



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS

**¿ESTÁ EL PROCESO DE DIVERSIFICACIÓN DEL  
COMPLEJO DE ESPECIES *ALSTROEMERIA HOOKERI*  
LODD. REALMENTE CONFIGURADA COMO UN  
SINGÁMEON?**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción para optar al grado académico de Magíster en Ciencias con Mención en Botánica

POR: Andrea Fernanda Ruiz Lozano

Profesor Guía: Dr. Oscar Fernando Toro Núñez

Junio 2026

Concepción, Chile

© 2026, Andrea Fernanda Ruiz Lozano. Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo siempre la cita bibliográfica del presente documento y su autor.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer especialmente a mi profesor guía, Dr. Óscar Toro Núñez, por su orientación, paciencia y constante apoyo durante el desarrollo de esta tesis. A mi familia, pareja y amigos, por su comprensión, ánimo y respaldo incondicional en todo momento.

Agradezco a los colaboradores de la Universidad de Kyoto, así como a mis compañeros del laboratorio de Biosistemática y Taxonomía Vegetal, por su ayuda, compañerismo y enriquecedoras discusiones científicas. Mención especial para Pedro Carrasco, cuya experiencia y conocimiento fueron fundamentales para avanzar en este trabajo.

También reconozco el apoyo financiero de la ANID, a través del proyecto FONDECYT de Iniciación 11220556, del proyecto “Nueva Flora de Chile” (2023000111HER) y de la Beca de Magíster Nacional, que hicieron posible la realización de esta investigación.

## Tabla de contenido

AGRADECIMIENTOS	iii
Tabla de contenido .....	iv
Índice de Tablas.....	vi
Índice de Ilustraciones .....	vii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
INTRODUCCIÓN .....	1
Delimitación de identidades y complejos de especies .....	1
Singámeon .....	3
<i>Alstroemeria</i> .....	6
El complejo <i>Alstroemeria hookeri</i> .....	7
Contexto .....	9
Hipótesis.....	11
Objetivo general .....	11
Objetivos específicos.....	11
METODOLOGÍA.....	12
1.0. Colecta de material.....	12
2.0. Fotografía y digitalización .....	14
3.0. Análisis Fenotípicos.....	14
3.1. Morfometría Geométrica.....	15
3.2. Medidas escalares.....	15
3.3. Colorimetría.....	16
4.0. Análisis de Diferenciación Fenotípica y Asignación de Entidades .....	17
5.0. Análisis Genotípicos .....	18
5.1. Extracción de ADN y generación de MIGSeq (SNPs) .....	18
5.2. Ensamble de datos e imputación de SNPs .....	19
5.3. Estructura genética .....	20
5.4. Reconstrucción relaciones filogenéticas.....	20

6.0 Relaciones entre Diversidad Genética, Fenotípica y el Paisaje.....	21
RESULTADOS.....	24
1.0. Análisis Fenotípicos.....	24
1.1. Morfometría Geométrica.....	24
1.2. Morfometría Escalar .....	28
1.3. Colorimetría.....	29
Fenotipo total.....	32
2.0. Análisis Genotípicos .....	36
2.1 Ensamble genómico.....	36
2.2. Estadística genética básica.....	37
2.3. Estructura genética .....	39
2.4. Reconstrucción relaciones filogenéticas.....	43
3.0. Relaciones entre Diversidad Genética, Fenotípica y el Paisaje.....	47
DISCUSIÓN.....	54
Diversidad y variación fenotípica floral .....	55
Diversidad y variación genética .....	60
Fenotipo v/s Genética.....	64
¿Existe en <i>Alstroemeria</i> el modelo Singámeon y cuáles son sus consecuencias en un contexto taxonómico? .....	67
CONCLUSIÓN.....	75
BIBLIOGRAFÍA.....	77
ANEXO .....	99

## Índice de Tablas

Tabla 01. Información de muestreo poblacional de <i>A. hookeri</i> subsp <i>recumbens</i> y especies afines.....	13
Tabla 02. Tabla resumen de los valores-p del MANOVA para cada par de especies... 26	
Tabla 03. Tabla resumen de los valores-p del MANOVA para la razón Área/Perímetro. ....	28
Tabla 04. Tabla resumen de los valores-p del MANOVA para la razón Largo/Ancho... 28	
Tabla 05. Tabla resumen de los valores-p del MANOVA para cada par de especies... 31	
Tabla 06. Tabla resumen de los valores-p del PERMANOVA para cada par de especies. ....	33
Tabla 07. Tabla resumen del ensamble genómico del draft inicial del genoma de referencia de <i>Alstroemeria hookeri</i> subsp. <i>recumbens</i> .....	37
Tabla 08. Resumen de los valores de diversidad genética. ....	38
Tabla 09. Resultados del AMOVA en base a las fuentes de variación y suma de cuadrados.....	38
Tabla 10. Resultados del AMOVA en base a los componentes de varianza y porcentaje de variación. ....	38
Tabla 11. Correlación entre matrices de distancia fenotípicas (morfometría y colorimetría) y genética evaluada mediante test de Mantel. F: fenotipo total; MG: morfometría geométrica; ME: morfometría escalar; C: colorimetría; G: distancia genética .....	48
Tabla 12. Tabla resumen del análisis de redundancia basados en distancias usando Fenotipo como variable respuesta. Se evaluó el efecto de distintos predictores, incluyendo distancia ambiental (amb; derivada de condiciones ambientales), distancia geográfica (geo), distancia de ancestría (ances; obtenida a partir de análisis de ancestría) y taxón. ....	51
Tabla 13. Tabla resumen del análisis de redundancia basados en distancias usando Genotipo como variable respuesta. Se evaluó el efecto de distintos predictores, incluyendo distancia ambiental (amb; derivada de condiciones ambientales), distancia geográfica (geo), distancia de ancestría (ances; obtenida a partir de análisis de ancestría) y taxón. ....	53
Tabla A1. Resumen de los valores K de ambos métodos. En el método SNMF los valores K varían al momento del análisis por lo que se consideró un valor promedio de los K en 10 intentos consecutivos. En el caso de DAPC el valor del K óptimo fue constante. ....	104

## Índice de Ilustraciones

_Toc231947598Figura N° 01. Análisis de componentes principales de la forma de la flor por especie en el morfoespacio, basado en el ordenamiento de los dos primeros componentes. Nota: las formas retratas son formas promedios dentro del morfoespacio, cualquier duda ante las formas las formas ingresadas y analizadas ver Fig. A4, Anexo. ....	25
Figura N° 02. Esquema del Análisis Linear Discriminante ocupando los dos primeros componentes principales. ....	26
Figura N° 03. Validación Cruzada (CV) de resultados de morfometría geométrica A) Gráfico de predictibilidad de VC supervisado en base a los resultados del LDA. B) Gráfico de predictibilidad de VC no supervisado con control de ruido en base a los resultados de <i>clustvarsel</i> . ....	27
Figura N° 04. Validación Cruzada (CV) de resultados de medidas escalares A) Gráfico de predictibilidad de CV supervisado en base a los resultados del LDA. B) Gráfico de predictibilidad de CV no supervisado con control de ruido en base a los resultados de <i>clustvarsel</i> . ....	29
Figura N° 05. Análisis de Escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) de la forma de la flor por especie en el morfoespacio, basado en el ordenamiento de las tres primeras dimensiones. ....	30
Figura N° 06. Validación Cruzada (CV) de resultados de colorimetría A) Gráfico de predictibilidad de CV supervisado en base a los resultados del LDA. B) Gráfico de predictibilidad de CV no supervisado con control de ruido en base a los resultados de <i>clustvarsel</i> . ....	32
Figura N° 07. Esquema del Análisis Linear Discriminante ocupando los dos primeros componentes principales generados de la combinación de los vectores de ordenación de fenotipo floral total (colorimetría, morfometría geométrica y morfometría escalar). .	34
Figura N° 08. Validación Cruzada (CV) de resultados de colorimetría A) Gráfico de predictibilidad de CV supervisado en base a los resultados del LDA. B) Gráfico de predictibilidad de CV no supervisado con control de ruido en base a los resultados de <i>clustvarsel</i> . ....	35
Figura N° 09. Esquema resumen de la asignación de clusters de ancestría mediante DAPC y SNMF de los cuatro taxones. ....	41
Figura N° 10. Esquema resumen de la asignación de clusters de ancestría mediante DAPC y SNMF, respecto al par <i>A. angustifolia</i> y <i>A. cummingiana</i> . ....	42

Figura N° 11. Esquema resumen de la asignación de clusters de ancestría mediante DAPC y SNMF, respecto al par <i>A. hookeri</i> subsp. <i>recumbens</i> y <i>A. marticoarenae</i> . .....	42
Figura N° 12. Esquema de la red de distancias filogenéticas con el algoritmo NeighborNet. ....	44
Figura N° 13. Esquema de las relaciones filogenéticas mediante concatenación usando el criterio de inferencia de máxima verosimilitud. ....	45
Figura N° 14. Esquema de las relaciones filogenéticas inferidas mediante el modelo de coalescencia de SVDquartets. ....	46
Figura N° 15. Esquema de los resultados del test de Mantel. ....	49
Figura N° 17. Mapa geográfico de <i>A. hookeri</i> subsp. <i>recumbens</i> y especies afines basado en ejemplares del herbario CONC.....	69
Figura N° 18. Resumen de morfos atípicos encontrados en terreno y en los análisis fenotípicos. Los cambios observados de menor a mayor según el morfotipo encontrado en guías taxonómicas (Finot et al., 2018a). J: Diseño jaspeado en los tépalos. T.I.I: Diseño del tépalo inferior interno. Tam. T.: Tamaño de los tépalos. Flecha en <i>A. hookeri</i> subsp. <i>recumbens</i> indica el tépalo extra. ....	72
Figura A1. Resumen de la proporción de los componentes principales. ....	99
Figura A2. Análisis de componentes principales de la forma de la flor por especie en el morfoespacio, basado en el ordenamiento de los dos primeros componentes con remoción de asimetría. ....	100
Figura A3. Análisis de componentes principales de la forma de la flor por especie en el morfoespacio, basado en el ordenamiento de los dos primeros componentes con remoción de simetría. ....	101
Figura A4. Formas retratadas de los taxones estudiados obtenidos por el análisis de Procrustes. ....	102
Figura A5. Resumen del cálculo del K óptimo en SNMF. ....	103
Figura A6. Resumen del cálculo del K óptimo en DAPC. ....	103

## RESUMEN

La evolución y el surgimiento de nuevas especies en plantas han sido un tema central en biología evolutiva, donde la hibridación y la introgresión promueven la diversificación y la formación de complejos de especies con límites difusos. En estos sistemas, el flujo génico persistente y la ausencia de barreras reproductivas pueden generar redes de conectividad evolutiva descritas como singámeon, en las que múltiples taxones mantienen conectividad genética parcial e impiden su segregación como especies independientes. En este contexto, el complejo *Alstroemeria hookeri* (Alstroemeriaceae) constituye un sistema ideal, ya que los taxones del norte presentan límites genéticos y fenotípicos poco claros y superposición de caracteres.

Este estudio integró datos fenotípicos y genéticos para evaluar la variación entre *A. hookeri* subsp. *recumbens* y especies relacionadas. Los análisis morfométricos revelaron variación continua y morfologías de tipo mosaico, mientras que la colorimetría mostró diferenciación parcial con solapamiento intra- e interespecífico. Los datos genéticos evidenciaron estructura débil y flujo génico entre linajes. En conjunto, los resultados indican ausencia de discontinuidades fenotípicas y genéticas, lo cual es consistente con un singámeon, donde los taxones forman una red de linajes interconectados, contribuyendo a la incertidumbre taxonómica en sistemas de diversificación reticulada.

**Palabras clave:** *Alstroemeria hookeri*, morfometría floral, colorimetría, singámeon, delimitación de especies.

## ABSTRACT

The evolution and emergence of new plant species have been a central topic in evolutionary biology, where hybridization and introgression promote diversification and the formation of species complexes with diffuse boundaries. In these systems, persistent gene flow and the absence of complete reproductive barriers can generate networks of evolutionary connectivity described as a syngameon, in which multiple taxa maintain partial genetic connectivity and prevent their segregation into independent species. In this context, the *Alstroemeria hookeri* complex (Alstroemeriaceae) represents an ideal system, as northern taxa exhibit unclear genetic and phenotypic boundaries and overlapping characters.

This study integrated phenotypic and genetic data to evaluate variation among *A. hookeri* subsp. *recumbens* and related species. Morphometric analyses revealed continuous variation and mosaic-like morphologies, while colorimetry showed partial differentiation with intra- and interspecific overlap. Genetic data indicated weak structure and gene flow among lineages. Overall, the results indicate an absence of phenotypic and genetic discontinuities, consistent with a syngameon, in which taxa form a network of interconnected lineages, contributing to taxonomic uncertainty in systems undergoing reticulate diversification.

**Keywords:** *Alstroemeria hookeri*, species complex, syngameon, morphometrics, floral color, hybridization, genetic structure.

## **INTRODUCCIÓN**

La evolución y el surgimiento de nuevas especies ha sido un tema de interés en plantas, desde que Darwin, en 1859, publicó su libro “*El origen de las especies*”, en especial por el importante número de mecanismos que promueven especiación. (Bock et al., 2023; Sobel et al., 2010). Dentro de estos, destacan procesos tales como la especiación por selección, poliploidía, deriva génica, aislamiento reproductivo, entre otros (Sobel et al., 2010). En este contexto, la hibridación e introgresión destacan porque facilitan una rápida diversificación de especies, debido al flujo génico incorporando nuevos genotipos al “background genético” de las poblaciones locales, lo que promueve la aparición de nuevos rasgos fenotípicos (Bock et al., 2023; Twyford & Ennos, 2012). Por lo mismo, es frecuente observar poblaciones y linajes con rasgos intermedios, de difícil determinación taxonómica, lo que conlleva a la formación de complejos de especies. En taxonomía, un complejo de especies se define como un conjunto de entidades relacionadas con gran similitud morfológica y carecen de caracteres diagnósticos consistentes para su delimitación precisa para considerarse una entidad taxonómica (especie o subespecies); no obstante, sustentan su existencia como entidades diferenciables de otras especies (Stuessy, 2009). En estos sistemas, la delimitación de entidades se vuelve relevante ya que los procesos de hibridación, introgresión y divergencia incompleta dificultan la identificación de unidades evolutivas discretas (Pinheiro et al., 2018).

### **Delimitación de identidades y complejos de especies**

La delimitación de entidades se refiere al conjunto de procedimientos metodológicos explícitos que se usan para identificar y establecer los límites de los grupos taxonómicos analizados, especialmente a niveles inter e intraespecíficos (Carstens et al., 2013). El conseguir definir límites claros entre

estas entidades (e.g., especies) es fundamental en los estudios de diversidad biológica (evolución, taxonomía, biogeografía, ecología) y conservación resultando un elemento crítico para la correcta implementación de iniciativas de investigación básica y aplicada (Pinheiro et al., 2018). En Sistemática, y específicamente en Taxonomía, la delimitación de entidades es una actividad fundamental que se ha ido refinando a través del tiempo respecto a los criterios y metodologías usadas (Flot, 2015; Wiens, 2007). Esta tarea resulta compleja, ya que depende tanto de las características como de los mecanismos del proceso de diversificación que dio origen a las entidades bajo estudio, especialmente si los procesos de divergencia (i.e., especiación) son recientes. En tales grupos destaca la presencia de diversos niveles de diferenciación a escala fenotípica y genotípica, los que suelen estar desacoplados y reflejan poca coherencia con el proceso de diversificación que los originó (Pinheiro et al., 2018).

Para enfrentar esta problemática, se han desarrollado distintos métodos, los que se enfocan en demostrar las diferencias respecto de las propiedades biológicas de las entidades, tanto con criterios explícitos como empíricos (Sites & Marshall, 2003). Por esto, los métodos para la delimitación son más efectivos cuando están basadas en estrategias estadísticas, dada su objetividad y reproducibilidad (Pinheiro et al., 2018). Adicionalmente, es también relevante definir un concepto de especie a utilizar, puesto que este determinará los criterios explícitos para el establecimiento de límites taxonómicos (De Queiroz, 2007).

Mientras que diversos autores han defendido el concepto biológico de especie como un criterio válido de delimitación (i.e, los límites basados en el aislamiento reproductivo para reconocer entidades delimitables; Mayr, 1942); en botánica se ha privilegiado conceptos más basados en la detección de discontinuidades fenotípicas y genéticas, reconociendo que limitaciones al flujo génico pueden generar aislamiento y nuevas entidades pueden generarse a través de evolución tanto divergente como reticulada (i.e., hibridación y poliploidismo; Stuessy, 2009).

Cuando la diversificación de especies es rápida y reciente, suele dar lugar a la generación de nuevos rasgos fenotípicos (Bock et al., 2023; Twyford & Ennos, 2012), comunes en poblaciones y linajes con características intermedias y de difícil clasificación taxonómica, típicas de los complejos de especies (Pinheiro et al., 2018). Estos grupos representan un problema frecuente para el establecimiento de sistemas de clasificación taxonómica, particularmente por la incertidumbre que generan en estimaciones de riqueza de especies, dificultando así, una correcta percepción y cuantificación de la diversidad local y global (Adams et al., 2014). A pesar de esto, en términos evolutivos, los complejos de especie representan un atractivo sujeto de estudio para la evaluación de mecanismos de adaptación, especiación local y testeo de límites de especies (Pinheiro et al., 2018).

Distinguir entidades dentro de los complejos de especies en plantas constituye un desafío, debido a la frecuente presencia de patrones de divergencia reticulada asociados principalmente a hibridación, introgresión y poliploidía (Pinheiro et al., 2018). Esta dinámica evolutiva, suele encontrarse en eventos de divergencia reciente, que favorece la interacción genética de linajes como la hibridación (Stull et al., 2023). En consecuencia, estas características pueden influir significativamente en la formulación de hipótesis de delimitación taxonómica, las cuales dependen de criterios mayormente subjetivos, que pueden resultar en múltiples propuestas de clasificación (Flot et al., 2010; Stace, 1989).

## **Singámeon**

Un elemento interesante de un complejo de especie es su comportamiento como unidad genética, lo que afecta directamente los patrones de diversificación y suelen tener distintos matices. Dentro de las alternativas, destaca la formación de singámeones, lo que podrían tener efectos directos en las dificultades taxonómicas observadas usualmente en estos complejos (Buck & Flores-

Rentería, 2022). El término *Syngameon* fue introducido por primera vez en 1925 por Lotsy (1925) y describe un conjunto de individuos de diferentes especies que mantienen compatibilidad reproductiva, es decir, pueden cruzarse entre sí. Desde la creación de este término varios autores han propuesto distintas definiciones de lo que es un singámeon; más desde una perspectiva ecológico-evolutiva que por sus efectos en la taxonomía (Beaudry, 1960; Cuénto, 1952; Du Rietz, 1930; Templeton, 1989; Van Valen, 1976). Según Boecklen (2017), un singámeon surge cuando distintas especies cercanas evolutivamente originan híbridos entre sí, constituyendo una red genética compartida. Sin embargo, esta red no necesariamente implica una conectividad completa entre todas las especies involucradas, sino que puede estructurarse en subgrupos interconectados mediante ciertos linajes o especies “puente”, generando patrones de flujo génico heterogéneos. Tal dinámica es de reciente interés, dado que permite circunscribir los efectos evolutivos de la hibridación, dentro de grupos afines genéticamente y que se comportan como una sola unidad en dinámicas evolutivas (Buck & Flores-Rentería, 2022).

Para que se origine un singámeon debe existir hibridación interespecífica capaz de superar las barreras reproductivas, lo que puede conducir a formación de zonas híbridas estables (Buck & Flores-Rentería, 2022). Se han propuesto cuatro hipótesis que podrían explicar su surgimiento: (1) *Hipótesis de la rápida radiación*: plantea que eventos de especiación ocurren de manera rápida, antes de que se consoliden los mecanismos de aislamiento reproductivo. En este escenario, los linajes pueden persistir y eventualmente diferenciarse en especies nuevas (Kagawa & Seehausen, 2020). (2) *Hipótesis del “Surfing”*: en este caso, el singámeon puede originarse durante la colonización (por ejemplo, en islas) donde las interacciones dependen de la riqueza que existe previamente de la comunidad. Esta influye en la formación, mantenimiento o colapso del singámeon (Caujapé-Castells, 2011). (3) *Hipótesis del borde de la distribución*: El solapamiento de la distribución geográfica facilita la interacción e hibridación

de las especies. Favoreciendo la aparición de nuevos rasgos por introgresión. A su vez también pueden generar reservorios de poblaciones que no logran adaptarse a las nuevas condiciones ambientales (Cronk & Suarez-Gonzalez, 2018; Pfennig et al., 2016). (4) *Hipótesis de la genómica mutualista*: Propone que las especies permanecen parcialmente interfértiles y pueden experimentar selección divergente en ciertas regiones del genoma mientras mantienen bajos niveles de flujo génico en otras. Bajo este contexto las especies del singámeon actúan como “mutualistas genómicos” al compartir variantes genéticas (Cannon & Lerdau, 2015).

Desde un punto de vista taxonómico, el reconocimiento de singámeones es relevante, dado que puede proporcionar un contexto para la resolución de delimitación en complejos de especie. Al reconocer la existencia de un singámeon, y de sus potenciales mecanismos, su estudio puede proporcionar elementos que ayuden a identificar, delimitar y reconciliar discrepancias taxonómicas en estos grupos. Para la determinación de un singámeon el principal criterio es la hibridación entre distintas especies estrechamente relacionadas entre sí, según su definición. Diversas especies en los que la delimitación taxonómica ha sido históricamente conflictiva han sido interpretados bajo este enfoque, tales como los géneros *Boechera* y *Quercus* donde se evidencia hibridación mediante datos moleculares (Alexander et al., 2015; Cavender-Bares, 2019). De manera similar, en *Iris* la presencia de estados morfológicos intermedios ha sido tempranamente interpretada como evidencia de hibridación natural, dificultando la delimitación de especies basada exclusivamente en caracteres morfológicos (Lenz, 1959).

Para poder determinar cuál de las 4 hipótesis del origen de los singámeones más se ajusta, primero tendríamos que determinar genotipos estables y genotipos de composición híbrida. En este sentido, el género *Alstroemeria* se presenta como un grupo que podría presentar señales sugerentes de hibridación entre linajes,

dada la presencia de varios complejos de especies, por ende, podría contener un número importante de grupos conformados como singámeon. Esto, debería representar especies genéticamente cercanas y con similitudes morfológicas importantes dentro y entre estos grupos. Sin embargo, para determinar su conformación como singámeon, es necesario conocer detalles que permitan contextualizar el proceso de diferenciación y sus posibles dinámicas. En particular, aún está pendiente el dilucidar cuál es la integridad de los linajes que componen los complejos de especies y la capacidad que tienen para generar zonas híbridas que promuevan la existencia de poblaciones intermedias e interconectadas en el género (Ruiz et al., 2010).

### ***Alstroemeria***

*Alstroemeria* L., pertenece a la familia Alstroemeriaceae, la cual incluye a los géneros *Bomarea* Mirb., *Leontochir* Phil., *Luzuriaga* Ruiz & Pav y *Drymophila* R. Br. (Finot et al., 2018a). *Alstroemeria* es exclusivamente sudamericano y está compuesto por alrededor de 90 especies, con 58 taxones aceptados para Chile (37 especies, 11 subespecies y 10 variedades; (Finot et al., 2018b). Este género es considerado uno de los más diversos de las angiospermas monocotiledóneas del país, con el 82% de taxones endémicos de la zona Mediterránea de Chile Central (Finot et al., 2018a; Muñoz-Schick & Moreira-Muñoz, 2003; Rodríguez et al., 2018).

Los taxones de *Alstroemeria* tienen un rango de distribución desde los 20°S (Región de Tarapacá) hasta los 53°S (Región de Magallanes), la mayoría de los taxones presenta rangos de distribución acotados y se concentra principalmente en el norte (Tarapacá - Coquimbo) y en la zona central de Chile (Valparaíso - Biobío), encontrando la mayor diversidad entre los 28°S (Región de Coquimbo) y 37°S (Región del Biobío) (Baeza et al., 2010; Bayer, 1987; Finot et al., 2018b; Muñoz-Schick & Moreira-Muñoz, 2003).

La gran variabilidad de formas y colores que presentan las flores de este género ha hecho que sus especies sean bastante cotizadas en el mercado de la floricultura a nivel mundial (Shinoda & Murata, 2003). Sin embargo, al mismo tiempo, este nivel de variación también ha significado una limitación para la identificación de fenotipos estables que permitan alcanzar una propuesta taxonómica robusta, la que recurrentemente continúa con cambios a escalas inter e intraespecíficas (Finot et al., 2018a). Entre ellos están los complejos de *A. hookeri* (Baeza et al., 2010), *A. presliana* (Baeza et al., 2015), *A. ligtu* (Baeza et al., 2016) y *A. magnifica* (Baeza et al., 2018) entre otros. De este grupo, el complejo *A. hookeri* destaca como uno de los más intrincados en términos de diferenciación intraespecífica, lo que lo hace un buen candidato para realizar un estudio detallado de patrones de diversificación e hibridación.

### **El complejo *Alstroemeria hookeri***

En Chile, los complejos de especies representan aproximadamente un 30% de la diversidad del género *Alstroemeria* (Finot et al., 2018b), de los cuales *A. hookeri* Lodd. es uno de los más importantes por su número de taxones infraespecíficos (4) y su distribución geográfica disjunta (Baeza et al., 2010). La configuración de sus taxones infraespecíficos ha pasado por distintos cambios, dependiendo de los caracteres e interpretación que han dado diversos autores. En la revisión taxonómica de Bayer (1987) se reconocen cuatro subespecies: *A. hookeri* subsp. *hookeri*, *A. hookeri* subsp. *recumbens* (Herbert) Bayer, *A. hookeri* subsp. *maculata* Bayer y *A. hookeri* subsp. *cummingiana* (Herbert) Bayer. Posteriormente Muñoz-Schick & Moreira-Muñoz (2003) reconocen a *A. cummingiana* al nivel de especie. Después, Baeza & Ruiz (2011) describieron y añadieron una nueva subespecie al complejo: *Alstroemeria hookeri* subsp. *sansebastiana* Baeza & E. Ruiz. Finalmente, Negritto y colaboradores (2015) describieron una nueva especie (*A. marticorenae*; Negritto et al., 2015) basándose en comparaciones morfológicas y citológicas, complementadas con

interpretaciones ecológicas del hábitat como el tipo de suelo, basándose en individuos que probablemente habían sido morfológicamente confundidos con la subespecie *recumbens* del complejo *A. hookeri*. En la actualidad el complejo es endémico de Chile y comprende cuatro subespecies: *A. hookeri* subsp. *recumbens* y *A. hookeri* subsp. *maculata*, que se distribuyen en la zona costera de la Región de Coquimbo y Valparaíso y *A. hookeri* subsp. *hookeri* y *A. hookeri* subsp. *sansebastiana*, que se distribuyen entre la Región del Maule, Ñuble y del Biobío (Finot et al., 2018b).

Este complejo ha sido de interés dada la cantidad de taxones que posee, la particular distribución geográfica de sus subespecies (marcada distribución disjunta Norte - Sur) y su nivel de endemismo, lo que ha llevado a su reconocimiento como entidades fenotípicamente diferenciadas, siendo el foco de diversos estudios (Baeza et al., 2010; Baeza & Ruiz, 2011; Ruiz et al., 2010). *A. hookeri* es ideal como sujeto de estudio en detección de singámeon por varias razones, entre ellas el grupo *A. hookeri* ha sido delimitado históricamente sobre la base de caracteres fenotípicos y en patrones de morfología cariotípica (Baeza et al., 2010; Baeza & Ruiz, 2011). Sin embargo, estos criterios no permiten evaluar si las subespecies del complejo corresponden a linajes genéticamente independientes ni si existe continuidad fenotípica o intercambio génico entre ellas. En contraste, los estudios genéticos disponibles son escasos, sólo los taxones de distribución sur de *A. hookeri* (subsp. *hookeri* y subsp. *sansebastiana*) han sido abordados, los que al ser analizados con marcadores dominantes (aloenzimas) revelaron una falta de diferenciación entre grupos, a pesar de las claras diferencias fenotípicas (Ruiz et al., 2010). En contraste, el grupo norte del complejo (subsp. *maculata* y subsp. *recumbens*), al día de hoy, no ha sido abordado para análisis genéticos por lo que no existe evidencia sobre sus niveles de integridad genotípica. Asimismo, la existencia de taxones previamente segregados del complejo (*A. cummingiana* + *A. marticorenae*) o morfológicamente afines (*A. angustifolia*, con la que comparte distribución

geográfica) (Muñoz-Schick & Moreira-Muñoz, 2003; Negritto et al., 2015) sugiere que posiblemente existe una activa interacción a escala de flujo génico entre grupos taxonómicos. No obstante, la posible presencia de estados fenotípicos intermedios o de continuidad entre taxones no ha sido evaluada de manera explícita, lo que limita la interpretación de los límites específicos. Esto es particularmente relevante considerando que la divergencia fenotípica no necesariamente ocurre a la misma velocidad que la divergencia genética, por lo que la evaluación de la integridad evolutiva y se refuerza la necesidad de un enfoque integrativo (Bolnick et al., 2023). Aunque la problemática taxonómica ha sido discutida tradicionalmente en el contexto del complejo *A. hookeri* en su conjunto, el presente estudio se enfoca específicamente en *A. hookeri* subsp. *recumbens* y en un conjunto de especies morfológicamente afines, con el fin de evaluar sus límites taxonómicos y su posible participación en un singámeon.

## **Contexto**

Como se mencionó anteriormente el género *Alstroemeria*, se distingue por la gran variabilidad morfológica y colorimétrica de sus flores, lo que las hace muy atractivas (Bridgen, 2018). Sin embargo, esta notable variación fenotípica también ha favorecido el reconocimiento de complejos dentro del género (Finot et al., 2018a). En este sentido, el uso de la noción de singámeon se vuelve relevante, ya que permitiría comprender los procesos evolutivos y los patrones de diversificación definitorios en estos grupos, donde el flujo genético continuo entre linajes tiende a difuminar los límites genotípicos y fenotípicos. Es por esto que abordar los límites inter e intraespecíficos mediante un enfoque integral, ayudarían explicar y resolver las dificultades taxonómicas observadas en el género *Alstroemeria*, y en concreto en las subespecies de distribución norte del complejo *A. hookeri*.

En el ámbito fenotípico, la flor es uno de los caracteres más importantes para la determinación en *Alstroemeria* (Sanso, 1996), ya que se caracteriza por tener amplios patrones de variación, en particular de forma y colorimétrica, útiles para detectar límites intraespecíficos mediante el uso de aproximaciones cuantitativas (e.g., Finot et al., 2016, 2018b; Ruiz Lozano, 2023; Villalobos et al., 2023). En el ámbito genético, la irrupción de aproximaciones de secuenciación de siguiente generación (NGS), ha sido clave para la detección de nuevos singámeones dada su capacidad de recuperar variantes genéticas hipervariables (e.g., Buck & Flores-Rentería, 2022). En este contexto, es posible realizar un estudio comprensivo de los patrones de variación a escalas fenotípicas y genotípicas que permitan aclarar la existencia de discontinuidades dentro del complejo *A. hookeri*, en caso de existir, con la finalidad de determinar su composición hipotética de singámeon. Por lo mismo, para definir la posible presencia de un singámeon en *A. hookeri*, la combinación de datos fenotípicos como genotípicos deberían cumplir los siguientes requisitos: 1) revelar la existencia de individuos, poblaciones o taxones híbridos (intra o interespecífico), 2) indicar la participación de al menos tres entidades taxonómicas distintas en los procesos de hibridación y 3) las entidades reconocidas deben ser monofiléticas, es decir, estrechamente relacionadas por compartir un ancestro en común.

En este contexto, las subespecies de distribución norte del complejo *A. hookeri* representa un sistema particularmente informativo, dado que carece de evaluaciones genéticas previas, a diferencia de los taxones de distribución sur., *A. hookeri* subsp. *recumbens* representa un sistema particularmente informativo o para evaluar la posible existencia de un singámeon, dado que constituye una entidad fenotípicamente diferenciada cuya integridad genética no ha sido evaluada previamente mediante un enfoque integrativo. Aunque *A. hookeri* subsp. *maculata* forma parte de este grupo, no fue posible incluirla en el presente estudio debido a limitaciones en el muestreo, quedando su evaluación planteada como una línea futura de investigación. En consecuencia, esta investigación se

centra en *A. hookeri* subsp. *recumbens* y en aquellas especies que presentann antecedentes de afinidad morfológica, cercanía taxonómica o distribución geográfica compartida, incluyen a *A. cummingiana*, *A. marticorenae* y *A. angustifolia* (Bayer, 1987; Muñoz-Schick & Moreira-Muñoz, 2003; Negritto et al., 2015)

Asumiendo la existencia de mecanismos hipotéticos, tales como el de rápida radiación y del borde de la distribución, a raíz de los antecedentes antes mencionados de divergencia reciente y una dificultad para determinar de manera precisa los individuos, es plausible que *A. hookeri* subsp. *recumbens* y especies afines, está formando parte de un singámeon. A raíz de esto, en el presente trabajo se postula la siguiente hipótesis:

## **Hipótesis**

Los taxones de *A. hookeri* subsp. *recumbens* y especies afines (*A. marticorenae*, *A. cummingiana* y *A. angustifolia*), con las cuales comparten distribución o historia taxonómica, forman parte de un singámeon, dada la falta de discontinuidades fenotípicas y genotípicas entre ellos.

## **Objetivo general**

Determinar patrones de variabilidad fenotípica-genotípica en *A. hookeri* subsp. *recumbens*, *A. marticorenae*, *A. cummingiana* y *A. angustifolia* y relacionar con las discontinuidades que permiten su actual clasificación y determinación.

## **Objetivos específicos**

-Caracterizar variabilidad fenotípica floral, en términos morfométricos y colorimétricos entre las entidades taxonómicas ya individualizadas en este estudio.

-Caracterizar la variación genética y su distribución entre entidades seleccionadas.

-Determinar correspondencia fenotípica y genética entre los patrones de variación medidos.

-Determinar si las discontinuidades observadas, si es que estas existen, corresponden con la propuesta taxonómica actual.

## **METODOLOGÍA**

### **1.0. Colecta de material**

Para cada taxón seleccionado, en el presente estudio, se colectó material de poblaciones previamente conocidas de *A. hookeri* subsp. *recumbens*, además de las especies afines *A. angustifolia*, *A. cummingiana* y *A. marticorenae*. Las muestras de estos taxones se obtuvo a partir de 152 escapos florales colectados entre la Región de Coquimbo (31°42'25.9"S - 71°31'13"W) en las poblaciones de la costa y la Región Metropolitana (37°08'86"S - 72°32'84.1"W), usando como referencia los registros de localidades ya conocidas desde la base de datos del herbario CONC y publicaciones previas del grupo de estudio (Baeza et al., 2010; Finot et al., 2018a; Finot et al., 2018b; Ruiz et al., 2010). Para cada localidad, se colectaron aproximadamente 10 escapos florales, cada uno distanciado por al menos un metro para descartar un muestreo del mismo individuo (Tabla 01). Como precaución antes posibles eventos de introgresión, también se muestrearon taxones que se encuentren en las inmediaciones de las localidades visitadas, los que serán incluidos en los análisis fenotípicos y genotípicos. Los escapos florales se mantuvieron en neveras a temperaturas inferiores a 10 °C e hidratadas para alargar su conservación para la posterior la toma de fotografías florales y extracción de ADN.

Tabla 01. Información de muestreo poblacional de *A. hookeri* subsp *recumbens* y especies afines.

Especie	Código	N° de muestras	Región	Localidad	Longitud	Latitud
<i>A. cummingiana</i>	Acum_233	11	Valparaíso	Papudo	71°22'56.2"W	32°29'18.2"S
<i>A. cummingiana</i>	Acum_234	7	Valparaíso	La Ligua	71°18'46.3"W	32°26'50.8"S
<i>A. cummingiana</i>	Acum_239	12	Coquimbo	Pichidangui	71°31'57.8"W	32°29'18.2"S
<i>A. cummingiana</i>	Acum_242	11	Valparaíso	Zapallar	71°27'49.6"W	32°08'19.8"S
<i>A. hookeri</i>	Ahr_236	12	Valparaíso	La Ligua	71°23'48.6"W	32°22'06.0"S
<i>A. hookeri</i>	Ahr_243	10	Valparaíso	Zapallar	71°25'45.3"W	32°37'11.7"S
<i>A. hookeri</i>	Ahr_253	10	Valparaíso	Algarrobo	71°41'35.6"W	33°22'01.9"S
<i>A. martcorenae</i>	Amar_244B	7	Valparaíso	Curauma	71°34'23.2"W	33°08'44.7"S
<i>A. martcorenae</i>	Amar_247	11	Valparaíso	Ruta F-50	71°24'08.0"W	33°13'32.8"S
<i>A. martcorenae</i>	Amar_251	9	Valparaíso	Ruta CH-60	71°20'43.5"W	33°08'08.7"S
<i>A. angustifolia</i>	Aang_246	11	Valparaíso	Las Dichas	71°28'06.1"W	33°13'52.4"S
<i>A. angustifolia</i>	Aang_248	7	Valparaíso	Ruta F-760	71°16'58.8"W	33°11'34.8"S
<i>A. angustifolia</i>	Aang_250	3	Valparaíso	Ruta F-760	71°15'31.6"W	33°12'25.5"S
<i>A. angustifolia</i>	Aang_256	10	Valparaíso	Ruta F-74-6	71°21'59.0"W	33°26'05.0"S
<i>A. angustifolia</i>	Aang_261	10	Metropolitana	Cajón del Maipo, El Toyo	70°24'33.5"W	33°35'18.8"S
<i>A. hookeri</i> (*)	OTN 166	1	Valparaíso	Dunas de Concón	71°32'52.1"W	32°56'27.9"S
<i>A. hookeri</i> (*)	OTN 169	1	Valparaíso	Playa Grande de Quintay	71°41'16.4"W	33°11'01.0"S
<i>A. hookeri</i> (*)	OTN 175	1	Valparaíso	Playa El Canelo, Algarrobo	71°41'30.4"W	33°22'00.5"S

## 2.0. Fotografía y digitalización

De cada escapo floral recolectado se fotografió el mismo día de la colecta usando una flor representativa, para capturar el fenotipo floral en términos de forma y color. Para esto, se usó una cámara Nikon Z50 con un lente NIKKOR Z DX 16-50mm (f/3.5-6.3 VR), obteniendo fotografías digitales de alta resolución de cada flor presentada de forma frontal sobre un fondo negro y acompañada de una tarjeta de color para la estandarización de colores (Carta de Color Macbeth). La orientación de las flores se estandarizó usando los nectarios de los tépalos internos superiores, a modo de referencia del ángulo de las fotografías. Posteriormente, las imágenes digitales fueron calibradas por color usando la función *colorChecker*, perteneciente al paquete *Patternize* v.0.05 (Van Belleghem et al., 2018). Una vez calibradas, digitalmente se eliminó el fondo de las imágenes con la aplicación *PhotoRoom* v.4.8.6 (Potoroom Inc., 2024). Finalmente, se realizaron ajustes para la corrección de bordes de las imágenes ya preprocesadas usando el programa GIMP v.2.10.12 (The GIMP Development Team, 2019).

## 3.0. Análisis Fenotípicos

Para caracterizar el fenotipo floral de las muestras obtenidas, en el presente estudio se procedió a evaluar tres elementos útiles de diferenciación, usados referencialmente en claves taxonómicas de *Alstroemeria* (Finot et al., 2018a; Muñoz-Schick & Moreira-Muñoz, 2003). La morfometría geométrica basada en contornos, medidas escalares directas de tamaño y colorimetría. El análisis de morfometría geométrica basada en contornos fue implementado dado que permite capturar variaciones sutiles en la forma floral, particularmente en estructuras con alta continuidad morfológica, que no son adecuadamente descritas por medidas lineales tradicionales (Claude, 2008; Zelditch et al., 2012). Las medidas escalares permitirán distinguir diferencias en el tamaño de las flores,

un rasgo frecuentemente empleado en claves taxonómicas y descripciones de especies del género. Finalmente, se propone un análisis de proporciones colorimétricas, dada su utilidad ya demostrada en la discriminación de complejos de especies de *Alstroemeria* (Villalobos et al., 2024).

### **3.1. Morfometría Geométrica**

Las imágenes fueron binarizadas con el programa ImageJ v.1.54g (Rasband, 2018), es decir dejando un fondo blanco y la silueta de las flores en negro lo que es equivalente a valores de 0 y 1 (Elizondo & Maestre, 2005). Cada imagen se identificó bajo códigos enlistados en un archivo separado por comas (i.e., CSV), junto a las imágenes de las flores. Luego, para hacer un muestreo espacial consistente entre imágenes de diferente resolución, estas se estandarizaron usando una interpolación de 5000 píxeles por imagen. Para eliminar deformidades y discontinuidades generadas durante la edición y binarización de imágenes, se realizó una corrección por suavizado de bordes. Posteriormente, las imágenes se normalizaron por rotación y centrado, mediante un proceso de Procrustes (Hurley & Cattell, 1962), el que fue dirigido por seis *landmarks* previamente fijados en cada ápice de los mucrones de los tépalos, en la medida de que esto fue posible debido a la curvatura de los tépalos hacia atrás limitando la visibilidad del ápice. Finalmente, las imágenes se sometieron al análisis de descomposición elíptica de Fourier, la que busca funciones armónicas representativas del 99% del contorno externo de las flores (siluetas). Los coeficientes de estas funciones resultantes fueron analizados con un Análisis de Componentes Principales (PCA), de forma de retratar el morfoespacio general de la silueta de cada flor (Zelditch et al., 2012).

### **3.2. Medidas escalares**

De las imágenes originales se fijó una escala pixeles/centímetros usando el colorchecker como guía (15.24 cm) en ImageJ. Una vez lista la escala, las imágenes binarizadas se les realizó análisis de medidas escalares (largo, ancho,

área y perímetro) que ofrece el mismo programa. Esto se repite para cada una de las fotografías. Las mediciones se registraron en un archivo .csv. Debido a que las variables se encuentran en diferentes magnitudes, fueron centradas y estandarizadas antes de los análisis multivariados. Las variables, además, se agruparon en razón largo/ancho y área/perímetro. Finalmente, los análisis estadísticos fueron incorporados en un PCA, para controlar por autocorrelación y diferencias de magnitud en las variables para los análisis de redundancia posteriores.

### **3.3. Colorimetría**

Con las imágenes de las flores sin fondo se usó el paquete *colordistance* v. 1.1.2 (Weller & Westneat, 2019) de R para medir cuantitativamente el color de las flores. Este método se basa en el registro de píxeles generado de una descomposición de proporciones de color y organizados en histogramas, los que son comparados entre sí con una distancia de “earth mover’s”. Esta es una distancia que permite ver el grado de similitud entre dos o más distribuciones de frecuencias (i.e., histogramas de colores), usando un índice de métrica espacial “D” (Rubner et al., 2000). Este análisis se realizó siguiendo las alternativas disponibles en el tutorial proporcionado por los autores (Weller & Westneat, 2019). Finalmente, la matriz de distancia fue reordenada con un análisis de Escalamiento Multidimensional No Métrico (NMDS), utilizando la función *metaMDS* del paquete *vegan* v. 2.6-8, usando 500 iteraciones para “N” dimensiones dependiendo del nivel de estrés observado (Oksanen et al., 2007) de R. Para esto, se prefirió un número de dimensiones representativo del número de taxones presentes en el análisis, toda vez que tuvieran un nivel de estrés inferior a 0.1, el que se considera apropiado para retener fidedignamente la representación de ordenación para matrices de disimilitud (e.g., Hausdorf & Hennig, 2010).

#### **4.0. Análisis de Diferenciación Fenotípica y Asignación de Entidades**

En el caso de la morfometría geométrica, se caracterizaron las muestras usando un análisis de varianza multivariado (MANOVA) sobre los ejes más relevantes del PCA (varianza explicada >70%), para detectar la existencia de diferencias significativas entre grupos. Posteriormente, se detectó la composición y estabilidad de los grupos previamente definidos según taxonomía (i.e., análisis de clasificación supervisado) con un Análisis Linear Discriminante y una Validación Cruzada (LDA+CV). Para las medidas escalares el MANOVA se realizó utilizando las razones área/perímetro y largo/ancho. En el caso de la colorimetría, se repitió el proceso usando todos los ejes obtenidos del Escalamiento Multidimensional No Métrico (NMDS), para el cual también se analizó la significancia de diferencias entre grupos preestablecidos con MANOVA y la composición de grupos y su predictibilidad con un LDA + CV. Ambos análisis se realizaron usando las funciones disponibles en el paquete *momocs* v.1.4.1 (Bonhomme et al., 2014).

Como complemento, se usó un método de clasificación no supervisado basado en mixturas Gaussianas, asumiendo que los patrones de variación de cada taxón deberían representar una distribución de frecuencia Gaussiana o Normal (Cadena et al., 2018). Para esto, se empleó una matriz con todos los ejes recuperados desde morfometría y colorimétrica, los que fueron preliminarmente rankeados por su nivel de información y seleccionados para el análisis con el paquete *clustvarsel* v. 2.3.4 (Scrucca & Raftery, 2018) y *mclust* v.6.1.1 (Scrucca et al., 2023). Finalmente, para ambos análisis de clasificación (supervisado y no supervisado), se usó un acierto de predictibilidad superior al 70% para ser considerado como relevante taxonómicamente (Valcárcel & Vargas, 2010)

## 5.0. Análisis Genotípicos

### 5.1. Extracción de ADN y generación de MIGSeq (SNPs)

Del total de escapos florales, sólo se utilizaron 133 para la extracción genómica total, debido a la pérdida de integridad del material al momento de llegar al laboratorio. Esta se realizó principalmente con paredes del ovario de las flores, y en menor medida usando los pedicelos florales y tépalos de botones inmaduros (flores con tépalos de color verde y sin abrir). Para la obtención de ADN genómico total se usó el kit DNeasy® Plant Mini Kit (QIAGEN, Dusseldorf, Alemania), siguiendo el protocolo de extracción definido por el fabricante. Posteriormente, se realizó una secuenciación usando la técnica de MIG-Seq, la cual consiste en la obtención de SNPs mediante el enriquecimiento de librerías basadas en primers de ISSR, siguiendo el protocolo de Suyama & Matsuki (2015). Brevemente, este protocolo consiste en dos rondas de PCR para la amplificación selectiva de regiones genómicas flanqueadas por ISSR, seguida de la incorporación de adaptadores y barcodes para la construcción de librerías multiplexadas. El proceso de construcción de librerías se realizó en el laboratorio de Sistemática Vegetal, del departamento de Botánica en la Universidad de Kyoto, Japón. Finalmente, los extractos resultantes fueron organizados en barcodes individuales, los se secuenciaron sobre un *lane* con la plataforma DNBSeg en la empresa BGI, usando un esquema de secuenciación de doble par (pair-end) y con fragmentos de 150 pb. (Shenzen, Guangdong, China).

Para orientar el ensamble de los fragmentos de MIGSeq, a modo de optimizar el proceso de imputación de SNPs, se generó un genoma de referencia a nivel de *draft* de la especie *A. hookeri* subsp. *recumbens*. Esto se realizó usando datos en un experimento de *genome skimming* de tres individuos de diferentes localidades costeras de la Región de Valparaíso: OTN166 (Dunas de Concón; 32°56'27.9"S, 71°32'52.1"W; 106 m s.n.m.), OTN169 (Playa Grande de Quintay;

33°11'01.0"S, 71°41'16.4"W; 6 m s.n.m.) y OTN175 (Playa El Canelo, Algarrobo; 33°22'00.5"S, 71°41'30.4"W; 14 m s.n.m.), colectadas en 2022 por Toro-Núñez O., Carrasco-Muñoz P & N. Villalobos. Las muestras fueron secuenciadas mediante lecturas pareadas de 150 PE generados a través de DNBSeg (BGI). Los fragmentos iniciales fueron filtrados por contaminación usando el programa Centrifuge v.1.0.3, usando las librerías referenciales para ADN humano, viral y bacteriano (Kim et al., 2016), además de la base de datos referencial Ref-Seq de hongos disponibles en NCBI (O'Leary et al., 2016). Posteriormente, las lecturas resultantes fueron usadas para un ensamble *denovo* con el programa Spades v. 4.0 (Prjibelski et al., 2020), usando opciones por defecto. Finalmente, además de reportar los estadísticos de ensamble usando assembly-stats v. 5.0.2 (Gurevich et al., 2013; Mikheenko et al., 2018), los contigs resultantes con menos de 300 pb fueron descartados para optimizar el mapeo de secuencias de extensión completa sobre la referencia.

## **5.2. Ensamble de datos e imputación de SNPs**

El proceso de ensamble de generación de SNPs se llevó a cabo usando un mapeo con referencia, mediante el pipeline bioinformático ipyrad v.0.9093 (Eaton & Overcast, 2020). Para esto se usaron los parámetros definidos por defecto por el autor, a excepción de: 1) las lecturas fueron tratadas como pares, 2) el mapeo fue dirigido con un modo "*pair ddRAD*", 3) cobertura de un máximo de filtro de 50% muestras por locus y 4) frecuencia de un 50% en el total de muestras. Finalmente, asumiendo que el muestreo de ISSR se realiza desde diversos microsatélites no ligados, se extrajo una matriz de SNPs únicos por locus para análisis posteriores, en formato vcf usando *vcftools* v.0.1.16 (Danecek et al., 2011).

### **5.3. Estructura genética**

Con la finalidad de detectar la integridad genética basada en la ancestría y aproximar la dinámica del flujo génico, se revisó la estructura genética de los individuos secuenciados. Para esto, se siguieron las sugerencias de Janes et al. (2017). Los análisis de estructura se llevaron a cabo usando el método *sNMF*, disponible en el paquete *LEA* v.3.16.0 (Frichot & François, 2015) de R, el cual proporciona resultados afines programas de asignación de ancestría como *STRUCTURE* (Frichot et al., 2014). Adicionalmente, se corroboró este agrupamiento usando un método de aglomeración genética no paramétrica, basado en Análisis Linear Discriminante (DAPC), del paquete *adegenet* v2.1.10 (Jombart, 2008). Para ambos análisis se utilizó el paquete *vcfR* v.1.15.0 (Knaus & Grünwald, 2017) para transformar los *vcf* obtenidos anteriormente al formato requerido de cada análisis.

### **5.4. Reconstrucción relaciones filogenéticas**

De las mismas matrices de datos se realizaron distintas aproximaciones de las relaciones filogenéticas. Inicialmente, se infirió una red de distancias filogenéticas con el algoritmo *NeighborNet*, usando distancias no corregidas (parámetros por defecto) para la representación de las relaciones evolutivas reticuladas con *SplitsTree* v4.19.2 (Huson & Bryant, 2006). En cuanto a relaciones filogenéticas dicotómicas, se infirió un árbol de especies con *SVDquartets* en *PAUP\** v4.0a (Swofford, 2002). Este método emplea un modelo de coalescencia no paramétrico basado en cuartetos para evaluar la correspondencia de las particiones de la distribución de los genes en múltiples OTUs (Unidades Taxonómicas Operativas), ayudando efectivamente a reconciliar discrepancias filogenéticas generados por coalescencia reciente (Chifman & Kubatko, 2014). Este análisis se realizó usando dos estrategias de inferencia: forzando la monofilia de las muestras analizadas, se infirió un árbol de poblaciones (i.e. individuos agrupados en localidades como OTU) y un árbol de especies (i.e.

individuos agrupados en taxones como OTU), para evidenciar posibles discrepancias entre asignaciones de OTUs basadas en monofilia recíproca. El soporte de los grupos recuperados para ambos árboles se revisó con un bootstrap no-paramétrico de 1000 repeticiones.

Adicionalmente, se revisaron las relaciones filogenéticas usando la estrategia de concatenación mediante supermatriz, usando el criterio de inferencia de máxima verosimilitud (ML) con el programa IQ-tree 2 v.2.4.0 (Minh et al., 2020). Esta inferencia se generó con la inferencia de modelo de sustitución nucleotídica del programa ModelFinder (Incorporado a IQ-Tree 2; Kalyaanamoorthy et al., 2017) y el soporte de clados recuperados se cotejó con 1000 pseudoreplicas obtenidas con los algoritmos “Ultra Fast Bootstrap” (UFboot; Hoang et al., 2018) y “Approximate Likelihood-Ratio Test” (SH-aLRT; Guindon et al., 2010). Los clados fueron considerados como confiables si los soportes recuperaron valores conjuntos de Uboot  $\geq 95\%$  y SH-aLRT  $\geq 80\%$ , siguiendo las recomendaciones indicadas en la guía de usuario de IQ-TREE 2 (Minh et al., 2020; IQ-TREE Development Team, 2025).

## **6.0 Relaciones entre Diversidad Genética, Fenotípica y el Paisaje**

Las diferencias genéticas y fenotípicas entre poblaciones no siempre se correlacionan directamente, ya que suelen estar influenciadas por distintos mecanismos de aislamiento reproductivo y adaptación local (Bolnick et al., 2023). Esta falta de correspondencia puede generar discrepancias entre los patrones observados en los datos moleculares y los datos morfológicos, especialmente en contextos taxonómicos. Una forma de abordar esta complejidad es evaluar cómo se relacionan entre sí, la divergencia genética y fenotípica y si pueden estar explicadas por la distancia geográfica y ambiental entre poblaciones. Esto permite estimar la contribución relativa del aislamiento por distancia y del aislamiento por ambiente en la estructuración genética (Wang & Bradburd,

2014). En sistemas caracterizados por flujo génico persistente, como los singámeones, se espera que los patrones de diversidad genética reflejen una correlación positiva con ambos procesos de aislamiento, los cuales no necesariamente pueden alinearse con una diferenciación fenotípica observable o evidente (Abbott et al., 2013). Asimismo, la distancia geográfica puede entregar información relevante sobre estos procesos, ya que el patrón espacial de los híbridos y genotipos recombinantes no siempre sigue un gradiente continuo cuando el aislamiento reproductivo es permeado por introgresión (Stankowski & Ravinet, 2021).

Para revisar la naturaleza de los patrones de diferenciación natural en singámeones detectados, se empleó un análisis de redundancia basado en distancias (db-RDA). Este enfoque de ordenación restringida permite cuantificar la proporción de variación explicada por distintas variables explicativas, tanto de manera independiente como conjunta, a partir de matrices de distancia no euclidianas (Legendre & Anderson, 1999). En este caso, el db-RDA se usó para evaluar la asociación de las distancias genéticas y fenotípicas observadas (variables respuesta), contra las distancias ambientales, geográficas, y de ancestralidad (vía estructura genética neutral), sobre los taxones analizados.

Para las variables de respuesta, se consideró una distancia fenotípica Euclidiana calculada partir de la variación fenotípica total representada, usando los valores promedios entre poblaciones de los ejes de ordenación recuperados por morfometría (PCA), colorimetría (NMDS) y medidas escalares (PCA), con el paquete *vegan* v. 2.6-8 (Oksanen et al., 2007). En el caso de la distancia genotípica, se calculó la distancia de Nei (Nei, 1972) usando el paquete *adegenet* v2.1.10 (Jombart, 2008). En cuanto a la estadística básica poblacional (i.e.  $H_o$ ,  $H_e$ ,  $F_{ST}$ , entros) se calculó con el paquete *hierfstat* v.0.5-11 (Goudet & Jombart, 2024).

En el caso de las variables predictoras, la distancia geográfica se representó a partir de una matriz de distancias que considera la estructura del paisaje entre poblaciones. A partir de esta matriz, se derivaron variables espaciales mediante el análisis de coordenadas principales de matrices de vecindad (PCNM), calculadas con la función *pcnm* del paquete *vegan* v. 2.6-8 (Oksanen et al., 2007), las cuales permiten incorporar la estructura espacial en los análisis multivariados (Legendre & Legendre, 2012). La distancia ambiental, se calculó a partir de una serie de variables sintéticas desde el set de datos bioclimáticos disponibles en *worldclim* v 2.1 (Fick & Hijmans, 2017). Esto se consiguió realizando un Análisis de Componentes Principales sobre las 19 variables bioclimáticas, las cuales fueron previamente recortadas sobre un espacio de distribución potencial inferido para el área muestral (“M” según Barve et al., 2011). Para esto, se estimó un polígono usando los datos de presencia del análisis de distancia geográfica y añadiendo un buffer de 13 km alrededor. Posteriormente, se condujo el análisis de componentes principales sobre las capas bioclimáticas, reteniendo las primeras tres componentes dado que retuvieron un máximo de 95% de la varianza explicada. Finalmente, se extrajo el valor promedio de cada punto de presencia, usando un buffer de 5 km a la redonda usando el paquete *raster* v.1.8 (Hijmans, 2020). Finalmente, se evaluó la ancestría como variable predictora, a partir del principio que la estructura genética, como estimador de flujo génico, explicaría las distancias observadas en las distancias genéticas y fenotípicas observadas.

El análisis de redundancia se condujo considerando la identidad taxonómica de todos los taxones usados como factor dentro del cálculo realizado, asumiendo que las distintas especies tendrán diferentes relaciones entre las matrices analizadas con el paquete *vegan* v. 2.6-8 (Oksanen et al., 2007). Finalmente, como una forma de corroborar la asociación entre las matrices de distancia fenotípica y genotípica, se realizó un test de Mantel de 999 permutaciones (por defecto) utilizando la función *mantel* del paquete *vegan*.

Todos los análisis, tanto fenotípicos como genotípicos y de correlación, fueron realizados en la plataforma estadística R v. 4.5.0 (R Core Team, 2025), a través de la interfaz de RStudio v.2025.05.0 (RStudio Team, 2025).

## **RESULTADOS**

### **1.0. Análisis Fenotípicos**

#### **1.1. Morfometría Geométrica**

##### **Análisis de componentes principales**

Este análisis muestra que, en el PCA, se recuperaron un total de 15 componentes principales, dando un total de 70.5% de varianza explicada entre el primero (0.571) y el segundo componente (0.134) (ver Fig. A1, Anexo). La ordenación resultante entre estos ejes no demuestra una diferencia entre los taxones predefinidos en el análisis (Fig. N° 01). A pesar de que se observó una ordenación en forma de herradura en los principales componentes recuperados, sugiriendo un efecto de isometría de las flores analizadas, no se observaron diferencias entre los taxones al momento de aplicar una corrección por simetría y asimetría dentro del morfoespacio recuperado (ver Fig. A2 y A3, Anexo).

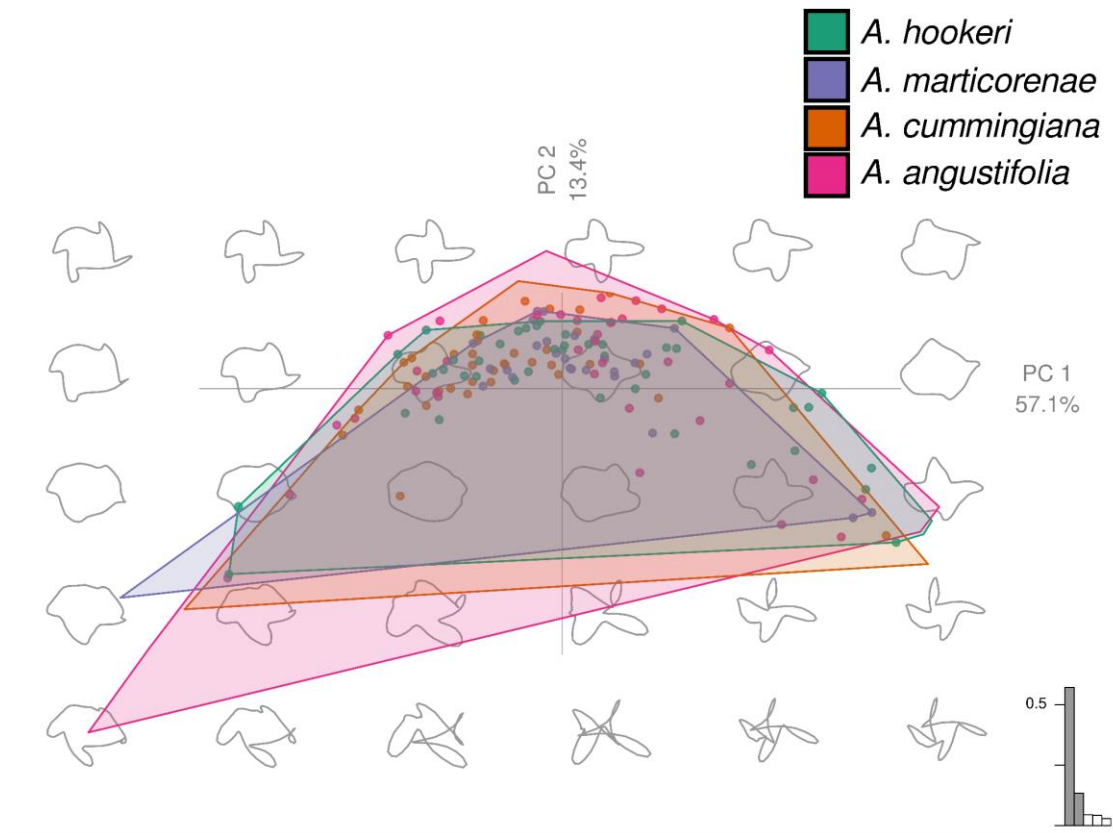


Figura N° 01. Análisis de componentes principales de la forma de la flor por especie en el morfoespacio, basado en el ordenamiento de los dos primeros componentes. Nota: las formas retratas son formas promedios dentro del morfoespacio, cualquier duda ante las formas las formas ingresadas y analizadas ver Fig. A4, Anexo.

### Análisis estadístico multivariado

En términos de la diferenciación multivariada, el análisis de MANOVA no mostró diferencias significativas de diferenciación morfométrica en los centroides de las especies designadas (Tabla N° 02).

Tabla 02. Tabla resumen de los valores-p del MANOVA para cada par de especies.

	<i>A. angustifolia</i>	<i>A. cummingiana</i>	<i>A. hookeri</i>	<i>A. marticorenae</i>
<i>A. angustifolia</i>		0.120	0.240	0.082
<i>A. cummingiana</i>			0.307	0.276
<i>A. hookeri</i>				0.482

### Análisis Linear Discriminante y Validación Cruzada (LDA + CV)

Al aplicar el LDA, la ordenación resultante no ofrece una mayor diferencia detectable en el morfoespacio, a excepción de *A. angustifolia* y *A. hookeri*, los que presentan una dispersión mayor dentro del espacio definido (Fig. N°02)

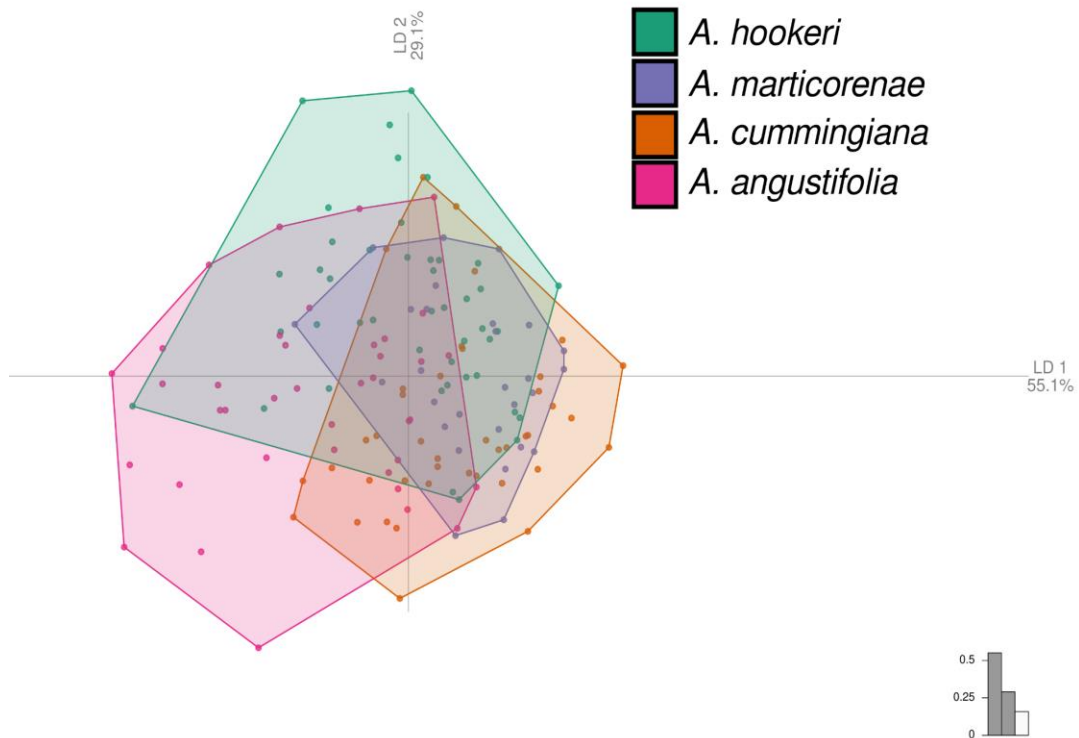


Figura N° 02. Esquema del Análisis Linear Discriminante ocupando los dos primeros componentes principales.

La validación cruzada reveló que el valor de asignación más alto obtenido fue de 43%, en la cual las muestras de *A. marticorenae* fueron predichas como *A. cummingiana*, por ende, representando una baja predictibilidad respecto a la taxonomía propuesta (ver Fig. N° 03 A). En cuanto al análisis no supervisado, con control de ruido se obtuvieron dos grupos, en los cuales el primero predijo marginalmente individuos de los taxones analizados, a excepción de *A. angustifolia* con un 33%. En el segundo grupo, los taxones fueron predichos con porcentajes sobre el 90%, a excepción de *A. angustifolia* con solo un 67% de predictibilidad (Fig. N° 03 B).

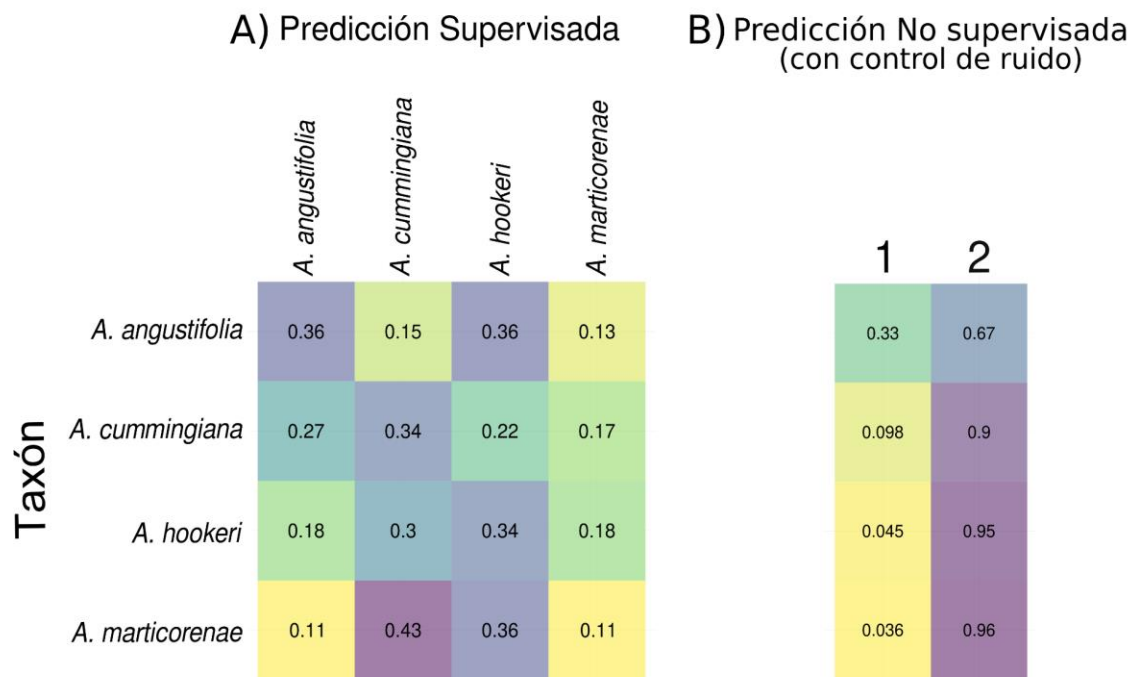


Figura N° 03. Validación Cruzada (CV) de resultados de morfometría geométrica A) Gráfico de predictibilidad de VC supervisado en base a los resultados del LDA. B) Gráfico de predictibilidad de VC no supervisado con control de ruido en base a los resultados de *clustvarsel*.

## 1.2. Morfometría Escalar

### Análisis estadístico multivariado

Los resultados del MANOVA mostraron diferencias significativas en la razón Área/Perímetro en todos los pares analizados, a excepción de *A. cummingiana* con *A. marticorenae* (Ver Tabla N° 03). A su vez, no se encontraron diferencias significativas entre los taxones analizados al usar la razón Largo/Ancho (Ver Tabla N° 04).

Tabla 03. Tabla resumen de los valores-p del MANOVA para la razón Área/Perímetro.

AP	<i>A. angustifolia</i>	<i>A. cummingiana</i>	<i>A. hookeri</i>	<i>A. marticorenae</i>
<i>A. angustifolia</i>		0.052	0	0.003
<i>A. cummingiana</i>			0.000	0.740
<i>A. hookeri</i>				0.052

Tabla 04. Tabla resumen de los valores-p del MANOVA para la razón Largo/Ancho.

LW	<i>A. angustifolia</i>	<i>A. cummingiana</i>	<i>A. hookeri</i>	<i>A. marticorenae</i>
<i>A. angustifolia</i>		1	0.671	1
<i>A. cummingiana</i>			0.114	1
<i>A. hookeri</i>				0.356

### Análisis Linear Discriminante y Validación Cruzada (LDA + CV)

La validación cruzada supervisada reveló que el valor de asignación más alto obtenido fue en *A. angustifolia* con un 67%, *A. cummingiana*, con un 63% y *A. hookeri* con un 64% (ver Fig. N° 04 A). En cuanto al análisis no supervisado, se obtuvieron tres grupos en los cuales el cluster 1 tuvo un valor de asignación más alto fue de un 33%. En el segundo cluster el valor más alto fue de un 76% para

*A. cummingiana* en y un 70% en *A. hookeri*. En el cluster 3 *A. marticorena* alcanzó una predictibilidad de apenas un 57% (ver Fig. N° 04 B).

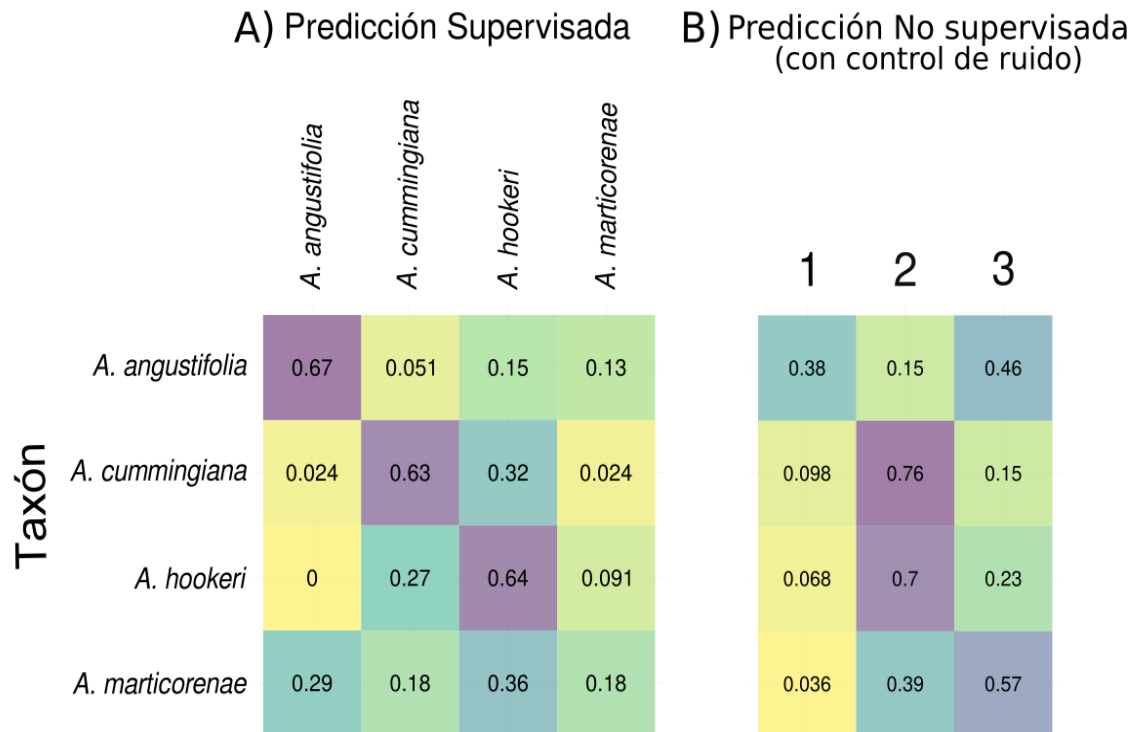


Figura N° 04. Validación Cruzada (CV) de resultados de medidas escalares A) Gráfico de predictibilidad de CV supervisado en base a los resultados del LDA. B) Gráfico de predictibilidad de CV no supervisado con control de ruido en base a los resultados de *clustvarsel*.

### 1.3. Colorimetría

#### Análisis estadístico multivariado

En el análisis de Escalamiento multidimensional no métrico (NMDS), la distribución de los planos que incluyen el eje NMDS1, separan dos grandes grupos que incluyen a *A. angustifolia* + *A. hookeri* en un grupo y *A. cummingiana* + *A. marticorenae* en el otro, siendo los 3 primeros ejes los más significativos (ver

Fig. N° 05). Los resultados de los centroides de los grupos ordenados de NMDS mostraron diferencias significativas entre las especies en estudio, exceptuando para el par *A. angustifolia* - *A. hookeri* (ver tabla N° 05).

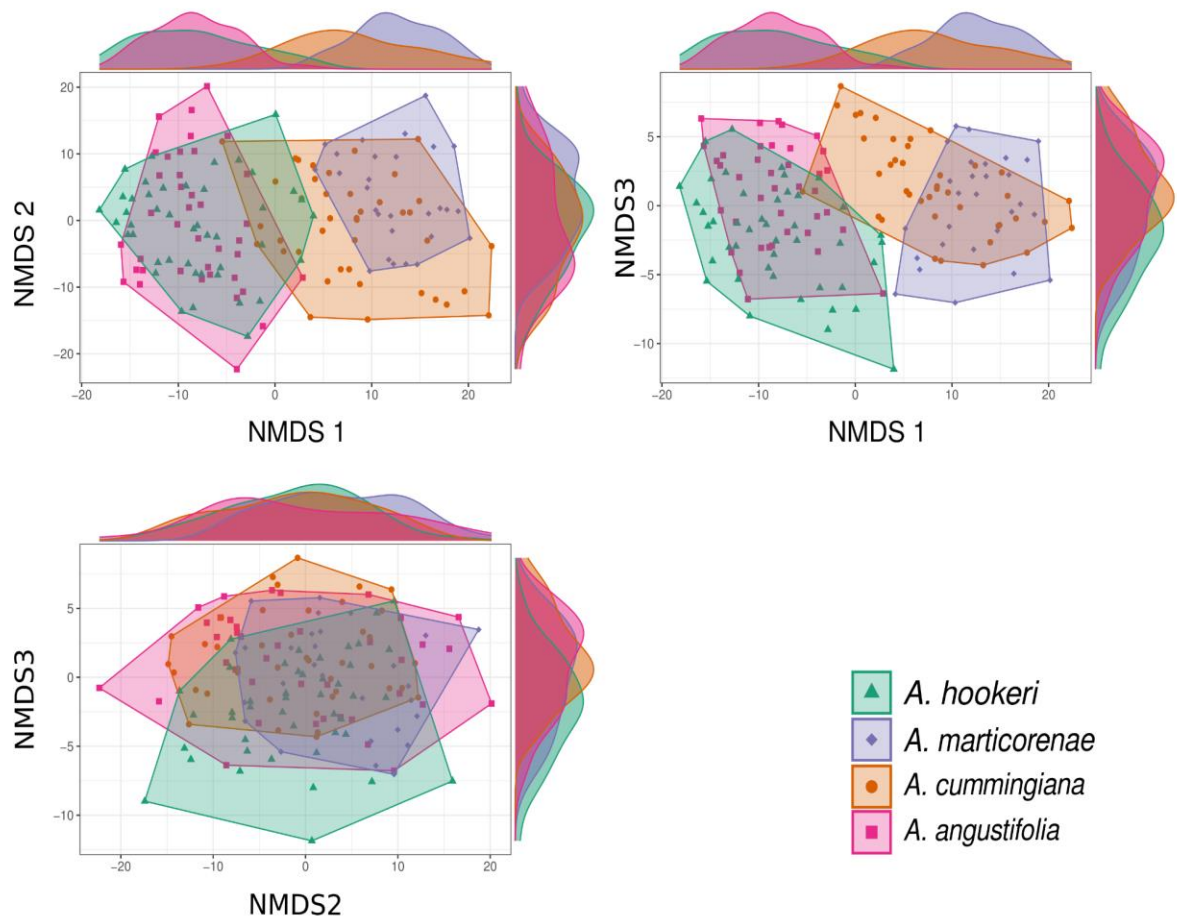


Figura N° 05. Análisis de Escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) de la forma de la flor por especie en el morfoespacio, basado en el ordenamiento de las tres primeras dimensiones.

Tabla 05. Tabla resumen de los valores-p del MANOVA para cada par de especies.

	<i>A. angustifolia</i>	<i>A. cummingiana</i>	<i>A. hookeri</i>	<i>A. marticorenae</i>
<i>A. angustifolia</i>		0.001	0.138	0.001
<i>A. cummingiana</i>			0.001	0.005
<i>A. hookeri</i>				0.001

### **Análisis Linear Discriminante y Validación Cruzada (LDA + CV)**

Para el análisis de clasificación supervisado (LDA + CV), sólo *A. cummingiana* fue predicha correctamente en un 73% (Fig. N° 06 A). A pesar de que el resto de los taxones no alcanzó el mínimo esperado para considerar predictibilidad taxonómica significativa, se obtuvieron mejores predicciones en comparación al análisis de morfología geométrica, con un 64% de *A. angustifolia* y el 68% de *A. hookeri* predichos correctamente (Fig. N° 06 A). Finalmente, las observaciones de *A. marticorenae* fueron predichas correctamente en un 50%, mientras que el 46% restante fue predicha como *A. cummingiana*.

Para el análisis no supervisado, se obtuvieron tres grupos (ver Fig. N° 06 B), de los cuales tanto *A. angustifolia* (95%) y *A. hookeri* (86%) fueron agruparon en el cluster 2. Así mismo, el 83% de *A. cummingiana* y 100% de *A. marticorenae* se agruparon en el cluster número 3. El primer cluster, recuperó un bajo número de individuos de los cuatro taxones (predicción entre 2% al 6%, aproximadamente).

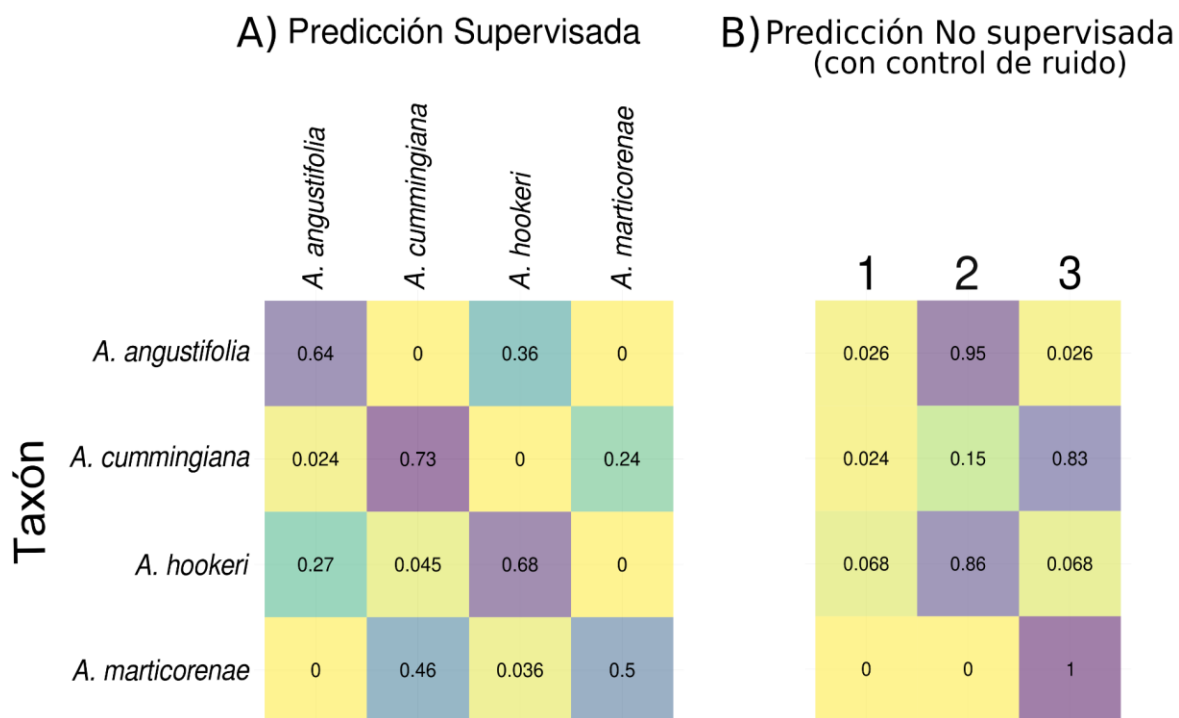


Figura N° 06. Validación Cruzada (CV) de resultados de colorimetría A) Gráfico de predictibilidad de CV supervisado en base a los resultados del LDA. B) Gráfico de predictibilidad de CV no supervisado con control de ruido en base a los resultados de *clustvarsel*.

### Fenotipo total

#### Análisis estadístico multivariado

Los resultados del PERMANOVA mostraron diferencias significativas entre las especies en estudio, exceptuando para el par *A. angustifolia* - *A. hookeri*. (ver Tabla N° 06)

Tabla 06. Tabla resumen de los valores-p del PERMANOVA para cada par de especies.

	<i>A. angustifolia</i>	<i>A. cummingiana</i>	<i>A. hookeri</i>	<i>A. marticorenae</i>
<i>A. angustifolia</i>		0.002	0.493	0.002
<i>A. cummingiana</i>			0.002	0.048
<i>A. hookeri</i>				0.002

### **Análisis Linear Discriminante y Validación Cruzada (LDA + CV)**

EL LDA muestra mayor diferenciación entre las especies en comparación a los demás resultados. Sin embargo, aún se puede observar la agrupación de los pares *A. angustifolia* + *A. hookeri* levemente y *A. cummingiana* + *A. marticorenae* en mayor medida, similar que el análisis de colorimetría (Ver Fig. N° 07)

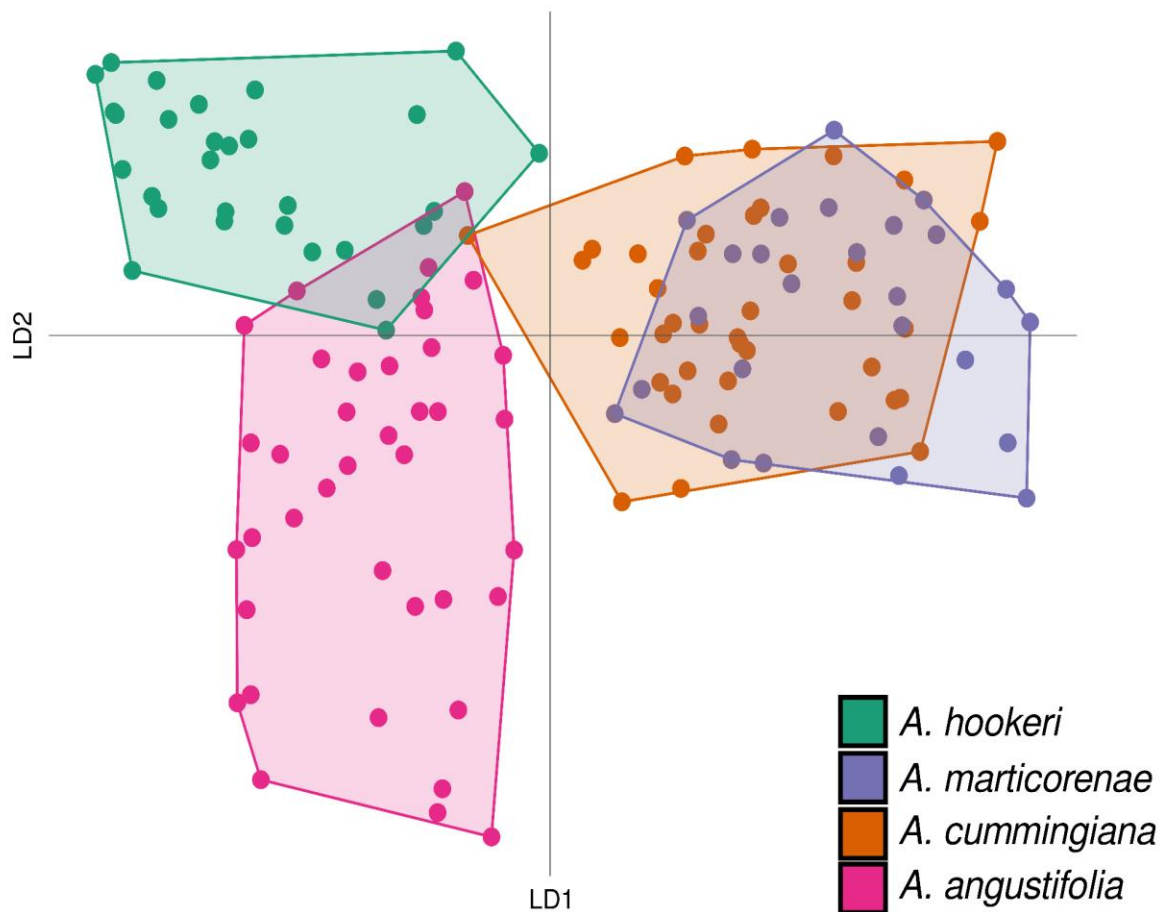


Figura N° 07. Esquema del Análisis Linear Discriminante ocupando los dos primeros componentes principales generados de la combinación de los vectores de ordenación de fenotipo floral total (colorimetría, morfometría geométrica y morfometría escalar).

Para el análisis de clasificación supervisado (LDA + CV), los cuatro taxones fueron predichos correctamente superando el 70% de predictibilidad. La mayor predicción la obtuvo *A. hookeri* (90%), seguida de *A. cummingiana* (87%), *A. angustifolia* (85%) y *A. marticorenae* que representó la peor predicción con un 73% correcto y un 23% asignado como *A. cummingiana* (Fig. N° 08 A).

Para el análisis no supervisado, se obtuvieron cuatro grupos. Los cuatro taxones fueron asignados al clúster 3. Solo *A. cummingiana* obtuvo un 82% de predictibilidad, mientras que los taxones restantes no alcanzaron el porcentaje mínimo de predictibilidad. *A. angustifolia* (64%), *A. hookeri* y *A. marticoenae* (62%) (ver Fig. N°08 B).

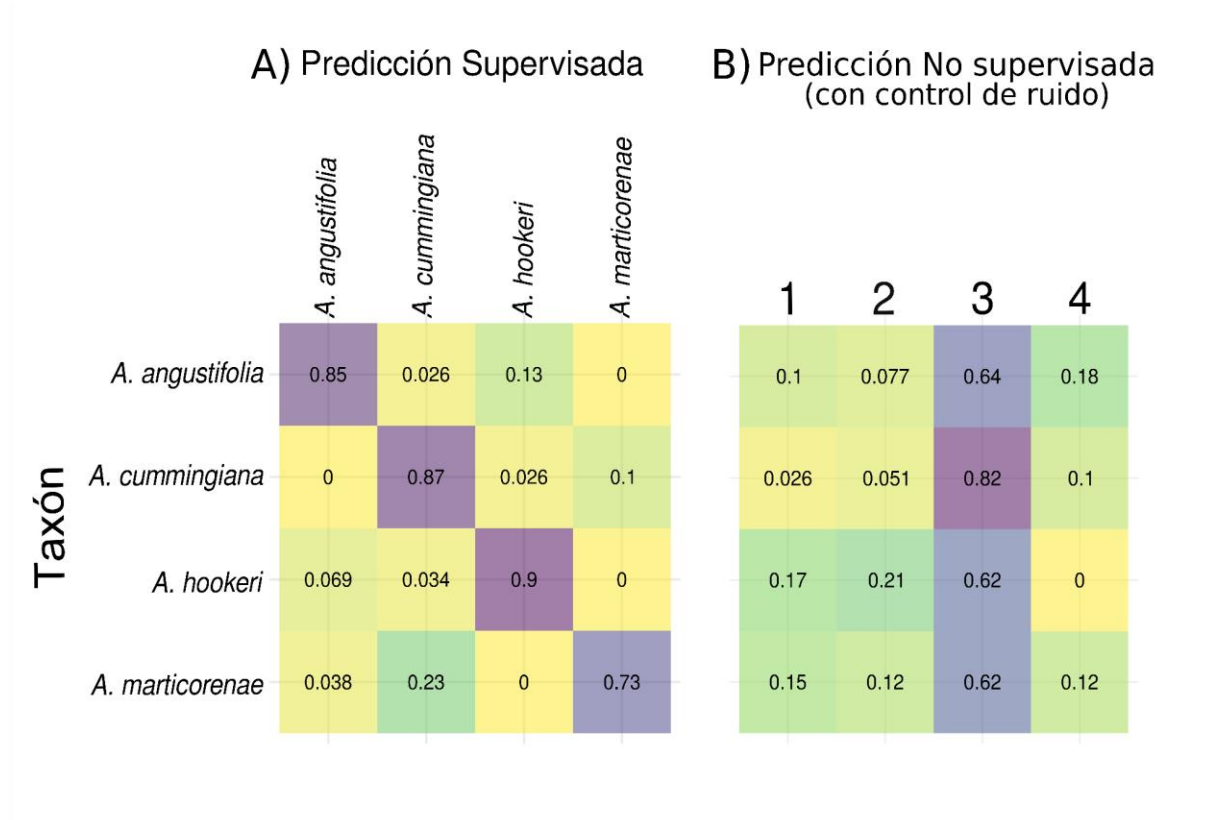


Figura N° 08. Validación Cruzada (CV) de resultados de colorimetría A) Gráfico de predictibilidad de CV supervisado en base a los resultados del LDA. B) Gráfico de predictibilidad de CV no supervisado con control de ruido en base a los resultados de *clustvarsel*.

## 2.0. Análisis Genotípicos

### 2.1 Ensamble genómico

El ensamble del genoma de referencia de *Alstroemeria hookeri* subsp. *recumbens* generó un draft inicial de 677.170 contigs, con un total de 216.7 Mb. Sin embargo, el ensamble presentó un alto nivel de fragmentación, mostrando un N50 de 278 pb y un promedio de largo de contig de 302.07 pb. Luego de filtrar aquellos contigs inferiores a 300 pb, se mejoró a un draft de 175.824 pb, con un largo acumulado de 93.5 Mb. La calidad de este ensamble mostró una mejora, con un N50 de 489 bp y un N70 de 351 pb, recuperando un contig de 38.347 como el más largo. En ambos casos, no se presentaron contigs ambiguos (N's per 100 kbp = 0.00), asegurando una alta fidelidad de la referencia para el mapeo de lecturas de MIG-Seq.

En el procesamiento de datos mediante ipyrad, se obtuvo un total inicial de 20.224 loci previo al filtrado. Posteriormente, tras aplicar el filtro por máximo de loci, se retuvieron 19.252 loci. Finalmente, al incorporar un criterio de presencia mínima de muestras del 50%, el conjunto de datos se redujo a 614 loci, los cuales fueron utilizados en los análisis posteriores.

Tabla 07. Tabla resumen del ensamble genómico del draft inicial del genoma de referencia de *Alstroemeria hookeri* subsp. *recumbens*.

	Ensamble total (Todos los Contigs)	Ensamble Filtrado ( $\geq 300$ pb)
Largo Total	216.738.512 bp (~216.7 Mb)	93.516.247 bp (~93.5 Mb)
Número total de contigs	677.170	175.824
N50	278 bp	489 bp
N70	247 bp	351 bp
L50	227.404	44.984
Contig más largo	38.347 bp	38.347 bp
Contenido GC (%)	44,08%	43,73%
N's per 100 kbp	0	0

## 2.2. Estadística genética básica

La diversidad genética fue consistentemente baja en las cuatro especies analizadas, con valores de heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y esperada ( $H_s$ ) similares entre ellas (Tabla N° 08). En todos los casos,  $H_o$  fue comparable o ligeramente superior a  $H_s$ , lo que se reflejó en valores  $F_{is}$  negativos para todas las especies a excepción de *A. hookeri*. No se detectó diferenciación genética entre especies según valores de  $F_{ST}$ .

El AMOVA reveló que la mayor proporción de la variación genética se concentró dentro de las muestras (73.32%), seguida por la variación entre especies (17.25%) y, en menor medida, entre muestras dentro de especies (9.43%) (Tablas N° 09 y 10). Los componentes de varianza indicaron que, si bien existe un aporte atribuible a la diferenciación entre especies, la estructura genética está dominada por la variación entre las muestras.

Tabla 08. Resumen de los valores de diversidad genética.

Especie	Ho	Hs	Ht	F <sub>IS</sub>	F <sub>ST</sub>
<i>A. angustifolia</i>	0.036	0.028	0.035	-0.115	0.143
<i>A. cummingiana</i>	0.038	0.033	0.034	-0.060	0.027
<i>A. hookeri</i>	0.051	0.041	0.050	-0.062	0.099
<i>A. marticorenae</i>	0.049	0.040	0.045	-0.112	0.045

Tabla 09. Resultados del AMOVA en base a las fuentes de variación y suma de cuadrados.

	Df	Suma de cuadrados	Media cuadrática
Entre especies	3	238.126	79.375
Entre muestras dentro de especies	11	185.018	16.82
Dentro de las muestras	118	940	7.966
Total	132	1363.144	10.327

Tabla 10. Resultados del AMOVA en base a los componentes de varianza y porcentaje de variación.

	Varianza ( $\sigma$ )	% de variación
Entre especies	1.874	17.25%
Entre muestras dentro de especies	1.025	9.43%
Dentro de las muestras	7.966	73.32%
Total	10.865	100%

### 2.3. Estructura genética

Los análisis de estructura demostraron una congruencia parcial con los grupos taxonómicos predefinidos; sin embargo, se detectaron variaciones de asignación de clusters, dependientes tanto del método como en las poblaciones analizadas.

En el caso del DAPC, se demostró una coherencia mayoritaria de los cuatro clusters (véanse Figuras A5 - A6 y Tabla A1, Anexo) asignados con los grupos taxonómicos predefinidos, *A. angustifolia* asignado al Cluster 1, con algunos individuos asignados al Cluster 2; *A. cummingiana* se asignó al Cluster 2; en *A. hookeri* subsp. *recumbens* la población 236 y 253 fue asignada al Cluster 4 (asociada a *A. martcorenae*), algunos individuos de 236 fueron asignados al Cluster 2 (asociada a *A. cummingiana*), en cambio la población 243 se asignó al Cluster 3. *A. martcorenae* fue asignada al Cluster 4 con individuos de la población 244 y 251 al Cluster 2 (asociada a *A. cummingiana*) y otros de la población 244, 247 y 251 al Cluster 1 (asociada a *A. angustifolia*) (Fig. N° 09).

En el caso de la estructura basada en SNMF, se encontraron importantes niveles de admixture con cuatro clusters detectados. Estos clusters sugieren la presencia de un cluster predominante por taxón: Cluster A en *A. angustifolia*, Cluster B en *A. cummingiana*, Cluster C en *A. hookeri* subsp. *recumbens* y Cluster D en *A. martcorenae* (Fig. N° 09).

Al analizar la estructura genética en pares de taxones, basado en las relaciones retratadas con análisis de coalescencia (ver en Reconstrucciones Filogenéticas, Fig N° 14), los clusters inferidos mostraron diferentes resultados dependiendo del método. En el caso de DAPC, se mantuvo un cluster por taxón, sólo hubo un individuo en cada especie que fue asignada al otro Cluster. Similarmente, el análisis de SNMF mostró sólo dos clusters asignados para *A. angustifolia* y *A. cummingiana*, mostrando niveles de admixture superiores al 50% en el último taxón (Fig. N° 10). Por otro lado, en el par *A. hookeri* subsp. *recumbens* y *A.*

*marticorenae* también se obtuvieron dos clusters, en *A. hookeri* subsp. *recumbens* la población 253 y un individuo de la población 236 fueron asignados al Cluster de asociado a *A. marticorenae*. Con SNMF, también se obtuvo dos clusters genéticos, exhibiendo niveles de *admixture* en la población 236 menores al 50%, mientras que en la población 253 superan el 50% de *admixture* (Fig. N° 11).

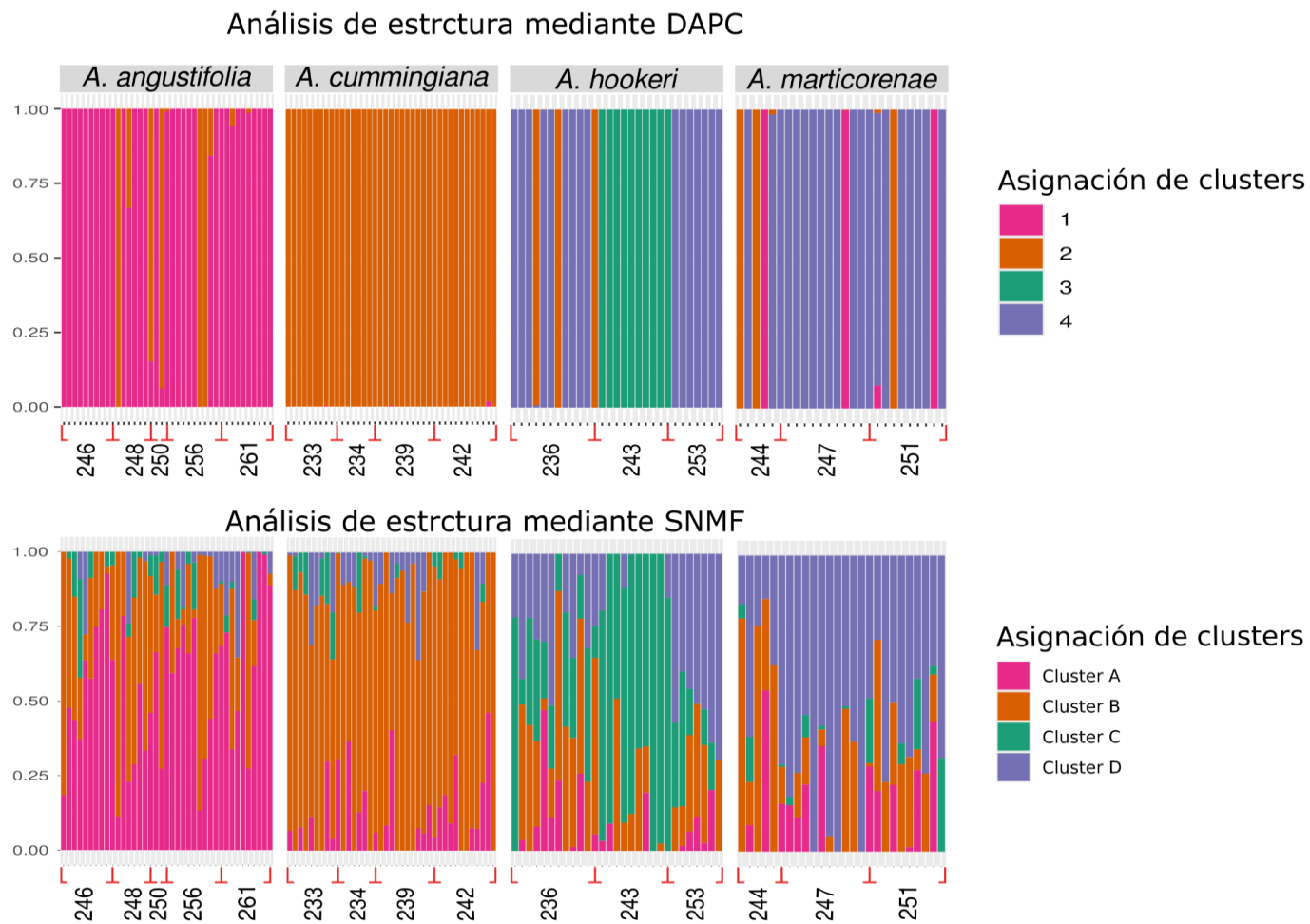


Figura N° 09. Esquema resumen de la asignación de clusters de ancestría mediante DAPC y SNMF de los cuatro taxones.

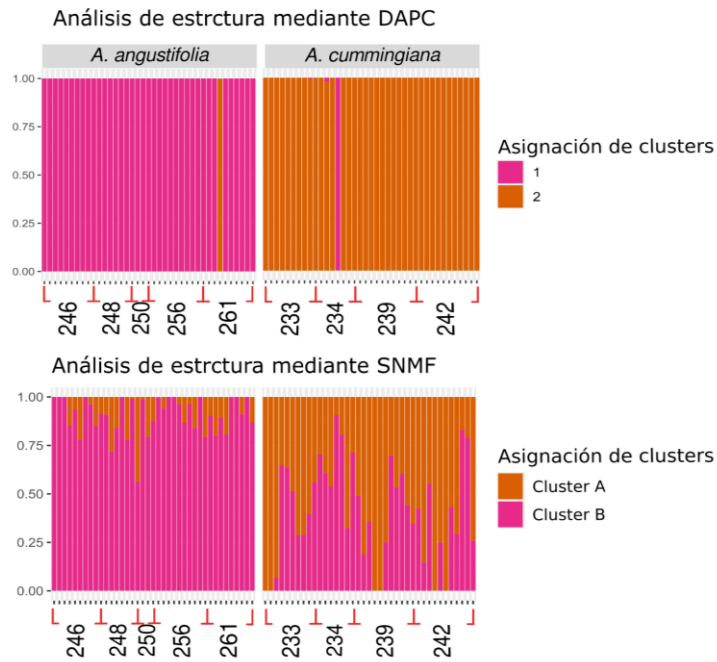


Figura N° 10. Esquema resumen de la asignación de clusters de ancestría mediante DAPC y SNMF, respecto al par *A. angustifolia* y *A. cummingiana*.

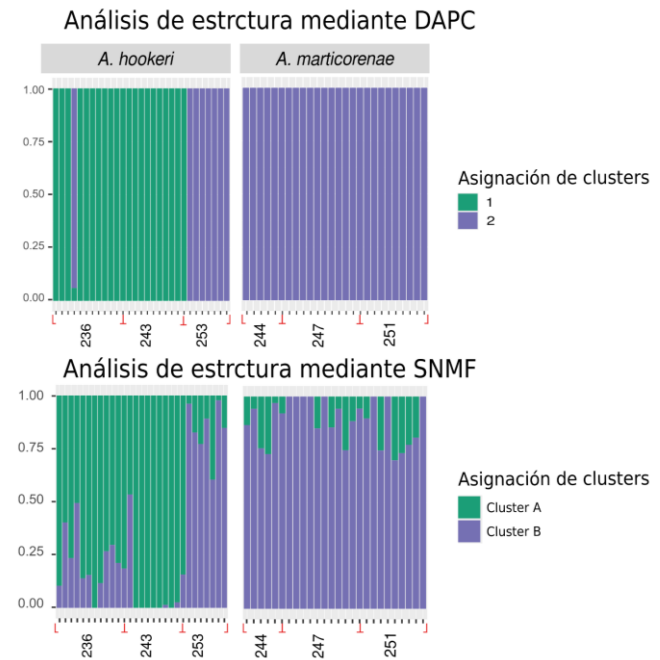


Figura N° 11. Esquema resumen de la asignación de clusters de ancestría mediante DAPC y SNMF, respecto al par *A. hookeri* subsp. *recumbens* y *A. marticensis*.

## 2.4. Reconstrucción relaciones filogenéticas

En las relaciones filogenéticas basadas en NeighborNet se observó cierta polaridad en las agrupaciones recuperadas, aunque no en grupos exclusivamente monofiléticos. Fue posible detectar al menos cuatro incongruencias principales en los grupos recuperados: 1) *A. marticorenae* se ubica en el centro de la red, con un individuo ubicado en *A. angustifolia* y *A. cummingiana*; 2) individuos de *A. hookeri* aparecen recuperados junto a muestras de *A. cummingiana*; 3) individuos de *A. cummingiana* se agrupan con *A. hookeri*; 4) individuos de *A. angustifolia* agrupados con *A. marticorenae* y *A. cummingiana* (ver Fig. N° 12). Las conexiones internas y ramificaciones dentro de cada grupo son indicativas de una menor divergencia genética entre las muestras del mismo grupo.

En cuanto al árbol filogenético basado en concatenación (ver Fig. N° 13), los clados recuperados a diferencia con lo observados con el NeighborNet, este no presentó grupos definidos a nivel de especies ni poblacional, no hubo ramas soportadas significativamente.

Por otro lado, el árbol filogenético basado en coalescencia mostró relaciones filogenéticas en clados bien definidos de poblaciones. Por una parte, fue posible distinguir el par *A. angustifolia* y *A. cummingiana* como un grupo monofilético y filogenéticamente bien soportado (91.7), siendo ambas monofiléticas dentro de este grupo (96.9 y 67.6 respectivamente). En el caso de *A. hookeri* también se recuperó como grupo monofilético, sin embargo el soporte es bajo (24.1). Por otra parte *A. marticorenae* fue recuperado como grupo no monofiléticos debido a la topología de la población 244 (ver Fig. N° 14). A su vez el árbol de especies concuerda con la agrupación del par *A. angustifolia* y *A. cummingiana* con un 96.9 de soporte, mientras que el par *A. hookeri* y *A. marticorenae* se agrupan con un 57.6 de soporte. En ninguno de los árboles inferidos, ni poblaciones ni especies, fue posible evidenciar un soporte significativo en la base de los cuatro taxones (ver Fig. N° 14)

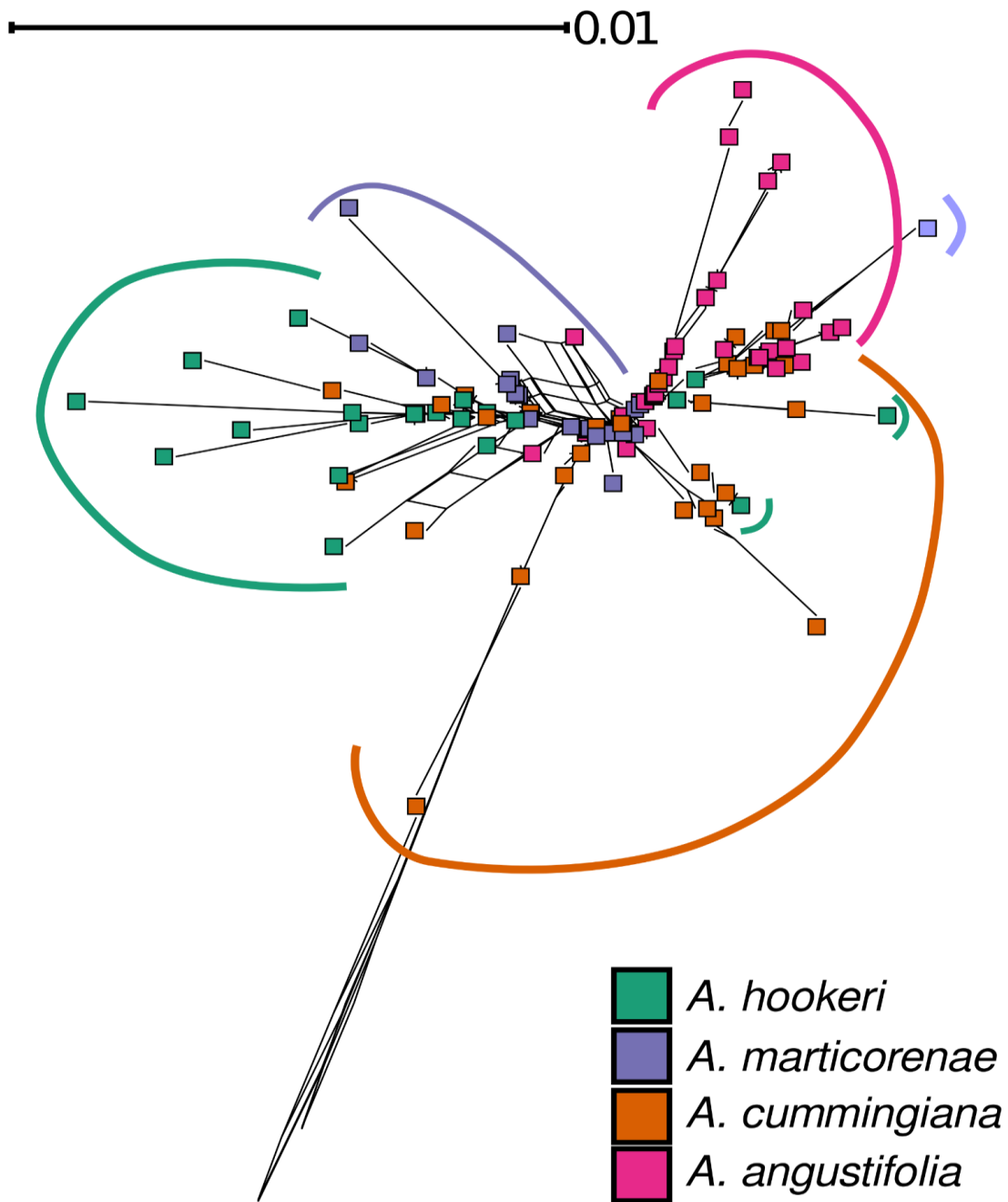


Figura N° 12. Esquema de la red de distancias filogenéticas con el algoritmo NeighborNet.

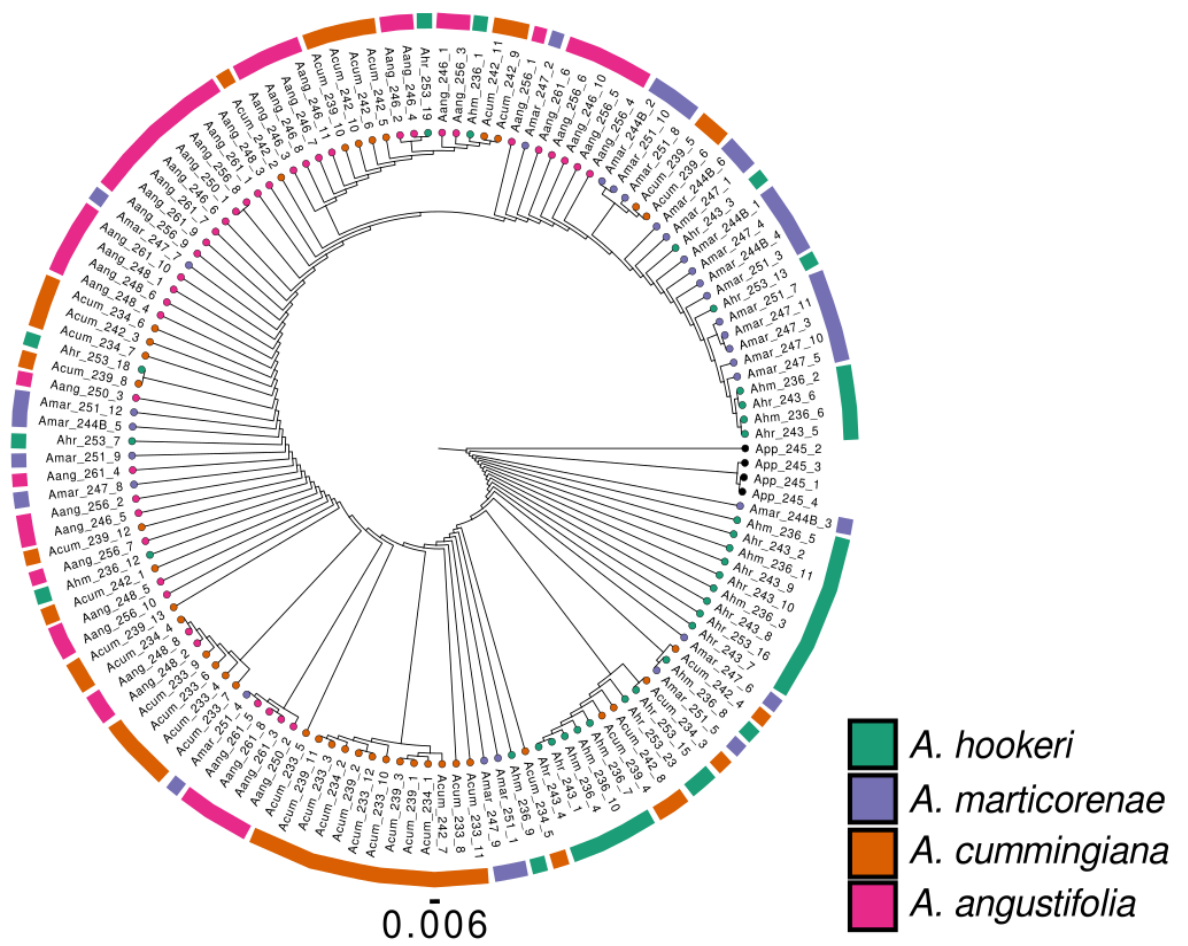


Figura N° 13. Esquema de las relaciones filogenéticas mediante concatenación usando el criterio de inferencia de máxima verosimilitud.

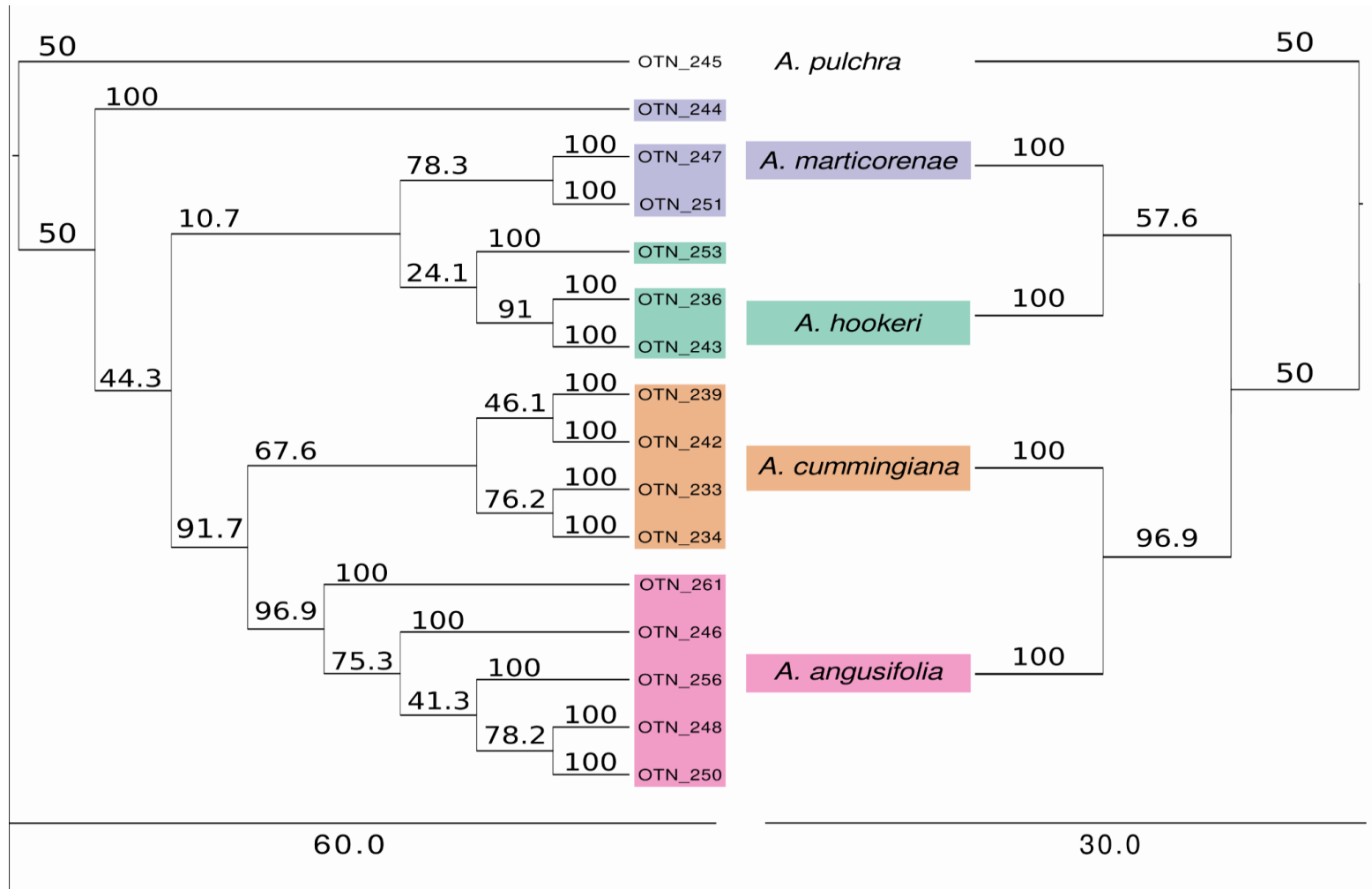


Figura N° 14. Esquema de las relaciones filogenéticas inferidas mediante el modelo de coalescencia de SVDquartets.

### 3.0. Relaciones entre Diversidad Genética, Fenotípica y el Paisaje

Los análisis de redundancia basados en distancias (db-RDA) revelaron patrones diferenciados, pero parcialmente concordantes entre las matrices de distancia fenotípica y genotípica (Tabla N° 12). En general, la proporción de varianza explicada fue mayor para la distancia fenotípica que para la distancia genética, lo que sugiere una asociación más estrecha entre la variación fenotípica y los factores explicativos evaluados. En concordancia con estos resultados, el test de Mantel evidenció patrones contrastantes en la asociación entre las distintas matrices de distancia. El fenotipo total mostró correlaciones positivas y significativas con sus componentes, siendo más alta con la morfometría geométrica ( $r = 0.581$ ,  $p = 0.001$ ), seguida por la morfometría escalar ( $r = 0.549$ ,  $p = 0.001$ ) y la colorimetría ( $r = 0.417$ ,  $p = 0.001$ ). En contraste, la relación entre el fenotipo total y la distancia genética fue baja y no significativa ( $r = 0.093$ ,  $p = 0.069$ ) (Tabla N° 11).

Entre los componentes fenotípicos independientes, las correlaciones fueron en general bajas y no significativas, incluyendo la relación entre morfometría geométrica y morfometría escalar ( $r = 0.096$ ,  $p = 0.051$ ), morfometría geométrica y colorimetría ( $r = 0.058$ ,  $p = 0.060$ ), y morfometría escalar y colorimetría ( $r = 0.045$ ,  $p = 0.108$ ) (Tabla N° 11).

En cuanto a su relación con la distancia genética, solo la morfometría escalar presentó una correlación débil pero significativa ( $r = 0.100$ ,  $p = 0.046$ ), mientras que la morfometría geométrica ( $r = 0.006$ ,  $p = 0.459$ ) y la colorimetría ( $r = 0.061$ ,  $p = 0.058$ ) no mostraron asociaciones significativas.

Tabla 11. Correlación entre matrices de distancia fenotípicas (morfometría y colorimetría) y genética evaluada mediante test de Mantel. F: fenotipo total; MG: morfometría geométrica; ME: morfometría escalar; C: colorimetría; G: distancia genética.

Matrices de distancia	r de Mantel	valor-p
F vs MG	0.581	0.001
F vs ME	0.549	0.001
F vs C	0.417	0.001
F vs G	0.093	0.069
MG vs ME	0.096	0.051
MG vs C	0.058	0.06
MG vs G	0.006	0.459
ME vs C	0.045	0.108
ME vs G	0.100	0.046
C vs G	0.061	0.058

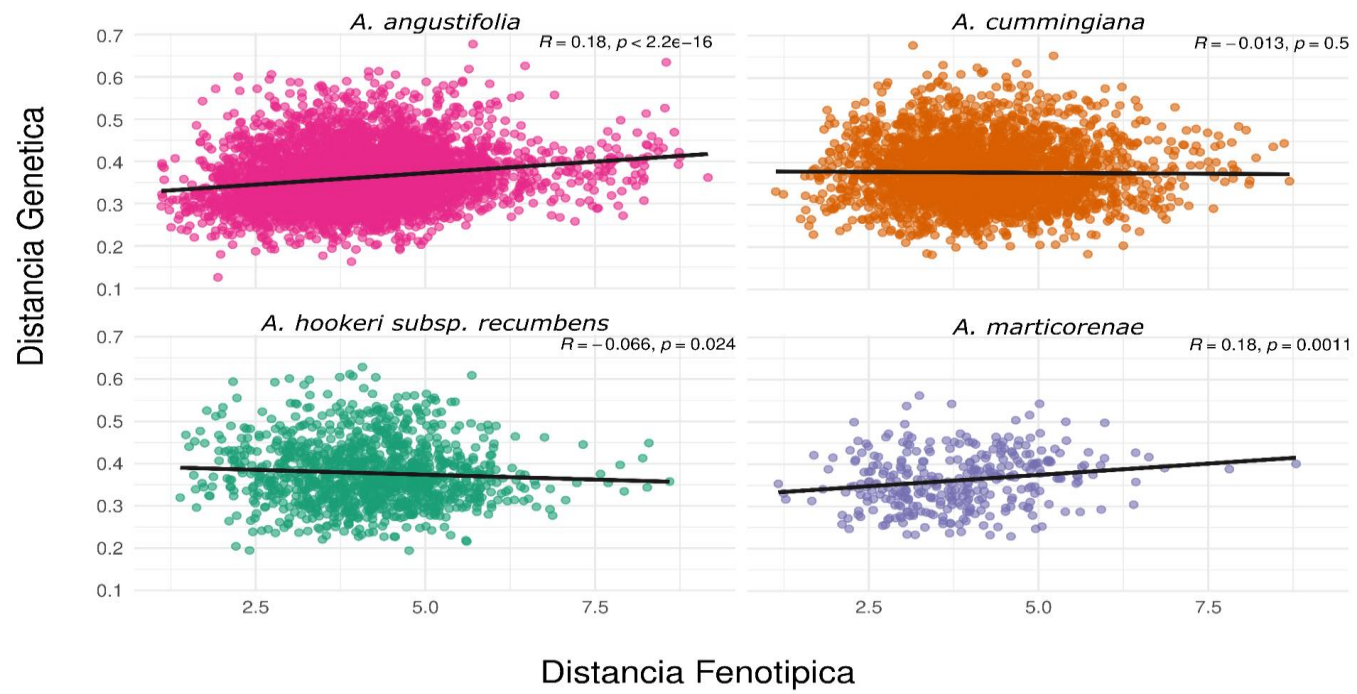


Figura N° 15. Esquema de los resultados del test de Mantel.

### **Distancia fenotípica**

Para la matriz de distancia fenotípica, el modelo completo explicó un 38% de la varianza total. Aunque algunos modelos parciales mostraron valores elevados de varianza explicada, el modelo completo presentó un menor  $R^2$  ajustado debido a la alta colinealidad y a la amplia varianza compartida entre los predictores. Las diferencias entre modelos parciales y el modelo completo reflejan la fuerte varianza compartida entre predictores y la corrección inherente al  $R^2$  ajustado frente a modelos más complejos.

Los modelos que incluyen la categorización taxonómica, en su mayoría, mostraron una contribución significativa a la varianza explicada. Los valores más altos se obtuvieron para las combinaciones ambiente + taxonomía (60.5%) y ambiente + ancestría + taxonomía (59.8%). Seguido por las contribuciones individuales, de la taxonomía (47.1%) y la ancestría (25.3%) respectivamente. En contraste, la distancia geográfica no explicó varianza fenotípica de manera independiente (Tabla N° 12).

En cuanto a las fracciones independientes, mostraron que la mayor proporción de varianza exclusiva correspondió, nuevamente, a la taxonomía (39%), mientras que el efecto del ambiente fue menor pero igualmente significativo (20.3%). En cambio, ni la geografía ni la ancestría explicaron la varianza fenotípica (Tabla N° 12).

Al condicionar los modelos por la taxonomía (i.e., realizar la comparación sin considerar la identificación taxonómica) la varianza explicada por los factores restantes disminuyó notablemente, siendo el ambiente la variable más explicativa apenas con un 13.4% no obstante, fue significativo. La combinación ambiente + ancestría explicó un 12.6%, también significativo. La ancestría genética, por sí sola tuvo porcentajes de explicación bajos (1.5%) y la significancia fue marginal (0.051) (Ver Tabla N° 12).

Tabla 12. Tabla resumen del análisis de redundancia basados en distancias usando Fenotipo como variable respuesta. Se evaluó el efecto de distintos predictores, incluyendo distancia ambiental (amb; derivada de condiciones ambientales), distancia geográfica (geo), distancia de ancestría (ances; obtenida a partir de análisis de ancestría) y taxón.

	Adj. R2	P(>F)
<b>1.- Contribuciones individuales</b>		
F ~ amb	0.191	0.001*
F ~ geo	-0.525	1
F ~ ances	0.253	0.001*
F ~ taxon	0.471	0.001*
F ~ amb + geo	-0.337	0.989
F ~ amb + ances	0.374	0.001*
F ~ amb + tax	0.605	0.001*
F ~ geo + ances	-0.145	0.879
F ~ geo + tax	0.190	0.066
F ~ ances + tax	0.487	0.001*
F ~ amb + geo + ances	-0.009	0.521
F ~ amb + geo + tax	0.424	0.001*
F ~ amb + ances + tax	0.598	0.001*
F ~ geo + ances + tax	0.177	0.117
F ~ amb + geo + ances + tax	0.380	0.002*
<b>2.- Fracciones independientes</b>		
F ~ amb   geo + ances + tax	0.203	0.007*
F ~ geo   amb + ances + tax	-0.217	0.999
F ~ ances   amb + geo + tax	-0.044	0.904
F ~ tax   amb + ances + geo	0.390	0.001*
<b>3.- Condicionado por taxonomía</b>		
F ~ amb   tax	0.134	0.001*
F ~ geo   tax	-0.281	1
F ~ ances   tax	0.015	0.051
F ~ amb + geo   tax	-0.047	0.717
F ~ amb + ances   tax	0.126	0.001*
F ~ geo + ances   tax	-0.294	0.5245
F ~ amb + geo + ances   tax	-0.091	0.87

## **Distancia genotípica**

Para la matriz de distancia genotípica, el modelo completo explicó un 22.9% de la varianza. La varianza explicada fue consistentemente menor que para la matriz fenotípica. La mayor explicación de la varianza fue dada por la geografía como fracción independiente (23.4%) (Tabla N° 12).

Al igual que en la distancia fenotípica, en las contribuciones individuales los modelos que incluyen la taxonomía explicaron las mayores proporciones de varianza genética. El modelo completo, que incorporó ambiente, geografía, ancestría y taxonomía, explicó el 22.9%. El ambiente, ancestría y taxonomía explicó el 21.8%. El ambiente y taxonomía explicó el 21.1%. Sin embargo, estos factores de manera independiente no fueron altamente explicativos, pero mostraron efectos significativos (Tabla N° 13).

Al condicionar los modelos por la taxonomía, la varianza explicada por los factores restantes disminuyó notablemente. No obstante, la combinación del ambiente, geografía y ancestría explicó un 21%. Las demás variables mantuvieron efectos significativos con porcentajes de explicación bajos (Ver Tabla N° 13).

En concordancia con los resultados del db-RDA, que evidenciaron una fuerte influencia del ambiente, la ancestría y la taxonomía sobre la variación fenotípica y genotípica, la prueba de Mantel reveló una asociación débil entre las distancias fenotípica y genética, indicando una correspondencia limitada entre ambos niveles de variación.

Tabla 13. Tabla resumen del análisis de redundancia basados en distancias usando Genotipo como variable respuesta. Se evaluó el efecto de distintos predictores, incluyendo distancia ambiental (amb; derivada de condiciones ambientales), distancia geográfica (geo), distancia de ancestría (ances; obtenida a partir de análisis de ancestría) y taxón.

	Adj. R2	P(>F)
<b>1.- Contribuciones individuales</b>		
G ~ amb	0.120	0.001*
G ~geo	-0.140	1
G ~ances	0.105	0.001*
G ~taxon	0.162	0.001*
G ~amb + geo	0.011	0.4
G ~ amb + ances	0.174	0.001*
G ~ amb +tax	0.211	0.001*
G ~ geo + ances	0.075	0.019*
G ~ geo + tax	0.129	0.001*
G ~ ances + tax	0.173	0.001*
G ~ amb + geo + ances	0.151	0.001*
G ~ amb + geo + tax	0.198	0.001*
G ~ amb + ances + tax	0.218	0.001*
G ~ geo + ances + tax	0.160	0.001*
G ~ amb + geo + ances + tax	0.229	0.001*
<b>2.- Fracciones independientes</b>		
G ~ amb   geo + ances + tax	0.194	0.002*
G ~ geo   amb + ances + tax	0.234	0.35
G ~ ances   amb + geo + tax	0.135	0.032*
G ~ tax   amb + ances + geo	0.159	0.001*
<b>3.- Condicionado por taxonomía</b>		
G ~ amb   tax	0.051	0.001*
G ~ geo   tax	0.064	0.901
G ~ ances   tax	0.011	0.002*
G ~ amb + geo   tax	0.156	0.104
G ~ amb + ances   tax	0.059	0.001*
G ~ geo + ances   tax	0.112	0.537
G ~ amb + geo + ances   tax	0.210	0.009*

## DISCUSIÓN

La definición de especie en *Alstroemeria* ha sido tradicionalmente tratado desde una perspectiva fenotípica, la que suele tener sustentos en la gran cantidad de caracteres disponibles para el reconocimiento de sus entidades (Finot et al., 2018a). Sin embargo, la falta de comprensión de los mecanismos de diversificación es la principal razón por la cual existe una notoria limitación en la construcción de estas hipótesis taxonómicas, toda vez que estas ayudan a comprender cómo las diferencias, a partir de sus patrones de variación, se construyen alrededor de los morfotipos actualmente reconocidos (De Queiroz, 2007; Nosil, 2012). Es en este contexto, el analizar la existencia de un sistema de singámeon se hace relevante para *Alstroemeria*, dado que esto aportaría evidencia para explicar la falta de cohesión imperante en varios de sus complejos de especies. Para esto, se hace indispensable el usar datos genéticos confiables que permitan retratar la integridad genética de las entidades presentes, así también cómo esta interactúa con la variación fenotípica que soporta las entidades actualmente reconocidas. En su suma, tanto la variación fenotípica como genotípica proporcionarán una perspectiva más clara de cómo se organiza la variación de los taxones nativos de *Alstroemeria* y, en consecuencia, si existen interacciones que permitan dilucidar su integridad taxonómica, en caso de estar conformado como un singámeon.

En general, los resultados obtenidos en este estudio muestran un escenario complejo de delimitación para el grupo de taxones de *Alstroemeria* estudiado, en el cual una alta variabilidad fenotípica coexiste con una diferenciación genética relativamente baja y poco concordantes con la propuesta taxonómica actual (Finot et al., 2018b; Muñoz-Schick & Moreira-Muñoz, 2003). Mientras la morfología floral y la colorimetría permitieron reconocer tendencias de diferenciación entre entidades, estas no se traducen en discontinuidades claras.

Igualmente, los datos genéticos basados en SNPs sugieren una historia evolutiva reciente e interconectada, lo que sería compatible con un escenario de flujo génico persistente entre poblaciones de diferentes taxones. En conjunto, esta ausencia de límites discretos, tanto a nivel fenotípico como genético, es consistente con las expectativas de organización en un sistema de singámeon, en el cual múltiples linajes mantienen intercambio genético a pesar de cierta diferenciación morfológica (Buck et al., 2023; Grant, 1981; Mallet, 2007). En este contexto, con la finalidad de contextualizar los patrones mencionados, la presente discusión se organizará en: 1) discutir los patrones de variación fenotípica y genotípica, 2) evaluar la correspondencia de variación entre fenotipo - genotipo y 3) Evaluar las consecuencias taxonómicas del comportamiento de singámeon en el sistema de especies estudiados y *Alstroemeria* en general.

## **Diversidad y variación fenotípica floral**

Un punto interesante sobre la literatura asociada a patrones de variación fenotípica en grupos de difícil delimitación es que ha sido abordada mayormente desde una perspectiva taxonómica y evolutiva (i.e., complejos de especies; (Grant, 1981; Mallet, 2005; Pinheiro et al., 2018), siendo esto limitadamente abordado sobre cuál debería ser el comportamiento de este componente en sistemas como el singámeon. En este contexto, los análisis realizados ofrecen una oportunidad para abordar elementos básicos de entendimiento del fenotipo, particularmente sobre su modo de organización y como este aporta en el proceso de discriminación de entidades. Por lo mismo, el estudio realizado en esta tesis puede contribuir al cuerpo de evidencia ya existente, en particular, por su contextualización dentro de sistemas ya ampliamente documentados en complejos de especies y sistemas con divergencia incompleta (Soltis & Soltis, 2009; Wiens, 2007).

En términos generales, los análisis realizados sobre el fenotipo floral no fueron capaces de identificar consistentemente las cuatro entidades previamente reconocidas, evidenciando una baja predictibilidad cuando se abordan caracteres individualmente. Este resultado es consistente con lo descrito en complejos de especies, donde el solapamiento fenotípico y la variación continua dificultan la asignación de individuos a entidades discretas (Pinheiro et al., 2018). Esto sugeriría que la información taxonómicamente relevante no se encuentra en el uso de caracteres aislados, sino que en el uso combinado de estos. Esta conclusión ha sido ampliamente documentada en eventos de hibridación de plantas, los cuales se caracterizan por presentar importantes niveles de discordancia entre rasgos fenotípicos y genéticos (Arnold, 1997; Cronk & Suarez-Gonzalez, 2018). En estos procesos, este desacople puede entenderse en el contexto de la modularidad de los rasgos florales, donde distintos componentes pueden responder de manera diferencial a presiones selectivas o a procesos de herencia híbrida (Smith, 2016). Por lo mismo, es posible aseverar que esta baja coordinación atentaría contra una delimitación eficiente entre los taxones de *Alstroemeria* estudiados, reflejando un proceso de discordancia explicado mayormente desde el punto de vista biológico.

Una consecuencia directa de la falta de coordinación fenotípica es asumir la ausencia de rangos de variación continuos entre morfotipos florales, dado que estos se moverán en diferentes ejes de variación, lo que tiene implicancias importantes para la interpretación del sistema. Por lo mismo, se presentan impedimentos para la construcción de límites, no por la presencia de morfotipos sobrelapados sino por la existencia de combinatorias morfológicas novedosas que resultan incongruentes asociar dentro un continuo fenotípico determinado. Si bien la variación continua es ampliamente documentada en complejos de especies (Mallet, 2007; Soltis & Soltis, 2009; Wiens, 2007), también es cierto que la ocurrencia de combinaciones no congruentes de caracteres es común dada la existencia de procesos como la hibridación y la introgresión, los que podrían estar

recombinando rasgos entre linajes de forma desagregada (López-Caamal & Tovar-Sánchez, 2014; Rieseberg et al., 1993; Seehausen et al., 2014). Por lo mismo, se hace relevante el realizar un análisis individualizado de patrones de variación por carácter, de forma de determinar cómo estos contribuirían al patrón de variación total dentro de un singámeon.

En un contexto individual, los análisis morfométricos refuerzan la evidencia de una diferenciación limitada y desacoplada entre entidades. Por el lado de la morfometría geométrica, se observó una baja capacidad de discriminación entre grupos, con morfoespacios caracterizados por un amplio solapamiento y la presencia de morfologías transgresivas. Estas expresiones son esperables bajo eventos de hibridación, en las cuales los caracteres pueden expresarse fuera de los rangos esperables, dada la expresión fenotípica de los parentales (Rieseberg et al., 1999). Este resultado podría ser consistente con lo descrito en otros complejos de especies, incluyendo diversos grupos de monocotiledóneas tepaloides (Hernández-Ruíz et al., 2019; Shipunov y Bateman, 2005; Viveros-Antonio et al., 2023), donde la falta de continuidad fenotípica en atributos de forma dificultaría la delimitación basada en caracteres florales exclusivamente.

Interesantemente, el mayor desempeño de discriminación fue observado con datos morfometría escalar, permitiendo inferir que gran parte de la diferenciación fenotípica floral analizada responde más a cambios con sustento alométrico basados en tamaño y proporciones, que a transformaciones discretas de forma. Este patrón podría estar influido por la ontogenia de los tépalos, derivados de estructuras foliares (Irish, 2009), así como por fenómenos como el resupinamiento (Lyshede, 2002), que introducen componentes asimétricos en la morfología floral. En conjunto, estos resultados refuerzan la idea de que la morfología floral no puede contenerse exclusivamente en patrones de forma sin considerar la variación escalar, lo que sugiere más un uso racional de la

morfometría geométrica al momento de usarse en contexto taxonómico en *Alstroemeria*.

Mientras que la falta de resolución de la morfometría geométrica, comparado al de morfometría escalar, podría indicar una limitación en el cambio de forma floral, es importante también considerar que este elemento también podría ser una consecuencia de la interacción de consideraciones técnicas y propiedades biológicas de las flores del sistema estudiado. En el primer punto, es posible que la decisión del uso de la técnica de morfometría de contornos exhiba limitaciones en la captura de ciertos rasgos taxonómicamente relevantes de las especies evaluadas. Esto podría evidenciarse en dificultades para registrar la variación de estructuras agudas, como los mucrones típicos presentes en *A. hookeri* subsp. *recumbens* (Finot et al., 2018a), los cuales son pobremente representados mediante aproximaciones basadas en contornos (Cope et al., 2012). Desde un punto de vista biológico, es probable que el registro de forma floral se encuentre fuertemente dominada por patrones de isometría, evidenciados en el efecto herradura del morfoespacio geométrico floral analizado (Fig.N° 01) (Podani & Miklós, 2002), impidiendo una definición morfológica estable que permita agrupamientos coherentes de los morfotipos analizados.

En términos colorimétricos, por su parte, se observaron patrones de agrupamiento parciales, pero dentro del mismo marco de variación continua y solapada observado en el resto del fenotipo, lo que también dificultaría una discriminación clara entre entidades. Aunque el color floral ha sido históricamente uno de los principales caracteres utilizados en la delimitación de especies de *Alstroemeria* (Aagesen & Sanso, 2003; Bayer, 1987), los resultados indican que, si bien algunos grupos presentan cierta capacidad predictiva, estos patrones no se traducen en una delimitación consistentemente predictiva debido al amplio solapamiento y la elevada variación intraespecífica. La variabilidad cromática observada abarca un continuo de tonalidades, lo que puede explicarse por

diferencias en la composición y concentración de pigmentos florales, principalmente antocianinas y carotenoides, cuya expresión depende tanto de factores genéticos como ambientales (Davies et al., 2012; Tanaka et al., 2008). Interesantemente, a pesar de que la variación colorimétrica tiene una variación fuertemente predicha por elementos de herencia (Aros et al., 2019), existen otros factores bióticos que pueden influir en sus patrones de organización y alterar su predicción taxonómica correspondiente. Por ejemplo, es sabido que el color podría estar sujeto a presiones selectivas específicas, como interacciones con polinizadores (Fenster et al., 2004; Waser & Campbell, 2004), el cual puede a mediar de flujos de visita y polinización de forma desorganizada si es que las especies no presentan recompensas diferenciadas que alteren el flujo génico (Endler, 1992). En este sentido, es posible que distintos componentes del fenotipo floral respondan a presiones evolutivas parcial o totalmente independientes, dependiendo del carácter, dificultando su uso como caracteres diagnósticos.

Otro elemento relevante de los análisis fenotípicos es que sólo con la integración de la identidad taxonómica de los individuos y el uso del fenotipo floral total (i.e., combinación de morfometría y colorimetría) se consiguió un exitoso nivel de discriminación y predicción entre los taxones estudiados. En este sentido, a pesar del comportamiento desorganizado de variación entre caracteres, los resultados respaldan el uso de una aproximación integrativa del fenotipo floral al momento de delimitar entidades taxonómicas, de forma de poder capturar e integrar los diferentes ejes de variación. Sin embargo, esto también revelaría que la identidad taxonómica es un requisito esencial para obtener altos niveles de discriminación, por lo que se requeriría la incorporación de otras fuentes de información, como la geografía o el ambiente, para obtener mejores resultados de predictibilidad.

En este contexto, la flor constituye un carácter particularmente complejo, con múltiples dimensiones de variación colorimétrica y morfométrica, cuya

discriminación taxonómica depende del uso de caracteres combinados. Este patrón no es desconocido en *Alstroemeria*, donde la herencia de atributos florales puede ser compleja y no siempre resulta en variación intermedia, como ha sido documentado para caracteres como el aroma floral bajo escenarios de hibridación dirigida (Aros et al., 2019). Esto ofrece un desafío puntual en el uso de la morfología floral como carácter diagnóstico, dado que sus patrones de variación no logran ser completamente predictivos en este sistema, especialmente bajo un esquema de hibridación e introgresión natural. Al mismo tiempo, esto reflejaría la presencia de configuraciones de variación independientes en los caracteres fenotípicos, atentando contra la presencia de entidades discretas, lo que podría ir en concordancia con los patrones de tipo mosaico.

En conjunto, estos resultados permiten cumplir el primer objetivo específico, correspondiente a la caracterización de la variabilidad fenotípica floral entre las entidades analizadas. La evidencia obtenida indica que la diferenciación fenotípica es variable entre taxones y depende del tipo de carácter evaluado, siendo los rasgos colorimétricos y fenotipo total los que proporcionan la mayor capacidad discriminante. La ausencia de discontinuidades fenotípicas consistentes entre todas las entidades sugiere que la variación floral, por sí sola, no resulta suficiente para explicar los límites actualmente reconocidos entre los taxones estudiados. No obstante, la existencia de límites taxonómicos también depende de la presencia de discontinuidades genéticas concordantes.

### **Diversidad y variación genética**

En sistemas tipo singámeon, la variación genética se caracteriza por una alta diversidad interna y una baja diferenciación entre linajes, producto de la hibridación recurrente y el flujo génico entre taxones estrechamente relacionados (Cannon & Petit, 2020; Mallet et al., 2016). Estos sistemas pueden representar

tanto estados transitorios en procesos de especiación como redes evolutivamente estables que mantienen la cohesión genética entre entidades (Touchette et al., 2024). En este contexto, se esperaría que las entidades estudiadas presenten patrones de variación genética poco estructurados y con escasa correspondencia con la clasificación taxonómica, tal como fue observado en este estudio.

Las estimaciones de diversidad y diferenciación genética revelan un escenario de estructuración baja a moderada entre los taxones analizados. Mientras es difícil establecer una referencia de aislamiento usando valores de  $F_{ST}$  (Holsinger & Weir, 2009; Meirmans & Hedrick, 2011), los obtenidos en la presente tesis sugieren niveles de aislamiento bajos a moderados ( $F_{ST} \approx 0.1$ ), en función a lo observado en ejemplos de Iridaceae y Amaryllidaceae (e.g., (Schwedersky et al., 2020; Stiehl-Alves et al., 2017)). Asimismo, la similitud entre los valores de heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y esperada subpoblacional ( $H_s$ ) indicarían una relativa homogeneidad genética entre individuos y poblaciones. En este contexto, los valores negativos de  $F_{IS}$  evidencian un exceso de heterocigotos, lo que puede interpretarse como resultado de mezcla genética reciente, hibridación o estructura poblacional compleja (Allendorf et al., 2012). Tal escenario podría presentarse bajo la acción combinada de múltiples procesos en plantas, sujetas a altos niveles de autocompatibilidad reproductiva, reproducción clonal, e interacción con genotipos altamente divergentes (Hernández-Velasco et al., 2025; Stoeckel et al., 2006), los cuales también han sido sugeridos para taxones de *Alstroemeria* (Finot et al., 2018b).

La variación genética del sistema se organiza principalmente a nivel intraindividual y presenta una amplia ancestría compartida entre taxones, lo que indicaría la ausencia de límites genéticos discretos entre las entidades. Este patrón es consistente con una dinámica de flujo génico persistente y barreras

reproductivas incompletas, donde la diferenciación entre linajes es limitada a pesar de la presencia de cierta estructuración genética (Mallet et al., 2016). En este contexto, la presencia de individuos con composición genética mixta sugiere que la hibridación y la introgresión no constituyen eventos aislados, sino procesos recurrentes que contribuyen activamente a la cohesión del sistema. Este patrón sería coherente con un escenario tipo *ring species*, en el cual múltiples linajes mantienen conectividad genética a través del tiempo, generando redes de variación continua más que unidades evolutivas discretas (Cannon & Petit, 2020). Dinámicas similares han sido documentadas en otros complejos de especies con límites difusos, tales como en *Dactylorhiza* y *Epidendrum*, donde el intercambio genético y el solapamiento geográfico dificultan la delimitación taxonómica (Hedrén et al., 2001; Pinheiro et al., 2010; Tremetsberger et al., 2016).

Las relaciones evolutivas dentro del grupo estudiado se caracterizaron por presentar un patrón general de relaciones pobremente soportadas y evidentes faltas de monofilia, donde la señal filogenética varía según el taxón y el nivel de organización de los datos. Por una parte, la recuperación de *A. angustifolia* con una monofilia con altos índices de soporte implicaría un nivel de bajo flujo génico de este taxón, la cual se distribuye en zonas climáticamente diferenciadas al resto del grupo de estudio, tanto en zonas del interior y precordillerana del rango de estudio (Fig. N° 16). Por otra parte, las relaciones de los taxones costeros tuvieron menores niveles de resolución topológica, llegando a revelar una falta total de monofilia en el caso de *A. martcorenae* (Fig. N° 14), lo que apoyaría la idea de una alta similitud genética entre este grupo. Interesantemente, las relaciones no determinaron un origen común costero para las especies del litoral, indicado por la monofilia bien soportada entre *A. angustifolia* y *A. cummingiana* pero incierta en *A. hookeri* subsp. *recumbens* y *A. martcorenae*, sugiriendo que el proceso de especiación siguió un proceso diferenciado de divergencia entre los taxones analizados.

Los análisis filogenéticos también revelaron mejoras en el soporte y resolución al momento de utilizar poblaciones en vez de individuos como OTUs, en contraste del análisis concatenado, sugiriendo que la señal filogenética estaría siendo afectada fuertemente por procesos de coalescencia e introgresión. La inferencia de relaciones a escala de poblaciones, en este sentido, podría estar simplificando la variación genética al integrar en unidades más discretas, sin resolver la discordancia subyacente a nivel individual. Esta interpretación es consistente con los análisis de estructura genética, donde los patrones de asignación observados sugieren la coexistencia de múltiples señales genéticas, lo que podría ser el resultado combinado de flujo génico reciente (intra-taxón) e introgresión (inter-taxón). Esto es esperable al momento de realizar estudios de divergencia en linajes de divergencia compleja y reciente (e.g., Chang et al., 2023; Pang & Zhang, 2025). En este sentido, la distinción entre introgresión y ancestría compartida representa un desafío interpretativo clave, ya que ambos procesos pueden producir patrones genéticos comparables, dificultando la atribución inequívoca del origen de la señal observada.

En resumen, la falta de congruencia entre genotipos individuales y la baja resolución en las divergencias profundas indican que la diferenciación entre linajes es reciente o se ve difuminada por el intercambio genético, y que la historia evolutiva del sistema está fuertemente influenciada por flujo génico, introgresión y sorting incompleto de linajes (Degnan & Rosenberg, 2009; Mallet et al., 2016; Payseur & Rieseberg, 2016). Más que reflejar limitaciones metodológicas, esta discordancia evidencia la coexistencia de señales evolutivas contrastantes, lo que es esperable en sistemas dinámicos con conectividad genética persistente. En conjunto, este patrón es consistente con la dinámica de un singámeon, donde las relaciones entre entidades no se organizan dicotómicamente, sino como una red de conexiones genéticas en la que la variación se distribuye indistintamente entre linajes.

Estos resultados responden al segundo objetivo específico, permitiendo caracterizar la variación genética y su distribución entre los taxones estudiados. La evidencia obtenida revela una baja estructuración genética entre las entidades analizadas, acompañada de señales de ancestría compartida, introgresión y flujo génico, lo que sugiere que los límites genéticos entre taxones no se encuentran completamente definidos. Este patrón contrasta con la diferenciación observada en algunos componentes del fenotipo floral, planteando la necesidad de evaluar el grado de correspondencia entre ambas dimensiones de variación.

### **Fenotipo v/s Genética**

Existen pocos estudios que evalúen explícitamente la correspondencia entre patrones fenotípicos y genéticos en sistemas tipo singámeon (Buck et al., 2023; Cannon & Petit, 2020; Grant, 1981). En complejos de especies, la literatura ha enfatizado la presencia de morfotipos intermedios, los cuales suelen interpretarse como resultado de estados híbridos con herencia intermedia (Arnold, 1997; Mallet et al., 2016). Sin embargo, la evidencia empírica obtenida en este estudio demuestra un predominio claro de una organización fenotípica caracterizada por combinaciones variables de rasgos, lo que es más propio en sistemas con introgresión transgresional (Rieseberg et al., 1999; Seehausen et al., 2014). Este patrón de organización desagregada, tipo mosaico, es común observar cómo distintos caracteres pueden responder de manera parcialmente independiente, lo que limita la correspondencia directa entre fenotipo y genotipo (Folk et al., 2018; Taylor & Larson, 2019). En este contexto, la falta de congruencia entre ambos ejes sugiere que múltiples procesos de interacción interespecífica y otros factores ecológicos o genómicos podrían estar influyendo de manera diferencial en los patrones de variación observados (Harrison & Larson, 2014; Payseur & Rieseberg, 2016). Por lo tanto, evaluar el efecto de variables adicionales se vuelve clave para comprender la estructura de la variación en este sistema.

Los análisis realizados para determinar la conexión entre las tendencias de variación fenotípica y genotípica, con otras variables comúnmente asociadas, tales como la distancia geográfica y distancia ambiental, reflejaron un bajo poder explicativo general. En el caso del fenotipo, solo la hipótesis taxonómica y el ambiente mostraron una contribución relevante (Tabla N°12), sugiriendo que la variación fenotípica floral podría estar guiada mayormente por lineamientos adaptativos por sobre los de aislamiento geográfico; un patrón descrito cuando la selección ambiental afecta significativamente la estructura genética neutral (Endler, 1977; Sork, 2018; VanWalleendael et al., 2019). Esto sugiere que procesos como plasticidad fenotípica o adaptación local podrían estar modulando la variación floral a escalas espaciales finas (Nicotra et al., 2010; Sultan, 2000). Sin embargo, la disminución de la varianza explicada al considerar fracciones independientes y al condicionar por la taxonomía indica que estos efectos no son completamente robustos, lo que sugiere una estructura fenotípica débil o parcialmente dependiente de los factores evaluados.

En contraste, la distancia genética presentó una menor proporción de varianza explicada y una estructura más difusa, donde los predictores evaluados mostraron efectos limitados o inconsistentes (Tabla N°13). Si bien la geografía mostró cierta contribución independiente, su efecto fue reducido y no consistente con patrones esperados bajo modelos clásicos como el aislamiento por distancia (Twyford et al., 2020; Wright, 1943). Asimismo, la falta de una mejora sustancial al condicionar por la taxonomía sugiere una débil correspondencia entre la estructura genética y la clasificación actual. Este patrón sugiere que las distancias genéticas no responden a un modelo de aislamiento por distancia. Esto puede ocurrir cuando procesos como la hibridación o el intercambio genético entre linajes generan patrones de variación genética complejos, derivados de la mezcla de linajes previamente diferenciados (Abbott et al., 2013; Suarez-Gonzalez et al., 2018), lo que dificulta la recuperación de asociaciones claras con variables geográficas, ambientales o taxonómicas.

Además de la falta de asociación entre factores, la correlación entre distancias fenotípicas y genéticas fue marginal, evidenciando un desacople entre ambas dimensiones de variación. Este patrón sugiere que los rasgos fenotípicos podrían estar respondiendo a presiones selectivas locales o a plasticidad ambiental, mientras que la variación genética neutral reflejaría principalmente procesos demográficos y de conectividad entre poblaciones (Hereford, 2009; Nicotra et al., 2010; Sultan, 2000). Considerando la variación observada en *Alstroemeria*, este desacople es consistente con sistemas que se ubican a lo largo de un continuo de especiación, en los cuales la divergencia ocurre en presencia de flujo génico y el aislamiento reproductivo es incompleto, permitiendo la coexistencia de diferenciación fenotípica y conectividad genética entre poblaciones (Stankowski & Ravinet, 2021).

En este contexto, la combinación de bajo poder explicativo, ausencia de estructuración espacial clara, mezcla entre agrupamientos y desacople fenotipo-genotipo es consistente con un escenario de flujo génico persistente y divergencia incompleta, donde la diferenciación entre linajes es limitada (Cannon & Petit, 2020; Folk et al., 2018; Harrison & Larson, 2014; Ravinet et al., 2017). Este conjunto de evidencias refuerza la interpretación de que el sistema estudiado corresponde a una red evolutivamente interconectada, con límites taxonómicos difusos y sin discontinuidades claras entre entidades, un patrón característico de sistemas tipo *ring*.

En consecuencia, los resultados permiten abordar el tercer objetivo específico, evidenciando una correspondencia parcial entre los patrones de variación fenotípica y genotípica. Mientras los análisis colorimétricos sugieren una mayor afinidad entre *A. hookeri* subsp. *recumbens* y *A. angustifolia*, y entre *A. martcorenae* y *A. cummingiana*, los análisis genéticos recuperan un patrón diferente, asociando principalmente a *A. martcorenae* con *A. hookeri* subsp. *recumbens* y a *A. angustifolia* con *A. cummingiana*. Estas diferencias indican que

los patrones de similitud fenotípica no reflejan necesariamente las relaciones genéticas entre los taxones estudiados, sugiriendo que la divergencia fenotípica y genotípica no ha ocurrido de manera completamente concordante dentro del sistema. Esta falta de concordancia plantea interrogantes respecto de la capacidad de las discontinuidades actualmente reconocidas para representar unidades evolutivamente independientes, haciendo necesario reevaluar su correspondencia con la clasificación taxonómica vigente.

### **¿Existe en *Alstroemeria* el modelo Singámeon y cuáles son sus consecuencias en un contexto taxonómico?**

La evidencia obtenida sugiere que los taxones analizados conforman un sistema evolutivo altamente reticulado, caracterizado por una baja diferenciación genética, una transición fenotípica floral difusa y una marcada incongruencia entre ambas fuentes de variación (fenotípica y genética). Este patrón es consistente con el modelo de singámeon, donde múltiples linajes mantienen conectividad a través de flujo génico e introgresión, funcionando más como una red interconectada que como unidades evolutivas discretas (Cannon & Petit, 2020; Grant, 1981). Bajo este escenario, las entidades dentro del grupo de estudio no representarían categorías equivalentes, sino distintos puntos en un continuo de divergencia. Esto explicaría la dificultad de establecer límites taxonómicos cuando se analizan de manera independiente las distintas fuentes de evidencia.

Dentro de este sistema, los resultados de estructura genética y filogenética posicionan a *A. cummingiana* como una especie con un rol central o "hub" (Fig. N° 16), la cual se define como una entidad que hibridiza con otras especies, conectandolas a través de flujo génico (Buck & Flores-Rentería, 2022). Esto se desprende a partir de la presencia de niveles de ancestría o membresía significativos (> 50%) de esta especie dentro de individuos de los otros taxones

analizados (Fig. N° 09 y N° 14). A partir de los análisis fenotípicos, *A. cummingiana* presenta difusos rasgos florales, de los cuales sólo fue posible discriminar mediante el color y bajo un contexto de clasificación supervisada (Fig. N° 06). Interessantemente, este taxón posee una distribución geográfica que converge con los rangos de las otras especies, lo que podría promover su rol de conector (Fig. N° 17).

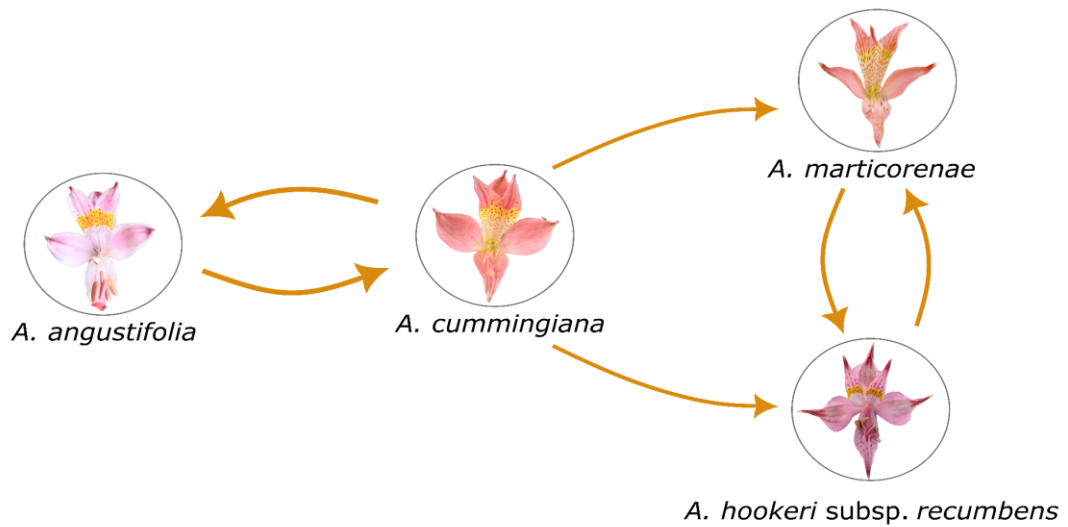


Figura N° 16. Esquema representativo hipotético del singámeon de *A. hookeri* subsp. *recumbens* y especies afines.

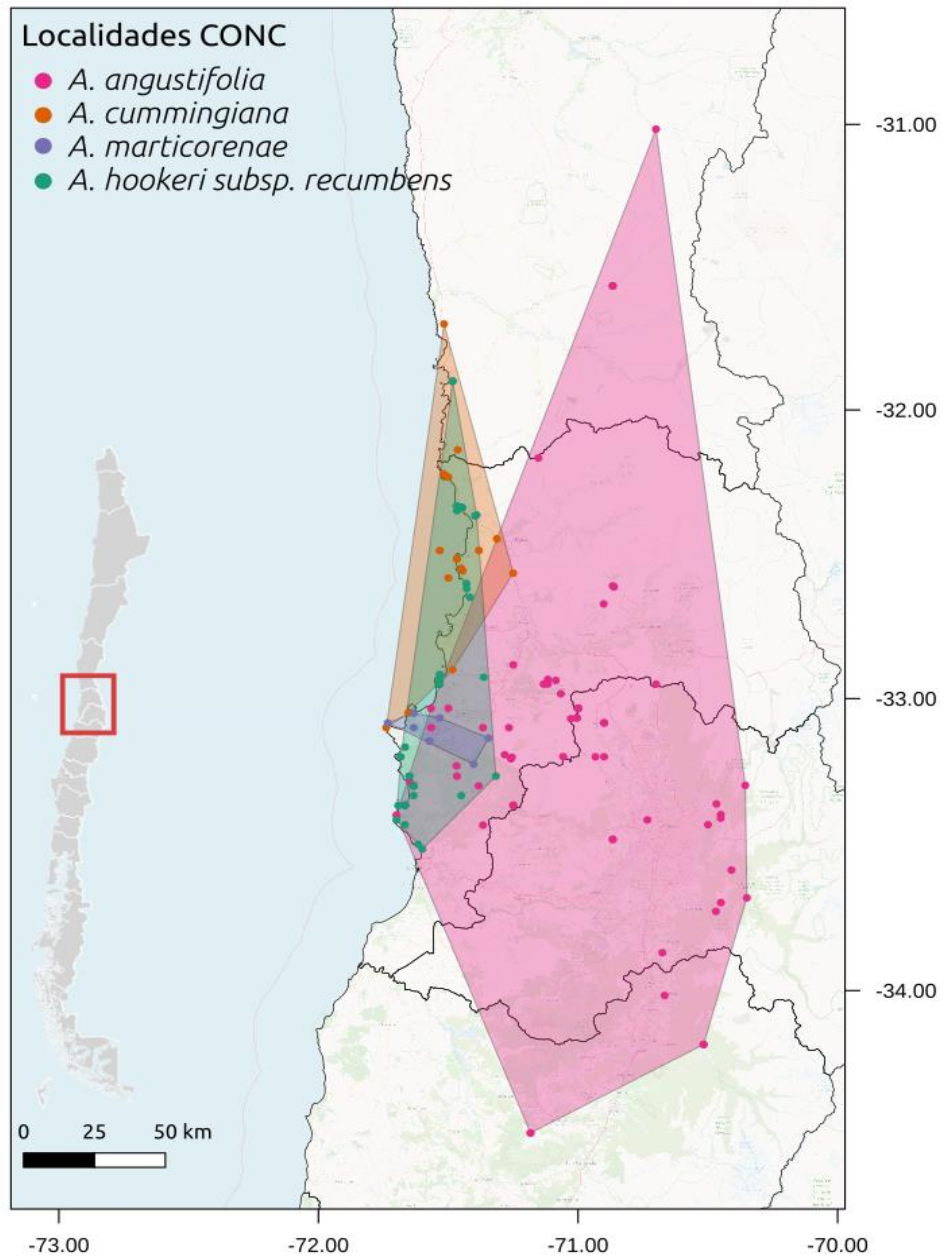


Figura N° 17. Mapa geográfico de *A. hookeri subsp. recumbens* y especies afines basado en ejemplares del herbario CONC.

Adicionalmente, se pueden desprender interacciones genéticas particularmente notorias entre *A. cummingiana* y *A. angustifolia*, así como entre *A. marticorenae* y *A. hookeri* subsp. *recumbens* (Fig. N° 10 y N° 11). Esta última destaca como el linaje con mayor grado de interacción interespecífica, lo que se refleja en su débil estructura poblacional y falta de monofilia, sugiriendo una necesidad crítica de reevaluar su estatus taxonómico, dado que su identidad parece diluirse en la red de hibridación activa con *A. marticorenae*. Desde un punto de vista fenotípico estos pares de especies no aparecen relacionados en términos de similitud, lo que refuerza la idea de límites morfológicos florales difusos entre especies.

En conjunto, estos resultados respaldan los criterios planteados para reconocer una estructura compatible con un singámeon. En primer lugar, los análisis genéticos revelan ancestría compartida entre taxones y evidencian procesos de hibridación e introgresión. En segundo lugar, dichas interacciones involucran al menos 3 entidades taxonómicas, incluyendo a *A. cummingiana*, *A. angustifolia*, *A. marticorenae* y *A. hookeri* subsp. *recumbens*, configurando una red de intercambio génico que excede interacciones aisladas entre pares de especies. Finalmente, los análisis filogenéticos recuperan a los taxones estudiados como linajes estrechamente relacionados y compatibles con un origen común, algunas relaciones internas muestran soportes moderados y ciertos individuos presentan posiciones discordantes respecto de su asignación taxonómica (*A. marticorenae* población OTN 244). Por lo tanto, este criterio puede considerarse parcialmente sustentado, ya que la cercanía evolutiva entre los taxones es evidente, aunque la delimitación de algunos linajes permanece incierta.

En consecuencia, la combinación de evidencia genética, filogenética y fenotípica sugiere la existencia de una estructura reticulada consistente con la hipótesis de un singámeon en el sistema estudiado, aunque futuras evaluaciones con mayor

resolución filogenómica serán necesarias para clarificar completamente las relaciones evolutivas entre sus integrantes.

La coexistencia de una alta variabilidad fenotípica floral con una estructura genética débil sugiere un proceso de especiación asincrónica, en el cual distintos ejes de variación evolucionan a ritmos diferentes y bajo presiones selectivas no coincidentes (De Queiroz, 2007; Nosil, 2012; Seehausen, 2004). En función de este comportamiento de variación, tipo mosaico, se explicaría la presencia de morfotipos atípicos en terreno, donde la recombinación y el retrocruzamiento amplían el rango fenotípico más allá de las descripciones taxonómicas conocidas. Esto fue particularmente evidente en poblaciones como la de Algarrobo (OTN 253), donde individuos atribuidos a *A. hookeri* subsp. *recumbens* mostraron una asignación de ancestría genética a *A. marticorenae*. Interesantemente, dentro de esta población fue posible evidenciar una alta frecuencia de morfotipos florales alternativos, sino aberrantes (Fig. N° 18), los que indicarían un fuerte proceso de recombinación genética con impacto en el fenotipo, tal cual se esperaría en un escenario de introgresión transgresiva (Rieseberg et al., 1999). Este fenómeno también se encontró en otras poblaciones muestreadas, pero con una menor frecuencia e inestabilidad (Fig. N° 18).

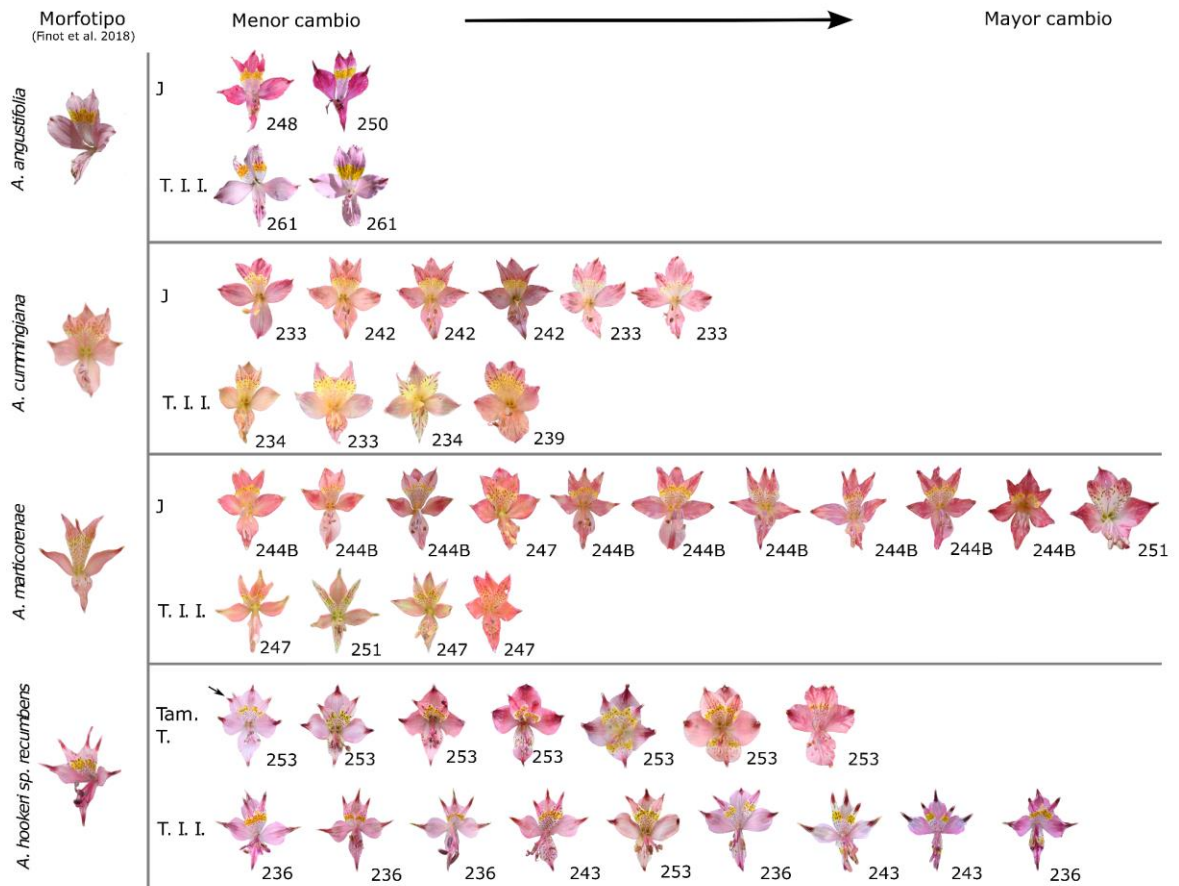


Figura N° 18. Resumen de morfos atípicos encontrados en terreno y en los análisis fenotípicos. Los cambios observados de menor a mayor según el morfotipo encontrado en guías taxonómicas (Finot et al., 2018a). J: Diseño jaspeado en los tépalos. T.I.I.: Diseño del tépalo inferior interno. Tam. T.: Tamaño de los tépalos. Flecha en *A. hookeri* subsp. *recumbens* indica el tépalo extra.

Estos hallazgos cuestionan el rol de la morfología floral como criterio diagnóstico primario en *Alstroemeria*. Si bien el fenotipo floral es informativo, su alta labilidad y el flujo génico persistente exigen un enfoque integrativo. En la práctica, la delimitación de especies en este grupo ha estado históricamente apoyada en criterios adicionales, como la especificidad de hábitat (ej. suelos arenosos en *A. hookeri* y la estabilidad de los cariotipos (Baeza et al., 2010; Negritto et al., 2015),

emergen como herramientas necesarias para distinguir linajes donde la morfología resulta insuficiente. Por lo tanto, las futuras revisiones taxonómicas deben abandonar la dependencia exclusiva de caracteres discretos y reconocer explícitamente la naturaleza dinámica y los límites difusos de este sistema.

Si bien la evidencia obtenida respalda esta interpretación, existen algunas consideraciones que deben ser tenidas en cuenta al evaluar el alcance de los resultados. Es necesario reconocer que, si bien este estudio captura múltiples dimensiones de variación, la cobertura de muestreo podría no representar la totalidad de la diversidad existente. Esta limitación es particularmente relevante en el contexto del complejo *A. hookeri*, ya que no fue posible incluir *A. hookeri* subsp. *maculata*, uno de los taxones con distribución norte reconocidos dentro del complejo. En consecuencia, las inferencias realizadas deben interpretarse en función de las entidades efectivamente analizadas y no necesariamente como una representación completa de todo el complejo. Para consolidar la hipótesis del singámeon, es fundamental que futuros trabajos incluyan taxones y subespecies no considerados aquí (e.g., *A. hookeri* subsp. *hookeri*, *A. hookeri* subsp. *sansebastiana*, *A. hookeri* subsp. *maculata*, etc.). Solo un muestreo geográfico y genómico exhaustivo permitirá determinar si la conectividad observada es un rasgo generalizado en el grupo de especies de Chile central.

A su vez, los patrones observados son consistentes con escenarios de hibridación, introgresión y flujo génico persistente, la evidencia presentada es principalmente indirecta y se basa en inferencias derivadas de la estructura genética, las relaciones filogenéticas y la distribución de la variación fenotípica. Por esto, los resultados deben interpretarse como compatibles con la hipótesis de un singámeon más que como una demostración directa de los procesos reproductivos. Estudios futuros que incorporen análisis explícitos de hibridación/introgresión o esquemas experimentales de cruzamientos dirigidos

permitirán evaluar de manera más robusta la naturaleza y magnitud de estas interacciones evolutivas.

Otra consideración a tener en cuenta es que parte de la variación fenotípica podría estar afectada por los patrones temporales de la fenología floral en *Alstroemeria*. Si bien las especies estudiadas florecen durante primavera-verano (Finot et al., 2018a; Muñoz-Schick & Moreira-Muñoz, 2003), se ha documentado que la morfología floral puede variar a lo largo del periodo de antesis y senescencia. Observaciones en invernadero con *A. ligtu* y *A. hookeri* han evidenciado cambios en la disposición de los tépalos durante la maduración floral (Toro-Núñez, pers. comm.), lo que podría influir en la caracterización morfológica de los individuos. Esto se relaciona con el corto periodo de maduración floral protándrica (8–10 días), que limita la ventana de polinización y puede afectar la expresión fenotípica observada (Aizen & Basilio, 1995; Souto et al., 2002). Estas observaciones podrían realizarse bajo un esquema de cruzamientos dirigidos, con la finalidad de determinar la viabilidad de sus híbridos y evaluar la estabilidad de sus caracteres fenotípicos florales.

Estos resultados permiten responder al cuarto objetivo específico, indicando que las discontinuidades observadas no corresponden completamente con la propuesta taxonómica actual. La presencia de ancestría compartida, límites genéticos difusos y señales de intercambio génico entre taxones sugiere que algunas entidades podrían no representar linajes evolutivamente independientes. En consecuencia, la clasificación actualmente reconocida parece describir de manera incompleta la diversidad biológica presente en el sistema, la cual es más consistente con una estructura reticulada compatible con un singámeon.

## CONCLUSIÓN

Este estudio evaluó si los taxones de *Alstroemeria* analizados (*A. hookeri* subsp *recumbens*, *A. angustifolia*, *A. martcorenae* y *A. cummingiana*) pueden ser interpretados como parte de un singámeon, bajo la hipótesis de ausencia de discontinuidades fenotípicas y genotípicas congruentes con la clasificación taxonómica actualmente propuesta. Para ello, se caracterizó la variación fenotípica mediante rasgos morfométricos y colorimetría floral, se analizó la estructura de la variación genética y se evaluó la correspondencia entre ambos niveles de evidencia, además de contrastar estos patrones con la delimitación taxonómica vigente.

Los resultados no respaldan la existencia de unidades discretas claramente separadas, ya que tanto la evidencia fenotípica como la genética muestran un patrón altamente heterogéneo, caracterizado por combinaciones no congruentes de rasgos, variación intraespecífica elevada y ausencia de agrupamientos consistentes entre los distintos niveles de análisis. En conjunto, se observa una estructura fenotípica de tipo mosaico, donde los caracteres no se expresan de manera uniforme entre individuos, y una señal genética que no se ajusta completamente a la partición taxonómica tradicional. Esta incongruencia entre ejes de evidencia sugiere que las entidades estudiadas podrían no corresponder a unidades evolutivas completamente discretas, sino a formar parte de un sistema con conectividad persistente y límites difusos, consistente con la hipótesis de un singámeon.

Desde una perspectiva evolutiva, estos patrones son compatibles con la existencia de un sistema reticulado en el cual el flujo génico y la introgresión contribuyen a la reorganización de combinaciones fenotípicas y a la falta de correspondencia entre caracteres, dificultando la identificación de límites interespecíficos claros. En este contexto, la taxonomía tradicional podría no

capturar completamente la estructura real del sistema, lo que refuerza la necesidad de enfoques integrativos que consideren explícitamente la complejidad y el desacople entre fenotipo y genotipo.

Finalmente, los resultados plantean nuevas preguntas sobre los procesos que generan y mantienen el patrón fenotípico de tipo mosaico, particularmente en relación con la naturaleza de los eventos de hibridación e introgresión involucrados. En este sentido, la variación detectada sugiere que los fenotipos no corresponden únicamente a productos híbridos simples de primera generación, sino a combinaciones más complejas derivadas de múltiples eventos de recombinación y retrocruzamiento dentro de un sistema reticulado. Esto abre la posibilidad de que la expresión fenotípica esté modulada no solo por la estructura genética subyacente, sino también por interacciones ecológicas aún no caracterizadas, como las relaciones con polinizadores y la potencial participación de múltiples entidades no consideradas en la dinámica de las especies estudiadas. Por lo tanto, sería deseable abordar en futuros estudios con enfoques integrativos de mayor resolución, con la finalidad de comprender la dinámica evolutiva y evaluar con mayor precisión la hipótesis de singámeon, junto a la mención de la presencia de estos fenotipos no tradicionales en futuras guías taxonómicas.

## BIBLIOGRAFÍA

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. <https://doi.org/10.1043/0363-6445-28.1.47>

Abbott, R., Albach, D., Ansell, S., Arntzen, J. W., Baird, S. J. E., Bierne, N., Boughman, J., Brelsford, A., Buerkle, C. A., Buggs, R., Butlin, R. K., Dieckmann, U., Eroukhmanoff, F., Grill, A., Cahan, S. H., Hermansen, J. S., Hewitt, G., Hudson, A. G., Jiggins, C., ... Zinner, D. (2013). Hybridization and speciation\*. *Journal of Evolutionary Biology*, 26(2), 229–246. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2012.02599.x>

Adams, M., Raadik, T. A., BurrIDGE, C. P., & Georges, A. (2014). Global Biodiversity Assessment and Hyper-Cryptic Species Complexes: More Than One Species of Elephant in the Room? *Systematic Biology*, 63(4), 518–533. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syu017>

Aizen, M. A., & Basilio, A. (1995). Within and among flower sex-phase distribution in *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae). *Canadian Journal of Botany*, 73(12), 1986–1994. <https://doi.org/10.1139/b95-213>

Alexander, P. J., Windham, M. D., Beck, J. B., Al-Shehbaz, I. A., Allphin, L., & Bailey, C. D. (2015). Weaving a Tangled Web: Divergent and Reticulate Speciation in *Boechera fendleri* sensu lato (Brassicaceae: Boechereae). *Systematic Botany*, 40(2), 572–596. <https://doi.org/10.1600/036364415X688745>

Allendorf, F. W., Luikart, G. H., & Aitken, S. N. (2012). *Conservation and the Genetics of Populations*. John Wiley & Sons.

Arnold, M. L. (1997). *Natural Hybridization and Evolution*. Oxford University Press, USA.

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. <https://doi.org/10.1007/s10681-019-2415-4>

Baeza, C., Finot, V. L., & Ruiz, E. (2015). Comparative karyotype analysis of populations in the *Alstroemeria presliana* Herbert (*Alstroemeriaceae*) complex in Chile. *Genetics and Molecular Biology*, 38, 199–204. <https://doi.org/10.1590/S1415-4757382220140277>

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(1), 305–313. <https://doi.org/10.1007/s40415-015-0220-4>

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. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2017-0157>

Baeza, C. M., & Ruiz, E. (2011). *Alstroemeria hookeri* Lodd. Subsp. *Sansebastianana* C.M.Baeza & E.Ruiz, nueva para la flora de Chile. *Gayana Botánica*, 68(2), 313–315. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432011000200019>

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. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572010005000012>

Barve, N., Barve, V., Jiménez-Valverde, A., Lira-Noriega, A., Maher, S. P., Peterson, A. T., Soberón, J., & Villalobos, F. (2011). The crucial role of the accessible area in ecological niche modeling and species distribution modeling. *Ecological Modelling*, 222(11), 1810–1819. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2011.02.011>

Bayer, E. (1987). Die gattung alstroemeria in Chile. *Mitt. Bot. Staatssammlung Munchen*, 24, 1–362.

Beaudry, J. R. (1960). The species concept: Its evolution and present status. *Revue Canadienne de Biologie*, 19, 219–240.

Bock, D. G., Cai, Z., Elphinstone, C., González-Segovia, E., Hirabayashi, K., Huang, K., Keais, G. L., Kim, A., Owens, G. L., & Rieseberg, L. H. (2023). Genomics of plant speciation. *Plant Communications*, 4(5). <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2023.100599>

Boecklen, W. J. (2017). Topology of syngameons. *Ecology and Evolution*, 7(24), 10486–10491. <https://doi.org/10.1002/ece3.3507>

Bolnick, D. I., Hund, A. K., Nosil, P., Peng, F., Ravinet, M., Stankowski, S., Subramanian, S., Wolf, J. B. W., & Yukilevich, R. (2023). A multivariate view of the speciation continuum. *Evolution*, 77(1), 318–328. <https://doi.org/10.1093/evolut/qpac004>

Bonhomme, V., Picq, S., Gaucherel, C., & Claude, J. (2014). Momocs: Outline

Analysis Using R. *Journal of Statistical Software*, 56, 1–24.  
<https://doi.org/10.18637/jss.v056.i13>

Bridgen, M. P. (2018). Alstroemeria. In J. Van Huylbroeck (Ed.), *Ornamental Crops* (pp. 231–236). Springer International Publishing.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-319-90698-0\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-319-90698-0_10)

Buck, R., & Flores-Rentería, L. (2022). The Syngameon Enigma. *Plants*, 11(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/plants11070895>

Buck, R., Ortega-Del Vecchyo, D., Gehring, C., Michelson, R., Flores-Rentería, D., Klein, B., Whipple, A. V., & Flores-Rentería, L. (2023). Sequential hybridization may have facilitated ecological transitions in the Southwestern pinyon pine syngameon. *New Phytologist*, 237(6), 2435–2449.  
<https://doi.org/10.1111/nph.18543>

Cadena, C. D., Zapata, F., & Jiménez, I. (2018). Issues and Perspectives in Species Delimitation using Phenotypic Data: Atlantean Evolution in Darwin's Finches. *Systematic Biology*, 67(2), 181–194.  
<https://doi.org/10.1093/sysbio/syx071>

Cannon, C. H., & Ler dau, M. (2015). Variable mating behaviors and the maintenance of tropical biodiversity. *Frontiers in Genetics*, 6.  
<https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00183>

Cannon, C. H., & Petit, R. J. (2020). The oak syngameon: More than the sum of its parts. *New Phytologist*, 226(4), 978–983. <https://doi.org/10.1111/nph.16091>

Carstens, B. C., Pelletier, T. A., Reid, N. M., & Satler, J. D. (2013). How to fail at species delimitation. *Molecular Ecology*, 22(17), 4369–4383.  
<https://doi.org/10.1111/mec.12413>

Caujapé-Castells, J. (2011). Jesters, red queens, boomerangs and surfers: A molecular outlook on the diversity of the Canarian endemic flora. In D. Bramwell & J. Caujapé-Castells (Eds.), *The Biology of Island Floras* (1st ed., pp. 284–324). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511844270.013>

Cavender-Bares, J. (2019). Diversification, adaptation, and community assembly of the American oaks (*Quercus*), a model clade for integrating ecology and evolution. *New Phytologist*, *221*(2), 669–692. <https://doi.org/10.1111/nph.15450>

Chang, J., Nakamura, K., Chao, C., Luo, M., & Liao, P. (2023). Ghost introgression facilitates genomic divergence of a sympatric cryptic lineage in *Cycas revoluta*. *Ecology and Evolution*, *13*(8), e10435. <https://doi.org/10.1002/ece3.10435>

Chifman, J., & Kubatko, L. (2014). Quartet Inference from SNP Data Under the Coalescent Model. *Bioinformatics*, *30*(23), 3317–3324. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu530>

Claude, J. (2008). *Morphometrics with R*. Springer Science & Business Media.  
Cope, J. S., Corney, D., Clark, J. Y., Remagnino, P., & Wilkin, P. (2012). Plant species identification using digital morphometrics: A review. *Expert Systems with Applications*, *39*(8), 7562–7573. <https://doi.org/10.1016/j.eswa.2012.01.073>

Cronk, Q. C., & Suarez-Gonzalez, A. (2018). The role of interspecific hybridization in adaptive potential at range margins. *Molecular Ecology*, *27*(23), 4653–4656. <https://doi.org/10.1111/mec.14927>

Cuénto, E. (1952). L'évolution Biologique. *Revista Portuguesa de Filosofia*, *8*(1), 99–100.

Danecek, P., Auton, A., Abecasis, G., Albers, C. A., Banks, E., DePristo, M. A., Handsaker, R. E., Lunter, G., Marth, G. T., Sherry, S. T., McVean, G., & Durbin, R. (2011). The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, 27(15), 2156–2158. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr330>

Davies, K. M., Albert, N. W., & Schwinn, K. E. (2012). From landing lights to mimicry: The molecular regulation of flower colouration and mechanisms for pigmentation patterning. *Functional Plant Biology*, 39(8), 619–638. <https://doi.org/10.1071/FP12195>

De Queiroz, K. (2007). Species Concepts and Species Delimitation. *Systematic Biology*, 56(6), 879–886. <https://doi.org/10.1080/10635150701701083>

Degnan, J. H., & Rosenberg, N. A. (2009). Gene tree discordance, phylogenetic inference and the multispecies coalescent. *Trends in Ecology & Evolution*, 24(6), 332–340. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.01.009>

Du Rietz, G. E. (1930). *The fundamental units of biological taxonomy*. Svensk Botaniska Foreningen Uppsala, Sweden.

Eaton, D. A. R., & Overcast, I. (2020). ipyrad: Interactive assembly and analysis of RADseq datasets. *Bioinformatics*, 36(8), 2592–2594. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz966>

Elizondo, J. E., & Maestre, L. P. (2005). Fundamentos de procesamiento de imágenes. *Mexicali: Universidad Autónoma de Baja California*.

Endler, J. A. (1977). *Geographic Variation, Speciation, and Clines*. Princeton University Press.

Endler, J. A. (1992). Signals, Signal Conditions, and the Direction of Evolution. *The American Naturalist*, 139, S125–S153. <https://doi.org/10.1086/285308>

Fenster, C. B., Armbruster, W. S., Wilson, P., Dudash, M. R., & Thomson, J. D. (2004). Pollination Syndromes and Floral Specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 35(Volume 35, 2004), 375–403. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132347>

Fick, S. E., & Hijmans, R. J. (2017). WorldClim 2: New 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 37(12), 4302–4315. <https://doi.org/10.1002/joc.5086>

Finot, V., Baeza, C., Muñoz-Schick, M., Ruiz, E., Espejo, J., Alarcón, D., Carrasco, P., Novoa, P., & Eyzaguirre, M. T. (2018a). *Alstroemerias chilenas: Guía de campo*. Corma.

Finot, V. L., Baeza, C. M., Ruiz, E., Carrasco, P., & Melín, P. S. (2016). Análisis Colorimétrico Y Morfométrico De La Flor De Alstroemeria Presliana (alstroemeriaceae). *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 10(1), 89–108.

Finot, V. L., Baeza, C. M., Ruiz, E., Toro, O., & Carrasco, P. (2018b). Towards an Integrative Taxonomy of the Genus Alstroemeria (Alstroemeriaceae) in Chile: A Comprehensive Review. In B. Şen & O. Grillo (Eds.), *Selected Studies in Biodiversity*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71823>

Flot, J.-F. (2015). Species Delimitation's Coming of Age. *Systematic Biology*, 64(6), 897–899. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syv071>

Flot, J.-F., Couloux, A., & Tillier, S. (2010). Haplowebs as a graphical tool for

delimiting species: A revival of Doyle's "field for recombination" approach and its application to the coral genus *Pocillopora* in Clipperton. *BMC Evolutionary Biology*, 10(1), 372. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-372>

Folk, R. A., Soltis, P. S., Soltis, D. E., & Guralnick, R. (2018). New prospects in the detection and comparative analysis of hybridization in the tree of life. *American Journal of Botany*, 105(3), 364–375. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1018>

Frichot, E., & François, O. (2015). LEA: An R package for landscape and ecological association studies. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(8), 925–929. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12382>

Frichot, E., Mathieu, F., Trouillon, T., Bouchard, G., & François, O. (2014). Fast and Efficient Estimation of Individual Ancestry Coefficients. *Genetics*, 196(4), 973–983. <https://doi.org/10.1534/genetics.113.160572>

Goudet, J., & Jombart, T. (2024). *hierfstat: Estimation and Tests of Hierarchical F-Statistics* [HTML]. <https://github.com/jgx65/hierfstat> (Original work published 2015)

Grant, V. (1981). *Plant Speciation*. Columbia University Press. <https://doi.org/10.7312/gran92318>

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. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syq010>

Gurevich, A., Saveliev, V., Vyahhi, N., & Tesler, G. (2013). QUASt: Quality

assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics*, 29(8), 1072–1075. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt086>

Harrison, R. G., & Larson, E. L. (2014). Hybridization, Introgression, and the Nature of Species Boundaries. *Journal of Heredity*, 105(S1), 795–809. <https://doi.org/10.1093/jhered/esu033>

Hausdorf, B., & Hennig, C. (2010). Species Delimitation Using Dominant and Codominant Multilocus Markers. *Systematic Biology*, 59(5), 491–503. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syq039>

Hedrén, M., Fay, M. F., & Chase, M. W. (2001). Amplified fragment length polymorphisms (AFLP) reveal details of polyploid evolution in *Dactyloporhiza* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 88(10), 1868–1880. <https://doi.org/10.2307/3558363>

Hereford, J. (2009). A Quantitative Survey of Local Adaptation and Fitness Trade-Offs. *The American Naturalist*, 173(5), 579–588. <https://doi.org/10.1086/597611>

Hernández-Ruíz, J., Herrera-Cabrera, B. E., & Delgado-Alvarado, A. (2019). Variación morfológica del labelo de *Vanilla pompona* (Orchidaceae) en Oaxaca, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 90. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2019.90.2209>

Hernández-Velasco, J., Hernández-Díaz, J. C., Simental-Rodríguez, S. L., Jaramillo-Correa, J. P., Gernandt, D. S., Vargas-Hernández, J. J., Porth, I., Goessen, R., González-Elizondo, M. S., Fladung, M., Sáenz-Romero, C., Martínez-Ávalos, J. G., Carrillo-Parra, A., Mendoza-Maya, E., Blanco-García, A., & Wehenkel, C. (2025). Causes of heterozygosity excess: The case of Mexican

populations of *Populus tremuloides*. *Plant Diversity*, 47(3), 415–428.  
<https://doi.org/10.1016/j.pld.2024.12.006>

Hijmans, R. J. (2020). terra: Spatial Data Analysis. *CRAN: Contributed Packages*.  
<https://doi.org/10.32614/cran.package.terra>

Hoang, D. T., Chernomor, O., Von Haeseler, A., Minh, B. Q., & Vinh, L. S. (2018). UFBoot2: Improving the Ultrafast Bootstrap Approximation. *Molecular Biology and Evolution*, 35(2), 518–522. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx281>

Holsinger, K. E., & Weir, B. S. (2009). Genetics in geographically structured populations: Defining, estimating and interpreting  $F_{ST}$ . *Nature Reviews Genetics*, 10(9), 639–650. <https://doi.org/10.1038/nrg2611>

Hurley, J. R., & Cattell, R. B. (1962). The Procrustes program: Producing direct rotation to test a hypothesized factor structure. *Behavioral Science*, 7(2), 258.

Huson, D. H., & Bryant, D. (2006). Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies. *Molecular Biology and Evolution*, 23(2), 254–267.  
<https://doi.org/10.1093/molbev/msj030>

IQ-TREE Development Team. (2025). IQ-TREE 2 compilation guide. Disponible en: <http://www.iqtree.org/doc/iqtree-doc.pdf>

Irish, V. F. (2009). Evolution of petal identity. *Journal of Experimental Botany*, 60(9), 2517–2527. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp159>

Janes, J. K., Miller, J. M., Dupuis, J. R., Malenfant, R. M., Gorrell, J. C., Cullingham, C. I., & Andrew, R. L. (2017). The  $K = 2$  conundrum. *Molecular Ecology*, 26(14), 3594–3602. <https://doi.org/10.1111/mec.14187>

Jombart, T. (2008). adegenet: A R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24(11), 1403–1405. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>

Kagawa, K., & Seehausen, O. (2020). The propagation of admixture-derived adaptive radiation potential. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 287(1934), 20200941. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.0941>

Kalyaanamoorthy, S., Minh, B. Q., Wong, T. K. F., von Haeseler, A., & Jermini, L. S. (2017). ModelFinder: Fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods*, 14(6), 587–589. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4285>

Kim, D., Song, L., Breitwieser, F. P., & Salzberg, S. L. (2016). Centrifuge: Rapid and sensitive classification of metagenomic sequences. *Genome Research*, 26(12), 1721–1729. <https://doi.org/10.1101/gr.210641.116>

Knaus, B. J., & Grünwald, N. J. (2017). vcfr: A package to manipulate and visualize variant call format data in R. *Molecular Ecology Resources*, 17(1), 44–53. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12549>

Legendre, P., & Anderson, M. J. (1999). Distance-Based Redundancy Analysis: Testing Multispecies Responses in Multifactorial Ecological Experiments. *Ecological Monographs*, 69(1), 1–24. [https://doi.org/10.1890/0012-9615\(1999\)069\[0001:DBRATM\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9615(1999)069[0001:DBRATM]2.0.CO;2)

Legendre, P., & Legendre, L. (2012). *Numerical Ecology*. Elsevier.

Lenz, L. (1959). Hybridization and Speciation in the Pacific Coast Irises. *Aliso*, 4(2), 237–309. <https://doi.org/10.5642/aliso.19590402.03>

López-Caamal, A., & Tovar-Sánchez, E. (2014). Genetic, morphological, and chemical patterns of plant hybridization. *Revista Chilena de Historia Natural*, 87(1), 16. <https://doi.org/10.1186/s40693-014-0016-0>

Lotsy, J. P. (1925). Species or linneon. *Genetica*, 7(5–6), 487–506. <https://doi.org/10.1007/BF01676287>

Lyshede, O. B. (2002). Comparative and functional leaf anatomy of selected Alstroemeriaceae of mainly Chilean origin. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 140(3), 261–272. <https://doi.org/10.1046/j.1095-8339.2002.00091.x>

Mallet, J. (2005). Hybridization as an invasion of the genome. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(5), 229–237. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.02.010>

Mallet, J. (2007). Hybrid speciation. *Nature*, 446(7133), 279–283. <https://doi.org/10.1038/nature05706>

Mallet, J., Besansky, N., & Hahn, M. W. (2016). How reticulated are species? *BioEssays*, 38(2), 140–149. <https://doi.org/10.1002/bies.201500149>

Mayr, E. (1942). *Systematics and the Origin of Species*. Columbia University Press.

Meirmans, P. G., & Hedrick, P. W. (2011). Assessing population structure:  $F_{ST}$  and related measures. *Molecular Ecology Resources*, 11(1), 5–18. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02927.x>

Mikheenko, A., Prijibelski, A., Saveliev, V., Antipov, D., & Gurevich, A. (2018). Versatile genome assembly evaluation with QUASt-LG. *Bioinformatics*, 34(13),

i142–i150. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty266>

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. <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa015>

Muñoz-Schick, M., & Moreira-Muñoz, A. (2003). Alstroemerias de Chile: Diversidad, distribución y conservación. *Taller La Era, Santiago, Chile*.

Negritto, M. A., Baeza, C. M., Ruiz, E., & Novoa, P. (2015). *Alstroemeria marticorenae* (Alstroemeriaceae), a new species from central Chile. *Systematic Botany*, 40(1), 69–74.

Nei, M. (1972). Genetic distance between populations. *The American Naturalist*, 106(949), 283–292.

Nicotra, A. B., Atkin, O. K., Bonser, S. P., Davidson, A. M., Finnegan, E. J., Mathesius, U., Poot, P., Purugganan, M. D., Richards, C. L., Valladares, F., & Kleunen, M. van. (2010). Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends in Plant Science*, 15(12), 684–692. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.09.008>

Nosil, P. (2012). *Ecological Speciation*. Oxford University Press.

Oksanen, J., Kindt, R., Legendre, P., O'Hara, B., Stevens, M. H. H., Oksanen, M. J., & Suggests, M. (2007). *The vegan package. Community ecology package*, 10 (631–637), 719.

O'Leary, N. A., Wright, M. W., Brister, J. R., Ciufu, S., Haddad, D., McVeigh, R., Rajput, B., Robbertse, B., Smith-White, B., Ako-Adjei, D., Astashyn, A., Badretdin,

A., Bao, Y., Blinkova, O., Brover, V., Chetvernin, V., Choi, J., Cox, E., Ermolaeva, O., ... Pruitt, K. D. (2016). Reference sequence (RefSeq) database at NCBI: Current status, taxonomic expansion, and functional annotation. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D733-745. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1189>

Pang, X., & Zhang, D. (2025). A cautionary note on using STRUCTURE to detect hybridization in a phylogenetic context. *Journal of Systematics and Evolution*, 63(6), 1560–1576. <https://doi.org/10.1111/jse.70013>

Payseur, B. A., & Rieseberg, L. H. (2016). A genomic perspective on hybridization and speciation. *Molecular Ecology*, 25(11), 2337–2360. <https://doi.org/10.1111/mec.13557>

Pfennig, K. S., Kelly, A. L., & Pierce, A. A. (2016). Hybridization as a facilitator of species range expansion. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1839), 20161329.

Photoroom Inc. 2024. Photoroom (Versión 4.8.6) [Aplicación Móvil]. Disponible en: <https://www.photoroom.com/>

Pinheiro, F., Dantas-Queiroz, M. V., & Palma-Silva, C. (2018). Plant species complexes as models to understand speciation and evolution: A review of South American studies. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 37(1), 54–80.

Pinheiro, F., De BARROS, F., Palma-Silva, C., Meyer, D., Fay, M. F., Suzuki, R. M., Lexer, C., & Cozzolino, S. (2010). Hybridization and introgression across different ploidy levels in the Neotropical orchids *Epidendrum fulgens* and *E. puniceoluteum* (Orchidaceae). *Molecular Ecology*, 19(18), 3981–3994. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04780.x>

Podani, J., & Miklós, I. (2002). Resemblance coefficients and the horseshoe effect in principal coordinates analysis. *Ecology*, 83(12), 3331–3343. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2002\)083\[3331:RCATHE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2002)083[3331:RCATHE]2.0.CO;2)

Posit team (2025). RStudio: Integrated Development Environment for R. Posit Software, PBC, Boston, MA. URL <http://www.posit.co/>.

Prjibelski, A., Antipov, D., Meleshko, D., Lapidus, A., & Korobeynikov, A. (2020). Using SPAdes De Novo Assembler. *Current Protocols in Bioinformatics*, 70(1), e102. <https://doi.org/10.1002/cpbi.102>

R Core Team (2025). *\_R: A Language and Environment for Statistical Computing\_*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>

Rasband, W.S., ImageJ, U. S. 1997-2018. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <https://imagej.nih.gov/ij/>.

Ravinet, M., Faria, R., Butlin, R. K., Galindo, J., Bierne, N., Rafajlović, M., Noor, M. A. F., Mehlig, B., & Westram, A. M. (2017). Interpreting the genomic landscape of speciation: A road map for finding barriers to gene flow. *Journal of Evolutionary Biology*, 30(8), 1450–1477. <https://doi.org/10.1111/jeb.13047>

Rieseberg, L. H., Archer, M. A., & Wayne, R. K. (1999). Transgressive segregation, adaptation and speciation. *Heredity*, 83(4), 363–372. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6886170>

Rieseberg, L. H., Ellstrand, N. C., & Arnold, M. (1993). What Can Molecular and

Morphological Markers Tell Us About Plant Hybridization? *Critical Reviews in Plant Sciences*, 12(3), 213–241. <https://doi.org/10.1080/07352689309701902>

Rodriguez, R., Marticorena, C., Alarcón, D., Baeza, C., Cavieres, L., Finot, V. L., Fuentes, N., Kiessling, A., Mihoc, M., Pauchard, A., Ruiz, E., Sanchez, P., Marticorena, A., Rodriguez, R., Marticorena, C., Alarcón, D., Baeza, C., Cavieres, L., Finot, V. L., ... Marticorena, A. (2018). Catálogo de las plantas vasculares de Chile. *Gayana. Botánica*, 75(1), 1–430. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432018000100001>

Rubner, Y., Tomasi, C., & Guibas, L. J. (2000). The Earth Mover's Distance as a Metric for Image Retrieval. *International Journal of Computer Vision*, 40(2), 99–121. <https://doi.org/10.1023/A:1026543900054>

Ruiz, E., Balboa, K., Negritto, M. A., Baeza, C. M., Fuentes, G., & Briceño, V. (2010). Variabilidad genética y morfológica y estructuración poblacional en *Alstroemeria hookeri* subsp. *Hookeri* (Alstroemeriaceae), endémica de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 83(4), 605–616. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2010000400013>

Ruiz Lozano, A. F. (2023). *Análisis morfométrico de tépalos para la delimitación de entidades del complejo Alstroemeria hookeri Lodd.* <https://repositorio.udec.cl/handle/11594/11271>

Sanso, A. M. (1996). El Género *Alstroemeria* (alstroemeriaceae) En Argentina. *Darwiniana*, 34(1/4), 349–382.

Schwedersky, M. B., Scopel, M., Tallini, L. R., Bastida, J., Souza-Chies, T. T., Oleas, N. H., & Zuanazzi, J. A. S. (2020). Genetic diversity and chemical profile

of *Rhodophiala bifida* populations from Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 30(3), 427-431.

Scrucca, L., Fraley, C., Murphy, T. B., & Adrian E., R. (2023). *Model-Based Clustering, Classification, and Density Estimation Using mclust in R* (1st ed.). Chapman and Hall/CRC. <https://doi.org/10.1201/9781003277965>

Scrucca, L., & Raftery, A. E. (2018). **clustvarsel**: A Package Implementing Variable Selection for Gaussian Model-Based Clustering in R. *Journal of Statistical Software*, 84(1). <https://doi.org/10.18637/jss.v084.i01>

Seehausen, O. (2004). Hybridization and adaptive radiation. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(4), 198–207. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.01.003>

Seehausen, O., Butlin, R. K., Keller, I., Wagner, C. E., Boughman, J. W., Hohenlohe, P. A., Peichel, C. L., Saetre, G.-P., Bank, C., Brännström, Å., Brelsford, A., Clarkson, C. S., Eroukhmanoff, F., Feder, J. L., Fischer, M. C., Foote, A. D., Franchini, P., Jiggins, C. D., Jones, F. C., ... Widmer, A. (2014). Genomics and the origin of species. *Nature Reviews Genetics*, 15(3), 176–192. <https://doi.org/10.1038/nrg3644>

Shinoda, K., & Murata, N. (2003). Cross-compatibility in Interspecific Hybridization of Fifteen *Alstroemeria* Species. *Engei Gakkai Zasshi*, 72(6), 557–561. <https://doi.org/10.2503/jjshs.72.557>

Shipunov, A. B., & Bateman, R. M. (2005). Geometric morphometrics as a tool for understanding *Dactylorhiza* (Orchidaceae) diversity in European Russia. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85(1), 1–12. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2005.00468.x>

Sites, J. W., & Marshall, J. C. (2003). Delimiting species: A Renaissance issue in systematic biology. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(9), 462–470. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(03\)00184-8](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(03)00184-8)

Smith, S. D. (2016). Pleiotropy and the evolution of floral integration. *New Phytologist*, 209(1), 80–85. <https://doi.org/10.1111/nph.13583>

Sobel, J. M., Chen, G. F., Watt, L. R., & Schemske, D. W. (2010). THE BIOLOGY OF SPECIATION. *Evolution*, 64(2), 295–315. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00877.x>

Soltis, P. S., & Soltis, D. E. (2009). The Role of Hybridization in Plant Speciation. *Annual Review of Plant Biology*, 60(Volume 60, 2009), 561–588. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.043008.092039>

Sork, V. L. (2018). Genomic Studies of Local Adaptation in Natural Plant Populations. *Journal of Heredity*, 109(1), 3–15. <https://doi.org/10.1093/jhered/esx091>

Souto, C. P., Aizen, M. A., & Premoli, A. C. (2002). Effects of crossing distance and genetic relatedness on pollen performance in *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae). *American Journal of Botany*, 89(3), 427–432. <https://doi.org/10.3732/ajb.89.3.427>

Stace, C. A. (1989). *Plant Taxonomy and Biosystematics*. Cambridge University Press.

Stankowski, S., & Ravinet, M. (2021). Defining the speciation continuum. *Evolution*, 75(6), 1256–1273. <https://doi.org/10.1111/evo.14215>

Stiehl-Alves, E. M., Kaltchuk-Santos, E., Eggers, L., & Souza-Chies, T. T. (2017). Using a Population Genetics Approach for a Preliminary Investigation concerning Species Boundaries in *Herbertia* (Iridaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 178(6), 439–449. <https://doi.org/10.1086/692014>

Stoeckel, S., Grange, J., Fernández-Manjarres, J. F., Bilger, I., Frascaria-Lacoste, N., & Mariette, S. (2006). Heterozygote excess in a self-incompatible and partially clonal forest tree species—*Prunus avium* L. *Molecular Ecology*, 15(8), 2109–2118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.02926.x>

Stuessy, T. F. (2009). *Plant Taxonomy: The Systematic Evaluation of Comparative Data*. Columbia University Press.

Stull, G. W., Pham, K. K., Soltis, P. S., & Soltis, D. E. (2023). Deep reticulation: The long legacy of hybridization in vascular plant evolution. *The Plant Journal*, 114(4), 743–766. <https://doi.org/10.1111/tpj.16142>

Suarez-Gonzalez, A., Lexer, C., & Cronk, Q. C. B. (2018). Adaptive introgression: A plant perspective. *Biology Letters*, 14(3), 20170688. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2017.0688>

Sultan, S. E. (2000). Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science*, 5(12), 537–542. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01797-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01797-0)

Suyama, Y., & Matsuki, Y. (2015). MIG-seq: An effective PCR-based method for genome-wide single-nucleotide polymorphism genotyping using the next-generation sequencing platform. *Scientific Reports*, 5(1), 16963. <https://doi.org/10.1038/srep16963>

Swofford, D. (2002). PAUP<sup>\*</sup>. Phylogenetic analysis using parsimony (\*and other methods). *Sinauer Associates*. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1570572699367204224>

Tanaka, Y., Sasaki, N., & Ohmiya, A. (2008). Biosynthesis of plant pigments: Anthocyanins, betalains and carotenoids. *The Plant Journal*, *54*(4), 733–749. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03447.x>

Taylor, S. A., & Larson, E. L. (2019). Insights from genomes into the evolutionary importance and prevalence of hybridization in nature. *Nature Ecology & Evolution*, *3*(2), 170–177. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0777-y>

Templeton, A. R. (1989). The Meaning of Species and Speciation: A Genetic Perspective. In D. Otte & J. A. Endler (Eds.), *Speciation and its Consequences* (pp. 3–27). Sinauer Associates.

The GIMP Development Team. 2019. GIMP (Version 2.10.12). Retrieved from <https://www.gimp.org>.

Touchette, L., Godbout, J., Lamothe, M., Porth, I., & Isabel, N. (2024). A cryptic syngameon within *Betula* shrubs revealed: Implications for conservation in changing subarctic environments. *Evolutionary Applications*, *17*(4), e13689. <https://doi.org/10.1111/eva.13689>

Tremetsberger, K., Ortiz, M. Á., Terrab, A., Balao, F., Casimiro-Soriguer, R., Talavera, M., & Talavera, S. (2016). Phylogeography above the species level for perennial species in a composite genus. *AoB PLANTS*, *8*, plv142. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plv142>

Twyford, A. D., & Ennos, R. A. (2012). Next-generation hybridization and introgression. *Heredity*, *108*(3), 179–189. <https://doi.org/10.1038/hdy.2011.68>

Twyford, A. D., Wong, E. L. Y., & Friedman, J. (2020). Multi-level patterns of genetic structure and isolation by distance in the widespread plant *Mimulus guttatus*. *Heredity*, *125*(4), 227–239. <https://doi.org/10.1038/s41437-020-0335-7>

Valcárcel, V., & Vargas, P. (2010). Quantitative morphology and species delimitation under the general lineage concept: Optimization for *Hedera* (Araliaceae). *American Journal of Botany*, *97*(9), 1555–1573. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000115>

Van Belleghem, S. M., Papa, R., Ortiz-Zuazaga, H., Hendrickx, F., Jiggins, C. D., Owen McMillan, W., & Counterman, B. A. (2018). patternize: An R package for quantifying colour pattern variation. *Methods in Ecology and Evolution*, *9*(2), 390–398. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12853>

Van Valen, L. (1976). Ecological Species, Multispecies, and Oaks. *Taxon*, *25*(2/3), 233–239. <https://doi.org/10.2307/1219444>

VanWallendael, A., Soltani, A., Emery, N. C., Peixoto, M. M., Olsen, J., & Lowry, D. B. (2019). A Molecular View of Plant Local Adaptation: Incorporating Stress-Response Networks. *Annual Review of Plant Biology*, *70*(Volume 70, 2019), 559–583. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100114>

Villalobos, N. I., Baeza, C. M., Finot, V. L., Toro-Núñez, Ó., Ruiz-Ponce, E., Takayama, K., Noda, H., Collado, G. A., & Mora-Poblete, F. (2024). “*Alstroemeria maxima* (Alstroemeriaceae, Alstroemerieae), a hidden giant” revealed through integrative taxonomy. *Brazilian Journal of Botany*, *47*(3), 649–669. <https://doi.org/10.1007/s40415-024-01017-8>

Villalobos, N. I., Finot, V. L., Toro-Núñez, O., Baeza, C., Ruiz, E., Carrasco, P., Campos, J., & Melín, P. (2023). Morpho-colorimetric characterization of the

perigonium of the *Alstroemeria pulchra* complex (Alstroemeriaceae, Alstroemerieae) as an aid to delimit its infraspecific taxa. *Phytotaxa*, 622(3), 173–190. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.622.3.1>

Viveros-Antonio, C., Delgado-Alvarado, A., Bustamante-González, A., Hernández-Ruíz, J., Arévalo-Galarza, M. de L., & Herrera-Cabrera, B. E. (2023). *Vanilla pompona* Schiede (Vanilloideae-Orchidaceae): Morphological Variation of the Labellum in the Mexican Localities of Veracruz, Puebla, Jalisco and Oaxaca. *Diversity*, 15(11), 1125. <https://doi.org/10.3390/d15111125>

Wang, I. J., & Bradburd, G. S. (2014). Isolation by environment. *Molecular Ecology*, 23(23), 5649–5662. <https://doi.org/10.1111/mec.12938>

Waser, N. M., & Campbell, D. R. (2004). Ecological speciation in flowering plants. *Adaptive Speciation*, 264–277.

Weller, H. I., & Westneat, M. W. (2019). Quantitative color profiling of digital images with earth mover's distance using the R package colordistance. *PeerJ*, 7, e6398. <https://doi.org/10.7717/peerj.6398>

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

Wright, S. (1943). Isolation by Distance. *Genetics*, 28(2), 114–138. <https://doi.org/10.1093/genetics/28.2.114>

Zelditch, M., Swiderski, D., & Sheets, H. D. (2012). *Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer*. Academic Press.

# ANEXO

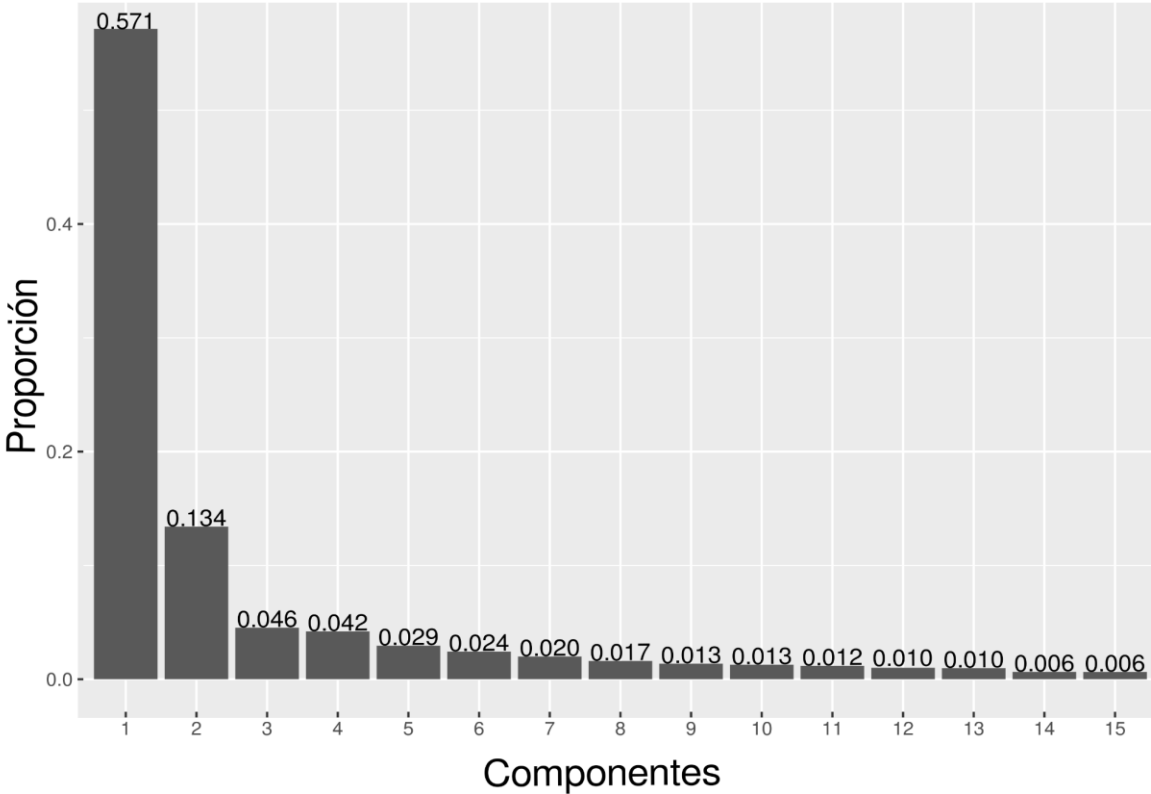


Figura A1. Resumen de la proporción de los componentes principales.

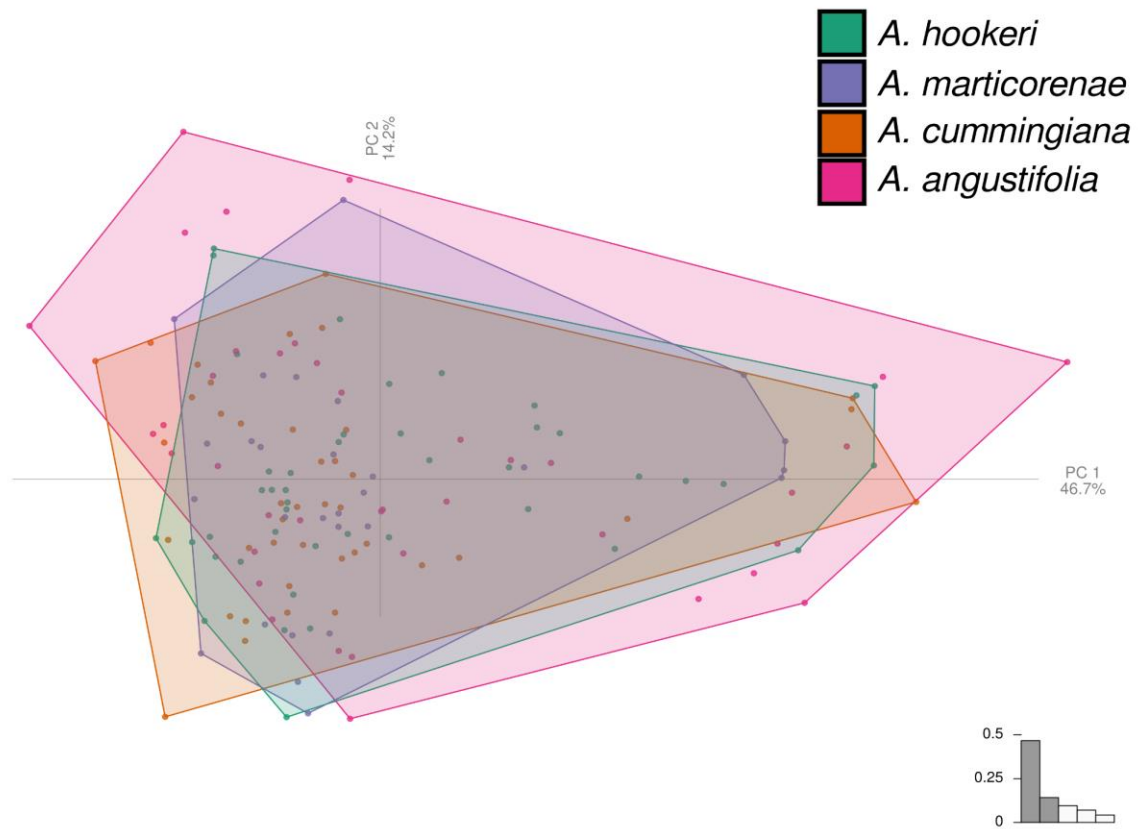


Figura A2. Análisis de componentes principales de la forma de la flor por especie en el morfoespacio, basado en el ordenamiento de los dos primeros componentes con remoción de asimetría.

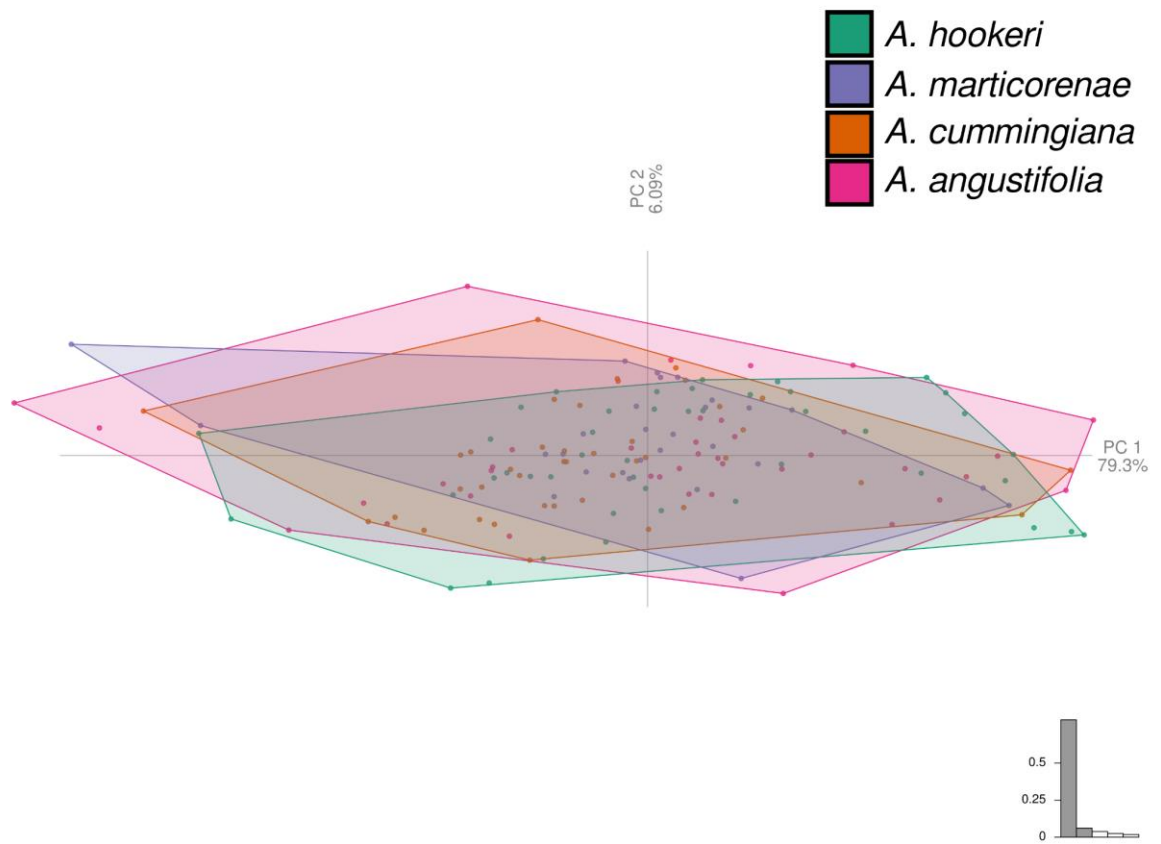


Figura A3. Análisis de componentes principales de la forma de la flor por especie en el morfoespacio, basado en el ordenamiento de los dos primeros componentes con remoción de simetría.

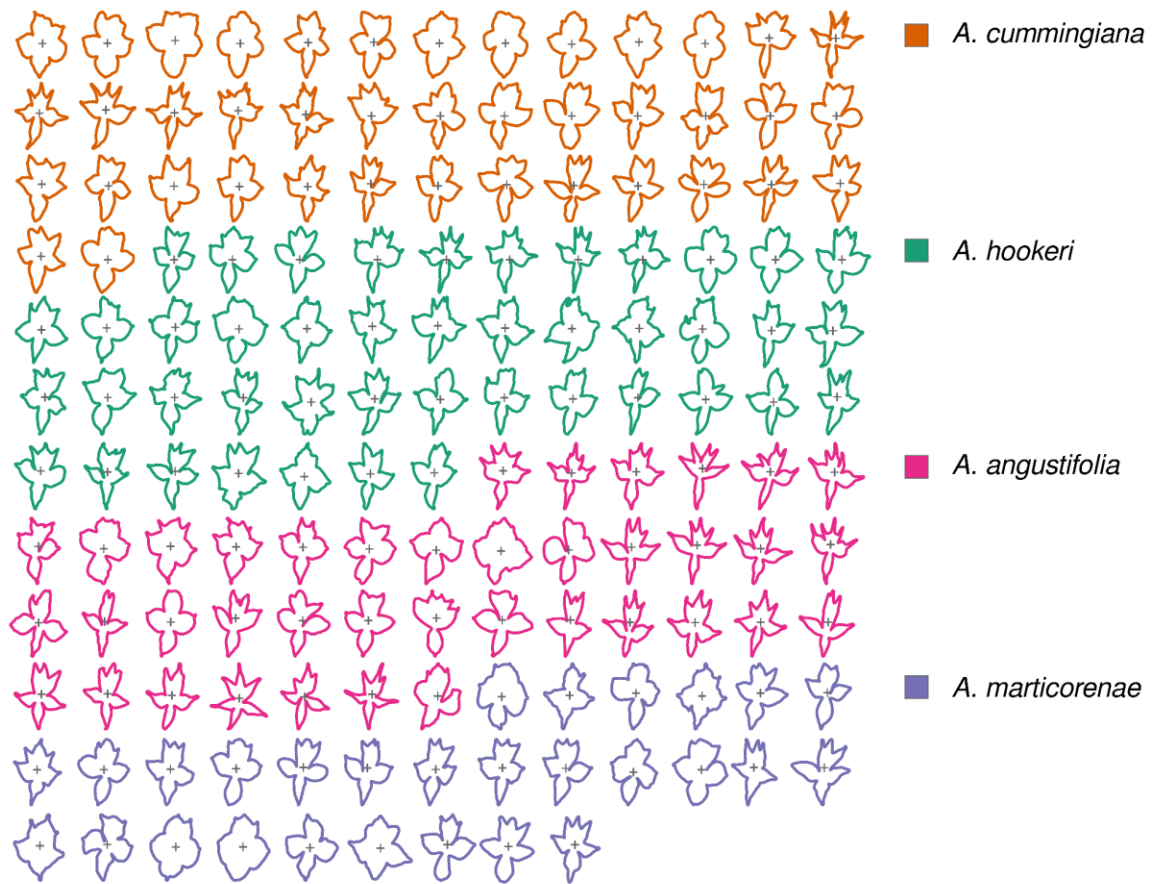


Figura A4. Formas retratadas de los taxones estudiados obtenidos por el análisis de Procrustes.

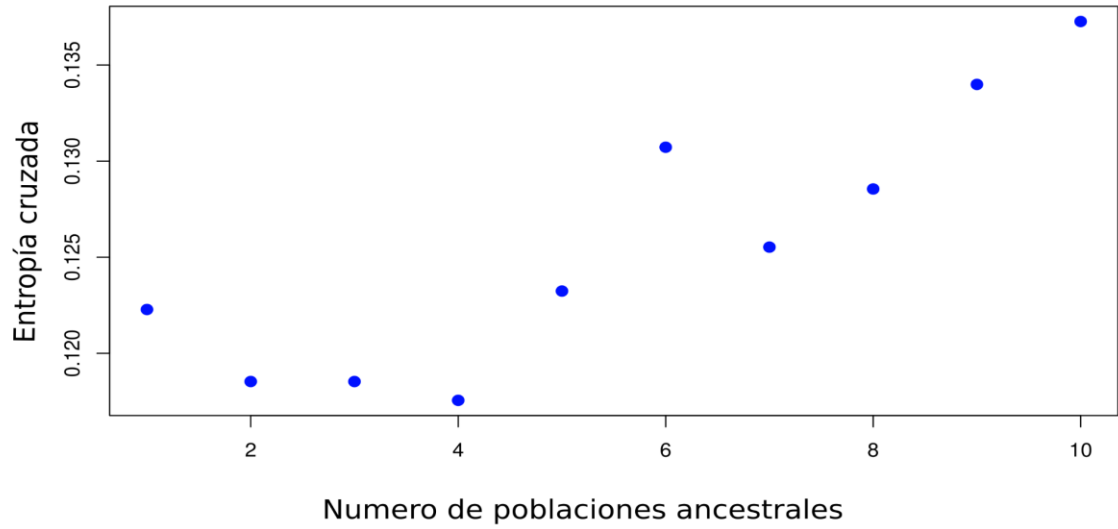


Figura A5. Resumen del cálculo del K óptimo en SNMF.

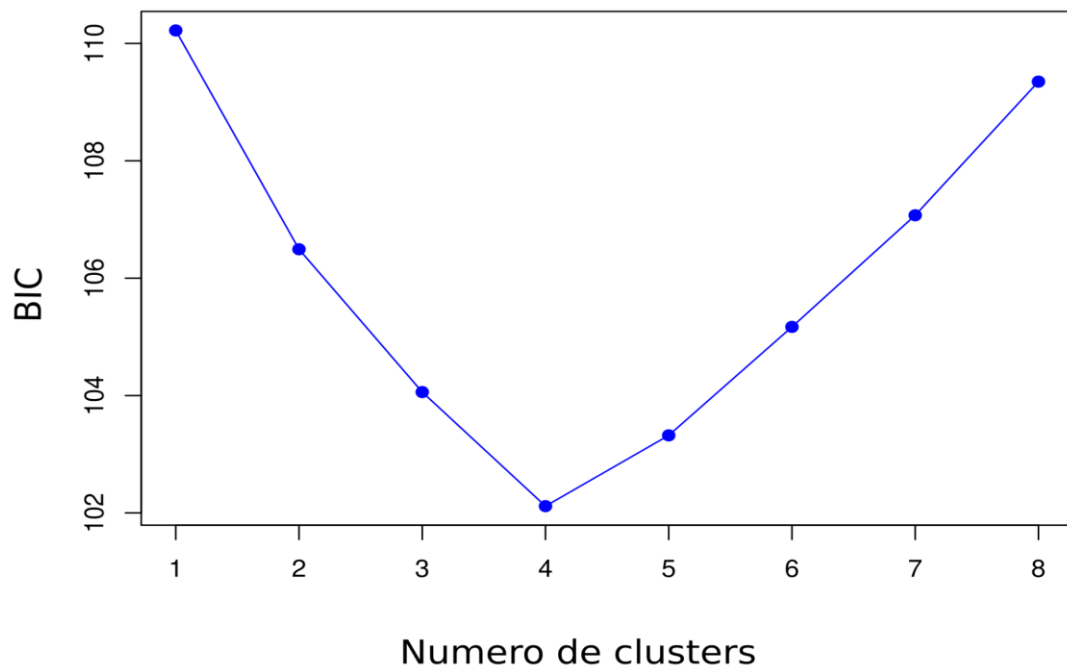


Figura A6. Resumen del cálculo del K óptimo en DAPC.

Tabla A1. Resumen de los valores K de ambos métodos. En el método SNMF los valores K varían al momento del análisis por lo que se consideró un valor promedio de los K en 10 intentos consecutivos. En el caso de DAPC el valor del K óptimo fue constante.

	K=1	K=2	K=3	K=4	K=5	K=6	K=7	K=8	K=9	K=10
SNMF	0.1614818	0.1573117	0.1576599	0.1571463	0.1599795	0.1637447	0.1663124	0.1680018	0.1709408	0.1747436
DAPC	110.2212	106.4928	104.0594	102.1155	103.3215	105.1698	107.0721	109.3491	–	–