUU (x2), <i>trnP</i> -UGG, <i>trnQ</i> -UUG, <i>trnR</i> -ACG (x2), <i>trnR</i> -UCU, <i>trnR</i> -UGU, <i>trnS</i> -GCU, <i>trnS</i> -GGA, <i>trnS</i> -UGA, <i>trnT</i> -GGU, <i>trnT</i> -UGU, <i>trnV</i> -GAC (x2), <i>trnV</i> -UAC*, <i>trnW</i> -CCA, <i>trnY</i> -GUA, <i>trnM</i> -CAU
ARN polimerasa	<i>rpoA</i> , <i>rpoB</i> , <i>rpoC1</i> *, <i>rpoC2</i>
ARN ribosomal	<i>rrn16</i> (x2), <i>rrn23</i> (x2)**, <i>rrn4.5</i> (x2), <i>rrn5</i> (x2)
ATP sintasa	<i>atpA</i> , <i>atpB</i> , <i>atpF</i> *, <i>atpH</i> , <i>atpI</i>
Biogénesis del citocromo tipo c	<i>ccsA</i>
Citocromo b ₆ /f	<i>petA</i> , <i>petB</i> *, <i>petD</i> *, <i>petG</i> , <i>petL</i> , <i>petN</i>
Factor de iniciación de la traducción I	<i>infA</i>
Fotosistema I	<i>psaA</i> , <i>psaB</i> , <i>psaC</i> , <i>psaI</i> , <i>psaJ</i>
Fotosistema II	<i>psbA</i> , <i>psbB</i> , <i>psbC</i> , <i>psbD</i> , <i>psbE</i> , <i>psbF</i> , <i>psbH</i> , <i>psbI</i> , <i>psbJ</i> , <i>psbK</i> , <i>psbL</i> , <i>psbM</i> , <i>psbT</i> , <i>psbZ</i>
Mantenimiento del cloroplasto	<i>ycf1</i> (x2), <i>ycf2</i> (x2), <i>pafI</i> (<i>ycf3</i>)**, <i>pafII</i> (<i>ycf4</i>), <i>ycf15</i>
Maturasa K	<i>matK</i>
NADH deshidrogenasa	<i>ndhA</i> *, <i>ndhB</i> (x2)**, <i>ndhC</i> , <i>ndhD</i> , <i>ndhE</i> , <i>ndhF</i> , <i>ndhG</i> , <i>ndhH</i> , <i>ndhI</i> , <i>ndhJ</i> , <i>ndhK</i>
Proteasa ATP-dependiente	<i>clpP1</i>**

Proteína de la membrana de la envoltura del cloroplasto	<i>cemA</i>
Proteína ribosomal (subunidad mayor)	<i>rpl2(x2)**</i> , <i>rpl14</i> , <i>rpl16*</i> , <i>rpl20</i> , <i>rpl22</i> , <i>rpl23 (x2)</i> , <i>rpl32</i> , <i>rpl33</i> , <i>rpl36</i>
Proteína ribosomal (subunidad menor)	<i>rps2(x2)</i> , <i>rps3</i> , <i>rps4</i> , <i>rps7(x2)</i> , <i>rps8</i> , <i>rps11</i> , <i>rps12**</i> , <i>rps14</i> , <i>rps15</i> , <i>rps16*</i> , <i>rps18</i> , <i>rps19</i>
Subunidad grande de RuBisCO	<i>rbcL</i>

En cada plastoma se identificaron 82 genes codificadores de proteínas (CDS), ocho genes de ARN ribosomal y 39 genes de ARN de transferencia (Fig. 1; Tabla 3). Los genes *infA*, *ndhF*, *ndhK*, *pafl*, *rpoC2*, *ycf1* y *ycf15*, fueron excluidos de los siguientes análisis por la presencia de deleciones y/o codones de término prematuros en sus marcos de lectura correspondientes.

Los límites de las regiones invertidas (IR) fueron comparados entre plastomas de especies de *Alstroemeria*, junto con representantes de *Bomarea* (Fig. 2.) En todos los taxones se observó una estructura cuatripartita típica, compuesta por una región de copia única grande (LSC), una región de copia única pequeña (SSC) y dos regiones repetidas invertidas (IRa e IRb). El tamaño del plastoma varió entre ~149 y 158 kb, con diferencias en la longitud de IR (~24.8-29.0 kb) y SSC (~15.4-18.0 kb). En los plastomas analizados, el gen *rps19* se localizó en el límite entre LSC e IRb, mientras que *rpl2* se encontró completamente contenido dentro de la región IR. El gen *psbA* se ubicó en la región LSC, alejado del límite con IRa. En el límite entre IRb y SSC, el gen *ndhF* se encontró consistentemente dentro de la región SSC, con variaciones en su proximidad al límite. Por su parte, *ycf1* se extendió a través del límite entre SSC e IRa en todos los taxones, con

plastomas (Figura 2). Se muestran posiciones relativas de los genes adyacentes de las uniones LSC/IRb (JLB), IRb/SSC (JSB), SSC/IRa (JSA) e IRa/LSC (JLA), así como las variaciones en la extensión de las regiones repetidas invertidas entre los taxones analizados.

El análisis de microsatélites en *Alstroemeriaceae* (*Alstroemeria* y *Bomarea*) reveló un predominio de repeticiones mononucleotídicas, con 8.369 locus identificados, seguidas por dinucleotídicas (47 locus) y tetranucleotídicas (seis locus) (Tabla 4). Los motivos detectados correspondieron principalmente a A y C en mononucleótidos, AT en dinucleótidos, y AAAT y AACT en tetranucleótidos (Tabla 5). No se detectaron diferencias de proporción importantes entre la cantidad o calidad de SSR detectados por grupo filogenético detectado (Fig. 3).

Tabla 4. Distribución y características de microsatélites (SSR) identificados en los plastomas alineados de *Alstroemeria*, según tipo de repetición.

Tipo	N° de locus	Longitud total (bp)	Porcentaje (%)	Longitud promedio (bp)	Abundancia relativa (loci/Mb)	Densidad relativa (bp/Mb)
Mono	8.369	785.216	99,37	93,82	974,17	91400,63
Di	47	698	0,56	14,85	5,47	81,25
Tetra	6	112	0,07	18,67	0,7	13,04

Tabla 5. Resumen de los motivos de microsatélites (SSR) identificados en los plastomas de *Alstroemeria*.

Motivo	Tipo	N° de locus	Longitud total (bp)	Porcentaje (%)	Longitud promedio (bp)	Abundancia relativa (loci/Mb)	Densidad relativa (bp/Mb)
--------	------	-------------	---------------------	----------------	------------------------	-------------------------------	---------------------------

-	1	7.986	780.093	94,82	97,68	929,59	90.804,31
A	1	370	4.962	4,39	13,41	43,07	577,59
C	1	13	161	0,15	12,38	1,51	18,74
AT	2	47	698	0,56	14,85	5,47	81,25
AAAT	4	5	80	0,06	16,0	0,58	9,31
AACT	4	1	32	0,01	32,0	0,12	3,72

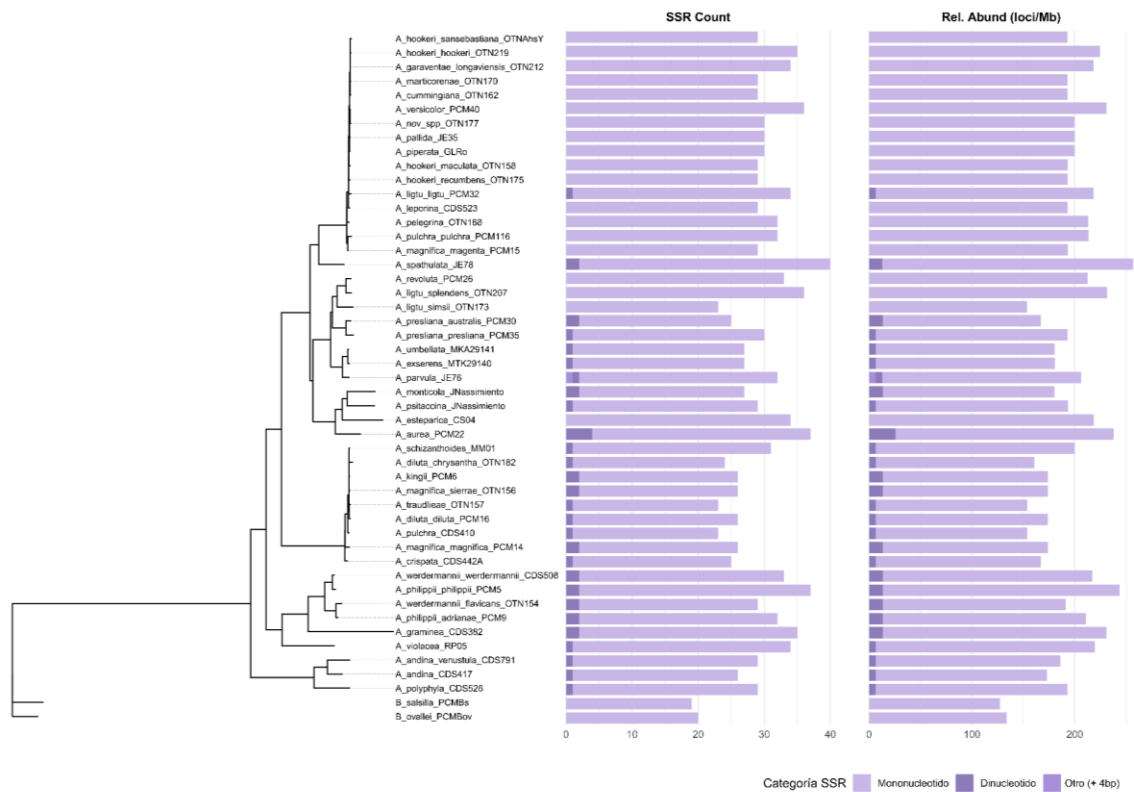


Figura 3. Resumen de cantidad de microsatélites por taxón y la abundancia relativa respectiva con respecto a la filogenia inferida (ver siguiente sección). Las categorías de SSR se dividen en: mononucleótidos, dinucleótidos y otros (que representan motivos de más de cuatro pares de bases).

En conjunto, la alta conservación estructural del plastoma de *Alstroemeria*, junto con variaciones puntuales en regiones específicas y genes codificantes, proporciona un marco

adecuado para evaluar si cambios discretos a nivel de secuencia pueden coexistir con una señal filogenética globalmente conservada.

3.2 Filogenia del plastoma de *Alstroemeria*

El alineamiento de las 58 secuencias presentó 164.237 sitios de nucleótidos de los cuales 7.033 caracteres (4,3%) fueron variables. Entre estos sitios, 4.052 (2,5%) fueron parsimoniosamente informativos, mientras que 2.981 (1,8%) se identificaron como sitios únicos (singletons). La mayoría de los caracteres (157.204; 95,7%) fueron constantes en todas las secuencias. El árbol más probable fue inferido bajo el modelo de sustitución nucleotídica K3Pu+F+R4, según lo seleccionado por el criterio BIC, estando definido con un log-likelihood de -287950,022. (Fig. 4).

Los complejos de especie identificados fueron monofiléticamente concordantes en la mayoría de los casos, con excepción de *A. garaventae*, *A. ligu*, *A. magnifica* y *A. pulchra*. En el complejo *A. garaventae*, *A. garaventae* subsp. *garaventae* fue recuperada en el clado III, mientras que *A. garaventae* subsp. *longaviensis*, en el clado VII. En *A. ligu*, *A. ligu* subsp. *ligu* fue recuperada en el clado VII, a diferencia de *A. ligu* subsp. *simsii* y *A. ligu* subsp. *splendens* que se encuentran en el clado VI. Con *A. magnifica*, *A. magnifica* subsp. *magenta* se recuperó en el clado VII, mientras que *A. magnifica* var. *sierrae* y *A. magnifica* subsp. *magnifica* perteneció al clado III. Finalmente, con *A. pulchra*, *A. pulchra* se recupera en el clado III, al contrario de *A. pulchra lavandulacea* y *A. pulchra pulchra* que se recuperan en el clado VII. Resulta interesante notar que los cuatro complejos de

especies con taxones discordantes fueron recuperados en el clado VII, el que además es el filogrupo que presenta mayor heterogeneidad respecto a la distribución ecogeográfica de las especies que lo conforman (Fig. 5).

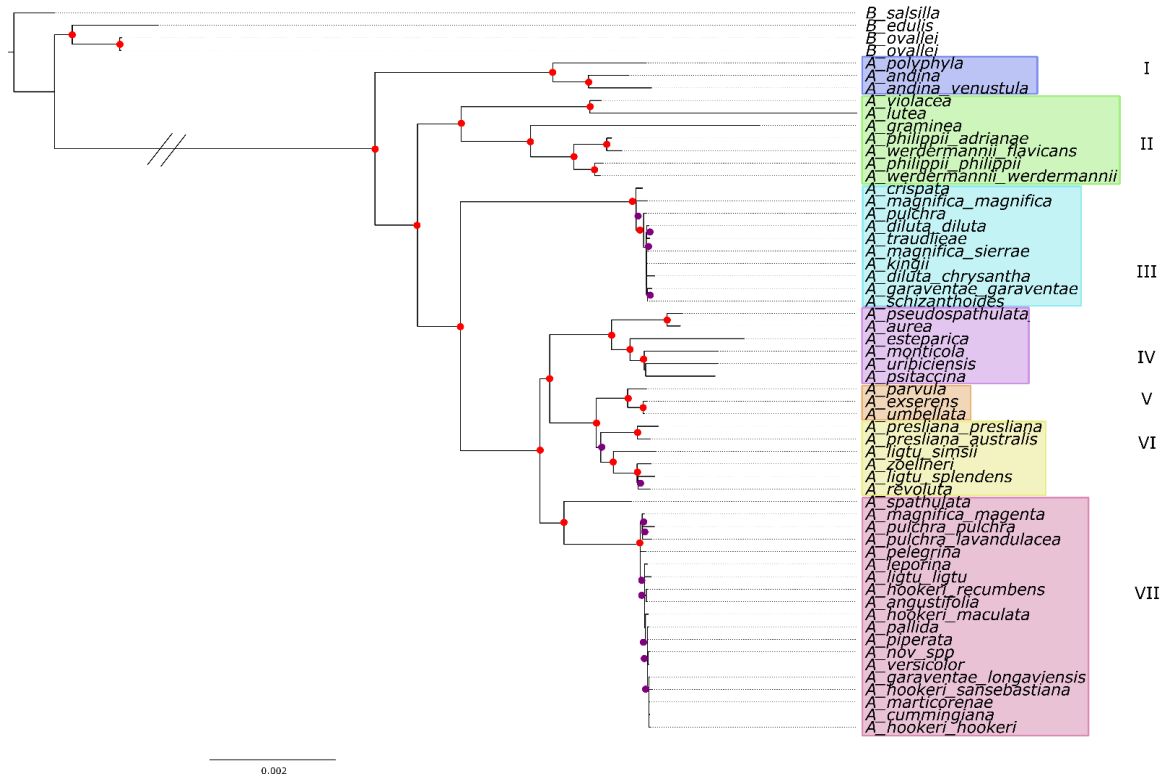


Figura 4. Árbol filogenético más probable de 54 plastomas completos de *Alstroemeria* y 4 plastomas de *Bomarea*, estas últimas representando al grupo externo. Se diferenciaron siete clados enumerados y coloreados para ser distinguidos. Los puntos presentados en cada nodo representan los valores de clados recuperados con alto soporte filogenético (BB > 0,95, SH-aLRT > 0,85), el color rojo representa el valor 100/100 y el color violeta > 85/85. El largo de rama entre *Bomarea* y *Alstroemeria* se visualiza recortado por razones de diagramación.

Se identificaron siete clados que presentaron un buen soporte estadístico, según el criterio propuesto (BB > 0,95, SH-aLRT > 0,85). Tales filogrupos presentan taxones que revelan

cierta relación ecogeográfica con los ambientes en los que habitan, a excepción del Clado VII. El Clado I corresponde a las especies de la cordillera de los andes en el norte de Chile (Región de Atacama); Clado II a especies del desierto florido (costa entre Región de Antofagasta y Atacama); Clado III a especies semidesérticas (rango costero de Región de Atacama hacia el interior hasta la Región de Coquimbo y Valparaíso); Clado IV corresponde a especies a especies brasileñas en conjunto con especies del sur y Patagonia de Chile; Clado V especies del rango de los Andes Centrales (zona de Santiago y Valparaíso); Clado VI especies del centro-sur de Chile (zona central de valles y precordillera de las Regiones de Valparaíso hasta el Biobío y la Araucanía) y finalmente el Clado VII que contiene especies que se distribuyen indistintamente a lo largo y ancho de Chile (Fig. 5).

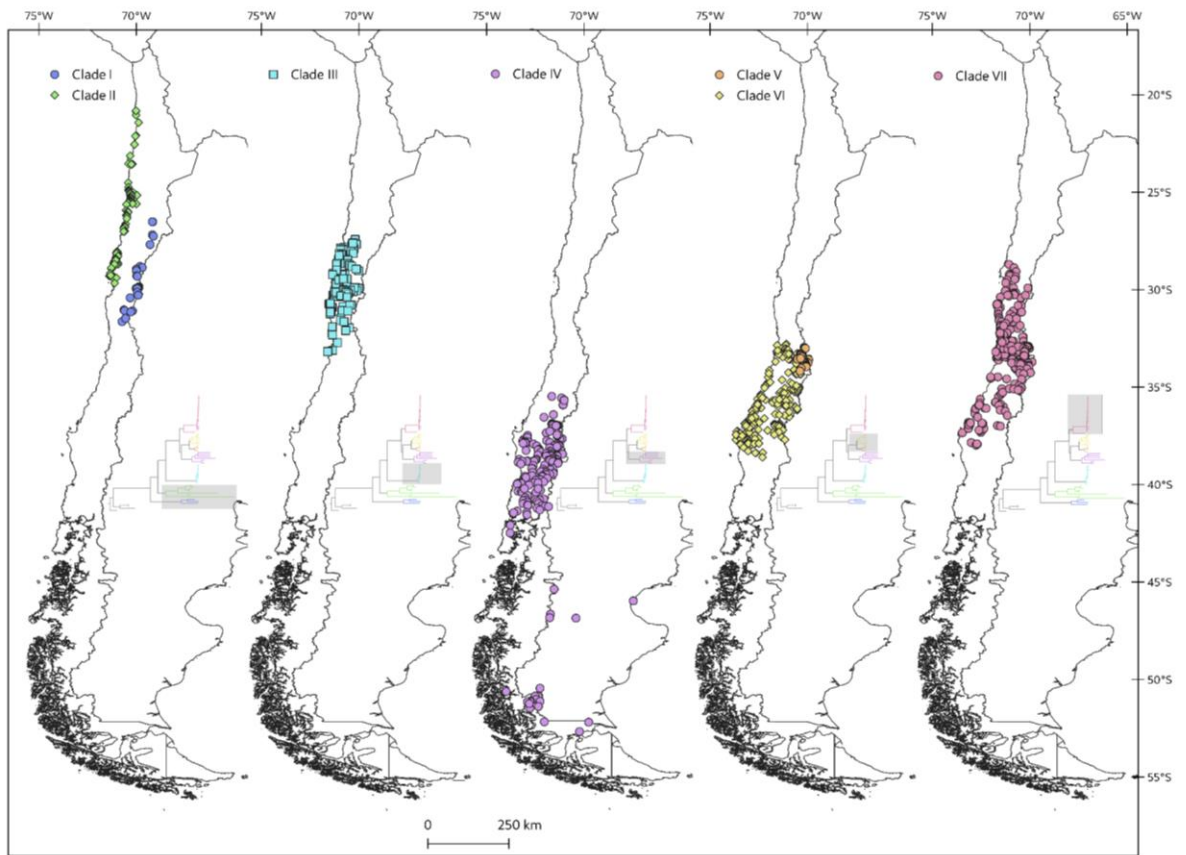


Figura 5. Mapa de Chile con las distribuciones geográficas de las especies pertenecientes a los distintos clados obtenidos en la filogenia. Los puntos mapeados corresponden a datos presentes en la base de datos del herbario CONC para las especies chilenas de *Alstroemeria*.

3.3 Test de selección codónica

Para las tres pruebas de selección realizadas, fueron consideradas las regiones codificantes (CDS) disponibles en el plastoma con excepción de una de las regiones repetidas invertidas para evitar sesgos derivados de la duplicación génica, lo que podría incrementar

artificialmente la probabilidad de detección de selección positiva. En total, desde las tres pruebas se identificaron 30 sitios (codones) bajo selección positiva, correspondientes a 19 genes codificantes. De estos 30 codones, seis mostraron señales de selección episódica y 29 de selección positiva pervasiva, de los cuales cinco presentaron sitios con señal simultánea de selección tanto episódica como pervasiva (Tabla 6).

Tabla 6. Codones bajo selección identificados en los CDS del plastoma de *Alstroemeria* mediante los tres test de selección. Los sitios que presentan evidencia de selección positiva pervasiva y/o episódica, junto con sus respectivos valores estadísticos, se destacan en negrita los genes (y codones) que presentaron evidencia de selección positiva pervasiva y episódica.

Gen	Codón	MEME (p-value)	FEL (p-value)	FUBAR (prob. posterior)	Tipo de selección positiva detectada
<i>accD</i>	324	-	-	0,9013	Pervasiva
<i>atpB</i>	320	-	-	0,9647	Pervasiva
<i>ccsA</i>	108	0,0427	-	0,9199	Episódica y Pervasiva
<i>matK</i>	255	0,0026	-	0,9041	Episódica y Pervasiva
<i>matK</i>	95	-	-	0,9747	Pervasiva
<i>matK</i>	121	-	-	0,9249	Pervasiva
<i>matK</i>	437	-	-	0,945	Pervasiva
<i>ndhD</i>	66	-	-	0,9473	Pervasiva
<i>ndhD</i>	310	-	-	0,9491	Pervasiva
<i>ndhI</i>	26	-	-	0,9625	Pervasiva
<i>ndhI</i>	179	-	-	0,9162	Pervasiva
<i>pafII</i>	165	-	-	0,9526	Pervasiva
<i>petA</i>	33	-	-	0,935	Pervasiva
<i>petA</i>	101	-	-	0,9279	Pervasiva

<i>psbA</i>	11	-	-	0,9293	Pervasiva
<i>psbB</i>	296	0,082	0,061	0,9699	Episódica y Pervasiva
<i>psbF</i>	26	-	-	0,9258	Pervasiva
<i>rbcL</i>	328	-	0,0927	0,9796	Pervasiva
<i>rbcL</i>	341	0,0164	-	-	Episódica
<i>rbcL</i>	449	-	0,0842	0,9835	Pervasiva
<i>rpl20</i>	74	-	-	0,9571	Pervasiva
<i>rpoA</i>	245	-	-	0,9437	Pervasiva
<i>rpoA</i>	272	0,0003	-	0,9075	Episódica y Pervasiva
<i>rpoB</i>	447	-	-	0,9336	Pervasiva
<i>rpoC1</i>	224	0,0256	-	0,9393	Episódica y Pervasiva
<i>rps4</i>	121	-	-	0,9274	Pervasiva
<i>rps15</i>	69	-	-	0,928	Pervasiva
<i>rps15</i>	73	-	-	0,9324	Pervasiva
<i>ycf2</i>	883	-	-	0,9532	Pervasiva
<i>ycf2</i>	1229	-	-	0,9493	Pervasiva

Mostraron evidencia de señales de selección los genes (y sus respectivos codones); *accD* (324), *atpB* (320), *ccsA* (208), *matK* (95, 121, 255, 437), *ndhD* (66, 310), *ndhI* (26, 179), *paflI* (165), *petA* (33, 101), *psbA* (11), *psbB* (296), *psbF* (26), *rbcL* (328, 341, 449), *rpl20* (74), *rpoA* (245, 272), *rpoB* (447), *rpoC1* (224), *rps15* (69, 73), *rps4* (121) y *ycf2* (883, 1229) (Tabla 6).

3.4 Reconstrucción de estados ancestrales de codones bajo selección

Con el fin de evaluar si los sitios bajo selección positiva detectados presentan patrones compatibles con convergencia molecular, se realizó la reconstrucción de estados

ancestrales en aquellos codones que mostraron evidencia de la presencia combinada de selección pervasiva como episódica. Este enfoque permite identificar si estados aminoacídicos similares emergieron de manera independiente en distintos linajes, más allá de su relación filogenética inmediata, lo que constituye un criterio ampliamente utilizado para inferir convergencia molecular a escala macroevolutiva (e.g., Stern, 2013). En particular, se analizaron el codón 108 del gen *ccsA*, el codón 255 de *matK*, el codón 296 de *psbB* y el codón 272 del gen *rpoA*, que se encuentran destacados en negrita en la Tabla 6.

Sitio 108 de *ccsA*

El codón 108 presenta una mutación no sinónima (Fig. 6), representada en el cambio desde Fenilalanina a Tirosina, en *A. exserens*, *A. parvula* y *A. umbellata*, las únicas tres especies que conforman el clado V. Adicionalmente, esta sustitución se registra en *A. andina* var. *venustula*, que se clasifica en el clado I. En el mapa de reconstrucción del estado de carácter ancestral se observa que dicho estado aminoacídico no está presente en *Bomarea* (Fig. 7), y que su aparición ocurre en linajes filogenéticamente no contiguos.

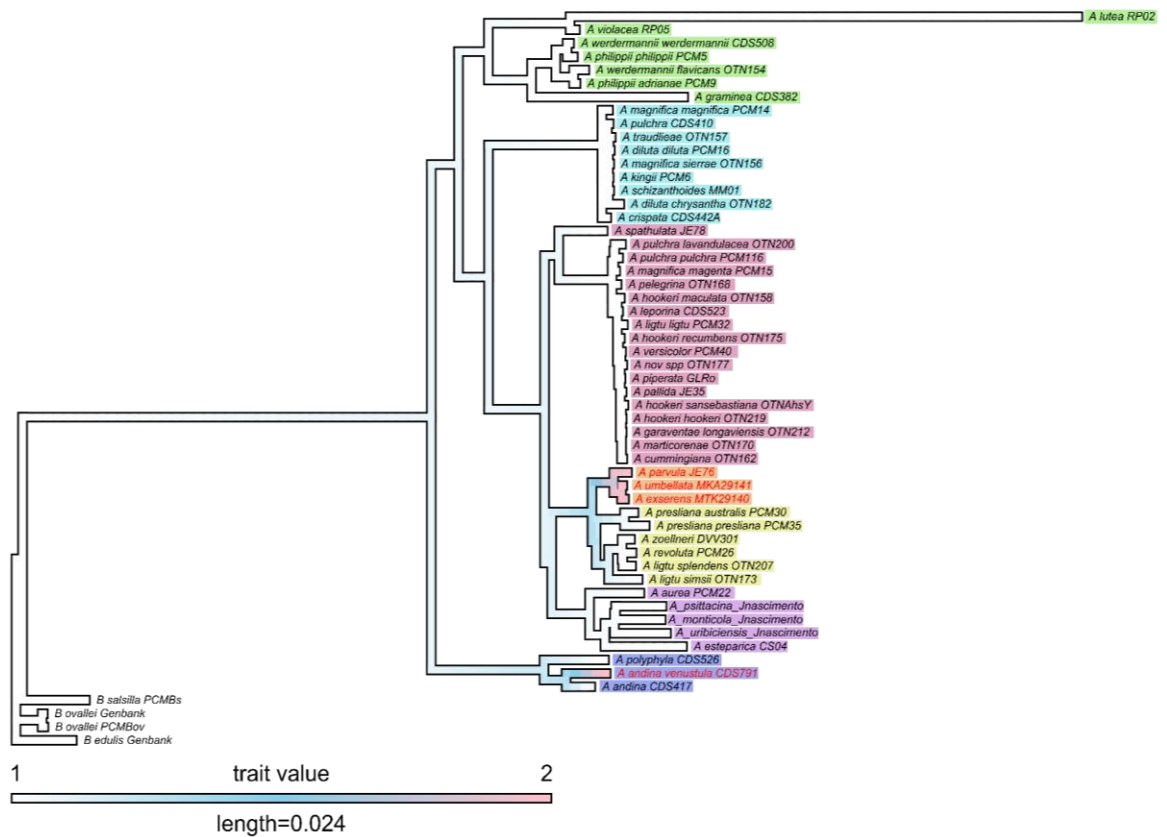


Figura 7. Mapa del estado de carácter ancestral del gen *ccsA* en el sitio 108. Los taxones se encuentran diferenciados por color según la clasificación por clados definida en la filogenia de la Fig. 4. Los taxones que presentan un cambio aminoacídico se destacan en rojo.

Sitio 255 de *matK*

En el sitio 255 (Fig. 8) se evidenció una mutación no sinónima restringida a *A. spathulata*, correspondiente al cambio de Glicina a Leucina. El mapa de reconstrucción del estado de carácter ancestral (Fig. 9) indica que dicha mutación no es compartida con *Bomarea* ni con otros taxones del género, lo que sugiere un evento de sustitución específico de linaje.

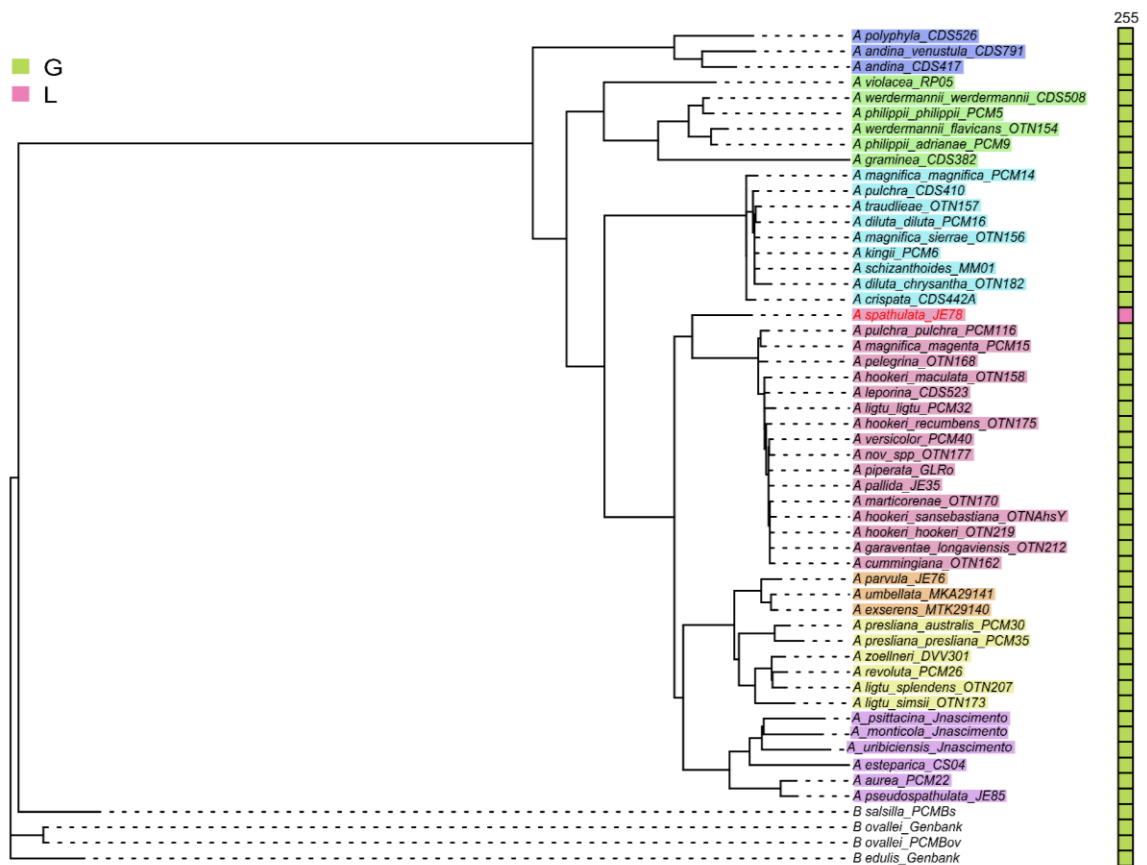


Figura 8. Señal de selección positiva en el sitio 255 del gen *matK*, donde existe un cambio de aminoácido desde Glicina (G) a Leucina (L). Los taxones se encuentran diferenciados por clado, de acuerdo con la clasificación presentada en la Fig. 4. Los taxones que presentan un cambio aminoacídico se destacan en rojo.

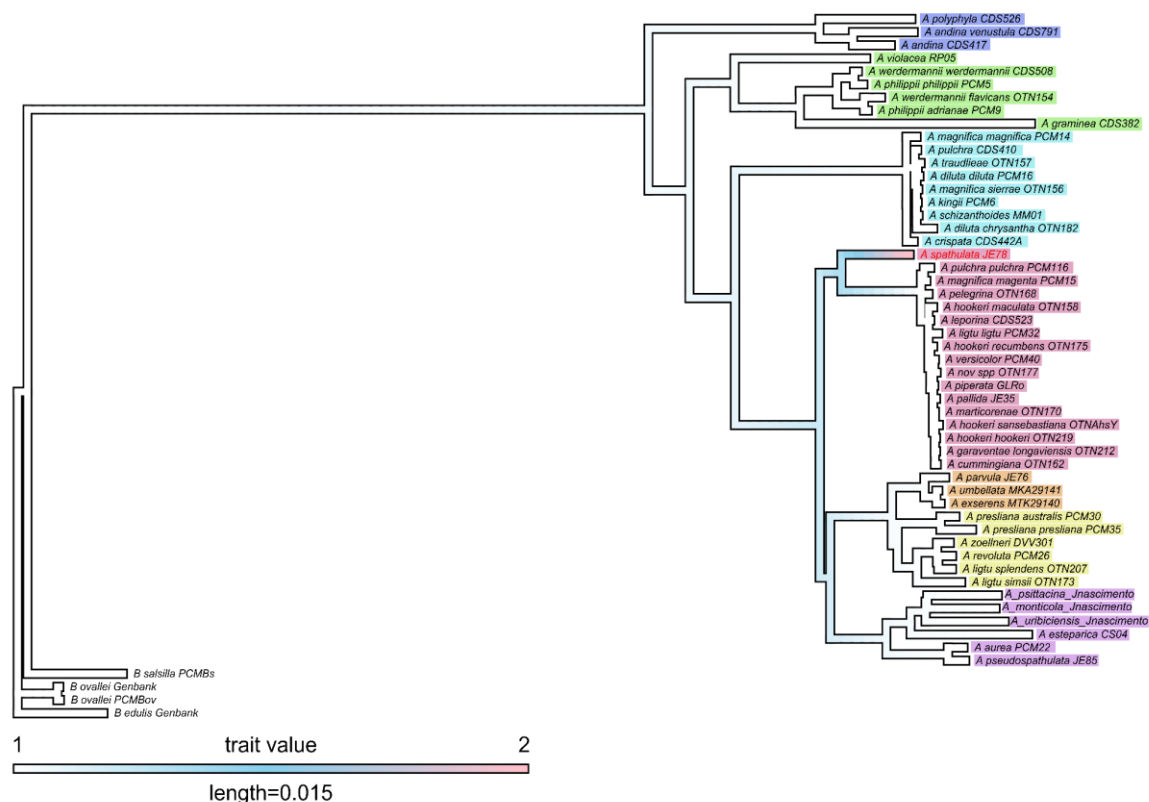


Figura 9. Mapa del estado de carácter ancestral del gen *matK* en el sitio 255. Los taxones se encuentran diferenciados por color según la clasificación por clados definida en la filogenia de la Fig. 4. Los taxones que presentan un cambio aminoacídico se destacan en rojo.

Sitio 296 de *psbB*

En el sitio 296 del gen *psbB* (Fig. 10), se identificó una mutación no sinónima que corresponde al cambio de Leucina a Arginina en *A. graminea*, *A. philippii* var. *adrianae*, *A. philippii* var. *philippii*, *A. werdermannii* var. *flavicans* y *A. werdermannii* var. *werdermannii*; y a Metionina en *A. polyphylla*. El mapa de reconstrucción del estado de

carácter ancestral indica que estos estados derivados no están presentes en *Bomarea* y que su aparición ocurre en linajes filogenéticamente no contiguos (Fig. 11).

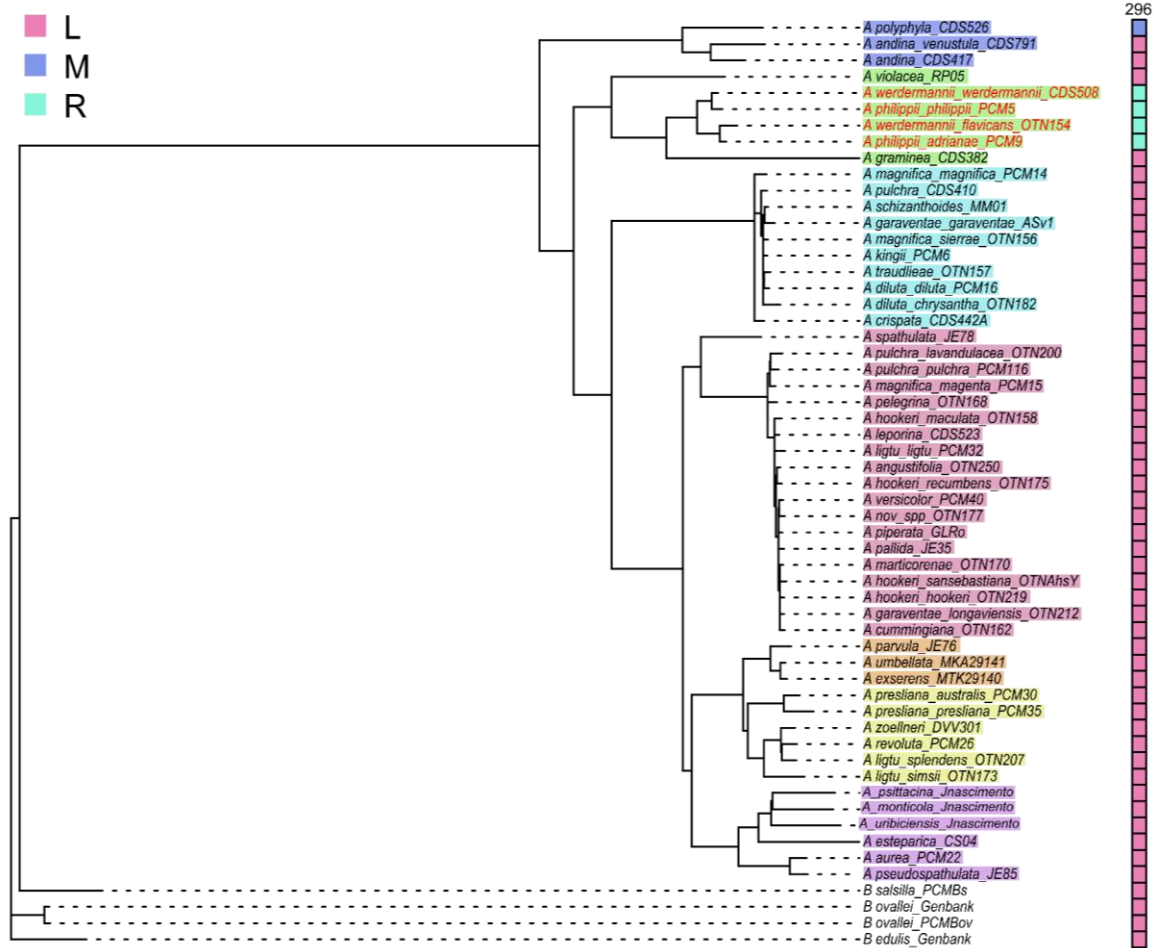


Figura 10. Señal de selección positiva en el codón 296 de *psbB*, donde se genera un cambio de aminoácido desde Leucina (L), a Arginina (R) y Metionina (M). Los taxones se encuentran diferenciados por clado, de acuerdo con lo definido en la filogenia de la Fig. 4. Los taxones que presentan un cambio aminoacídico se destacan en rojo.

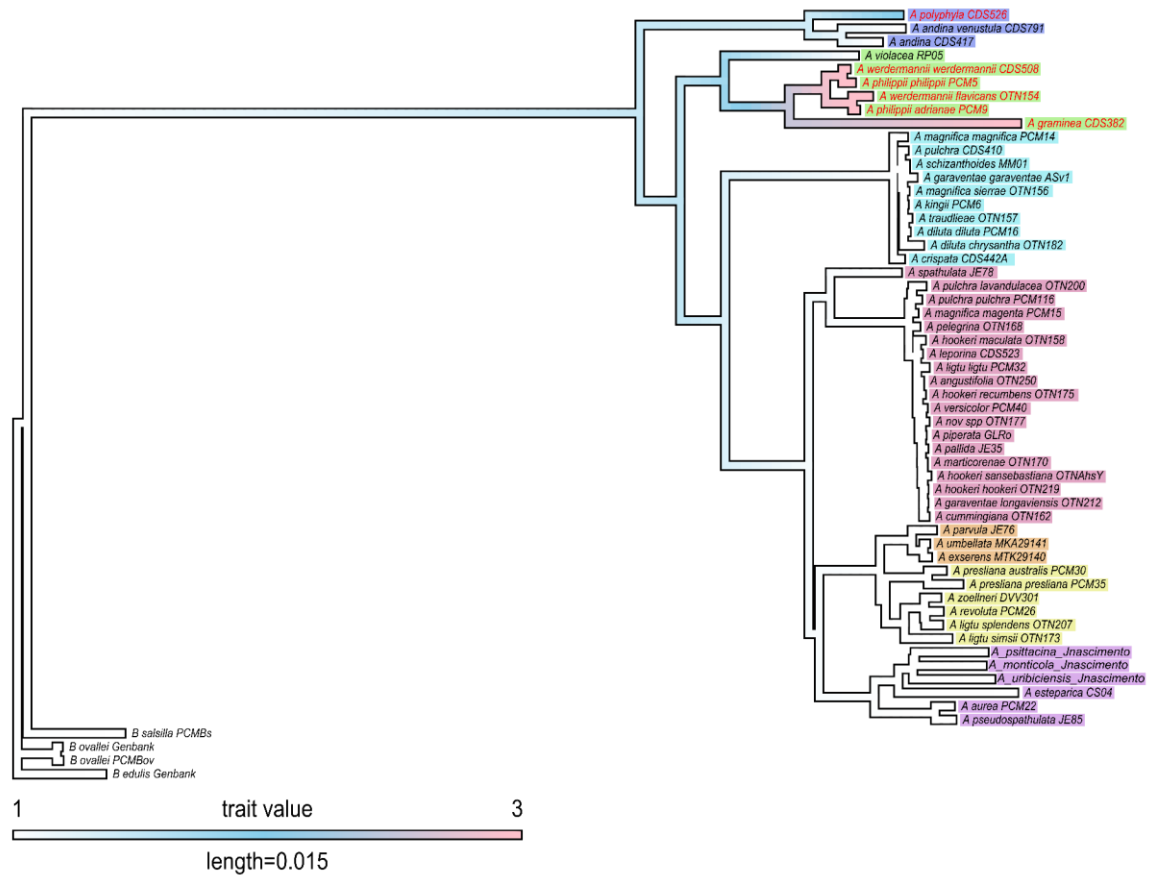


Figura 11. Mapa del estado de carácter ancestral del gen *psbB* en el sitio 296. Los taxones se encuentran diferenciados por color según la clasificación por clados definido en la filogenia de la Fig. 4. Los nombres de los taxones que presentan un cambio aminoacídico se destacan en rojo.

Sitio 272 de *rpoA*

En el codón 272 del gen *rpoA* (Fig. 12) se identificó una mutación no sinónima correspondiente al cambio de Lisina a Fenilalanina en *A. graminea*, *A. philippii* var. *adrianae*, *A. philippii* var. *philippii*, *A. werdermannii* var. *flavicans* y *A. werdermannii* var. *werdermannii*, las cuales conforman un subgrupo dentro del clado II. El mapa de

reconstrucción del estado de carácter ancestral indica que este estado derivado no está presente en *Bomarea* (Fig. 13), lo que permite polarizar la sustitución como derivada dentro del género *Alstroemeria*.

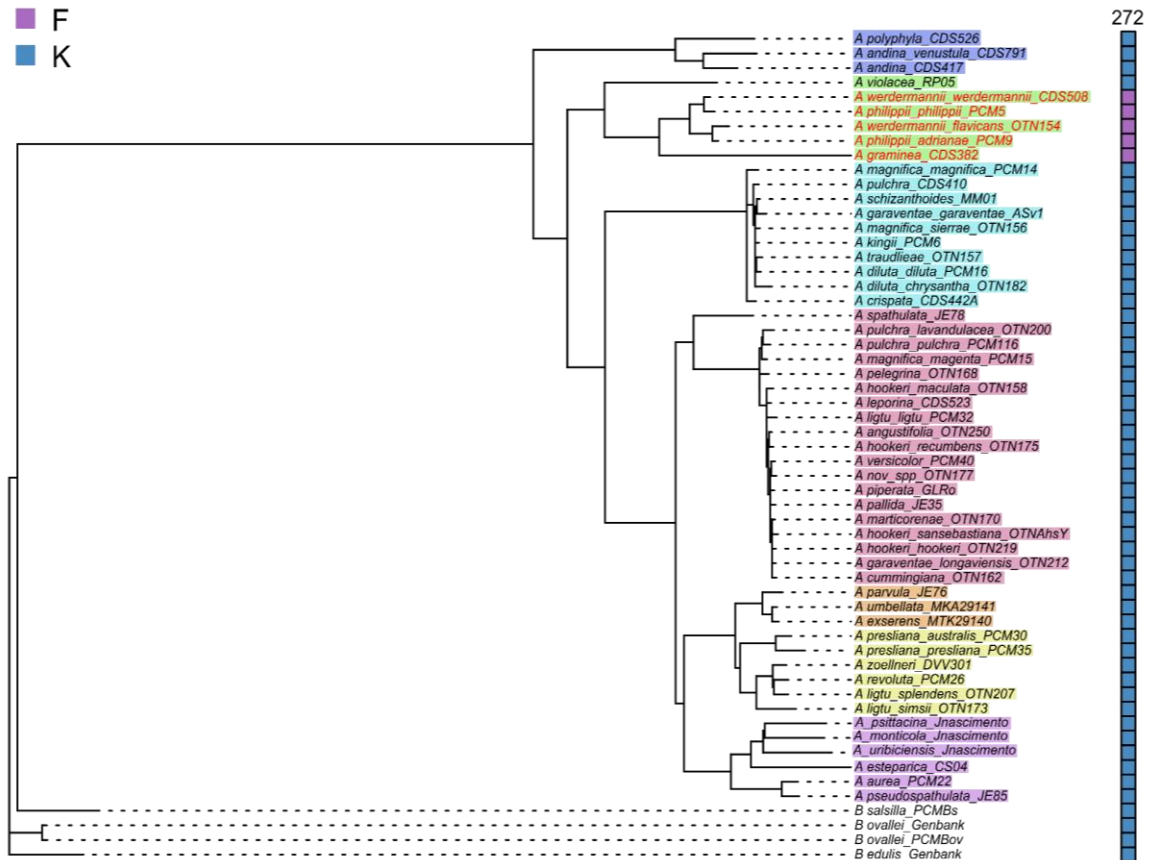


Figura 12. Señal de selección positiva en el sitio 272 de *rpoA*, donde existe un cambio aminoacídico desde Lisina (K) a Fenilalanina (F). Los taxones se encuentran diferenciados por clado, de acuerdo con la clasificación presentada en la Fig. 4. Los taxones que presentan un cambio aminoacídico se destacan en rojo.

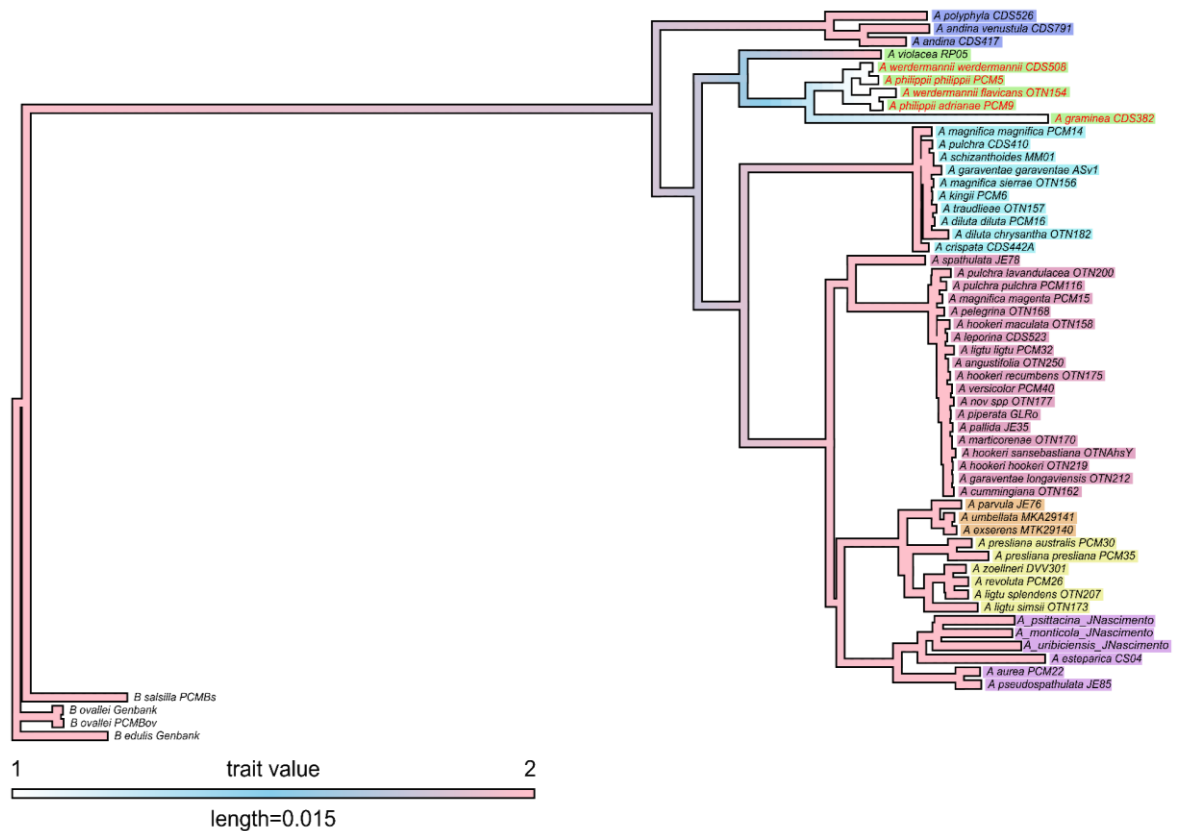


Figura 13. Mapa del estado de carácter ancestral del gen *rpoA* en el sitio 272. Los taxones se encuentran diferenciados por color según la clasificación por clados definida en la filogenia de la Fig. 4. Los taxones que presentan un cambio aminoacídico se destacan en rojo.

3.5 Estructura de la proteína que codifica *rbcl*

Se generaron modelos tridimensionales de la proteína *rbcl* utilizando AlphaFold y se visualizaron en PyMOL, para examinar la localización estructural de los codones bajo selección positiva pervasiva mediante los test FEL y FUBAR (Tabla 6). En particular, se

destacaron los sitios 328 y 449, considerando su posición espacial y la naturaleza química de los cambios aminoacídicos asociados.

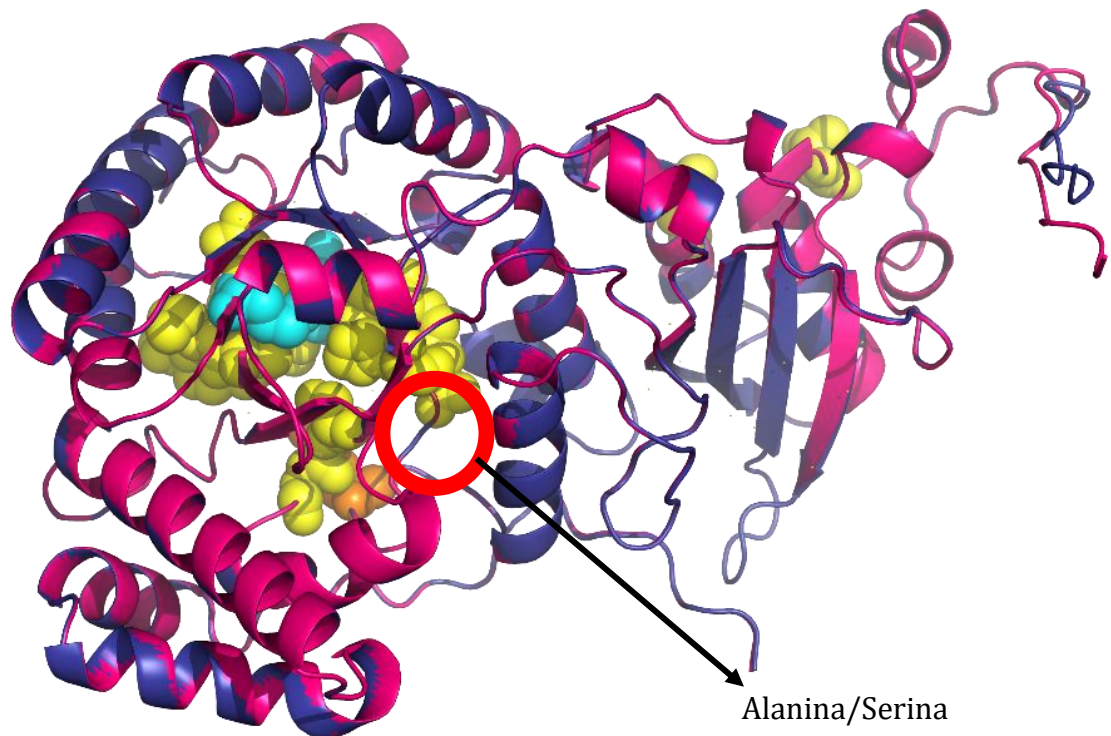


Figura 14. Modelo estructural de la proteína de *rbcL* obtenido mediante AlphaFold, mostrando el alineamiento entre *A. ligtu* ssp. *ligtu* (rosado) y *A. ligtu* ssp. *splendens* (azul). Se destaca el residuo correspondiente al codón 328 (en rojo, encerrado en un círculo), asociado a una sustitución de Alanina en *A. ligtu* ssp. *ligtu* por Serina en *A. ligtu* ssp. *splendens*. Los círculos amarillos indican regiones asociadas a sitios de unión, mientras que los círculos celestes corresponden a sitios activos de la proteína.

En el codón 328 (Fig. 14), se modeló la estructura tridimensional de la proteína *rbcL* a partir del alineamiento entre las secuencias *A. ligtu* ssp. *ligtu*, que presenta Alanina en la

posición 328 y *A. ligtu* ssp. *splendens*, que presenta Serina en la misma posición. El modelo predicho, junto a la anotación funcional, permitió localizar el residuo 328 en proximidad a una región asociada a sitios de unión de la proteína, comprendida entre las posiciones 295 y 327. La sustitución de Alanina, un aminoácido pequeño y no polar, por Serina, de naturaleza polar, podría representar un cambio en las propiedades fisicoquímicas del residuo en dicha posición.

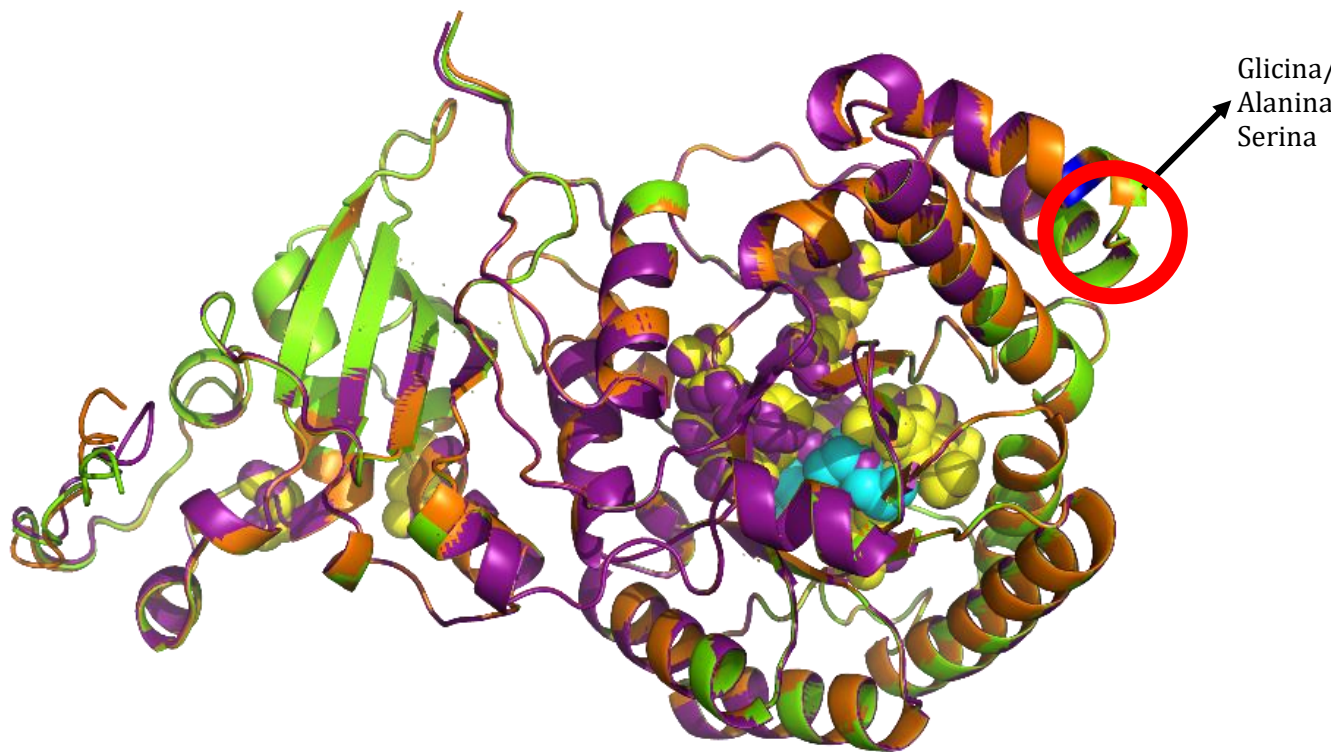


Figura 15. Modelo tridimensional predicho de la proteína *rbcL*, generado con AlphaFold, a partir del alineamiento entre las secuencias de *A. philippii* var. *philippii* (verde), *A. philippii* var. *adrianae* (naranja) y *A. werdermannii* var. *werdermannii* (morado). El

residuo 449, señalado en azul y rodeado por un círculo rojo, muestra los cambios de Glicina a Alanina y Serina entre las variantes. Los círculos amarillos indican regiones asociadas a sitios de unión, mientras que los círculos de color celeste corresponden a sitios activos de la proteína.

En el codón 449 (Fig. 15), la estructura tridimensional predicha de *rbcL* se obtuvo a partir del alineamiento de tres variantes: *A. philippii* var. *philippii*, que presenta Glicina en la posición 449; *A. philippii* var. *adrianae*, con Serina; y *A. werdermannii* var. *werdermannii*, con Alanina. El residuo 449, correspondiente a sustituciones desde Glicina a Serina o Alanina, no se localizó en proximidad ni dentro de regiones asociadas a un sitio activo o de unión de la proteína.

3.6 Evaluación de efecto de convergencia molecular en la señal filogenética del plastoma de *Alstroemeria*

3.6.1 Análisis de señal filogenética

La visualización de las similitudes entre árboles filogenéticos, tanto de referencia como de genes individuales, indicó en general una alta similitud topológica entre los distintos conjuntos de datos. En el primer cluster se identificaron los árboles correspondientes a los cuatro sets de referencia (plastoma completo, plastoma completo no codificante, particionado no codificante y particionado codificante), los cuales presentan distancias topológicas mínimas entre sí, indicando una fuerte congruencia estructural (Fig. 16). Asimismo, 19 genes mostraron una afinidad topológica con los sets de referencia (*atpA*,

atpI, ndhE, ndhG, petB, petG, petL, psaC, psaI, psbI, psbK, psbZ, rpl14, rpl20, rpl23, rpl33, rps12, rps18, rps3). El cluster dos incluyó 12 genes (*atpH, matK, ndhB, ndhC, ndhJ, pafII, psaA, psbC, psbH, rpl2, rps11*); el cluster tres agrupó 15 genes (*accD, atpF, ccsA, ndhA, ndhD, ndhH, psaB, psbA, psbE, rpl36, rps16, rps4, rps7, rps8, ycf2*); el cluster cuatro reunió ocho genes (*petN, psaJ, psbF, psbJ, psbL, psbM, psbT, rpl16*) y finalmente el cluster cinco agrupó nueve genes (*atpB, ndhI, petA, psbB, psbD, rbcL, rpl32, rpoB, rpoC1*).

Al considerar la posición relativa de los árboles de distancias medianas de estos grupos en el espacio MDS, se observa que los filogrupos son en general consistentes con el árbol de referencia, marcando diferencias que parecen asociarse principalmente a variaciones en la resolución de ciertos nodos, más que a discordancias topológicas evidentes (Fig. 16). Se observó un patrón similar en las topologías de los árboles recuperados a partir de genes individuales, los que presentaron mayores niveles de disimilitud respecto al árbol de referencia utilizado en esta tesis. Sin embargo, están sustentadas en una falta de resolución de los árboles individuales y no por una discrepancia evidente con los filogrupos observados en el árbol de referencia (Fig. 16 y 23).

MDS of Plastome and Gene Trees (TreeDist)

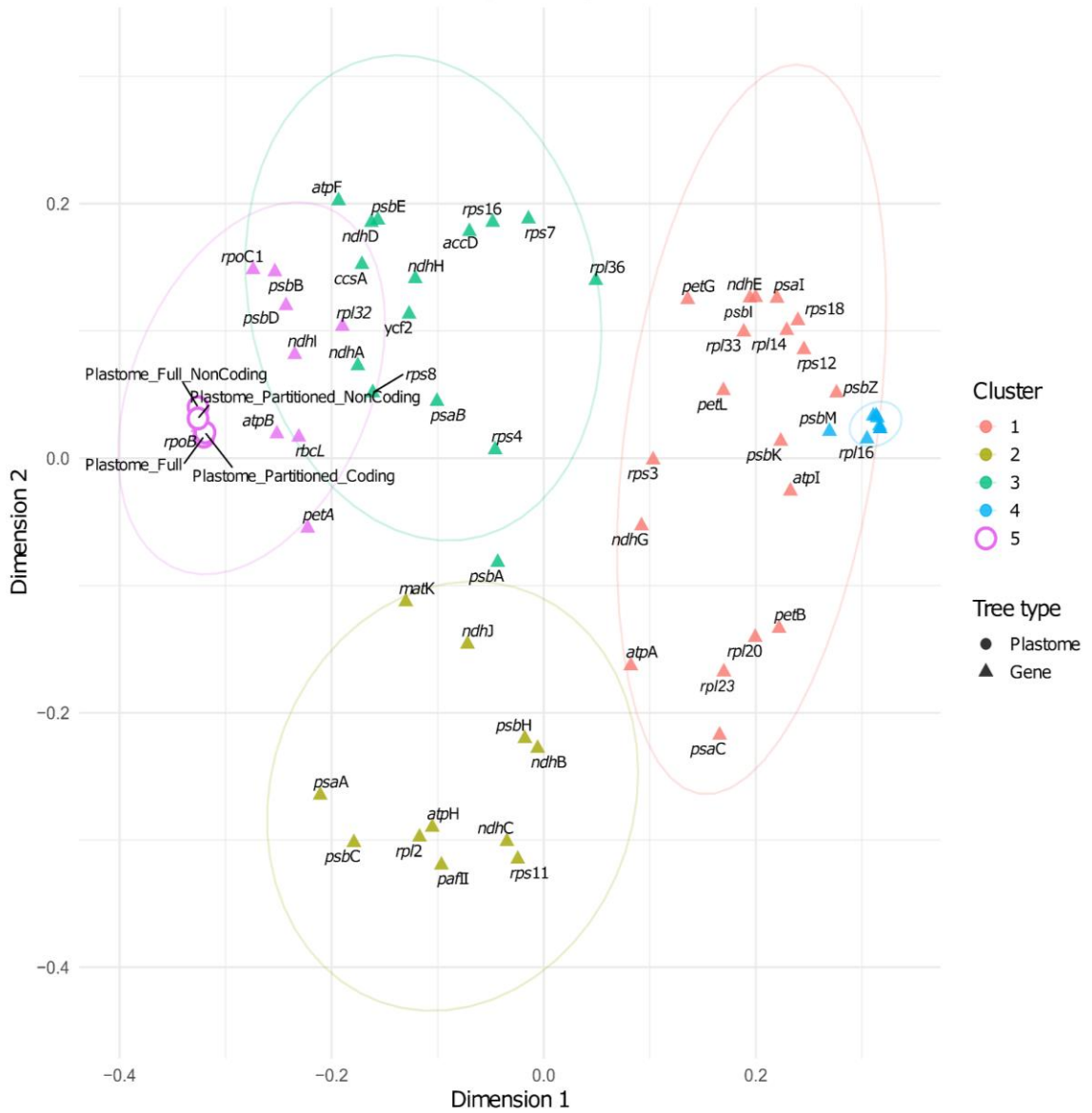


Figura 16. Representación mediante escalamiento multidimensional (MDS) de las distancias topológicas entre el árbol del plastoma completo, las particiones y los árboles de genes codificantes, estimadas con el paquete TreeDist.

3.6.2. Estimación de divergencia ambiental

El análisis de componentes principales (PCA) de las variables bioclimáticas permitió recuperar seis componentes que en conjunto explicaron el 96,9% de la variación del total. Los dos primeros componentes explicaron la mayor parte de la variación ambiental, el primer componente (PC1) explicó el 47,8% de la varianza, seguido por el segundo componente (PC2), que explicó el 26,8%, de modo que ambos ejes concentraron el 74,6% de la variación climática total (Tabla 7).

Tabla 7. Desviación estándar, proporción de varianza y proporción acumulada de los seis primeros componentes principales obtenidos a partir del análisis de variables bioclimáticas CHELSA.

Componente	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
Desviación Estándar	3,0135	2,2573	1,3734	0,9902	0,9420	0,6966
Proporción de Varianza	0,4779	0,2682	0,0993	0,0516	0,0467	0,0255
Proporción Acumulada	0,4779	0,7461	0,8454	0,8970	0,9437	0,9693

El primer componente (PC1) estuvo principalmente asociado a valores positivos en la mayoría de las variables térmicas (Bio1, Bio3, Bio5, Bio6, Bio8, Bio9, Bio10, Bio11), mientras que el rango diurno medio de temperatura (Bio2), la estacionalidad térmica (Bio4) y el rango anual de temperatura (Bio7) presentaron tendencias a valores negativos.

Este eje representa así un gradiente térmico general, que contrapone condiciones de mayor temperatura media frente a mayor temperatura térmica.

El segundo componente (PC2) mostró tendencia a valores predominantemente positivos en diversas variables de precipitación (Bio12, Bio13, Bio14, Bio15, Bio16, Bio17, Bio18, Bio19), mientras que la mayoría de las variables térmicas presentaron valores tendientes a negativo o cercanas a cero, indicando que este eje está principalmente asociado a un gradiente pluviométrico.

El tercer componente (PC3), que explicó el 9,9% de la varianza, evidenció valores tendientes a positivo predominantes en la estacionalidad de precipitación (Bio15) y en la isothermalidad (Bio3), sugiriendo un eje vinculado a variación estacional tanto térmica como de precipitación.

El cuarto componente (PC4) estuvo caracterizado por una fuerte tendencia a valores positivos en la precipitación del trimestre más cálido (Bio18) y una tendencia negativa marcada en la precipitación del trimestre más frío (Bio19), reflejando un gradiente en la distribución intraanual de la precipitación entre estaciones contrastantes (Fig. 17).

El quinto y sexto componente explicaron proporciones menores de la varianza (4,7% y 2,6%, respectivamente), y capturaron principalmente variaciones asociadas al rango térmico (Bio2, Bio7) y a variables específicas de precipitación, indicando patrones secundarios dentro de la estructura climática general (Tabla 7).

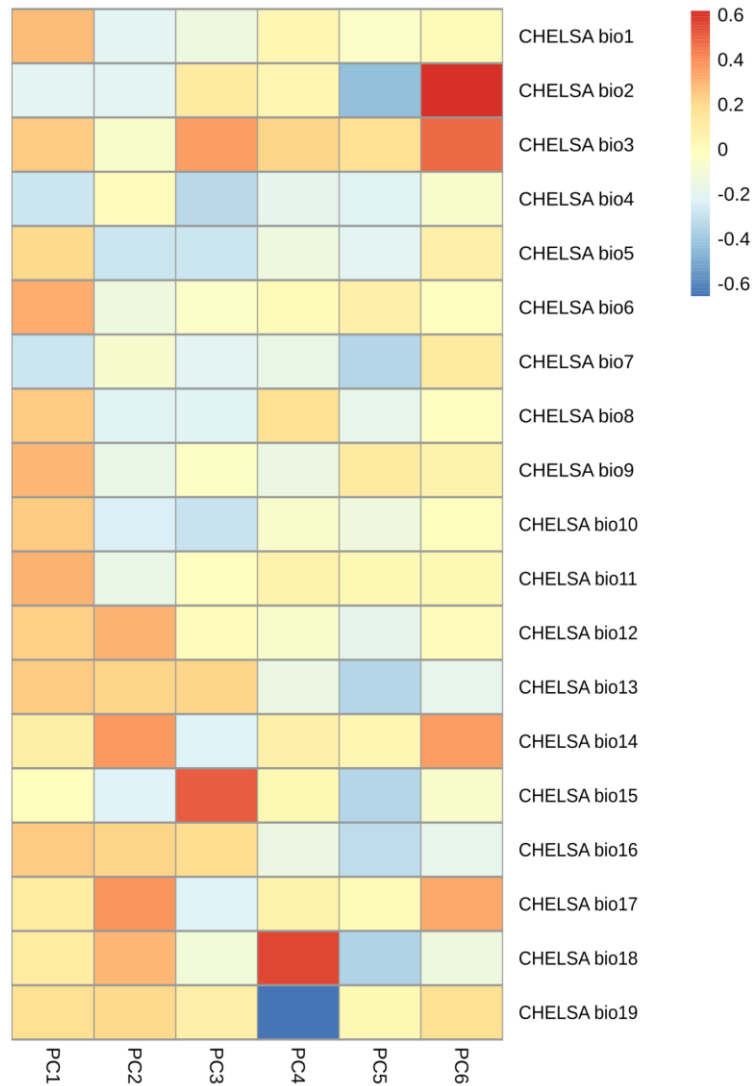


Figura 17. Contribución relativa de las variables bioclimáticas CHELSA (Bio1-Bio19) en los seis primeros componentes principales (PC1-PC6). El gradiente de color representa la magnitud y dirección de las cargas (valores positivos en tonos cálidos y valores negativos en tonos fríos).

Tabla 8. Valores de indicadores de señal filogenética en componentes principales derivados de variables ambientales y su significancia. λ (Lambda de Pagel), K y K* (K de Bloomberg y K corregido de Bloomberg). En negrita se destacan los índices con valores significativos (p-value).

	λ	K	K*	p-value λ	p-value K	p-value K*
PC1	0,932	0,019	0,063	0,001	0,015	0,001
PC2	0,8	0,012	0,049	0,002	0,049	0,001
PC3	1,044	0,012	0,049	0,001	0,097	0,026
PC4	0,767	0,01	0,039	0,011	0,117	0,018
PC5	0,678	0,005	0,023	0,011	0,643	0,428
PC6	0	0,003	0,013	1	0,972	0,963

En el análisis de señal filogenética, tanto el primer componente (PC1) demostró valores cercanos a 1 para λ y cercanos a 0 para los estadísticos de Bloomberg, lo que denota una significativa correlación de la covarianza a nivel general, pero con una baja asociación entre taxones cercanamente relacionados. El tercer y cuarto componente demostraron una tendencia similar, aunque con valores no significativos para el K de Bloomberg. Finalmente, los componentes quinto y sexto bajaron su tendencia de valores y no demostraron significancia en los valores exhibidos (Tabla 8).

Al momento de relatar la asociación de los componentes en el ordenamiento filogenético del plastoma de *Alstroemeria*, es posible evidenciar los cambios de tendencia de correlación en la divergencia o similitud a nivel de filogrupo, pero no a nivel de divergencia individual (i.e., que una especie muestre valores ambientales

significativamente diferentes a los cercanamente emparentados). Sólo el tercer componente mostró eventos de divergencia local, expresados en los taxones *A. graminea*, *A. lutea* y *A. violacea* del clado II, además de *A. uribiciensis* en el clado V. El resto de los eventos de correlación divergente se asocian a grupos de distribución andina (clado IV) o específicamente nortinos (clados II y III), lo que podría asociarse a eventos de divergencia ambiental por colonización local costa-andes, en comparación a los otros grupos muestreados. En el caso de la mayoría de los complejos de especie no monofiléticos (*A. garaventae*, *A. ligtu*, *A. magnifica* y *A. pulchra*), no se detectaron diferencias significativas en los valores de los ejes ambientales más relevantes (PC1, PC2 y PC3), a pesar de que sus taxones intraespecíficos se encuentran en filogrupos diferentes. La única excepción fue la muestra *A. pulchra* CDS510, la cual fue recolectada en los alrededores de Copiapó, muy lejos del rango de distribución de *A. pulchra*. El clado VII, el cual presentó el mayor número de especies entre los filogrupos, tampoco reportó diferencias ambientales significativas entre sus taxones recuperados en los ejes ambientales más relevantes (Fig. 10).

concatenados tendieron a recuperar edades más recientes que las sugeridos por Chacón et al. (2012) (~ 17 Ma; Fig. 19). Los modelos generados con plastomas completos sugieren fechas más antiguas que las propuestas por Chacón et al. (2012) (mediana = 23.5 Ma; HDP = 8.294 - 48.511 Ma) y por Tribble et al. (2024) (mediana = 11.804 Ma; HDP = 4.28 - 22.78 Ma). En contraste, los modelos basados en matrices de genes concatenados recuperaron edades más recientes en comparación con ambas calibraciones.

De los tres modelos probados, únicamente el modelo de genes concatenados particionado mostró mayor soporte posterior y estimaciones más acotadas para el nodo basal de *Alstroemeria* (Fig. 19), lo que sugiere una menor incertidumbre en la estimación de la edad de la raíz bajo este esquema de análisis. Esta diferencia podría estar asociada a la alta heterogeneidad en las tasas de sustitución entre distintas regiones del plastoma de las muestras analizadas, lo cual puede dificultar la acomodación de tasas en modelos de reloj molecular e incrementar la incertidumbre en nodos profundos. En contraste, el uso de regiones codificantes particionadas podría favorecer una mejor acomodación de dicha heterogeneidad debido a la presencia de tasas más homogéneas de sustitución.

La estimación de fechas de divergencia del nodo ancestral de *Alstroemeria* utilizando únicamente los *priors* (i.e., sin estimar topología ni el cálculo de la probabilidad posterior) no evidenció desviaciones sustanciales respecto a las edades previamente propuestas, lo que sugiere que las diferencias observadas derivan principalmente de la información contenida en las matrices analizadas (Fig. 19). En función de estos resultados, para el resto de las estimaciones de fechas de divergencia se privilegió el modelo de genes

concatenados particionados, al ser el que mostró mayor estabilidad en la estimación del nodo ancestral de *Alstroemeria*.

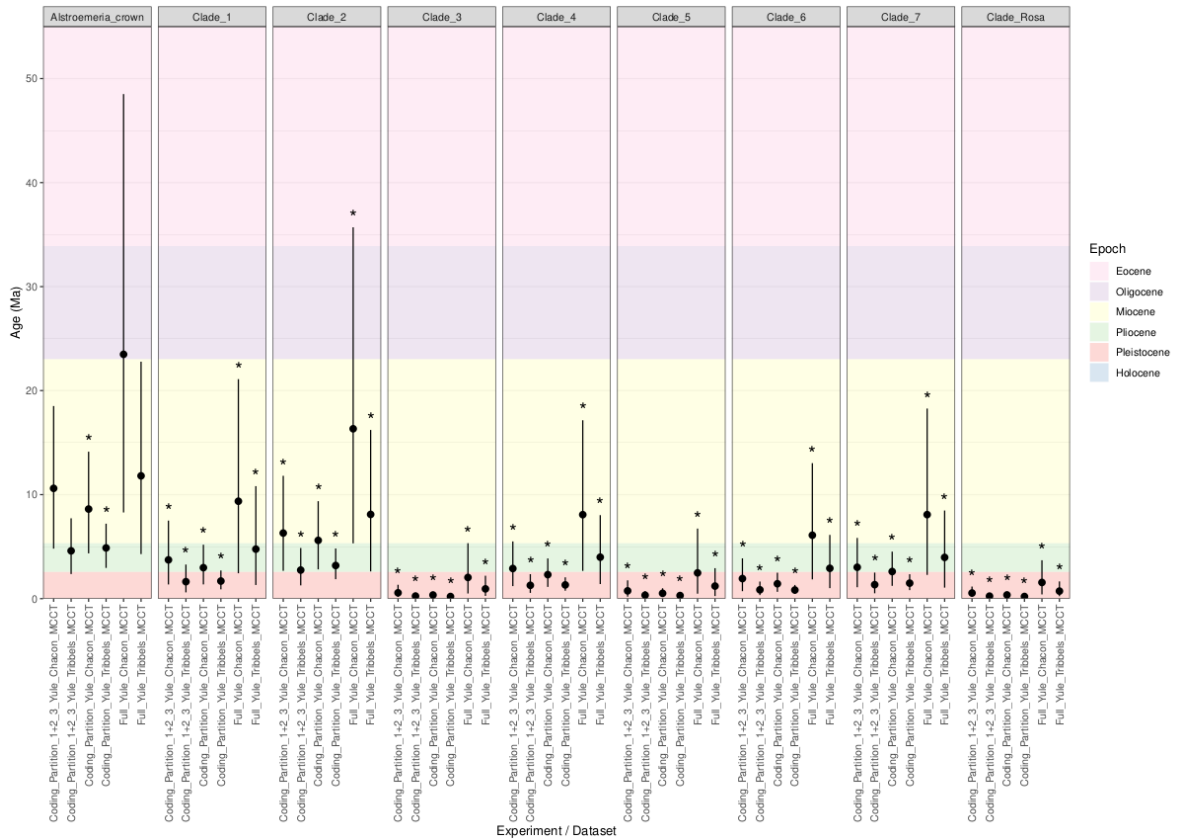


Figura 19. Estimaciones de edad de divergencia para los principales clados de *Alstroemeria* obtenidas a partir de distintos conjuntos de datos y esquemas de partición del plastoma. Los puntos representan la edad mediana estimada para cada nodo y las barras verticales indican los intervalos de credibilidad del 95% (HDP). Cada panel corresponde a un clado recuperado en la filogenia (Fig. 4). Las bandas de color indican los principales intervalos geológicos desde el Eoceno hasta el Holoceno.

En relación con los filogrupos previamente definidos, se detectaron fechas de estimación de divergencia relativamente recientes, mayoritariamente concentradas en el Plioceno y

el Pleistoceno para los clados 3, 4, 5, 6, y 7. Las fechas más antiguas se estimaron para el clado 2, con medianas de 5,6 Ma (HDP = 2,813 - 9,368) y 3,18 Ma (HDP = 1,868 - 4,823), bajo las calibraciones de Chacón *et al.*, (2012) y Tribble *et al.*, (2024) respectivamente (Fig. 20; Tabla SX). Los demás filogrupos presentaron medianas entre aproximadamente 3 Ma y 0,2 Ma, indicando la presencia de linajes de origen relativamente reciente. El Clado III mostró las estimaciones más recientes, con medianas de 0,340 Ma (HDP = 0,134-0,66) y 0,201 Ma (HDP = 0,09-0,353). Según la calibración utilizada (Fig. 20 y Tabla S2), ciertos filogrupos presentaron sus fechas de divergencias con medianas entre 3 millones y 200 mil años, lo que indicaría la presencia de grupos con un origen particularmente moderno. El grupo con el nodo más moderno estimado fue el Clado III con una mediana de 0.340 Ma (HDP = 0.134 - 0.66) y 0.201 Ma (HDP = 0.09 - 0.353) millones de años, dependiendo si el punto de calibración corresponde a Chacón *et al.* (2012) o Tribble *et al.* (2024), respectivamente (Fig. 20 y Tabla S2).

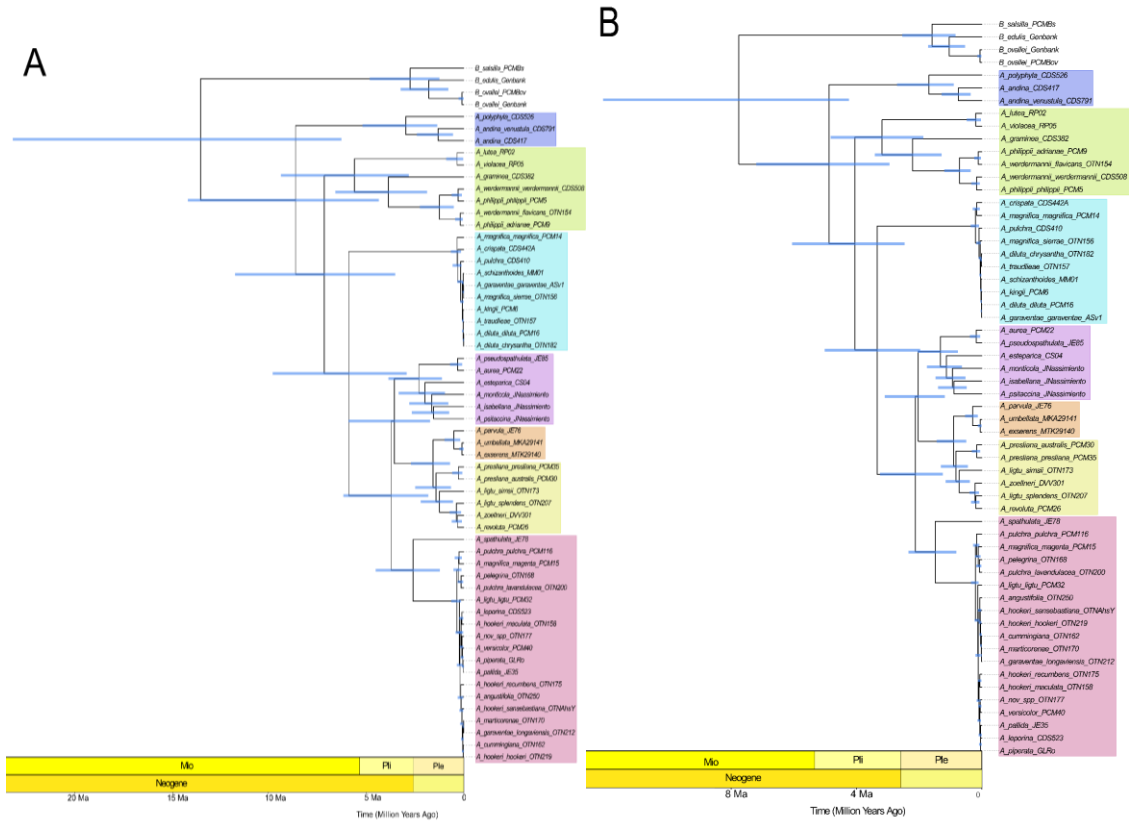


Figura 20. Cronogramas inferidos usando la matriz particionada de genes cloroplastidiales de *Alstroemeria*. **A.** cronograma inferido con punto de calibración según Chacón *et al.*, (2012) y **B.** calibración según Tribble *et al.*, (2024).

La comparación entre los distintos modelos de estimación temporal mostró que la edad del nodo ancestral de *Alstroemeria* se mantuvo consistente entre los análisis realizados. En particular, la distribución de densidad obtenida a partir del análisis con datos de secuencia se superpone ampliamente con la obtenida bajo una topología fija basada en máxima verosimilitud, mientras que el análisis ejecutado únicamente con *priors* mostró una distribución distinta y más restringida. Estos resultados indican que la estimación de

la fecha de divergencia en *Alstroemeria* no se vio afectada por la especificación de los *priors* ni por la fijación de la topología más probable. En consecuencia, la estimación de una edad más reciente para el origen del género parece estar sustentada por la información contenida en los datos moleculares y no corresponde a un artefacto metodológico del modelo de calibración (Fig. 21).

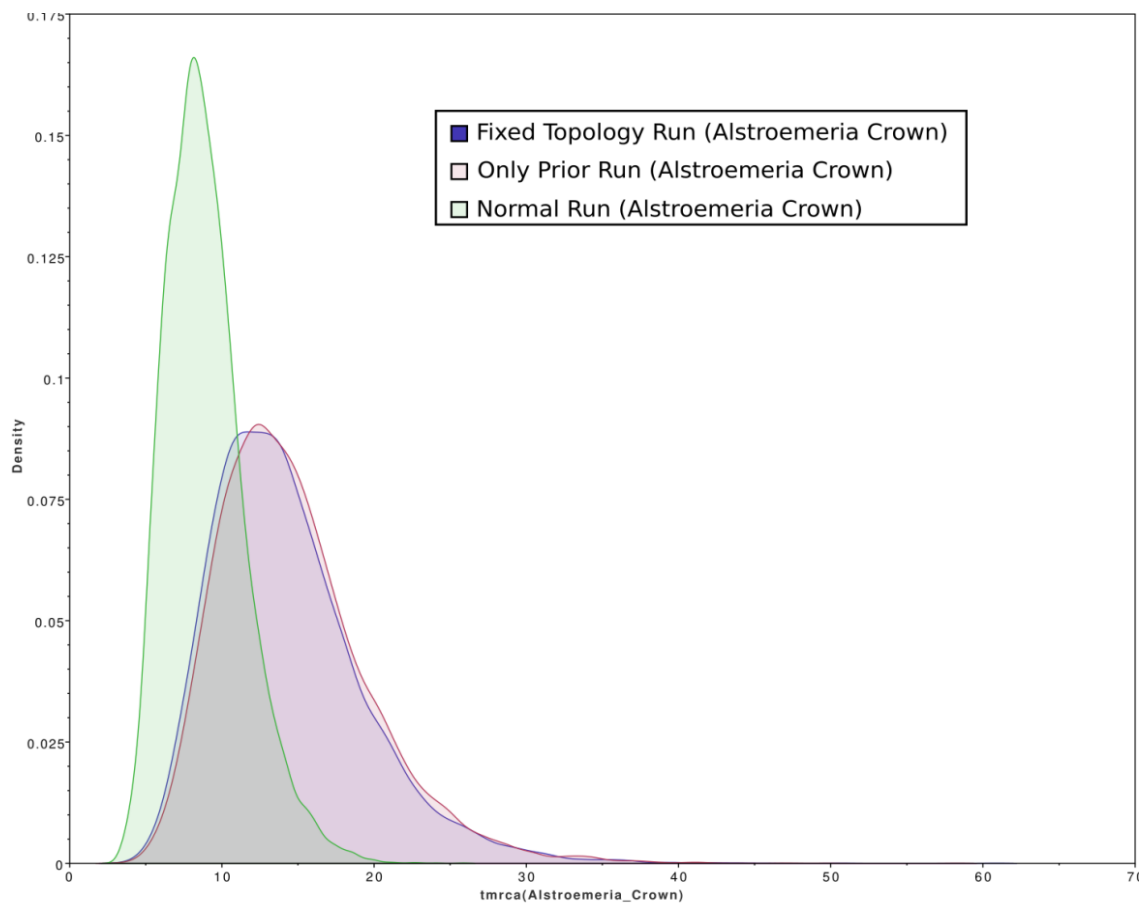


Figura 21. Densidad de probabilidad para las fechas de divergencia estimadas del nodo de *Alstroemeria* usando el punto de calibración secundario de Chacón et al. (2012) y el set de genes concatenados. Los modelos usados son: solo con *priors* (azul), topología fijada (rojo) y con el modelo con datos de secuencias (verde).

IV. DISCUSIÓN

En esta tesis se analizaron un total de 58 plastomas, correspondientes a 54 taxones representantes del género *Alstroemeria* (51 provenientes de Chile y tres de Brasil) y cuatro de *Bomarea*. Este muestreo exhaustivo de taxones chilenos respondió al objetivo central de comprender los patrones de diversificación y de la selección en genes cloroplastidiales de *Alstroemeria* en Chile. Para ello, se obtuvo el genoma cloroplastidial completo de cada individuo con el fin de caracterizar la diversidad estructural del plastoma, reconstruir sus relaciones evolutivas y evaluar la presencia de señales de selección positiva en genes codificantes, buscando alguna distorsión generada por convergencia molecular adaptativa.

Como resultados generales, fue posible determinar 1) la estabilidad estructural y filogenética del plastoma, 2) las relaciones de siete filogrupos correlacionados ambientalmente, 3) la existencia de diversos codones (genes) bajo selección episódica y/o pervasiva y 4) la asociación de procesos de selección positiva con un limitado o nulo efecto de convergencia molecular adaptativa.

4.1 Genoma cloroplastidial de *Alstroemeria*

Conservación estructural del plastoma

El plastoma de *Alstroemeria* y *Bomarea* presentó una estructura altamente conservada y consistente con lo descrito para angiospermas (Ruhlman & Jansen, 2014). Los genomas

cloroplastidiales analizados presentaron un tamaño promedio de 148.030 pares de bases (bp) y mantienen la estructura cuatripartita típica de plastomas, compuesta por una región de copia única larga (LSC), una corta (SSC) y dos regiones repetidas invertidas (IRa e IRb). La región LSC estuvo en el rango de tamaño entre 80 y 87 kb; la región SSC entre 15 y 17 kb; mientras que las regiones IR presentaron longitudes entre 26 y 29 kb. El contenido de G/C fue consistente con un promedio cercano al 38% (Tabla 2), valor comparable con lo reportado para plastomas de angiospermas y monocotiledóneas (Ruhlman & Jansen, 2014; Huo et al., 2019; Jimenez et al., 2020). A diferencia de otros linajes de angiospermas donde se han documentado reordenamientos estructurales o expansiones/contracciones marcadas de la región IR (Sinn et al., 2018; Sabah et al., 2019; Wu et al., 2021; Claude et al., 2022, 2025), los plastomas de Alstroemeriaceae evidencian una notable consistencia estructural (Fig. 2; Tabla 2). Esta arquitectura conservada que señalan los resultados sugiere una alta estabilidad del plastoma en el género, consistente con su carácter funcionalmente integrado, y esto respalda su comportamiento como una unidad evolutiva cohesiva.

En concordancia con esta estabilidad, el plastoma de *Alstroemeria* también muestra un alto grado de conservación en su contenido génico. En total se identificaron aproximadamente 130 genes, incluyendo genes codificantes de proteínas (CDS), tRNA, rRNA y copias duplicadas en las regiones IR, cifra que se encuentra dentro del rango comúnmente reportado (Kim & Kim, 2013; Daniell et al., 2016). Durante la anotación inicial, genes como *cemA*, *infA* y *ycf15* no fueron detectados automáticamente, luego sí fueron detectados y anotados manualmente. En el caso de *infA* e *ycf15* estos poseían varios

codones de término prematuro en sus respectivos alineamientos, sin embargo, este patrón no sorprende ya que, con anterioridad, han sido reportados como pseudogenizados o perdidos en plastomas de distintas monocotiledóneas (e.g., Nanjala et al., 2022). En este contexto, Kim & Kim (2013), por ejemplo, cuando presentaron el genoma cloroplastidial de *A. aurea* reportaron a *infA* e *ycf15* como perdidos, en comparación al plastoma de *Lilium longiflorum*. En particular, la pérdida de *infA* ha sido frecuentemente asociada a eventos de transferencia funcional al genoma nuclear, lo que explicaría su ausencia o pseudogenización en múltiples linajes de angiospermas (Millen et al., 2001).

Asimismo, otros genes que suelen presentar pérdidas o pseudogenización corresponden al complejo NDH (Kim et al., 2020), cuyos productos participan en procesos asociados al flujo cíclico de electrones y la regulación de la eficiencia fotosintética (Shikanai, 2016). De este grupo de genes, se detectaron numerosos codones de término prematuros en *ndhK* y *ndhF*, lo que sugiere una posible pérdida de funcionalidad de estas secuencias en el plastoma. Este patrón en particular es llamativo porque existen otros integrantes del complejo de genes, tales como como *ndhD* y *ndhI* que presentan señales de selección positiva pervasiva (Tabla 6). Esto, evolutivamente hablando, nos indica una posible optimización del funcionamiento del complejo NDH en la maquinaria cloroplastidial, que permite optimizar (diversificar) genes mientras pierde funcionalidad en otros.

Resulta particularmente notable que este patrón se observe tanto en taxones de *Alstroemeria* como de *Bomarea*. Estos hallazgos podrían estar asociados a procesos de relajación selectiva o redundancia funcional en ciertos genes cloroplastidiales, sin afectar

la integridad global del plastoma ni el funcionamiento de la planta, posiblemente debido a la transferencia funcional de estos genes al núcleo, un fenómeno ampliamente documentado en angiospermas, especialmente en monocotiledóneas (e.g., Wicke et al., 2011; Kim et al., 2015; Könyves et al., 2021). En conjunto, estos resultados indican que, si bien el plastoma de *Alstroemeria* mantiene un contenido génico altamente conservado, presenta señales puntuales de cambios funcionales, reflejando una dinámica evolutiva localizada dentro de una arquitectura genómica globalmente estable.

Señales de selección positiva e implicancias funcionales

Más allá de esta conservación estructural, el plastoma de *Alstroemeria* también muestra evidencia de selección positiva en varios genes codificantes. En este trabajo se detectaron señales de selección positiva en 19 genes del plastoma (Tabla 6), lo que corresponde aproximadamente al 24% del total de genes analizados (CDS).

A diferencia de estudios previos en plastomas de monocotiledóneas, un elemento novedoso en esta tesis fue la detección de selección positiva mediante la estimación de tasas de sustitución en un marco filogenético. Para ello, la combinación de tres métodos complementarios de selección positiva (FEL, MEME y FUBAR), permitió distinguir si esa señal además era episódica o pervasiva (Kosakovsky et al., 2005; Murrell et al., 2012, 2013). La observación de un predominio de señales de selección pervasiva indicaría que estos procesos han actuado de manera sostenida a lo largo de la historia evolutiva de los linajes (Erixon & Oxelman, 2008; Casola & Li, 2022), más que como un par de eventos

aislados, lo que sugiere a su vez que estas presiones selectivas forman parte de la historia evolutiva compartida del plastoma de Angiospermas.

Varios de los genes bajo selección positiva encontrados están asociados a procesos fotosintéticos, lo que podría explicar diversos elementos adaptativos en la evolución del plastoma de *Alstroemeria*. Entre ellos destaca *rbcL*, que codifica para la subunidad grande de la enzima RuBisCO (Spreitzer & Salvucci, 2002). En este gen se identificaron tres sitios bajo selección (328, 341 y 449), dos de los cuales (328 y 449) han sido reportados previamente como posiciones frecuentemente sujetas a selección positiva en distintos linajes de plantas (Kapralov & Filatov, 2007). Otros genes asociados a la fotosíntesis, como *atpB* y los genes asociados al fotosistema II (*petA*, *psbA*, *psbB* y *psbF*), también presentaron sitios bajo selección positiva, resultando particularmente interesante debido a la fuerte conservación funcional de este último complejo en plastomas (Nelson & Yocum, 2006). Cambios en estos podrían influir en la eficiencia fotosintética, la fotoprotección y el balance energético del cloroplasto, dado el efecto que ejercen los gradientes ambientales como variaciones en radiación, temperatura o disponibilidad hídrica (Flexas & Medrano, 2002; Yamori et al., 2015). En línea con la eficiencia fotosintética, y como se mencionó anteriormente en el texto, también se detectaron señales de selección positiva en los genes *ndhD* y *ndhI*, lo que podría relacionarse con modificaciones en el transporte cíclico de electrones alrededor del fotosistema I (Shikanai, 2016; Yamori et al., 2016).

De forma similar, se detectaron otros casos de genes bajo selección positiva, los que también podrían conectarse indirectamente con procesos de adaptación, tales como la

regulación de la expresión génica y en la maquinaria de traducción cloroplastidial. Este fue el caso de los genes del complejo *rpo* (*rpoA*, *rpoB* y *rpoC1*), los cuales codifican subunidades de la RNA polimerasa cloroplastidial codificada en el cloroplasto (PEP), responsable de la transcripción de numerosos genes del cloroplasto, especialmente aquellos asociados a la fotosíntesis (Lerbs-Mache, 2011; Pfalz & Pfannschmidt, 2013). Asimismo, la detección de selección positiva en genes ribosomales como *rpl20*, *rps4* y *rps15* sugiere posibles modificaciones en componentes de la maquinaria de traducción plastidial. También se detectaron señales de selección positiva en genes metabólicos característicos del cloroplasto, como *accD*, *ccsA*, *matK* y *yef1*, los cuales han sido reportados frecuentemente como genes evolutivamente dinámicos en plastomas de plantas (Wicke et al., 2011; Dong et al., 2015).

Desde un punto de vista estructural, vale la pena mencionar que los sitios detectados bajo selección se localizan en regiones funcionalmente relevantes de las proteínas codificadas. En el caso de *rbcL* se identificaron sitios cercanos a la región catalítica de la proteína RuBisCO, cuyo residuo clave para la fijación de CO₂ corresponde al Lys201 de la subunidad mayor (Spreitzer & Salvucci, 2002). Cambios en regiones próximas a este sitio podrían influir en la eficiencia catalítica o en la estabilidad estructural del complejo enzimático. De manera similar, el sitio detectado en *psbA* se localiza en el extremo N-terminal de la proteína D1, una región asociada al ensamblaje y recambio del fotosistema II durante procesos de reparación del complejo fotosintético (Nixon et al., 2010).

Estos resultados sugieren que la selección positiva detectada en el plastoma de *Alstroemeria* afecta genes clave asociados a la fotosíntesis y a la regulación de la expresión génica, a nivel genético y funcional, lo que apunta a posibles ajustes funcionales en la fisiología del cloroplasto. No obstante, aunque estos patrones son consistentes con procesos de adaptación a condiciones ambientales variables, la inferencia directa de adaptación requiere evidencia adicional que vincule estos cambios con diferencias fenotípicas o ecológicas específicas (Savolainen et al., 2013). En este sentido, la distribución de estos cambios entre linajes resulta clave para evaluar si estos procesos reflejan adaptaciones independientes (convergencia) o modificaciones heredadas dentro de cada linaje.

El plastoma como marcador filogenético

En el contexto de la utilidad del plastoma como marcador genético, es imperativo determinar la integridad y congruencia de la señal filogenética contenida en sus genes. Los resultados del análisis de distancia entre topologías obtenidas a partir de distintas matrices —incluyendo particiones del plastoma (regiones codificantes y no codificantes) y genes individuales— arrojaron que la señal filogenética derivadas de estas matrices son altamente similares entre ellas (Fig. 15). Mientras que este resultado contradice la existencia de eventos de discordancia filogenética en el plastoma (Gonçalves et al., 2019, 2020; Walker et al., 2019), estos serían irrelevantes por el fuerte proceso de homogeneización de copias organelares, asegurando una coordinación evolutiva general

de esta molécula (Doyle, 1992; 1995; 2022). En este sentido, la coherencia topológica observada entre las distintas particiones de los plastomas analizados sugiere que, a pesar de la presencia de procesos selectivos en genes individuales, la señal filogenética del genoma cloroplastidial está dominada principalmente por la historia evolutiva compartida del linaje. Por lo mismo, el uso de plastomas constituiría un enfoque robusto para inferir las relaciones filogenéticas del plastoma de *Alstroemeria*, sin ser mayormente afectada por procesos de selección independientes que alteren la señal filogenética global (Doyle, 2022; Jansen & Ruhlman, 2012).

4.2 Filogenómica de *Alstroemeria*

Resolución filogenética del género

La filogenia basada en 58 plastomas completos permitió recuperar relaciones bien resueltas para *Alstroemeria*, en donde se identificaron siete clados principales con alto soporte estadístico (Fig. 4). En general, este resultado se distingue de estudios filogenéticos previos del género y de la familia Alstroemeriaceae (Aegensen & Sanso, 2003; Chacón et al., 2012; Tribble et al., 2024), dado que ninguno ha conseguido inferir relaciones con niveles de soporte y resolución significativos. En particular, el uso de secuencias genómicas del cloroplasto permitió obtener una gran cantidad de caracteres parsimoniosamente informativos, mejorando sustancialmente los patrones observados.

Patrones evolutivos sugeridos

El ordenamiento y composición de los clados identificados permitirían identificar al menos cuatro patrones evolutivos que son meritorios de mencionar. Primero, la llamativa posición basal de los linajes distribuidos en el norte, en relación con los grupos más derivados hacia el sur de Chile (Fig. 4 y 5). Este resultado es particularmente interesante para la inferencia de los orígenes del género, considerando las diferencias que existen en la abundancia taxonómica de estas áreas en comparación a la mayor diversidad actualmente concentrada en la zona centro-sur del país (Finot et al., 2017). La recuperación de *A. polyphylla* y *A. andina* como linajes tempranamente divergentes sugeriría que la diversificación inicial del género pudo estar asociada a ambientes áridos o altoandinos del norte de Chile, apuntando a un posible origen geográfico en esta región.

Las fechas inferidas en los nodos derivados del análisis bayesiano calibrado (Mioceno tardío 11-5 Ma; Fig. 20) indicarían un origen que coincide con la presencia preponderante de climas áridos en el sur de Sudamérica (Luebert & Weigend, 2014). Esto ya ha sido reconocido como un escenario importante de diversificación vegetal en relación con los cambios climáticos y geológicos, los que se asocian al levantamiento de los Andes y, a la aridificación progresiva del oeste de Sudamérica (Villagrán & Hinojosa, 1997; Antonelli et al., 2009; Luebert & Weigend, 2014). Interesantemente, esta hipótesis contrasta con propuestas previas que situaban el origen de *Alstroemeria* en el extremo austral de Sudamérica, vinculándolo al levantamiento de los Andes patagónicos y a una posterior expansión hacia latitudes más ecuatoriales (Chacón et al., 2012). Sin embargo, esto sí concuerda con patrones biogeográficos propuestos para otros miembros de

Alstroemeriaceae, como *Bomarea* y *Luzuriaga*, en los que se ha planteado un origen y expansión latitudinal desde ambientes áridos o altoandinos hacia regiones más meridionales (Tribble et al., 2024).

Segundo, los resultados filogenéticos reflejan un proceso de diversificación reciente, el cual ofrece elementos para circunscribir siete clados principales, pero con notorias instancias de falta de monofilia entre algunos complejos de especie tradicionalmente reconocidos dentro del género, incluyendo *A. garaventae*, *A. ligtu*, *A. magnifica* y *A. pulchra*. Dentro de los indicadores de convergencia adaptativa se encuentra la selección, coalescencia incompleta e introgresión, es muy probable que este último esté operando en el plastoma de *Alstroemeria*. Lo anterior se discute en base a la consistente presencia de taxones no monofiléticos del clado VII lo que sugeriría que un proceso mayormente direccional estaría influyendo en la falta de monofilia observada, lo que contradeciría un potencial efecto por retención de polimorfismos ancestrales (i.e., ILS). Este fenómeno ha sido documentado previamente en grupos taxonómicos intrincados y puede reflejar procesos evolutivos complejos (Soltis & Soltis, 2009; Dong et al., 2022; Thureborn et al., 2024; Xu et al., 2025), tales como divergencia reciente, hibridación o introgresión genética entre linajes cercanos (Rieseberg & Soltis, 1991; Premoli, 2012). En este sentido, la presencia de este patrón podría sugerir la presencia de una interacción entre taxones del Clado VII con otros filogrupos, siendo el origen de los problemas taxonómicos rutinariamente enlistados en los complejos de especies (Finot et al., 2018).

Tercero, la posición de los taxones brasileños (*A. monticola*, *A. psittacina* y *A. uribiciensis*), los cuales se agrupan estrechamente con taxones de distribución andina y austral como *A. aurea*, *A. esteparica* y *A. pseudospatulatha* en el Clado IV (Fig. 4), resultan novedosos y complementarios en relación a estudios previos. Esta relación sugiere un posible origen chileno para el linaje de Brasil, lo que sería consistente con lo planteado sobre el efecto de la formación de la Diagonal Árida Sudamericana (SAAD) como una barrera biogeográfica, que separó los linajes australes de *Alstroemeria* presentes en Chile de aquellos que posteriormente dieron origen a las especies brasileñas (Chacón et al., 2012). Sin embargo, una discrepancia con los análisis realizados en esta tesis, son las fechas de divergencia inferidas para este grupo, las cuales no calzan con la hipótesis de separación previamente establecidas. El Clado IV fue fijado con un origen en el periodo Pleistoceno (1-2 mya), lo cual posicionaría ya a la SAAD como una barrera consolidada y no en formación dentro del escenario paleoclimático de este grupo. Como alternativa, es posible asumir un origen por dispersión desde latitudes medias y, usando la vertiente Este de los Andes y la segunda Diagonal Árida (Luebert & Weigend, 2014), el cual podría haber generado un proceso de colonización mucho más moderno del área brasileña del previamente aceptado. Esto podría haberse generado gracias a la adaptación árida inicial de este linaje, inferido por su conexión con *A. esteparica* y *A. pseudospathulata*, la cual podría haberse beneficiado de corredores de baja altitud o condiciones climáticas más húmedas en los Andes durante el Pleistoceno (*Leucheria*, *Bomarea*) (Jara-Arancio et al., 2017; Tribble et al., 2024). Este escenario se ajustaría a lo que plantean diversos estudios biogeográficos, los cuales destacan el rol de la dispersión en la estructuración de la flora

sudamericana bajo la influencia de barreras climáticas como la Diagonal Árida Sudamericana (Villagrán & Armesto, 2005; Hughes & Eastwood, 2006; Antonelli et al., 2009; Hughes et al., 2013; Luebert & Weigend, 2014).

Cuarto, la colonización repetida de los linajes del género en los Andes. Dentro de los filogrupos identificados, destacan al menos cuatro con taxones de distribución andina, sin compartir un ancestro andino directo (clados I, IV, V y VII; Fig. 4). Esto sugiere que la colonización de los Andes no sucedió en un único evento, sino que fueron varios eventos independientes a lo largo de la historia del género. La única excepción fue el clado V (*A. exserens*, *A. parvula* y *A. umbellata*), en el cual se agrupan exclusivamente taxones de distribución andina, lo que sugiere que al menos uno de estos eventos de colonización fue seguido por una diversificación dentro de ambientes de alta montaña. Este fenómeno ha sido documentado en otros grupos de la flora chilena, donde la expansión hacia ambientes altoandinos ha ocurrido de manera recurrente desde linajes originalmente asociados a ecosistemas mediterráneos o templados (e.g., Hershkovitz et al., 2006; Luebert & Weigend, 2014; Toro-Núñez et al., 2015). En este sentido, la diversificación de *Alstroemeria* probablemente estuvo influenciada por ciclos de colonización, retracción y recolonización asociados a cambios paleoclimáticos y a la compleja topografía de los Andes (Hughes & Eastwood, 2006; Hughes et al., 2013; Nevado et al., 2018).

4.3 Efecto de la selección en la convergencia adaptativa y la señal filogenética del plastoma

Un número importante de genes codificantes del plastoma de *Alstroemeria* presentan codones con señales de selección positiva sugiriendo que podrían estar involucrados en respuestas adaptativas frente a gradientes ambientales (Losos, 2011; Stern, 2013). La detección de estos es consistente con lo reportado en otros linajes de angiospermas, donde cambios en genes del plastoma han sido asociados a respuestas fisiológicas frente a variaciones ambientales como radiación, temperatura, disponibilidad hídrica o gradientes altitudinales (Kapralov & Filatov, 2007; Hao et al., 2017; Chen et al., 2020; Zhao et al., 2020). Sin embargo, la presencia de selección positiva también plantea la necesidad de evaluar si se genera convergencia adaptativa y si esta puede afectar la señal filogenética del plastoma, o si la topología obtenida refleja principalmente la historia evolutiva compartida de los linajes (Doyle, 2022).

Evaluación de la convergencia molecular y estabilidad de la señal filogenética

Por definición, procesos de convergencia molecular inducidos por selección natural podrían generar similitudes entre linajes no estrechamente relacionados y producir artefactos filogenéticos, es decir, topologías que no reflejan la historia evolutiva real de los taxones (Zhang & Kumar, 1997; Rokas & Carroll, 2008; Philippe et al., 2011; Storz, 2016). En este tipo de escenario, se esperaría que linajes expuestos a condiciones

ambientales similares presentarían mutaciones equivalentes o patrones de selección convergentes en genes asociados a funciones fisiológicas comparables (Zhang & Kumar, 1997). Este tipo de patrones ha sido documentado en diversos sistemas biológicos incluyendo casos de convergencia molecular en plantas y el cloroplasto, como es la evolución de fotosíntesis C₄, en donde mutaciones similares de genes fotosintéticos evolucionaron en múltiples linajes de manera independiente (Kapralov & Filatov, 2007). No obstante, los sitios bajo selección detectados en el plastoma de *Alstroemeria* se presentan mayormente como procesos de selección perversiva, lo que descarta asumir un escenario de convergencia molecular entre clados a priori. En otras palabras, la selección positiva detectada en el plastoma de *Alstroemeria* actúa principalmente entre linajes específicos, lo que es consistente con procesos de adaptación local globales más que con evolución convergente entre linajes independientes (Savolainen et al., 2013). En consecuencia, los cambios adaptativos no parecen responder a eventos independientes de evolución paralela entre clados, sino a modificaciones heredadas dentro de cada linaje a lo largo de su historia evolutiva.

En el contexto de las relaciones filogenéticas observadas en el plastoma, también se reforzaría la existencia de adaptación en escalas globales más que locales, dada la ausencia de una relación evidente entre selección y ambiente. Por ejemplo, el hecho de que diversos linajes del Clado VII, el más reciente y diverso en número de taxones, se presenten en espacios ambientales similares a los de otros clados identificados, tales como el linaje nortino de *A. leporina* que se sobre lapa con el de taxones del Clado III o la especie andina *A. spathulata* con linajes del Clado V (Fig. 5). En ninguno de los casos existió señales de

selección común entre los clados descritos, evidenciando una falta de asociación ambiental. Tal elemento también puede ser identificado en la presencia de diferentes linajes con múltiples colonizaciones en los Andes, los cuales también carecen de señales de selección comunes entre ellos (e.g., *A. crispata*, *A. andina*, *A. spathulata*, *A. parvula*, *A. pseudospathulata*, entre otros). En este sentido, es posible que la señal de selección capturada responda a procesos de adaptación de mayor escala temporal, en el cual las adecuaciones deben acomodarse a lo largo del proceso adaptativo del plastoma. Un buen ejemplo de esto es la selección positiva observada en el gen *rpoA* (Fig. 10), el cual presentó un cambio de aminoácido en un subgrupo específico de especies del clado II (*A. graminea*, *A. philippii* var. *adrianae*, *A. philippii* var. *philippii*, *A. werdermannii* var. *flavicans* y *A. werdermannii* var. *werdermannii*), las que tienen en común presentarse en la porción del Desierto de Atacama independiente de precipitaciones invernales (desde Copiapó hasta el norte *sensu* Rundel, 1991). Interesantemente, este patrón de coordinación de selección global ya ha sido descrito en otros estudios de plastomas de angiospermas, donde eventos de selección tienen una marcada estructura filogenética y son altamente congruentes entre clados (Zecca et al., 2022).

La ausencia de convergencia molecular probablemente estaría relacionada con el tiempo en el cual se fijan los eventos de selección, los cuales no deberían ser evidentes en escalas de diversificación muy recientes. Esto es posible de inferir a partir de la congruencia observada entre los árboles obtenidos desde genes individuales, los cuales deberían retener eventos puntuales y recientes de selección, y la filogenia reconstruida del plastoma. Este resultado contrasta con los conflictos génicos frecuentemente observados en estudios

filogenómicos basados en múltiples loci usando regiones cloroplastidiales y sugiere un efecto global de la selección en la discordancia filogenética intergénica (Gonçalves *et al.*, 2019; Walker *et al.*, 2019). Sin embargo, esto se ha descartado precisamente por la idea de que el plastoma se comporta evolutivamente como una unidad heredada debido a su proceso de homogeneización por evolución concertada, más que como un conjunto de loci independientes (Wicke *et al.*, 2011; Doyle, 2022). De este modo, la señal filogenética del plastoma estaría dominada principalmente por la historia evolutiva compartida de los linajes, mientras que la selección positiva actuaría sobre genes individuales sin generar distorsiones detectables en la topología general del árbol (Jansen & Ruhlman, 2012).

Ecología evolutiva, señales ambientales y diversificación reciente

Dentro de las predicciones hechas en esta tesis se encuentra la relación entre la señal filogenética del plastoma con variables ambientales, la que debería reflejar niveles de correlación coherentes dada la inherente relación entre los genes cloroplastidiales y la eficiencia de sus funciones fotosintéticas respectivas. Tal asociación no presentó elementos de incongruencia severa en los ejes ambientales analizados (Fig. 18), lo que apoyaría más la idea propuesta de una evolución congruente con patrones de adaptación globales e históricos que de adaptación local y reciente.

Los patrones ecológicos y ambientales asociados a la filogenia aportan una línea de evidencia adicional para evaluar la posible influencia de la selección y determinar la existencia de convergencia adaptativa. Los valores elevados del índice λ de Pagel indican que los rasgos ambientales analizados presentan una fuerte señal filogenética en relación

con la estructura del árbol, lo que sugiere que las especies tienden a ocupar nichos ambientales similares a los de sus parientes cercanos (Pagel, 1999). Tal patrón ha sido previamente descrito en otros linajes de la flora de Chile, en los cuales existe una gran conservación del nicho ambiental, pero con variaciones de adaptación local asociables a eventos más recientes de diversificación (e.g., Jara-Arancio et al., 2014). Este tipo de organización del plastoma es consistente con patrones donde la señal filogenética suele estructurarse fuertemente en relación con la geografía, principalmente a consecuencia de su herencia uniparental y al tamaño efectivo poblacional reducido del genoma cloroplastidial (Petit & Vendramin, 2007; Soltis & Soltis, 2009; Shaw et al., 2014). Por lo mismo, en base a las señales de selección detectadas, se desprende que la evolución del plastoma podría estar correlacionado con un proceso de acomodamiento macroambiental que ocurrió en los linajes, para organizarse en un proceso de adaptación local que no es reflejado consistentemente en periodos más recientes de diversificación.

Las estimaciones de tiempo de divergencia indican que varios de los linajes derivados de *Alstroemeria* se originaron durante el Plioceno tardío y el Pleistoceno, con edades relativamente recientes para algunos clados, particularmente dentro del Clado VII (Fig. 19). Estos intervalos temporales podrían coincidir con fases de inestabilidad climática asociadas a los ciclos glaciales del Pleistoceno, los cuales generaron cambios recurrentes en la distribución de los hábitats y de la vegetación en la región andina y mediterránea de Chile (Heusser, 1990; Villagrán, 1995; Rundel et al., 2016). Este escenario está en línea con patrones de diversificación reciente observados en diversos linajes de plantas andinas (Lagomarsino et al., 2016; Hughes & Atchison, 2015).

La divergencia relativamente reciente entre linajes podría facilitar procesos de hibridación e introgresión entre especies cercanas (Seehausen, 2004). En este contexto, la falta de monofilia observada en algunos complejos de especies podría explicarse más plausiblemente por procesos de captura cloroplastidial o flujo génico histórico, fenómenos ampliamente documentados en plantas y capaces de desacoplar la historia evolutiva del plastoma respecto del genoma nuclear (Rieseberg & Soltis, 1991; Premoli, 2012; Dong et al., 2022; Thureborn et al., 2024). En conjunto, estas estimaciones temporales sugieren que los patrones observados en la filogenia del plastoma se explican mejor por historia evolutiva compartida e intercambio genético entre linajes que por eventos independientes de convergencia molecular. Por lo tanto, la selección positiva detectada en el plastoma de *Alstroemeria* parece reflejar principalmente ajustes adaptativos heredados dentro de linajes específicos durante etapas relativamente recientes de la diversificación del género. Así, la topología recuperada estaría dominada por la historia evolutiva compartida de los linajes, mientras que los cambios adaptativos detectados representarían modificaciones locales que no alteran la estructura general del árbol.

4.4 Limitaciones

Durante la realización de la presente investigación, fue posible detectar que la conexión entre selección y relaciones filogenéticas podrían verse afectadas según la naturaleza del sistema de estudio. En este sentido, es importante indicar potenciales limitaciones que se deben considerar dentro del contexto de las inferencias presentadas.

Una limitación inherente fue el uso exclusivo del genoma cloroplastidial como marcador filogenético. Esta molécula se comporta como un locus no recombinante y es de herencia generalmente uniparental, lo que podría generar una subestimación o sobrestimación de las hipótesis filogenéticas usadas. Considerando que la filogenia obtenida en este estudio solo retrata la historia evolutiva del plastoma, las relaciones filogenéticas del género *Alstroemeria* podrían diferir si se incorpora información genómica del núcleo, especialmente, si estamos en presencia de procesos como hibridación, introgresión o captura cloroplastidial (Rieseberg & Soltis, 1991), tal como se sospecha en esta tesis. En este contexto, dada la presencia de especies no monofiléticas y la agrupación de linajes geográficamente dispares, nos genera un escenario lo suficientemente incongruente como para reconocer que no se puede depender exclusivamente de datos del plastoma. Este tipo de limitaciones han sido ampliamente discutidas en estudios que advierten sobre la necesidad de cautela al interpretar filogenias basadas exclusivamente en genomas organelares (Rieseberg & Soltis 1991; Doyle, 2022; Larson et al., 2026).

Además, debe considerarse que la detección de convergencia adaptativa a partir de genes cloroplastidiales presenta limitaciones, derivadas principalmente de la menor tasa de sustitución del plastoma en comparación con el genoma nuclear (Wolfe et al., 1987). Esta restricción en la varianza reduce la cantidad de sitios informativos bajo selección positiva, lo que compromete el poder estadístico para identificar patrones convergentes entre linajes independientes sometidos a presiones selectivas análogas. Dicha limitación se ve exacerbada por la sensibilidad diferencial de los métodos de detección frente a diversos regímenes selectivos; estas herramientas dependen críticamente de la calidad del

alineamiento y de la topología filogenética subyacente (Kosakovsky Pond & Frost, 2005; Murrell et al., 2013). En consecuencia, la escasez de caracteres variables por gen no solo dificulta la identificación de señales adaptativas, sino que aumenta el riesgo de incurrir en sesgos o sobreestimaciones de sitios bajo selección.

Finalmente, vale la pena mencionar que, aunque el muestreo taxonómico de esta tesis puede considerarse como taxonómicamente amplio, la presencia de plastomas incompletos en algunos taxones (*A. angustifolia*, *A. garaventae* ssp. *garaventae*, *A. lutea*, *A. pseudospathulata* y *A. pulchra* spp. *lavandulacea*) podría afectar en parte la interpretación de resultados. Como consecuencia, no todos los genes estuvieron representados en los análisis de selección conducidos, por lo que algunas inferencias podrían considerarse incompletas. Este punto podría también trasladarse al aspecto taxonómico, dado que, si se incluyeran los taxones pendientes de muestreo, tanto chilenos y otros representantes de *Alstroemeria* en Sudamérica, es posible que la inferencia de los patrones evolutivos del género sea ostensiblemente mejorada o —al menos— ratificada. Además, este problema podría trasladarse a las estimaciones de tiempo de divergencia realizadas, las que podrían afectarse por los datos perdidos resultantes en el dataset analizado (Fig. 20), introduciendo incertidumbre innecesaria en la interpretación temporal de los eventos evolutivos.

CONCLUSIONES

La presente investigación constituye el primer análisis integral de secuenciación, ensamblaje y caracterización comparativa de plastomas en el género *Alstroemeria*, incorporando un muestreo taxonómico sin precedentes para especies distribuidas en Chile. En conjunto, los resultados evidencian que el plastoma de este género presenta una estructura altamente conservada, tanto en su organización como en su contenido génico, consistente con lo descrito para angiospermas. Esta estabilidad estructural, junto con la

congruencia observada entre distintas particiones del genoma, respalda su comportamiento como una unidad evolutiva coherente y su utilidad como marcador filogenómico.

La filogenia inferida a partir de plastomas completos permitió resolver con alto soporte estadístico siete filogrupos principales, proporcionando un marco robusto para interpretar las relaciones evolutivas dentro del género desde la perspectiva del genoma cloroplastidial. En este contexto, las estimaciones temporales obtenidas indican una diversificación más reciente de lo previamente propuesto, lo que contribuye a replantear la escala temporal de la diversificación de *Alstroemeria*.

En relación con el objetivo central de esta tesis, los análisis de selección (FEL, FUBAR y MEME) evidenciaron la presencia de señales de selección positiva en múltiples codones de genes cloroplastidiales, predominantemente de carácter pervasivo. Sin embargo, los sitios bajo selección identificados no se repiten entre clados ni se asocian consistentemente a linajes que ocupan ambientes similares (distribución geográfica). Este patrón indica que la selección positiva detectada actúa principalmente a escala local dentro de linajes específicos, más que como resultado de procesos de convergencia adaptativa entre linajes independientes. En consecuencia, no se encontró evidencia de que la selección positiva esté generando artefactos filogenéticos o distorsionando la señal evolutiva inferida a partir del plastoma.

En conjunto, estos resultados apoyan la interpretación de que la filogenia basada en el genoma cloroplastidial de *Alstroemeria* refleja principalmente historia evolutiva

compartida, más que procesos independientes de adaptación convergente. Asimismo, refuerzan la idea de que, a pesar de la acción de la selección sobre sitios específicos, el plastoma mantiene una señal filogenética robusta y consistente, validando su uso en estudios filogenómicos dentro del grupo.

Finalmente, una de las principales limitaciones de este estudio radica en la ausencia de información proveniente del genoma nuclear, lo que restringe la evaluación de procesos como introgresión, hibridación o captura cloroplastidial. En este sentido, la integración de datos nucleares en futuros estudios será clave para contrastar la historia evolutiva inferida a partir del plastoma y evaluar la concordancia entre distintas fuentes de información genómica. De igual manera, la incorporación de enfoques complementarios permitirá profundizar en los mecanismos que han contribuido a la diversificación del género *Alstroemeria* en Chile.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aagesen, L., & Sanso, A. M. (2003). The phylogeny of the Alstroemeriaceae, based on morphology, rps16 Intron, and rbcL sequence data. *Systematic Botany*, 28(1), 47-69.

- Aggarwal, R. K., Brar, D. S., Nandi, S., Huang, N., & Khush, G. S. (1999). Phylogenetic relationships among *Oryza* species revealed by AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 98, 1320-1328.
- Allen, J. F., de Paula, W. B., Puthiyaveetil, S., & Nield, J. (2011). A structural phylogenetic map for chloroplast photosynthesis. *Trends in plant science*, 16(12), 645-655.
- Amiryousefi, A., Hyvönen, J., & Poczai, P. (2018). IRscope: an online program to visualize the junction sites of chloroplast genomes. *Bioinformatics*, 34(17), 3030-3031.
- Andrade, M. C., Perek, M., Pereira, F. B., Moro, M., & Tambarussi, E. V. (2018). Quantity, organization, and distribution of chloroplast microsatellites in all species of *Eucalyptus* with available plastome sequence. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 18, 97-102.
- Aros, D., Suazo, M., Rivas, C., Zapata, P., Úbeda, C., & Bridgen, M. (2019). Molecular and morphological characterization of new interspecific hybrids of *Alstroemeria* originated from *A. caryophylleae* scented lines. *Euphytica*, 215(5), 93.
- Baeza Perry, Carlos, Toro-Núñez, Oscar, Ruiz, Eduardo, Santos, David, Salvatierra, Ariel, & Thielemann, Eitel. (2022). Divergence among the subspecies of *Alstroemeria garaventae* Ehr. Bayer (Alstroemeriaceae) on fundamental karyotype and chloroplast DNA data. *Gayana. Botánica*, 79(2), 140-146. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432022000200140>
- Baeza, C. M., Finot, V., Ruiz, E., Carrasco, P., Novoa, P., Rosas, M., & Toro-Núñez, O. (2018). Cytotaxonomic study of the Chilean endemic complex *Alstroemeria magnifica* Herb. (Alstroemeriaceae). *Genetics and Molecular Biology*, 41, 434-441.
- Baeza, C., Finot, V., Ruiz, E., Carrasco, P., Novoa, P., Stuessy, T., & González, A. (2016). Comparative karyotypic analysis and cytotaxonomy in the *Alstroemeria ligtu* L. (Alstroemeriaceae) complex of Chile. *Brazilian Journal of Botany*, 39, 305-313.
- Baeza, C., Ruiz, E., & Negritto, M. (2010). Comparative karyotypic analysis in the *Alstroemeria hookeri* Lodd. (Alstroemeriaceae) complex sensu Bayer (1987). *Genetics and Molecular Biology*, 33, 119-124.
- Berlocher, S. H. (2000). Radiation and divergence in the *Rhagoletis pomonella* species group: inferences from allozymes. *Evolution*, 54(2), 543-557.
- Bien, J., Tibshirani, R., & Bien, M. J. (2015). Package ‘protoclust’.

- Blomberg, S. P., Garland Jr, T., & Ives, A. R. (2003). Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile. *Evolution*, 57(4), 717-745.
- Bock, D. G., Andrew, R. L., & Rieseberg, L. H. (2014). On the adaptive value of cytoplasmic genomes in plants. *Molecular Ecology*, 23(20), 4899-4911.
- Boffey, S. A. (1984). Agarose gel electrophoresis of DNA. *Nucleic Acids*, 43-50.
- Brun, P., Zimmermann, N. E., Hari, C., Pellissier, L., & Karger, D. N. (2022). Global climate-related predictors at kilometer resolution for the past and future. *Earth System Science Data*, 14(12), 5573-5603.
- Budar, F., & Roux, F. (2011). The role of organelle genomes in plant adaptation: time to get to work!. *Plant signaling & behavior*, 6(5), 635-639.
- Cameron, C. B. (2005). A phylogeny of the hemichordates based on morphological characters. *Canadian Journal of Zoology*, 83(1), 196-215.
- Casola, C., & Li, J. (2022). Beyond RuBisCO: convergent molecular evolution of multiple chloroplast genes in C4 plants. *PeerJ*, 10, e12791.
- Castoe, T. A., de Koning, A. J., & Pollock, D. D. (2010). Adaptive molecular convergences: Molecular evolution versus molecular phylogenetics. *Communicative & Integrative Biology*, 3(1), 67-69.
- Castoe, T. A., de Koning, A. J., Kim, H. M., Gu, W., Noonan, B. P., Naylor, G., ... & Pollock, D. D. (2009). Evidence for an ancient adaptive episode of convergent molecular evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(22), 8986-8991.
- Chacón, J., Sousa, A., Baeza, C. M., & Renner, S. S. (2012). Ribosomal DNA distribution and a genus-wide phylogeny reveal patterns of chromosomal evolution in *Alstroemeria* (Alstroemeriaceae). *American Journal of Botany*, 99(9), 1501-1512.
- Chamberlain, S. A., Hovick, S. M., Dibble, C. J., Rasmussen, N. L., Van Allen, B. G., Maitner, B. S., ... & Whitney, K. D. (2012). Does phylogeny matter? Assessing the impact of phylogenetic information in ecological meta-analysis. *Ecology Letters*, 15(6), 627-636.
- Chen, Y. P., Zhao, F., Paton, A. J., Sunojkumar, P., Gao, L. M., & Xiang, C. L. (2022). Plastome sequences fail to resolve shallow level relationships within the rapidly radiated genus *Isodon* (Lamiaceae). *Frontiers in Plant Science*, 13, 985488.

- Chen, Y., Zhong, H., Zhu, Y., Huang, Y., Wu, S., Liu, Z., ... & Zhai, J. (2020). Plastome structure and adaptive evolution of *Calanthe* sl species. *PeerJ*, 8, e10051.
- Claude, S. J., Park, K. T., & Park, S. (2025). Plastome evolution at the edge: structural rearrangements, IR expansion, and gene flux in Hypericaceae (Malpighiales). *BMC Plant Biology*.
- Claude, S. J., Park, S., & Park, S. (2022). Gene loss, genome rearrangement, and accelerated substitution rates in plastid genome of *Hypericum ascyron* (Hypericaceae). *BMC plant biology*, 22(1), 135.
- Crisci, J. V., Katinas, L., & Posadas, P. (2003). *Historical biogeography: an introduction*. Harvard University Press.
- Cui, H., Ding, Z., Zhu, Q., Wu, Y., Qiu, B., & Gao, P. (2021). Comparative analysis of nuclear, chloroplast, and mitochondrial genomes of watermelon and melon provides evidence of gene transfer. *Scientific reports*, 11(1), 1595.
- Daniell, H., Lin, C. S., Yu, M., & Chang, W. J. (2016). Chloroplast genomes: diversity, evolution, and applications in genetic engineering. *Genome biology*, 17(1), 134.
- De La Torre, A. R., Li, Z., Van de Peer, Y., & Ingvarsson, P. K. (2017). Contrasting rates of molecular evolution and patterns of selection among gymnosperms and flowering plants. *Molecular biology and evolution*, 34(6), 1363-1377.
- Derbyshire, M. C. (2020). Bioinformatic detection of positive selection pressure in plant pathogens: the neutral theory of molecular sequence evolution in action. *Frontiers in Microbiology*, 11, 644.
- Dierckxsens, N., Mardulyn, P., & Smits, G. (2017). NOVOPlasty: de novo assembly of organelle genomes from whole genome data. *Nucleic acids research*, 45(4), e18-e18.
- Dobrogojski, J., Adamiec, M., & Luciński, R. (2020). The chloroplast genome: a review. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42, 1-13.
- Dong, W., Li, E., Liu, Y., Xu, C., Wang, Y., Liu, K., ... & Zhou, S. (2022). Phylogenomic approaches untangle early divergences and complex diversifications of the olive plant family. *BMC biology*, 20(1), 92.
- Dong, W., Xu, C., Li, C., Sun, J., Zuo, Y., Shi, S., ... & Zhou, S. (2015). *ycf1*, the most promising plastid DNA barcode of land plants. *Scientific reports*, 5(1), 8348.

- Doyle, J. J. (1992). Gene trees and species trees: molecular systematics as one-character taxonomy. *Systematic Botany*, 144-163.
- Doyle, J. J. (1995). The irrelevance of allele tree topologies for species delimitation, and a non-topological alternative. *Systematic Botany*, 574-588.
- Doyle, J. J. (2022). Defining coalescent genes: theory meets practice in organelle phylogenomics. *Systematic biology*, 71(2), 476-489.
- Du L, Zhang C, Liu Q, Zhang X, Yue B (2018) Krait: una herramienta ultrarrápida para el estudio de microsatélites a nivel genómico y el diseño de cebadores. *Bioinformática*. 34(4):681-683. [10.1093/bioinformática/btx665](https://doi.org/10.1093/bioinformática/btx665)
- Edwards, E. J., Still, C. J., & Donoghue, M. J. (2007). The relevance of phylogeny to studies of global change. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(5), 243-249.
- Endara , L. & Burleigh , G. (2023). Angiosperm GoFlag ProbeSet .
- Finot, V., Baeza, C., Muñoz-Schick, M., Ruiz, E., Espejo, J., Alarcón, D., ... & Eyzaguirre, M. T. (2018). *Alstroemerias chilenas: guía de campo*. Corma.
- Finot, V.L., C.M. Baeza, E. Ruiz, O. Toro, P. Carrasco. (2018). Towards an integrative taxonomy of the genus *Alstroemeria* (Alstroemeriaceae) in Chile: A comprehensive review. Biodiversity, Dr. Sen and Dr. Grillo (Eds). Chapter 12: 229-265. In Bulent, S. (Editor). *Studies in Biodiversity*. InterchOpen.
- Flexas, J., & Medrano, H. (2002). Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals of botany*, 89(2), 183-189.
- Freudenthal, J. A., Pfaff, S., Terhoeven, N., Korte, A., Ankenbrand, M. J., & Förster, F. (2020). A systematic comparison of chloroplast genome assembly tools. *Genome Biology*, 21, 1-21.
- Frye, A. S. L., & Kron, K. A. (2003). *rbcL* phylogeny and character evolution in Polygonaceae. *Systematic Botany*, 28(2), 326-332.
- Fuentes, G., Carrasco, P., Tamburrino I., Ruiz E., Bastías C., Finot V.L., & Baeza C.M., (2015). Estructura y diversidad genética, neutral y adaptativa, en cinco localidades del complejo *Alstroemeria presliana* Herb. (Alstroemeriaceae) en Chile. IV Congreso Nacional de Flora Nativa. Concepción, 14-17 octubre de 2015.
- Futuyma, D. J., & Kirkpatrick, M. (2017). *Evolution*. 4th Edition.

- Gibson, A. C., & Horak, K. E. (1978). Systematic anatomy and phylogeny of Mexican columnar cacti. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 999-1057.
- Gitzendanner, M. A., Soltis, P. S., Yi, T. S., Li, D. Z., & Soltis, D. E. (2018). Plastome phylogenetics: 30 years of inferences into plant evolution. *In Advances in botanical research* (Vol. 85, pp. 293-313). Academic Press.
- Givnish, T. J., Ames, M., McNeal, J. R., McKain, M. R., Steele, P. R., Depamphilis, C. W., ... & Leebens-Mack, J. H. (2010). Assembling the tree of the monocotyledons: plastome sequence phylogeny and evolution of Poales1. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 97(4), 584-616.
- Gonçalves, D. J., Jansen, R. K., Ruhlman, T. A., & Mandel, J. R. (2020). Under the rug: abandoning persistent misconceptions that obfuscate organelle evolution. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 151, 106903.
- Goncalves, D. J., Simpson, B. B., Ortiz, E. M., Shimizu, G. H., & Jansen, R. K. (2019). Incongruence between gene trees and species trees and phylogenetic signal variation in plastid genes. *Molecular phylogenetics and evolution*, 138, 219-232.
- Grivet Delphine, D., Sebastiani, F., Alía Miranda, R., Bataillon, T., Torre, S., Zabal-Aguirre, M., ... & González-Martínez, S. C. (2011). Molecular footprints of local adaptation in two Mediterranean conifers.
- Gu, X., Li, L., Li, S., Shi, W., Zhong, X., Su, Y., & Wang, T. (2023). Adaptive evolution and co-evolution of chloroplast genomes in Pteridaceae species occupying different habitats: overlapping residues are always highly mutated. *BMC Plant Biology*, 23(1), 511.
- Guindon, S., Dufayard, J. F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., & Gascuel, O. (2010). New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic biology*, 59(3), 307-321.
- Guo, X., Liu, C., Zhang, G., Su, W., Landis, J. B., Zhang, X., ... & Ji, Y. (2020). The complete plastomes of five hemiparasitic plants (*Osyris wightiana*, *Pyralaria edulis*, *Santalum album*, *Viscum liquidambaricolum*, and *V. ovalifolium*): Comparative and evolutionary analyses within Santalales. *Frontiers in genetics*, 11, 597.
- Guo, X., Liu, J., Hao, G., Zhang, L., Mao, K., Wang, X., ... & Koch, M. A. (2017). Plastome phylogeny and early diversification of Brassicaceae. *BMC genomics*, 18, 1-9.
- Hackathon, R. (2020, March). Package 'phylobase'.

- Hajdukiewicz, P. T., Allison, L. A., & Maliga, P. (1997). The two RNA polymerases encoded by the nuclear and the plastid compartments transcribe distinct groups of genes in tobacco plastids. *The EMBO journal*.
- Han, T. H., Van Eck, H. J., De Jeu, M. J., & Jacobsen, E. (1999). Optimization of AFLP fingerprinting of organisms with a large-sized genome: a study on *Alstroemeria* spp. *Theoretical and Applied Genetics*, 98(3-4), 465-471.
- Hansen, A. K., Escobar, L. K., Gilbert, L. E., & Jansen, R. K. (2007). Paternal, maternal, and biparental inheritance of the chloroplast genome in *Passiflora* (Passifloraceae): implications for phylogenetic studies. *American Journal of Botany*, 94(1), 42-46.
- Hershkovitz, M. A., Arroyo, M. T., Bell, C., & Hinojosa, L. F. (2006). Phylogeny of Chaetanthera (Asteraceae: Mutisieae) reveals both ancient and recent origins of the high elevation lineages. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 41(3), 594-605.
- Heusser, C. J. (1990). Ice age vegetation and climate of subtropical Chile. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 80(2), 107-127.
- Ho, S. Y., & Phillips, M. J. (2009). Accounting for calibration uncertainty in phylogenetic estimation of evolutionary divergence times. *Systematic biology*, 58(3), 367-380.
- Hofreiter, A., & Rodríguez, E. (2006). The Alstroemeriaceae in Peru and neighbouring areas. *Rev. Peru. Biol*, 13(1), 5-69.
- Hu, S., Sablok, G., Wang, B., Qu, D., Barbaro, E., Viola, R., ... & Varotto, C. (2015). Plastome organization and evolution of chloroplast genes in Cardamine species adapted to contrasting habitats. *BMC genomics*, 16, 1-14.
- Huang, L., Yang, Y. P., Liu, X. Y., Qiu, L. F., Li, Y. Y., Ma, Z. W., ... & Zhang, J. Q. (2025). Integrated analyses reveal extensive cytonuclear discordance and two new members of Rhodiola. *Journal of Systematics and Evolution*, 63(3), 737-752.
- Hughes, C. E., & Atchison, G. W. (2015). The ubiquity of alpine plant radiations: from the Andes to the Hengduan Mountains. *New Phytologist*, 207(2), 275-282.
- Hughes, C., & Eastwood, R. (2006). Island radiation on a continental scale: exceptional rates of plant diversification after uplift of the Andes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(27), 10334-10339.

- Huo, Y., Gao, L., Liu, B., Yang, Y., Kong, S., Sun, Y., ... & Wu, X. (2019). Complete chloroplast genome sequences of four *Allium* species: comparative and phylogenetic analyses. *Scientific reports*, *9*(1), 12250.
- Jara-Arancio, P., Arroyo, M. T., Guerrero, P. C., Hinojosa, L. F., Arancio, G., & Méndez, M. A. (2014). Phylogenetic perspectives on biome shifts in *Leucocoryne* (Alliaceae) in relation to climatic niche evolution in western South America. *Journal of Biogeography*, *41*(2), 328-338.
- Jara-Arancio, P., Vidal, P. M., Panero, J. L., Marticorena, A., Arancio, G., & Arroyo, M. T. (2017). Phylogenetic reconstruction of the South American genus *Leucheria* Lag.(Asteraceae, Nassauvieae) based on nuclear and chloroplast DNA sequences. *Plant Systematics and Evolution*, *303*(2), 221-232.
- Jimenez, H. J., da Silva, A. D. F., Martins, L. S. S., de Carvalho, R., & De Moraes Filho, R. M. (2020). Comparative genomics plastomes of the Amaryllidaceae family species. *Scientia Plena*, *16*(6).
- Jin, J. J., Yu, W. B., Yang, J. B., Song, Y., DePamphilis, C. W., Yi, T. S., & Li, D. Z. (2020). GetOrganelle: a fast and versatile toolkit for accurate de novo assembly of organelle genomes. *Genome biology*, *21*, 1-31.
- Kalia, R. K., Rai, M. K., Kalia, S., Singh, R., & Dhawan, A. K. (2011). Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica*, *177*(3), 309-334.
- Kalyaanamoorthy, S., Minh, B. Q., Wong, T. K., Von Haeseler, A., & Jermin, L. S. (2017). ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature methods*, *14*(6), 587-589.
- Katoh, K., Asimenos, G., & Toh, H. (2009). Multiple alignment of DNA sequences with MAFFT. *Bioinformatics for DNA sequence analysis*, 39-64.
- Keck, F., Rimet, F., Bouchez, A., & Franc, A. (2016). phyloSignal: an R package to measure, test, and explore the phylogenetic signal. *Ecology and evolution*, *6*(9), 2774-2780.
- Kern, A. D., & Hahn, M. W. (2018). The neutral theory in light of natural selection. *Molecular biology and evolution*, *35*(6), 1366-1371.
- Kim, H. T., Kim, J. S., Moore, M. J., Neubig, K. M., Williams, N. H., Whitten, W. M., & Kim, J. H. (2015). Seven new complete plastome sequences reveal rampant independent loss of the *ndh* gene family across orchids and associated instability of the inverted repeat/small single-copy region boundaries. *PLoS One*, *10*(11), e0142215.

- Kim, J. S., Kim, H. T., Yoon, C. Y., & Kim, J. H. (2016). The complete plastid genome sequence of *Bomarea edulis* (Alstroemeriaceae: Liliales). *Mitochondrial DNA Part A*, 27(3), 1869-1870.
- Kimura, M. (1968). Evolutionary rate at the molecular level. *Nature*, 217(5129), 624-626.
- Kirk, H., Vrieling, K., & Klinkhamer, P. G. (2005). Maternal effects and heterosis influence the fitness of plant hybrids. *New Phytologist*, 166(2), 685-694.
- Könyves, K., Bilborrow, J., Christodoulou, M. D., Culham, A., & David, J. (2021). Comparative plastomics of Amaryllidaceae: inverted repeat expansion and the degradation of the *ndh* genes in *Strumaria truncata* Jacq. *PeerJ*, 9, e12400.
- Kosakovskiy, S. L., & Frost, S. D. (2005). Not so different after all: a comparison of methods for detecting amino acid sites under selection. *Molecular biology and evolution*, 22(5), 1208-1222.
- Ku, C., Nelson-Sathi, S., Roettger, M., Garg, S., Hazkani-Covo, E., & Martin, W. F. (2015). Endosymbiotic gene transfer from prokaryotic pangenomes: Inherited chimerism in eukaryotes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(33), 10139-10146.
- Lagomarsino, L. P., Condamine, F. L., Antonelli, A., Mulch, A., & Davis, C. C. (2016). The abiotic and biotic drivers of rapid diversification in Andean bellflowers (Campanulaceae). *New Phytologist*, 210(4), 1430-1442.
- Larson, D. A., Itgen, M. W., Denton, R. D., & Hahn, M. W. (2026). Reconsidering cytonuclear discordance in the genomic age. *Evolution*, 80(1), 1-14.
- Larsson, A. (2014). AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics*, 30(22), 3276-3278.
- Lee, C., Ruhlman, T. A., & Jansen, R. K. (2020). Unprecedented intraindividual structural heteroplasmy in *Eleocharis* (Cyperaceae, Poales) plastomes. *Genome Biology and Evolution*, 12(5), 641-655.
- Lee-Yaw, J. A., Grassa, C. J., Joly, S., Andrew, R. L., & Rieseberg, L. H. (2019). An evaluation of alternative explanations for widespread cytonuclear discordance in annual sunflowers (*Helianthus*). *New Phytologist*, 221(1), 515-526.
- Lemey, P., Salemi, M., & Vandamme, A. M. (Eds.). (2009). *The phylogenetic handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing*. Cambridge University Press.

- Lerbs-Mache, S. (2011). Function of plastid sigma factors in higher plants: regulation of gene expression or just preservation of constitutive transcription?. *Plant molecular biology*, 76(3), 235-249.
- Liu, J., Shi, M., Zhang, Z., Xie, H., Kong, W., Wang, Q., ... & Shi, L. (2022). Phylogenomic analyses based on the plastid genome and concatenated nrDNA sequence data reveal cytonuclear discordance in genus *Atractylodes* (Asteraceae: Carduoideae). *Frontiers in plant science*, 13, 1045423.
- Losos, J. B. (2011). Convergence, adaptation, and constraint. *Evolution*, 65(7), 1827-1840.
- Lowry, D. B., & Willis, J. H. (2010). A widespread chromosomal inversion polymorphism contributes to a major life-history transition, local adaptation, and reproductive isolation. *PLoS biology*, 8(9), e1000500.
- Luebert, F., & Weigend, M. (2014). Phylogenetic insights into Andean plant diversification. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2, 27.
- Maddison, W. P. and D.R. Maddison. 2023. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.81 <http://www.mesquiteproject.org>
- May, M. R., Contreras, D. L., Sundue, M. A., Nagalingum, N. S., Looy, C. V., & Rothfels, C. J. (2021). Inferring the total-evidence timescale of marattialean fern evolution in the face of model sensitivity. *Systematic biology*, 70(6), 1232-1255.
- Millen, R. S., Olmstead, R. G., Adams, K. L., Palmer, J. D., Lao, N. T., Heggie, L., ... & Wolfe, K. H. (2001). Many parallel losses of *infA* from chloroplast DNA during angiosperm evolution with multiple independent transfers to the nucleus. *The Plant Cell*, 13(3), 645-658.
- Minh, B. Q., Nguyen, M. A. T., & Von Haeseler, A. (2013). Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap. *Molecular biology and evolution*, 30(5), 1188-1195.
- Minh, B. Q., Schmidt, H. A., Chernomor, O., Schrempf, D., Woodhams, M. D., Von Haeseler, A., & Lanfear, R. (2020). IQ-TREE 2: new models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Molecular biology and evolution*, 37(5), 1530-1534.
- Mohanta, T. K., Mishra, A. K., Khan, A., Hashem, A., Abd_Allah, E. F., & Al-Harrasi, A. (2020). Gene loss and evolution of the plastome. *Genes*, 11(10), 1133.

- Muñoz-Schick, M., Eyzaguirre, M. T., & Moreira-Muñoz, A. (2019). Redescubrimiento de una especie y su nueva clasificación como subespecie de *Alstroemeria garaventae* (Alstroemeriaceae) de Chile. *Gayana Botánica*, 76(2), 247-252.
- Murrell, B., Moola, S., Mabona, A., Weighill, T., Sheward, D., Kosakovsky Pond, S. L., & Scheffler, K. (2013). FUBAR: a fast, unconstrained bayesian approximation for inferring selection. *Molecular biology and evolution*, 30(5), 1196-1205.
- Murrell, B., Weaver, S., Smith, M. D., Wertheim, J. O., Murrell, S., Aylward, A., ... & Kosakovsky Pond, S. L. (2015). Gene-wide identification of episodic selection. *Molecular biology and evolution*, 32(5), 1365-1371.
- Murrell, B., Wertheim, J. O., Moola, S., Weighill, T., Scheffler, K., & Kosakovsky Pond, S. L. (2012). Detecting individual sites subject to episodic diversifying selection. *PLoS genetics*, 8(7), e1002764.
- Nascimento, J., Sader, M., Toro-Núñez, O., Baeza, C., Mata-Sucre, Y., Félix, L., & Pedrosa-Harand, A. (2026). Conservation of giant genome structure in Brazilian and Chilean species of the genus *Alstroemeria* L.(Alstroemeriaceae), despite dynamism in satellite repeats. *Planta*, 263(3), 69.
- Nelson, N., & Yocum, C. F. (2006). Structure and function of photosystems I and II. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 57(1), 521-565.
- Nevado, B., Contreras-Ortiz, N., Hughes, C., & Filatov, D. A. (2018). Pleistocene glacial cycles drive isolation, gene flow and speciation in the high-elevation Andes. *New Phytologist*, 219(2), 779-793.
- Nguyen, V. B., Park, H. S., Lee, S. C., Lee, J., Park, J. Y., & Yang, T. J. (2017). Authentication markers for five major *Panax* species developed via comparative analysis of complete chloroplast genome sequences. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(30), 6298-6306.
- Nielsen, R. (2005). Molecular signatures of natural selection. *Annu. Rev. Genet.*
- Nielsen, R., & Yang, Z. (1998). Likelihood models for detecting positively selected amino acid sites and applications to the HIV-1 envelope gene. *Genetics*, 148(3), 929-936.
- Nirenberg, M. W. (1963). The genetic code. *Scientific American*, 208(3), 80-95.
- Nixon, P. J., Michoux, F., Yu, J., Boehm, M., & Komenda, J. (2010). Recent advances in understanding the assembly and repair of photosystem II. *Annals of botany*, 106(1), 1-16.

- Noroozi, M., Ghahremaninejad, F., Riahi, M., & Cohen, J. I. (2024). Phylogenomics and plastome evolution of Lithospermeae (Boraginaceae). *BMC Plant Biology*, 24(1), 957.
- Ohta, T. (2013). Molecular evolution: nearly neutral theory. eLS.
- Pagel, M. (1999). Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature*, 401(6756), 877-884.
- Pagel, M. 1999. The maximum likelihood approach to reconstructing ancestral character states of discrete characters on phylogenies. *Systematic Biology*. 48: 612-622.
- Paradis, E., & Schliep, K. (2019). ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics*, 35(3), 526-528.
- Pennell M, Eastman J, Slater G, Brown J, Uyeda J, Fitzjohn R, Alfaro M, Harmon L (2014). “geiger v2.0: an expanded suite of methods for fitting macroevolutionary models to phylogenetic trees.” *Bioinformatics*, 30, 2216-2218. [doi:10.1093/bioinformatics/btu181](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu181).
- Pfalz, J., & Pfannschmidt, T. (2013). Essential nucleoid proteins in early chloroplast development. *Trends in plant science*, 18(4), 186-194.
- Philippe, H., Brinkmann, H., Lavrov, D. V., Littlewood, D. T. J., Manuel, M., Wörheide, G., & Baurain, D. (2011). Resolving difficult phylogenetic questions: why more sequences are not enough. *PLoS biology*, 9(3), e1000602.
- Pond, S. L. K., Frost, S. D., & Muse, S. V. (2005). HyPhy: hypothesis testing using phylogenies. *Bioinformatics*, 21(5), 676-679.
- Pond, S. L. K., Poon, A. F., & Frost, S. D. (2009). Estimating selection pressures on alignments of coding sequences. *The phylogenetic handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 419-490.
- Poon, A. F. Y., Lewis, F. I., Pond, S. L. K., & Frost, S. D. W. (2007). An evolutionary-network model reveals stratified interactions in the V3 loop of the HIV-1 envelope. *PLoS computational biology*, 3(11), e231.
- Powell, C. L. E., Waskin, S., & Battistuzzi, F. U. (2020). Quantifying the error of secondary vs. distant primary calibrations in a simulated environment. *Frontiers in Genetics*, 11, 252.

- R Core Team (2024). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.
- Rabah, S. O., Shrestha, B., Hajrah, N. H., Sabir, M. J., Alharby, H. F., Sabir, M. J., ... & Jansen, R. K. (2019). Passiflora plastome sequencing reveals widespread genomic rearrangements. *Journal of systematics and evolution*, 57(1), 1-14.
- Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G., & Suchard, M. A. (2018). Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic biology*, 67(5), 901-904.
- Rehman, I., Kerndt, C. C., & Botelho, S. (2024). Biochemistry, tertiary protein structure. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
- Ribeiro, T., Vaio, M., Félix, L. P., & Guerra, M. (2022). Satellite DNA probes of *Alstroemeria longistaminea* (Alstroemeriaceae) paint the heterochromatin and the B chromosome, reveal a G-like banding pattern, and point to a strong structural karyotype conservation: T. Ribeiro et al. *Protoplasma*, 259(2), 413-426.
- Rice P., Longden I. and Bleasby A. EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite. *Trends in Genetics*. 2000 16(6):276-277.
- Rieseberg, L. H., & Soltis, D. E. (1991). Phylogenetic consequences of cytoplasmic gene flow in plants.
- Robbins, E. H., & Kelly, S. (2023). The evolutionary constraints on angiosperm chloroplast adaptation. *Genome Biology and Evolution*, 15(6), ead101.
- Rogalski, M., do Nascimento Vieira, L., Fraga, H. P., & Guerra, M. P. (2015). Plastid genomics in horticultural species: importance and applications for plant population genetics, evolution, and biotechnology. *Frontiers in plant science*, 6, 586.
- Rojas, G., & Baeza, C. M. (2021). *Alstroemeria esteparica* (Alstroemeriaceae) una nueva especie para la flora del Cono Sur de Sudamérica. *Gayana. Botánica*, 78(1), 77-85.
- Rokas, A., & Carroll, S. B. (2008). Frequent and widespread parallel evolution of protein sequences. *Molecular biology and evolution*, 25(9), 1943-1953.
- Ruhlman, T. A., & Jansen, R. K. (2014). The plastid genomes of flowering plants. In *Chloroplast biotechnology: methods and protocols* (pp. 3-38). Totowa, NJ: Humana Press.

- Ruiz, E., Balboa, K., Negritto, M. A., Baeza, C. M., Fuentes, G., & Briceno, V. (2010). Genetic and morphological variation and population structure in *Alstroemeria hookeri* subsp. *hookeri* (Alstroemeriaceae), endemic to Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 83(4), 605-616.
- Ruiz, E., G. Fuentes, C.M. Baeza, V.L. Finot & P. Carrasco. (2015). Variabilidad genética y estructuración poblacional en cinco poblaciones del complejo *Alstroemeria presliana*. XXVI Reunión Sociedad Botánica de Chile, Valparaíso, 24-26 octubre 2015.
- Rundel, P. W., Arroyo, M. T., Cowling, R. M., Keeley, J. E., Lamont, B. B., & Vargas, P. (2016). Mediterranean biomes: evolution of their vegetation, floras, and climate. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 47(1), 383-407.
- Rundel, P. W., Dillon, M. O., Palma, B., Mooney, H. A., Gulmon, S. L., & Ehleringer, J. R. (1991). The phytogeography and ecology of the coastal Atacama and Peruvian deserts. *Aliso: A Journal of Systematic and Floristic Botany*, 13(1), 1-49.
- Saarela, J. M., Burke, S. V., Wysocki, W. P., Barrett, M. D., Clark, L. G., Craine, J. M., ... & Duvall, M. R. (2018). A 250 plastome phylogeny of the grass family (Poaceae): topological support under different data partitions. *PeerJ*, 6, e4299.
- Sackton, T. B., & Clark, N. (2019). Convergent evolution in the genomics era: new insights and directions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 374(1777), 20190102.
- Sambatti, J. B., Ortiz-Barrientos, D., Baack, E. J., & Rieseberg, L. H. (2008). Ecological selection maintains cytonuclear incompatibilities in hybridizing sunflowers. *Ecology letters*, 11(10), 1082-1091.
- Sanmartín, I. (2012). Historical biogeography: evolution in time and space. *Evolution: Education and Outreach*, 5(4), 555-568.
- Savolainen, O., Lascoux, M., & Merilä, J. (2013). Ecological genomics of local adaptation. *Nature Reviews Genetics*, 14(11), 807-820.
- Schrödinger, L., y DeLano, W. (2020). PyMOL. Recuperado de <http://www.pymol.org/pymol>
- Seehausen, O. (2004). Hybridization and adaptive radiation. *Trends in ecology & evolution*, 19(4), 198-207.
- Shaw, J. et al. (2014). Chloroplast DNA sequences and plant phylogeography. *Molecular Ecology*.

- Shaw, J., Lickey, E. B., Schilling, E. E., & Small, R. L. (2007). Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American journal of botany*, 94(3), 275-288.
- Shikanai, T. (2016). Chloroplast NDH: a different enzyme with a structure similar to that of respiratory NADH dehydrogenase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1857(7), 1015-1022.
- Sinn, B. T., Sedmak, D. D., Kelly, L. M., & Freudenstein, J. V. (2018). Total duplication of the small single copy region in the angiosperm plastome: rearrangement and inverted repeat instability in *Asarum*. *American Journal of Botany*, 105(1), 71-84.
- Sitnikova, T., Rzhetsky, A., & Nei, M. (1995). Interior-branch and bootstrap tests of phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, 12(2), 319-333.
- Smith, M. R. (2019). TreeTools: create, modify and analyse phylogenetic trees. *Comprehensive R Archive Network*, 10(764), 765.
- Smith, M. R. (2020). Information theoretic generalized Robinson–Foulds metrics for comparing phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 36(20), 5007-5013.
- Smith, M. R. (2020). TreeDist: distances between phylogenetic trees. *Zenodo*.
- Smith, M. R. (2022). Robust analysis of phylogenetic tree space. *Systematic Biology*, 71(5), 1255-1270.
- Soltis, D. E., Soltis, P. S., Chase, M. W., Mort, M. E., Albach, D. C., Zanis, M., ... & Farris, J. S. (2000). Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, *rbcL*, and *atpB* sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 133(4), 381-461.
- Spreitzer, R. J., & Salvucci, M. E. (2002). Rubisco: structure, regulatory interactions, and possibilities for a better enzyme. *Annual review of plant biology*, 53(1), 449-475.
- Stayton, C. T. (2015). What does convergent evolution mean? The interpretation of convergence and its implications in the search for limits to evolution. *Interface focus*, 5(6), 20150039.
- Stegemann, S., Hartmann, S., Ruf, S., & Bock, R. (2003). High-frequency gene transfer from the chloroplast genome to the nucleus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(15), 8828-8833.
- Stephan, W. (2019). Selective sweeps. *Genetics*, 211(1), 5-13.

- Stern, D. L. (2013). The genetic causes of convergent evolution. *Nature Reviews Genetics*, 14(11), 751-764.
- Storz, J. F. (2016). Causes of molecular convergence and parallelism in protein evolution. *Nature Reviews Genetics*, 17(4), 239-250.
- Stuessy, T. F. (2009). Plant taxonomy: the systematic evaluation of comparative data. Columbia University Press.
- Suchard, M. A., Lemey, P., Baele, G., Ayres, D. L., Drummond, A. J., & Rambaut, A. (2018). Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus evolution*, 4(1), vey016.
- Suzuki, Y., & Gojobori, T. (1999). A method for detecting positive selection at single amino acid sites. *Molecular biology and evolution*, 16(10), 1315-1328.
- Tillich M, Lehwark P, Pellizzer T, Ulbricht-Jones ES, Fischer A, Bock R and Greiner S (2017) GeSeq – versatile and accurate annotation of organelle genomes. *Nucleic Acids Research* 45: W6-W11.
- Todesco, M., Owens, G. L., Bercovich, N., Légaré, J. S., Soudi, S., Burge, D. O., ... & Rieseberg, L. H. (2020). Massive haplotypes underlie ecotypic differentiation in sunflowers. *Nature*, 584(7822), 602-607.
- Toro-Núñez, O., Al-Shehbaz, I. A., & Mort, M. E. (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 Systematics and Evolution*, 301(5), 1377-1396.
- Tribble, C. M., Alzate-Guarín, F., Gándara, E., Vartoumian, A., Burleigh, J. G., Zenil-Ferguson, R., ... & Rothfels, C. J. (2024). The rapid radiation of Bomarea (Alstroemeriaceae: Liliales), driven by the rise of the Andes. *Evolution*, 78(2), 221-236.
- Uliano-Silva, M., Ferreira, J. G. R., Krasheninnikova, K., Formenti, G., Abueg, L., Torrance, J., ... & McCarthy, S. A. (2023). MitoHiFi: a python pipeline for mitochondrial genome assembly from PacBio high fidelity reads. *BMC bioinformatics*, 24(1), 288.
- UniProt: the Universal protein knowledgebase in 2025. *Nucleic Acids Research*, 2025, vol. 53, no D1, p. D609-D617.
- Vijayan, K., & Tsou, C. H. (2010). DNA barcoding in plants: taxonomy in a new perspective. *Current science*, 1530-1541.

- Villagrán Moraga, C., & Armesto, J. J. (2005). Fitogeografía histórica de la Cordillera de la Costa de Chile.
- Villagrán, C. M. (1995). Quaternary history of the Mediterranean vegetation of Chile. In *Ecology and biogeography of Mediterranean ecosystems in Chile, California, and Australia* (pp. 3-20). New York, NY: Springer New York.
- Wang, X., & Wang, L. (2016). GMATA: an integrated software package for genome-scale SSR mining, marker development and viewing. *Frontiers in plant science*, 7, 1350.
- Wick R.R., Schultz M.B., Zobel J. & Holt K.E. (2015). Bandage: interactive visualisation of de novo genome assemblies. *Bioinformatics*, 31(20), 3350-3352.
- Wicke, S., Schneeweiss, G. M., Depamphilis, C. W., Müller, K. F., & Quandt, D. (2011). The evolution of the plastid chromosome in land plants: gene content, gene order, gene function. *Plant molecular biology*, 76, 273-297.
- Wolfe, K. H., Li, W. H., & Sharp, P. M. (1987). Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(24), 9054-9058.
- Wong, E. L., Nevado, B., Hiscock, S. J., & Filatov, D. A. (2023). Rapid evolution of hybrid breakdown following recent divergence with gene flow in *Senecio* species on Mount Etna, Sicily. *Heredity*, 130(1), 40-52.
- Wong, K. H., Siu, T. Y., Tsang, S. S. K., Kong, B. L. H., Wu, H. Y., But, G. W. C., ... & Lau, D. T. W. (2023). The complete chloroplast genomes of nine Smilacaceae species from Hong Kong: Inferring infra-and inter-familial phylogeny. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(8), 7460.
- Wu, S., Chen, J., Li, Y., Liu, A., Li, A., Yin, M., ... & Ren, G. (2021). Extensive genomic rearrangements mediated by repetitive sequences in plastomes of *Medicago* and its relatives. *BMC Plant Biology*, 21(1), 421.
- Xu, K. W., Yang, Y., Chen, H., Lin, C. X., Jiang, L., Guo, Z. L., ... & Meng, K. K. (2025). Extensive cytonuclear discordance revealed by phylogenomic analyses suggests complex evolutionary history in the holly genus *Ilex* (Aquifoliaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 204, 108255.
- Yamori, W. (2016). Photosynthetic response to fluctuating environments and photoprotective strategies under abiotic stress. *Journal of Plant Research*, 129(3), 379-395.

- Yamori, W., & Shikanai, T. (2016). Physiological functions of cyclic electron transport around photosystem I in sustaining photosynthesis and plant growth. *Annual review of plant biology*, 67(1), 81-106.
- Yamori, W., Shikanai, T., & Makino, A. (2015). Photosystem I cyclic electron flow via chloroplast NADH dehydrogenase-like complex performs a physiological role for photosynthesis at low light. *Scientific reports*, 5(1), 13908.
- Yang, Q., Xin, C., Xiao, Q. S., Lin, Y. T., Li, L., & Zhao, J. L. (2023). Codon usage bias in chloroplast genes implicate adaptive evolution of four ginger species. *Frontiers in plant science*, 14, 1304264.
- Yang, Z., & Bielawski, J. P. (2000). Statistical methods for detecting molecular adaptation. *Trends in ecology & evolution*, 15(12), 496-503.
- Yang, Z., & Nielsen, R. (2002). Codon-substitution models for detecting molecular adaptation at individual sites along specific lineages. *Molecular biology and evolution*, 19(6), 908-917.
- Zakon, H. H. (2002). Convergent evolution on the molecular level. *Brain behavior and evolution*, 59(5-6), 250-261.
- Zhang, J., & Kumar, S. (1997). Detection of convergent and parallel evolution at the amino acid sequence level. *Molecular biology and evolution*, 14(5), 527-536.
- Zhang, L., Xi, Z., Wang, M., Guo, X., & Ma, T. (2018). Plastome phylogeny and lineage diversification of Salicaceae with focus on poplars and willows. *Ecology and evolution*, 8(16), 7817-7823.
- Zhou, H., Gao, X., Woeste, K., Zhao, P., & Zhang, S. (2021). Comparative analysis of the complete chloroplast genomes of four chestnut species (*Castanea*). *Forests*, 12(7), 861.
- Zhou, J., Cui, Y., Chen, X., Li, Y., Xu, Z., Duan, B., ... & Yao, H. (2018). Complete chloroplast genomes of *Papaver rhoeas* and *Papaver orientale*: molecular structures, comparative analysis, and phylogenetic analysis. *Molecules*, 23(2), 437.
- Zimorski, V., Ku, C., Martin, W. F., & Gould, S. B. (2014). Endosymbiotic theory for organelle origins. *Current opinion in microbiology*, 22, 38-48.

ANEXO

Tabla S1. Lista de taxones y su identificación en el herbario cuyos plastomas posteriormente fueron ensamblados, anotados y caracterizados.

TAXA	ID
A_andina_CDS417	Por ingresar a herbario
A_andina_venustula_CDS791	Por ingresar a herbario
A_angustifolia_OTN250	
A_aurea_PCM22	197903
A_crispata_CDS442A	Por ingresar a herbario
A_cummingiana_OTN162	Por ingresar a herbario
A_diluta_chrysantha_OTN182	Por ingresar a herbario
A_diluta_diluta_PCM16	Por ingresar a herbario
A_esteparica_CS04	Por ingresar a herbario
A_exserens_MTK29140	
A_garaventae_garaventae_ASv1	
A_garaventae_longaviensis_OTN212	Por ingresar a herbario
A_graminea_CDS382	Por ingresar a herbario
A_hookeri_hookeri_OTN219	Por ingresar a herbario
A_hookeri_maculata_OTN158	Por ingresar a herbario
A_hookeri_recumbens_OTN175	Por ingresar a herbario

A_hookeri_sansebastiana_OTNAhsY	
A_kingii_PCM6	
A_leporina_CDS523	193006
A_ligtu_ligtu_PCM32	
A_ligtu_simsii_OTN173	Por ingresar a herbario
A_ligtu_splendens_OTN207	197898
A_lutea_RP02	Por ingresar a herbario
A_magnifica_magenta_PCM15	202065
A_magnifica_magnifica_PCM14	202072
A_magnifica_sierrae_OTN156	Por ingresar a herbario
A_marticoarenae_OTN170	Por ingresar a herbario
A_monticola_JNassimiento	
A_nov_spp_OTN177	Por ingresar a herbario
A_pallida_JE35	
A_parvula_JE76	
A_pelegrina_OTN168	Por ingresar a herbario
A_philippii_adrianae_PCM9	
A_philippii_philippii_PCM5	Por ingresar a herbario
A_piperata_GLRo	
A_polyphyla_CDS526	193007
A_presliana_australis_PCM30	197908
A_presliana_presliana_PCM35	197909
A_pseudospathulata_JE85	Por ingresar a herbario
A_psitaccina_JNassimiento	
A_pulchra_CDS410	
A_pulchra_lavandulacea_OTN200	
A_pulchra_pulchra_PCM116	

A_revoluta_PCM26	Por ingresar a herbario
A_schizanthoides_MM01	197894
A_spathulata_JE78	
A_traudlieae_OTN157	
A_umbellata_MKA29141	
A_uribiciensis_JNassimiento	
A_versicolor_PCM40	Por ingresar a herbario
A_violacea_RP05	Por ingresar a herbario
A_werdermannii_flavicans_OTN154	
A_werdermannii_werdermannii_CDS508	202077
A_zoellneri_DVV301	Por ingresar a herbario
B_ovallei_PCMBov	Por ingresar a herbario
B_salsilla_PCMBs	Por ingresar a herbario

Tabla S2. Lista de matrices para el análisis de selección y sus respectivos taxones.

Matriz_1	Matriz_2	Matriz_3	Matriz_4
A_pseudospathulata_JE85	A_pseudospathulata_JE85	A_andina_CDS417	A_pseudospathulata_JE85
A_andina_CDS417	A_andina_CDS417	A_esteparica_CS04	A_andina_CDS417
A_esteparica_CS04	A_esteparica_CS04	A_ligtu_simsii_OTN173	A_esteparica_CS04
A_ligtu_simsii_OTN173	A_ligtu_simsii_OTN173	A_aurea_PCM22	A_ligtu_simsii_OTN173
A_aurea_PCM22	A_aurea_PCM22	A_crispata_CDS442A	A_aurea_PCM22
A_crispata_CDS442A	A_crispata_CDS442A	A_cummingiana_OTN162	A_crispata_CDS442A

A_cummingiana_OTN162	A_cummingiana_OTN162	A_diluta_chrysantha_OTN182	A_cummingiana_OTN162
A_diluta_chrysantha_OTN182	A_diluta_chrysantha_OTN182	A_diluta_diluta_PCM16	A_diluta_chrysantha_OTN182
A_diluta_diluta_PCM16	A_diluta_diluta_PCM16	A_exserens_MTK29140	A_diluta_diluta_PCM16
A_exserens_MTK29140	A_exserens_MTK29140	A_garaventae_longaviensis_OTN212	A_exserens_MTK29140
A_garaventae_garaventae_ASv1	A_garaventae_garaventae_ASv1	A_graminea_CDS382	A_garaventae_longaviensis_OTN212
A_garaventae_longaviensis_OTN212	A_garaventae_longaviensis_OTN212	A_hookeri_hookeri_OTN219	A_graminea_CDS382
A_graminea_CDS382	A_graminea_CDS382	A_hookeri_maculata_OTN158	A_hookeri_hookeri_OTN219
A_hookeri_hookeri_OTN219	A_hookeri_hookeri_OTN219	A_hookeri_recumbens_OTN175	A_hookeri_maculata_OTN158
A_hookeri_maculata_OTN158	A_hookeri_maculata_OTN158	A_hookeri_sansebastianiana_OTNAhsY	A_hookeri_recumbens_OTN175
A_hookeri_recumbens_OTN175	A_hookeri_recumbens_OTN175	A_isabellana_JNasimientos	A_hookeri_sansebastianiana_OTNAhsY
A_hookeri_sansebastianiana_OTNAhsY	A_hookeri_sansebastianiana_OTNAhsY	A_monticola_JNasimientos	A_isabellana_JNasimientos
A_isabellana_JNasimientos	A_isabellana_JNasimientos	A_psitaccina_JNasimientos	A_monticola_JNasimientos
A_monticola_JNasimientos	A_monticola_JNasimientos	A_kingii_PCM6	A_psitaccina_JNasimientos
A_psitaccina_JNasimientos	A_psitaccina_JNasimientos	A_leporina_CDS523	A_kingii_PCM6
A_kingii_PCM6	A_kingii_PCM6	A_ligtu_splendens_OTN207	A_leporina_CDS523

A_leporina_CDS523	A_leporina_CDS523	A_magnifica_magenta_PCM15	A_ligtu_splendens_OTN207
A_ligtu_splendens_OTN207	A_ligtu_splendens_OTN207	A_magnifica_magnifica_PCM14	A_magnifica_magenta_PCM15
A_magnifica_magenta_PCM15	A_magnifica_magenta_PCM15	A_magnifica_sierrae_OTN156	A_magnifica_magnifica_PCM14
A_magnifica_magnifica_PCM14	A_magnifica_magnifica_PCM14	A_marticoarenae_OTN170	A_magnifica_sierrae_OTN156
A_magnifica_sierrae_OTN156	A_magnifica_sierrae_OTN156	A_nov_spp_OTN177	A_marticoarenae_OTN170
A_marticoarenae_OTN170	A_marticoarenae_OTN170	A_parvula_JE76	A_nov_spp_OTN177
A_nov_spp_OTN177	A_nov_spp_OTN177	A_pallida_JE35	A_parvula_JE76
A_parvula_JE76	A_parvula_JE76	A_pelegrina_OTN168	A_pallida_JE35
A_pallida_JE35	A_pallida_JE35	A_philippii_adriae_PCM9	A_pelegrina_OTN168
A_pelegrina_OTN168	A_pelegrina_OTN168	A_philippii_philippii_PCM5	A_philippii_adriae_PCM9
A_philippii_adriae_PCM9	A_philippii_adriae_PCM9	A_piperata_GLRo	A_philippii_philippii_PCM5
A_philippii_philippii_PCM5	A_philippii_philippii_PCM5	A_polyphyla_CDS526	A_piperata_GLRo
A_piperata_GLRo	A_piperata_GLRo	A_presliana_presliana_PCM35	A_polyphyla_CDS526
A_polyphyla_CDS526	A_polyphyla_CDS526	A_presliana_australis_PCM30	A_presliana_presliana_PCM35
A_presliana_presliana_PCM35	A_presliana_presliana_PCM35	A_pulchra_CDS410	A_presliana_australis_PCM30

A_presliana_australis_PCM30	A_presliana_australis_PCM30	A_pulchra_pulchra_PCM116	A_pulchra_CDS410
A_pulchra_CDS410	A_pulchra_CDS410	A_revoluta_PCM26	A_pulchra_pulchra_PCM116
A_pulchra_pulchra_PCM116	A_pulchra_pulchra_PCM116	A_schizanthoides_MM01	A_revoluta_PCM26
A_revoluta_PCM26	A_revoluta_PCM26	A_traudlieae_OTN157	A_schizanthoides_MM01
A_schizanthoides_MM01	A_schizanthoides_MM01	A_umbellata_MKA29141	A_traudlieae_OTN157
A_traudlieae_OTN157	A_traudlieae_OTN157	A_versicolor_PCM40	A_umbellata_MKA29141
A_umbellata_MKA29141	A_umbellata_MKA29141	A_werdermannii_werdermannii_CDS508	A_versicolor_PCM40
A_versicolor_PCM40	A_versicolor_PCM40	A_werdermannii_flavicans_OTN154	A_werdermannii_werdermannii_CDS508
A_werdermannii_werdermannii_CDS508	A_werdermannii_werdermannii_CDS508	A_zoellneri_DVV301	A_werdermannii_flavicans_OTN154
A_werdermannii_flavicans_OTN154	A_werdermannii_flavicans_OTN154	A_violacea_RP05	A_zoellneri_DVV301
A_zoellneri_DVV301	A_zoellneri_DVV301	A_andina_venustula_CDS791	A_violacea_RP05
A_violacea_RP05	A_violacea_RP05	A_ligtu_ligtu_PC_M32	A_andina_venustula_CDS791
A_andina_venustula_CDS791	A_andina_venustula_CDS791	A_spathulata_JE78	A_ligtu_ligtu_PC_M32
A_ligtu_ligtu_PC_M32	A_ligtu_ligtu_PC_M32	A_pulchra_lavandulacea_OTN200	A_spathulata_JE78

A_spathulata_JE78	A_spathulata_JE78	A_lutea_RP02	
A_pulchra_lavandulacea_OTN200	A_pulchra_lavandulacea_OTN200		
A_angustifolia_OTN250	A_angustifolia_OTN250		
A_lutea_RP02			

Tabla S3. Lista de codones bajo selección obtenidos con la prueba FEL.

Gen	Codon	Partition	Alpha	Beta	LRT	Selection selected?
<i>accD</i>	38	1	11,827	0,000	3,189	Neg. p = 0,0741
<i>accD</i>	79	1	11,827	0,000	3,189	Neg. P = 0,0741
<i>accD</i>	48	1	10,462	0,000	3,043	Neg. P = 0,0811
<i>accD</i>	63	1	21,426	0,000	3,328	Neg. P = 0,0681
<i>accD</i>	168	1	21,768	0,000	3,934	Neg. P = 0,0473
<i>accD</i>	254	1	13,375	0,000	3,146	Neg. P = 0,0761
<i>accD</i>	262	1	60,459	0,000	5,428	Neg. P = 0,0198
<i>accD</i>	266	1	13,377	0,000	3,003	Neg. P = 0,0831
<i>accD</i>	296	1	13,350	0,000	3,116	Neg. P = 0,0775
<i>accD</i>	309	1	16,654	0,000	4,916	Neg. P = 0,0266
<i>accD</i>	323	1	60,459	0,000	5,143	Neg. P = 0,0233
<i>accD</i>	326	1	23,804	0,000	6,635	Neg. P = 0,0100
<i>accD</i>	329	1	12,907	0,000	3,330	Neg. P = 0,0680
<i>accD</i>	433	1	20,726	0,000	3,162	Neg. P = 0,0754
<i>accD</i>	470	1	10,352	0,000	3,113	Neg. P = 0,0776
<i>atpB</i>	168	1	323,126	0,000	7,194	Neg. P = 0,0073
<i>atpB</i>	436	1	94,417	0,000	3,372	Neg. P = 0,0663
<i>atpF</i>	111	1	63,892	0,000	3,235	Neg. P = 0,0721
<i>atpI</i>	199	1	80,830	0,000	3,709	Neg. P = 0,0541
<i>ccsA</i>	38	1	16,009	0,000	3,800	Neg. P = 0,0512

<i>ccsA</i>	44	1	12,582	0,000	4,662	Neg. P = 0,0308
<i>ccsA</i>	82	1	12,912	0,000	2,805	Neg. P = 0,0940
<i>ccsA</i>	109	1	11,778	0,000	3,048	Neg. P = 0,0808
<i>ccsA</i>	113	1	11,075	0,000	4,384	Neg. P = 0,0363
<i>ccsA</i>	128	1	11,224	0,000	2,756	Neg. P = 0,0969
<i>ccsA</i>	148	1	8,473	0,000	2,791	Neg. P = 0,0948
<i>ccsA</i>	173	1	12,285	0,000	3,571	Neg. P = 0,0588
<i>ccsA</i>	215	1	48,994	0,000	7,434	Neg. P = 0,064
<i>ccsA</i>	258	1	7,880	0,000	2,728	Neg. P = 0,0986
<i>ccsA</i>	270	1	11,727	0,000	2,710	Neg. P = 0,0998
<i>ccsA</i>	275	1	38,118	0,000	5,124	Neg. P = 0,0236
<i>ccsA</i>	288	1	8,473	0,000	2,791	Neg. P = 0,0948
<i>cemA</i>	121	1	78,718	0,000	4,316	Neg. P = 0,0378
<i>cemA</i>	198	1	42,854	0,000	3,497	Neg. P = 0,0615
<i>clpPI</i>	5	1	31,591	0,000	3,900	Neg. P = 0,0483
<i>clpPI</i>	41	1	29,461	0,000	2,767	Neg. P = 0,0963
<i>clpPI</i>	45	1	24,259	0,000	2,742	Neg. P = 0,0978
<i>matK</i>	86	1	31,437	0,000	4,734	Neg. P = 0,0296
<i>matK</i>	127	1	36,030	0,000	3,736	Neg. P = 0,0533
<i>matK</i>	161	1	37,208	0,000	3,672	Neg. P = 0,0553
<i>matK</i>	190	1	35,113	0,000	4,116	Neg. P = 0,0425
<i>matK</i>	215	1	25,558	0,000	3,295	Neg. P = 0,0695
<i>matK</i>	254	1	17,819	0,000	2,974	Neg. P = 0,0846
<i>matK</i>	379	1	25,511	0,000	2,985	Neg. P = 0,0841
<i>matK</i>	410	1	40,885	0,000	6,499	Neg. P = 0,0108
<i>matK</i>	432	1	17,708	0,000	2,738	Neg. P = 0,0980
<i>matK</i>	460	1	0,000	27168,0	3,852	Pos. P = 0,0497
<i>ndhB</i>	239	1	247,944	0,031	2,869	Neg. p = 0,0903
<i>ndhD</i>	271	1	50,530	0,000	2,721	Neg. P = 0,0990
<i>ndhE</i>	68	1	103,104	0,000	4,460	Neg. P = 0,0347
<i>ndhE</i>	92	1	65,556	0,000	3,936	Neg. P = 0,0473
<i>ndhG</i>	75	1	48,651	0,000	3,243	Neg. P = 0,0717
<i>ndhG</i>	128	1	58,826	0,000	3,120	Neg. P = 0,0773
<i>ndhI</i>	3	1	64,926	0,000	3,707	Neg. P = 0,0542
<i>pafII</i>	77	1	29,831	0,000	3719,00	Neg. P = 0,0538
<i>pafII</i>	102	1	19,676	0,000	2774,00	Neg. P = 0,0958
<i>petA</i>	31	1	16,304	0,000	2,724	Neg. P = 0,988

<i>petA</i>	52	1	17,180	0,000	2,813	Neg. P = 0,0935
<i>petA</i>	82	1	16,963	0,000	2,765	Neg. P = 0,0963
<i>petA</i>	119	1	23,910	0,000	4,501	Neg. P = 0,0339
<i>petA</i>	145	1	22,551	0,000	2,800	Neg. P = 0,0943
<i>petA</i>	184	1	25,268	0,000	8,967	Neg. P = 0,0850
<i>petA</i>	213	1	68,061	0,000	5,385	Neg. P = 0,0203
<i>petA</i>	245	1	17,961	0,000	2,864	Neg. P = 0,906
<i>petA</i>	263	1	17,961	0,000	2,818	Neg. P = 0,0932
<i>petA</i>	288	1	15,579	0,000	2,819	Neg. P = 0,0932
<i>petD</i>	38	1	47,391	0,000	5,168	Neg. P = 0,0230
<i>petD</i>	704	1	16,445	0,000	3,472	Neg. P = 0,0624
<i>petD</i>	109	1	56,555	0,000	7,724	Neg. P = 0,0054
<i>petD</i>	132	1	14,399	0,000	3,130	Neg. P = 0,0769
<i>petL</i>	5	1	22,996	0,000	3,225	Neg. P = 0,0725
<i>petN</i>	19	1	11,827	0,000	3,251	Neg. P = 0,0714
<i>psaI</i>	5	1	14,249	0,000	4,075	Neg. P = 0,0435
<i>psaJ</i>	20	1	268,513	0,164	3,611	Neg. P = 0,0574
<i>psbB</i>	43	1	14,754	0,000	4,212	Neg. P = 0,0401
<i>psbB</i>	73	1	25,393	0,000	4,264	Neg. P = 0,0389
<i>psbB</i>	103	1	16,253	0,000	2,998	Neg. P = 0,0834
<i>psbB</i>	107	1	17,730	0,000	4,280	Neg. P = 0,0386
<i>psbB</i>	151	1	33,057	0,000	3,676	Neg. P = 0,0552
<i>psbB</i>	269	1	12,261	0,000	2,768	Neg. P = 0,0962
<i>psbB</i>	303	1	21,426	0,000	3,320	Neg. P = 0,0684
<i>psbB</i>	365	1	14,623	0,000	3,372	Neg. P = 0,0663
<i>psbB</i>	366	1	25,684	0,000	3,272	Neg. P = 0,0705
<i>psbB</i>	412	1	70,790	0,000	9,417	Neg. P = 0,0021
<i>psbB</i>	414	1	12,261	0,000	3,020	Neg. P = 0,0822
<i>psbB</i>	419	1	10,099	0,000	2,936	Neg. P = 0,0866
<i>psbB</i>	423	1	16,969	0,000	3,427	Neg. P = 0,0641
<i>psbC</i>	89	1	25,095	0,000	2,755	Neg. P = 0,0970
<i>psbC</i>	207	1	16,420	0,000	3,334	Neg. P = 0,0679
<i>psbC</i>	216	1	26,092	0,000	2,904	Neg. P = 0,0883
<i>psbC</i>	221	1	44,744	0,000	6,077	Neg. P = 0,0137
<i>psbC</i>	321	1	16,582	0,000	3,052	Neg. P = 0,0807
<i>psbC</i>	398	1	41,372	0,000	4,150	Neg. P = 0,0416
<i>psbD</i>	78	1	16,672	0,000	3,164	Neg. P = 0,0753

<i>psbD</i>	164	1	22,743	0,000	3,490	Neg. P = 0,0618
<i>psbD</i>	175	1	24,934	0,000	3,622	Neg. P = 0,0570
<i>psbD</i>	193	1	15,326	0,000	2,992	Neg. P = 0,0837
<i>psbD</i>	195	1	18,319	0,000	3,451	Neg. P = 0,0632
<i>psbD</i>	234	1	25,793	0,000	4,065	Neg. P = 0,0438
<i>psbD</i>	283	1	47,652	0,000	4,685	Neg. P = 0,0304
<i>psbD</i>	333	1	23,674	0,000	3,870	Neg. P = 0,0492
<i>psbH</i>	25	1	11,818	0,000	2,759	Neg. P = 0,0967
<i>psbH</i>	53	1	60,777	0,000	4,676	Neg. P = 0,0306
<i>psbH</i>	55	1	20,453	0,000	3,150	Neg. P = 0,0759
<i>psbI</i>	11	1	24,559	0,000	4,979	Neg. P = 0,0257
<i>psbI</i>	22	1	44,672	0,000	4,075	Neg. P = 0,0435
<i>psbI</i>	29	1	7,877	0,000	3,993	Neg. P = 0,0457
<i>psbT</i>	26	1	12,035	0,000	5,310	Neg. P = 0,0212
<i>psbT</i>	27	1	6,636	0,000	2,981	Neg. P = 0,0843
<i>psbZ</i>	36	1	78,314	0,000	3,615	Neg. P = 0,0573
<i>rbcL</i>	9	1	12,340	0,000	2,836	Neg. P = 0,0922
<i>rbcL</i>	16	1	12,492	0,000	3,081	Neg. P = 0,0792
<i>rbcL</i>	46	1	12,144	0,000	2,778	Neg. P = 0,0956
<i>rbcL</i>	53	1	12,272	0,000	2,818	Neg. P = 0,0932
<i>rbcL</i>	143	1	12,178	0,000	2,805	Neg. P = 0,0940
<i>rbcL</i>	184	1	10,340	0,000	2,731	Neg. P = 0,0984
<i>rbcL</i>	185	1	21,952	0,000	4,881	Neg. P = 0,0271
<i>rbcL</i>	221	1	22,512	0,000	4,160	Neg. P = 0,0414
<i>rbcL</i>	224	1	14,003	0,000	4,074	Neg. P = 0,0436
<i>rbcL</i>	261	1	12,340	0,000	2,864	Neg. P = 0,0906
<i>rbcL</i>	278	1	11,299	0,000	2,727	Neg. P = 0,0987
<i>rbcL</i>	287	1	12,574	0,000	3,002	Neg. P = 0,0832
<i>rbcL</i>	295	1	10,129	0,000	2,747	Neg. P = 0,0974
<i>rbcL</i>	304	1	12,574	0,000	2,812	Neg. P = 0,0935
<i>rbcL</i>	328	1	0,000	26539,00	3,689	Pos. P = 0,0548
<i>rbcL</i>	336	1	22,327	0,000	3,466	Neg. P = 0,0626
<i>rbcL</i>	443	1	22,327	0,000	3,466	Neg. P = 0,0626
<i>rbcL</i>	403	1	10,129	0,000	2,765	Neg. P = 0,0963
<i>rbcL</i>	415	1	23,639	0,000	5,463	Neg. P = 0,0194
<i>rbcL</i>	449	1	0,000	30431,00	4,034	Pos. P = 0,0446
<i>rpl20</i>	38	1	24,100	0,000	3,573	Neg. P = 0,0587

<i>rpl20</i>	41	1	55,400	4,731	4,995	Neg. P = 0,0254
<i>rpl20</i>	101	1	24,100	0,000	3,118	Neg. P = 0,0774
<i>rpl22</i>	9	1	25,080	0,000	2,973	Neg. P = 0,0847
<i>rpl22</i>	40	1	14,804	0,000	2,761	Neg. P = 0,0966
<i>rpl22</i>	81	1	34,776	0,000	3,496	Neg. P = 0,0615
<i>rpl22</i>	85	1	31,947	0,000	4,796	Neg. P = 0,0285
<i>rpl32</i>	4	1	14,291	0,000	3,137	Neg. P = 0,0765
<i>rpl32</i>	23	1	19,390	0,000	3,516	Neg. P = 0,0608
<i>rpl33</i>	28	1	42,514	0,000	2,829	Neg. P = 0,0926
<i>rpoA</i>	32	1	26,729	0,000	2,904	Neg. P = 0,0884
<i>rpoA</i>	191	1	44,663	0,000	2,962	Neg. P = 0,0852
<i>rpoB</i>	337	1	58,250	0,000	3,151	Neg. P = 0,0759
<i>rpoB</i>	554	1	79,498	0,000	4,099	Neg. P = 0,0429
<i>rpoB</i>	558	1	36,531	0,000	2,797	Neg. P = 0,0981
<i>rpoB</i>	594	1	122,736	0,000	7,749	Neg. P = 0,0054
<i>rpoB</i>	968	1	74,922	0,000	3,576	Neg. P = 0,0586
<i>rps11</i>	127	1	221,387	0,000	4,518	Neg. P = 0,0335
<i>rps15</i>	18	1	14,184	0,000	4,808	Neg. P = 0,0283
<i>rps15</i>	47	1	14,116	0,001	4,104	Neg. P = 0,0428
<i>rps15</i>	74	1	14,070	0,000	4,084	Neg. P = 0,0433
<i>rps16</i>	38	1	9,748	0,000	3,471	Neg. P = 0,0625
<i>rps2</i>	52	1	74,104	0,000	3,455	Neg. P = 0,0631
<i>rps2</i>	117	1	58,115	0,000	3,233	Neg. P = 0,0722
<i>rps2</i>	163	1	74,104	0,000	3,503	Neg. P = 0,0612
<i>rps8</i>	26	1	37,737	0,000	2,969	Neg. P = 0,0849
<i>rps8</i>	30	1	53,132	0,000	3,060	Neg. P = 0,0802
<i>rps8</i>	54	1	86,733	0,000	3,552	Neg. P = 0,0595
<i>yef2</i>	277	1	76,918	0,000	3,080	Neg. p = 0,0793
<i>yef2</i>	1011	1	76,918	0,000	3,080	Neg. p = 0,0793
<i>yef2</i>	371	1	111,018	0,000	2,773	Neg. p = 0,0958
<i>yef2</i>	403	1	120,321	0,000	3,201	Neg. p = 0,0736
<i>yef2</i>	517	1	93,286	0,000	3,369	Neg. p = 0,0665
<i>yef2</i>	569	1	133,945	0,001	3,337	Neg. p = 0,0677
<i>yef2</i>	615	1	106,189	0,000	3,263	Neg. p = 0,0709
<i>yef2</i>	687	1	103,125	0,000	2,790	Neg. p = 0,0949
<i>yef2</i>	991	1	69,689	0,000	2,800	Neg. p = 0,0943
<i>yef2</i>	1012	1	131,077	0,000	3,025	Neg. p = 0,0820

<i>ycf2</i>	1438	1	81,733	0,000	3,027	Neg. p = 0,0819
<i>ycf2</i>	1981	1	136,986	0,000	3,360	Neg. p = 0,0668
<i>ycf2</i>	2012	1	254,899	0,000	5,900	Neg. p = 0,0151
<i>ycf2</i>	2255	1	94,426	0,000	2,950	Neg. p = 0,0859

Tabla S4. Lista de codones bajo selección con el test FUBAR

Gen	Codon	Partition	Alpha	Beta	Posterior prob for positive selection
<i>accD</i>	324	1	2,982	18,962	Pos. posterior = 0,9013
<i>atpB</i>	320	1	3,370	40,763	Pos. posterior = 0,9647
<i>ccsA</i>	108	1	3,241	23,757	Pos. posterior = 0,9199
<i>matK</i>	95	1	1,354	21,921	Pos. posterior = 0,9747
<i>matK</i>	121	1	1,117	11,008	Pos. posterior = 0,9249
<i>matK</i>	255	1	1,792	12,063	Pos. posterior = 0,9041
<i>matK</i>	437	1	1,462	18,087	Pos. posterior = 0,9450
<i>ndhD</i>	66	1	1,373	19,805	Pos. posterior = 0,9473
<i>ndhD</i>	310	1	1,828	23,991	Pos. posterior = 0,9491
<i>ndhI</i>	26	1	1,982	28,306	Pos. posterior = 0,9625
<i>ndhI</i>	179	1	3,530	24,771	Pos. posterior = 0,9162
<i>pafII</i>	165	1	3,967	39,615	Pos. posterior = 0,9526
<i>petA</i>	33	1	2,875	25,822	Pos. posterior = 0,9350
<i>petA</i>	101	1	2,420	20,470	Pos. posterior = 0,9279
<i>psbA</i>	11	1	3,623	29,728	Pos. posterior = 0,9293
<i>psbB</i>	296	1	1,883	32,349	Pos. posterior = 0,9699
<i>psbF</i>	26	1	3,415	26,998	Pos. posterior = 0,9258
<i>rbcL</i>	328	1	2,675	43,167	Pos. posterior = 0,9796
<i>rbcL</i>	449	1	2,736	46,889	Pos. posterior = 0,9835
<i>rpl20</i>	74	1	3,128	34,273	Pos. posterior = 0,9571
<i>rpoA</i>	245	1	3,205	28,922	Pos. posterior = 0,9437
<i>rpoA</i>	272	1	4,835	30,266	Pos. posterior = 0,9075
<i>rpoB</i>	447	1	5,003	39,288	Pos. posterior = 0,9336
<i>rpoC1</i>	224	1	1,711	20,195	Pos. posterior = 0,9393
<i>rps15</i>	69	1	1,000	10,638	Pos. posterior = 0,9280
<i>rps15</i>	73	1	0,877	9,879	Pos. posterior = 0,9324
<i>rps4</i>	121	1	3,469	28,958	Pos. posterior = 0,9274
<i>ycf2</i>	883	1	2,763	31,230	Pos. posterior = 0,9532

<i>yef2</i>	1229	1	3,280	33,631	Pos. posterior = 0,9493
-------------	------	---	-------	--------	-------------------------

Tabla S5. Lista de codones bajo selección con el test MEME

Gen	Codon	Alpha	Beta	LRT	Episodic selection detected ?	Partitio n	Branches
<i>atpA</i>	10	0	0,00/6022,58 : 0,91/0,09	3,19 5	yes, p = 0,0964	1	1
<i>ccsA</i>	108	0,005	0,00/1797,92 : 0,77/0,23	4,19 6	yes, p = 0,0572	1	2
<i>mat K</i>	74	0,005	0,00/1640,39 : 0,89/0,11	3,34	yes, p = 0,0893	1	2
<i>mat K</i>	131	0,004	0,00/574,30 : 0,86/0,14	3,29 7	yes, p = 0,0914	1	2
<i>mat K</i>	454	0,003	0,00/816,23 : 0,88/0,12	3,51	yes, p = 0,0817	1	1
<i>mat K</i>	460	0,003	0,00/1499,68 : 0,83/0,17	6,48 3	yes, p = 0,0176	1	3
<i>ndh A</i>	265	0,027	0,01/2287,84 : 0,89/0,11	3,76 4	yes, p = 0,0715	1	1
<i>ndh H</i>	116	0,002	0,00/2048,42 : 0,86/0,14	3,60 3	yes, p = 0,0778	1	2
<i>rbcL</i>	328	0,002	0,00/143,29 : 0,00/1,00	3,68 9	yes, p = 0,0744	1	5
<i>rbcL</i>	449	0,012	0,00/165,65 : 0,06/0,94	4,05 8	yes, p = 0,0614	1	7

<i>rpoA</i>	65	0,002	0,00/100000,0 0 : 0,70/0,30	4,96 3	yes, p = 0,0384	1	1
<i>rpoA</i>	66	0,032	0,01/2193,40 : 0,90/0,10	7,89 2	yes, p = 0,0086	1	1
<i>rpoA</i>	95	0,055	0,03/341,89 : 0,81/0,19	4,61	yes, p = 0,0461	1	1
<i>rpoB</i>	456	0	0,00/4905,51 : 0,91/0,09	3,7	yes, p = 0,0740	1	1
<i>rps8</i>	101	0,044	0,02/1043,83 : 0,91/0,09	4,70 1	yes, p = 0,0440	1	1

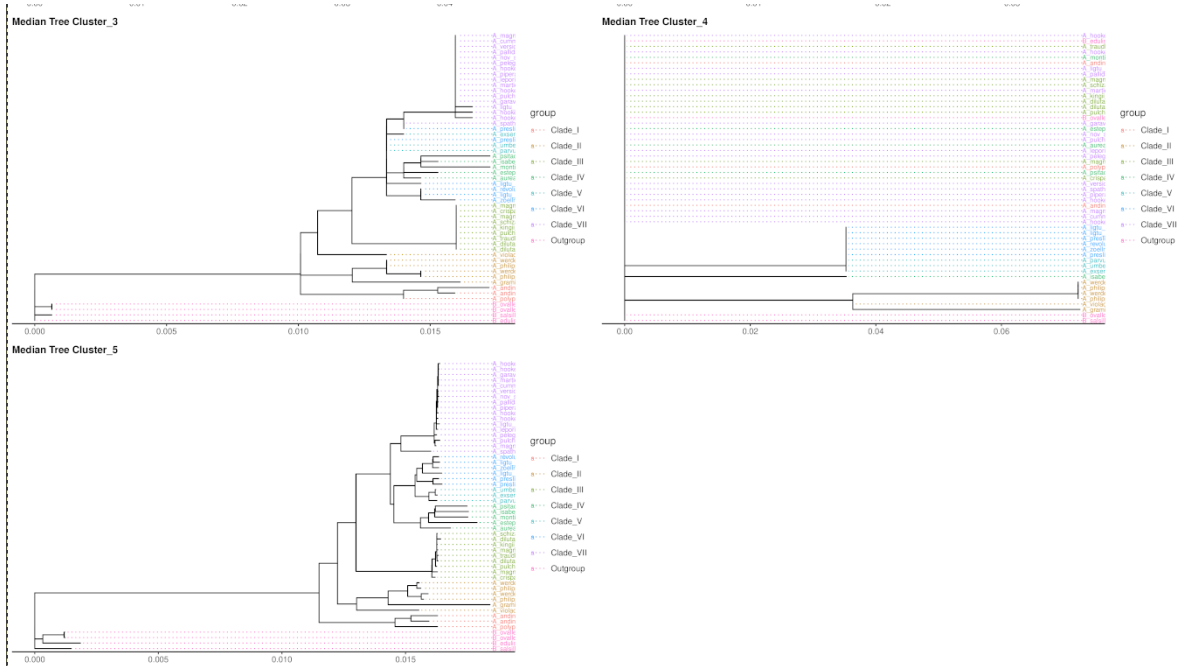


Figura 22. Árboles filogenéticos recuperados desde el análisis de agrupamiento de distancias topológicas (particiones del plastoma).

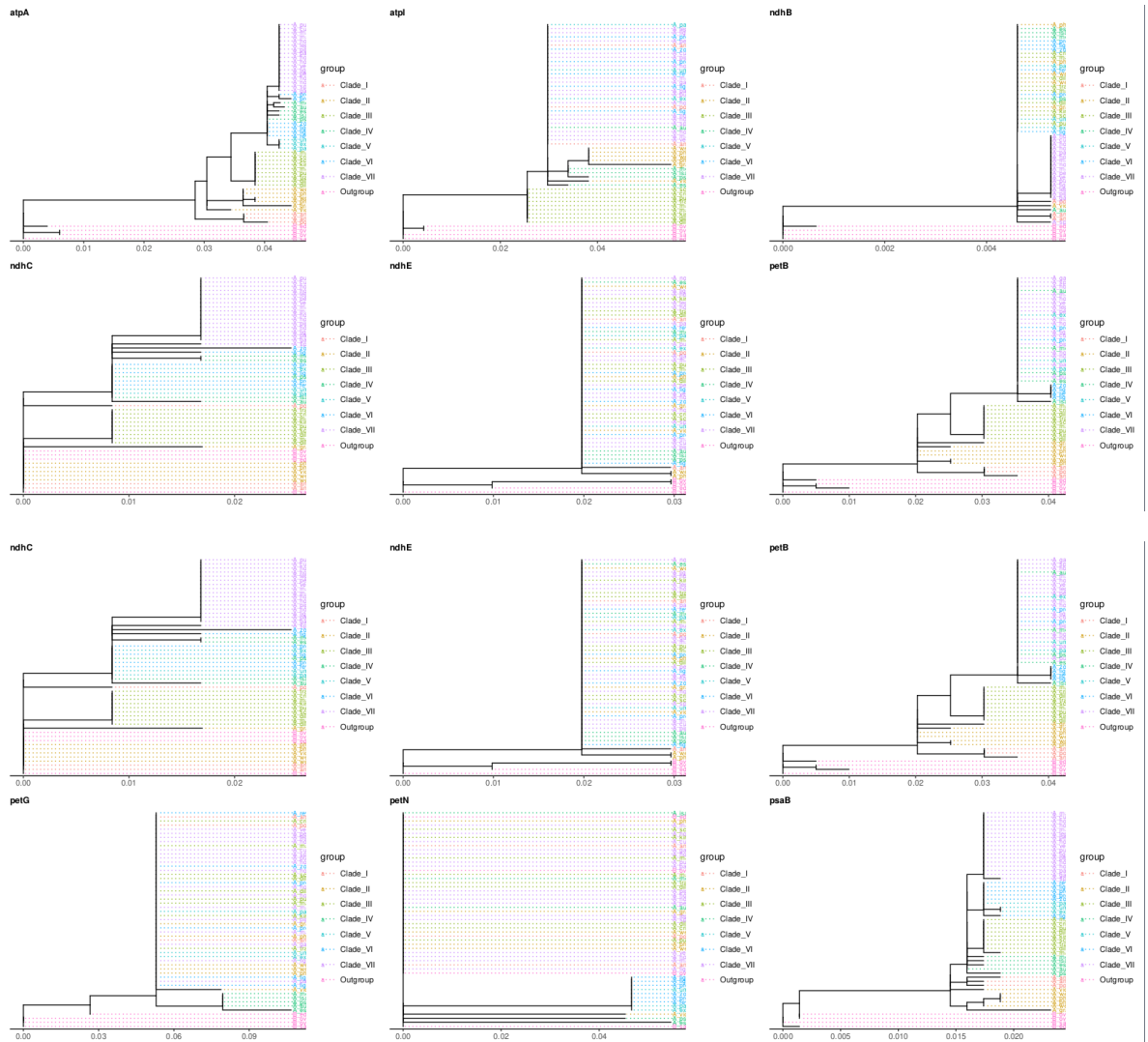


Figura 23. Árboles filogenéticos recuperados desde genes considerados topológicamente discordantes del árbol de referencia usados en la presente tesis.

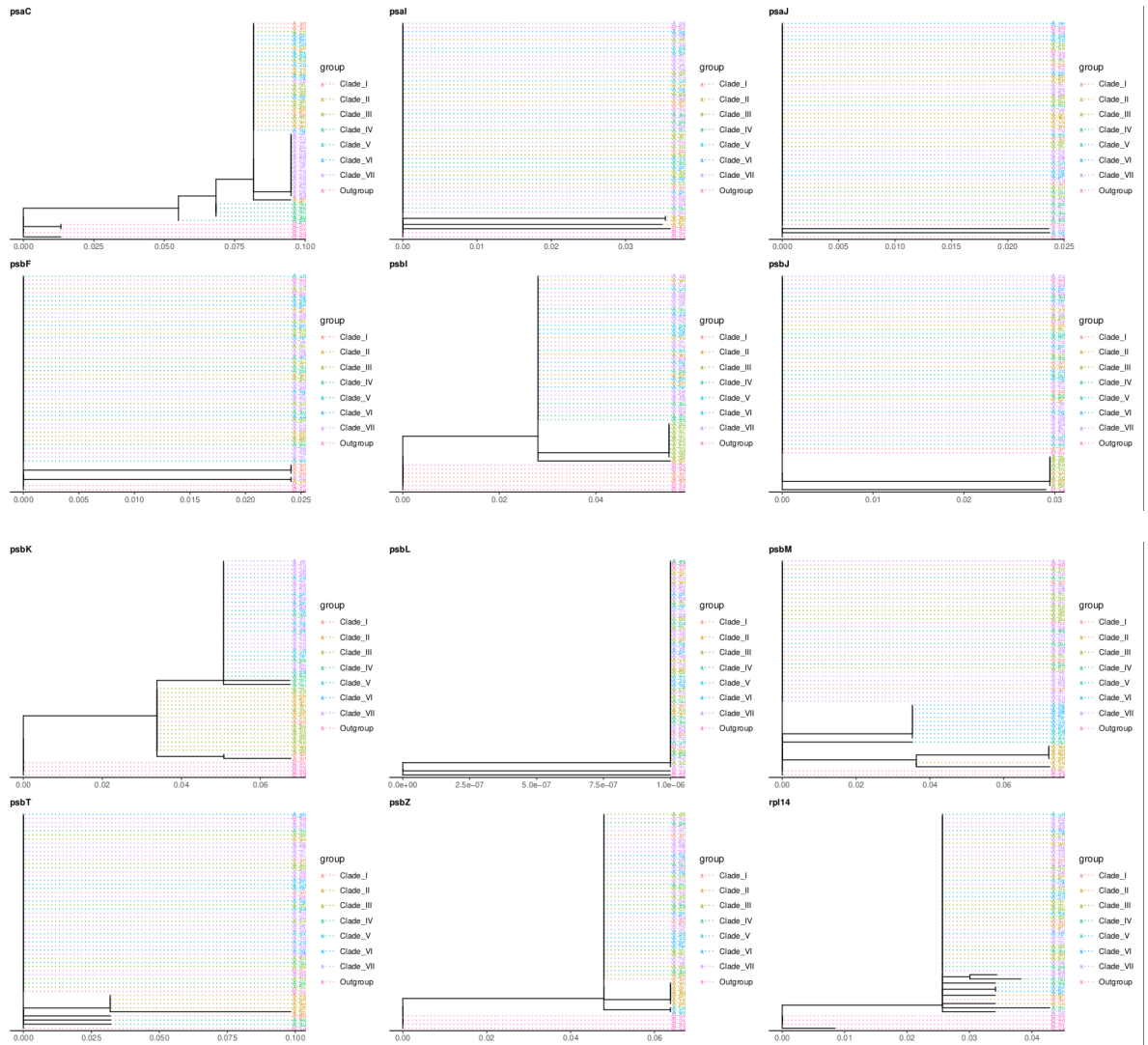


Figura 24. Árboles filogenéticos recuperados desde genes considerados topológicamente discordantes del árbol de referencia usados en la presente tesis.

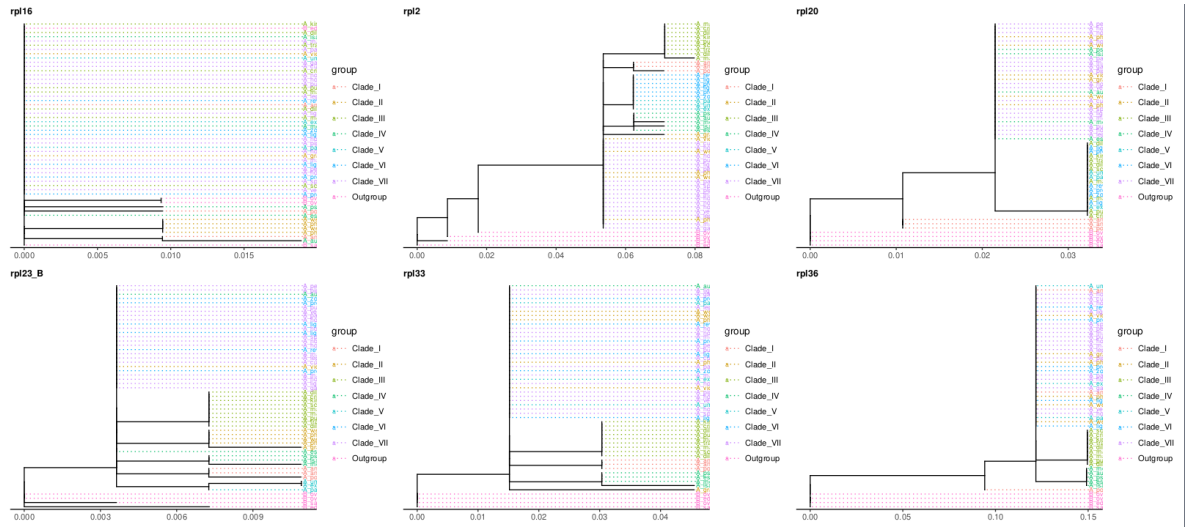


Figura 25. Árboles filogenéticos recuperados desde genes considerados topológicamente discordantes del árbol de referencia usados en la presente tesis.

1 **Tabla S5.** Estadísticos de fechas de divergencia y soporte estadístico de los filogrupos inferidos con matriz de genes
 2 cloroplastidiales concatenados y un modelo de sustitución basado en codones (1+2)+3 en las especies de *Alstroemeria* analizadas.
 3

Clado	Edad Mediana	HPD inferior	HPD superior	Posterior	Dataset	Punto de Calibración
Alstroemeria_crown	10.602	4.807	18.516	0.651	Genes concatenados codón (1+2)+3	Chacón et al. (2012)
Clade_1	3.725	1.359	7.501	1.000	Genes concatenados codón (1+2)+3	Chacón et al. (2012)
Clade_2	6.303	2.676	11.810	0.998	Genes concatenados codón (1+2)+3	Chacón et al. (2012)
Clade_3	0.560	0.166	1.328	1.000	Genes concatenados codón (1+2)+3	Chacón et al. (2012)
Clade_4	2.894	1.205	5.497	1.000	Genes concatenados codón (1+2)+3	Chacón et al. (2012)
Clade_5	0.747	0.191	1.756	1.000	Genes concatenados codón (1+2)+3	Chacón et al. (2012)
Clade_6	1.926	0.717	3.874	0.998	Genes concatenados codón (1+2)+3	Chacón et al. (2012)
Clade_7	3.014	1.099	5.835	1.000	Genes concatenados codón (1+2)+3	Chacón et al. (2012)

Clade_Rosa	0.537	0.176	1.156	1.000	Genes concatenados (1+2)+3	codón	Chacón et al. (2012)
Alstroemeria_crown	4.594	2.365	7.722	0.667	Genes concatenados (1+2)+3	codón	Tribble et al. (2024)
Clade_1	1.628	0.604	3.276	1.000	Genes concatenados (1+2)+3	codón	Tribble et al. (2024)
Clade_2	2.743	1.271	4.864	1.000	Genes concatenados (1+2)+3	codón	Tribble et al. (2024)
Clade_3	0.245	0.079	0.561	1.000	Genes concatenados (1+2)+3	codón	Tribble et al. (2024)
Clade_4	1.278	0.553	2.347	1.000	Genes concatenados (1+2)+3	codón	Tribble et al. (2024)
Clade_5	0.329	0.082	0.724	1.000	Genes concatenados (1+2)+3	codón	Tribble et al. (2024)
Clade_6	0.848	0.343	1.641	0.998	Genes concatenados (1+2)+3	codón	Tribble et al. (2024)
Clade_7	1.341	0.517	2.504	1.000	Genes concatenados (1+2)+3	codón	Tribble et al. (2024)
Clade_Rosa	0.238	0.088	0.491	1.000	Genes concatenados (1+2)+3	codón	Tribble et al. (2024)

5 **Tabla S6.** Estadísticos de fechas de divergencia y soporte estadístico de los filogrupos inferidos con matriz de genes
6 cloroplastidiales concatenados y un modelo de sustitución basado en particiones en las especies de *Alstroemeria* analizadas.
7

Clado	Edad Mediana	HPD inferior	HPD superior	Posterior	Dataset	Punto de Calibración
Alstroemeria_crown	8.612	4.351	14.128	0.998	Genes concatenados partición	Chacón et al. (2012)
Clade_1	2.975	1.368	5.185	1	Genes concatenados partición	Chacón et al. (2012)
Clade_2	5.601	2.813	9.368	1	Genes concatenados partición	Chacón et al. (2012)
Clade_3	0.347	0.134	0.66	1	Genes concatenados partición	Chacón et al. (2012)
Clade_4	2.305	1.125	3.867	1	Genes concatenados partición	Chacón et al. (2012)
Clade_5	0.51	0.189	0.993	1	Genes concatenados partición	Chacón et al. (2012)
Clade_6	1.43	0.655	2.488	0.994	Genes concatenados partición	Chacón et al. (2012)
Clade_7	2.604	1.228	4.514	1	Genes concatenados partición	Chacón et al. (2012)

Clade_Rosa	0.354	0.15	0.65	1	Genes concatenados partición	Chacón et al. (2012)
Alstroemeria_crown	4.873	2.951	7.2	0.998	Genes concatenados partición	Tribble et al. (2024)
Clade_1	1.688	0.896	2.702	1	Genes concatenados partición	Tribble et al. (2024)
Clade_2	3.183	1.868	4.823	1	Genes concatenados partición	Tribble et al. (2024)
Clade_3	0.201	0.09	0.353	1	Genes concatenados partición	Tribble et al. (2024)
Clade_4	1.318	0.762	2.045	1	Genes concatenados partición	Tribble et al. (2024)
Clade_5	0.294	0.127	0.534	1	Genes concatenados partición	Tribble et al. (2024)
Clade_6	0.825	0.449	1.31	0.994	Genes concatenados partición	Tribble et al. (2024)
Clade_7	1.488	0.816	2.343	1	Genes concatenados partición	Tribble et al. (2024)
Clade_Rosa	0.204	0.099	0.35	1	Genes concatenados partición	Tribble et al. (2024)

9 **Tabla S7.** Estadísticos de fechas de divergencia y soporte estadístico de los filogrupos inferidos con matriz de plastomas alineados
 10 completos en las especies de *Alstroemeria* analizadas

Clado	Edad Mediana	HPD inferior	HPD superior	Posterior	Dataset	Punto de Calibración
Alstroemeria_crown	23.487	8.284	48.511	0.515	Plastomas completos	Chacón et al. (2012)
Clade_1	9.364	2.44	21.099	1	Plastomas completos	Chacón et al. (2012)
Clade_2	16.331	5.315	35.705	0.994	Plastomas completos	Chacón et al. (2012)
Clade_3	2.035	0.492	5.326	1	Plastomas completos	Chacón et al. (2012)
Clade_4	8.073	2.667	17.148	1	Plastomas completos	Chacón et al. (2012)
Clade_5	2.474	0.478	6.735	1	Plastomas completos	Chacón et al. (2012)
Clade_6	6.095	1.853	13.026	1	Plastomas completos	Chacón et al. (2012)
Clade_7	8.078	2.283	18.276	1	Plastomas completos	Chacón et al. (2012)
Clade_Rosa	1.553	0.405	3.69	1	Plastomas completos	Chacón et al. (2012)

Alstroemeria_crown	11.804	4.28	22.78	0.659	Plastomas completos	Tribble et al. (2024)
Clade_1	4.758	1.315	10.812	1	Plastomas completos	Tribble et al. (2024)
Clade_2	8.097	2.617	16.216	1	Plastomas completos	Tribble et al. (2024)
Clade_3	0.937	0.263	2.198	1	Plastomas completos	Tribble et al. (2024)
Clade_4	3.983	1.403	8.028	1	Plastomas completos	Tribble et al. (2024)
Clade_5	1.206	0.25	2.928	1	Plastomas completos	Tribble et al. (2024)
Clade_6	2.914	1.007	6.123	1	Plastomas completos	Tribble et al. (2024)
Clade_7	3.962	1.057	8.466	1	Plastomas completos	Tribble et al. (2024)
Clade_Rosa	0.723	0.236	1.654	1	Plastomas completos	Tribble et al. (2024)

