



Universidad de Concepción

Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas

Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas área Botánica

**ESTUDIO TAXONÓMICO DEL COMPLEJO *ALSTROEMERIA PULCHRA*
(ALSTROEMERIACEAE) DESDE UNA PERSPECTIVA INTEGRATIVA**

**Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
para optar al grado académico de Doctor en Ciencias Biológicas área
Botánica**

Por: Nicolás Ignacio Villalobos Villalobos

Profesor guía: Dr. Carlos Marcelo Baeza P.

marzo 2024

Concepción, Chile

DERECHOS DE AUTOR

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos o educativos, por cualquier medio o procedimiento, siempre y cuando se incluya la correspondiente cita bibliográfica del documento.

Profesor guía: Dr. Carlos Marcelo Baeza P.

Departamento de Botánica
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción

Profesor co-guía: Dr. Eduardo Ruiz Ponce

Departamento de Botánica
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción

Profesor co-guía: Dr. Óscar Toro-Núñez

Departamento de Botánica
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción

Evaluador: Dr. Patricio López S.

Departamento de Botánica
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción

Evaluador externo: Dr. Fredy Mora-Poblete

Instituto de Ciencias Biológicas, Área de Biodiversidad
Universidad de Talca

Dr. Pablo Guerrero M.

Director
Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas área Botánica
Departamento de Botánica
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción

*“Yo me pregunto viendo el diente pálido de un tépalo, el regazo perfecto de sus
íntimos lunares, el suave fuego de su simetría, ¿cómo se preparó bajo la
tierra?, ¿cómo donde no había sino polvo, pedruscos o ceniza, surgió incitante,
pura, aderezada, encrespando en la vida su hermosura?”*

Fragmento de “Alstroemeria” de Pablo Neruda.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco la ayuda brindada desde los inicios de mis estudios de postgrado a los profesores de la Universidad del Bío-Bío por su apoyo permanente de manera personal y profesional en mi formación. A los Sres. Patricio Chandía, Gonzalo Collado Gerardo Cabello, Luis Lillo y Cristian Torres. A las curadoras de los herbarios, Alicia Marticorena (CONC) y Gloria Rojas (SGO) por su buena disposición en facilitar y conseguir el material necesario para este estudio. Al Sr. Jorge Campos por su apoyo y asesoría en los análisis estadísticos. A mis profesores guías Marcelo Baeza, Eduardo Ruiz, Oscar Toro, Freddy Mora y a los profesores del programa de Doctorado en Ciencias Biológicas área Botánica, a la Universidad de Concepción por las becas otorgadas, que sin ellas no hubiese sido posible realizar mis estudios de postgrado. Al los Sres. Koji Takayama e Hiroshi Noda por su ayuda en la obtención de datos mediante MIG-seq. Al Sr. Pablo Guerrero por su disposición como director del programa de Doctorado. A mi familia y amigos quienes me han brindado su apoyo, a mi pareja Marcia, mi madre Gladys y mi hermano Tomás que sin su apoyo y comprensión no habría salido adelante. Agradezco al profesor Víctor L. Finot, por su buena disposición, enseñanza y paciencia, quien desde el inicio me ha entregado el conocimiento para culminar mi tesis y sabios consejos en el ámbito académico y personal.

TABLA DE CONTENIDO

Derechos de autor	2
Agradecimientos	5
Tabla de contenido	6
Índice de tablas	7
Índice de figuras	8
RESUMEN.....	11
INTRODUCCIÓN.....	1
Estudios taxonómicos en <i>Alstroemeria</i>	3
Estudios morfométricos en <i>Alstroemeria</i>	5
Estudios colorimétricos en <i>Alstroemeria</i>	7
Estudios citológicos en <i>Alstroemeria</i>	9
Estudios genéticos en <i>Alstroemeria</i>	10
Taxonomía Integrativa	14
Complejo <i>Alstroemeria pulchra</i>	15
Hipótesis.....	19
Objetivo general.....	19
Objetivos específicos	20
CAPÍTULO 1: CARACTERIZACIÓN MORFO-COLORIMÉTRICA DEL PERIGONIO DE <i>ALSTROEMERIA PULCHRA</i> (ALSTROEMERIACEAE) COMO UNA AYUDA PARA DELIMITAR SUS TAXA INFRAESPECÍFICOS	21
Introducción.....	22
Materiales y métodos	29
Muestreo	29
Morfometría tradicional.....	32
Color principal y reflectancia de los tépalos.....	32
Digitalización	33
Caracterización de los patrones de máculas	34
Caracterización de la proporción de colores.....	35
Contorno de los tépalos	36
Análisis multivariado.....	36
Resultados	39
Color principal de los tépalos y reflectancia.....	39
Proporción de colores	43
Patrones de máculas.....	43
Medidas morfométricas tradicionales	44
Contorno de los tépalos.	45

Análisis discriminante lineal (ADL)	46
Discusión.....	50
Capítulo 2: Revelando las relaciones infraespecíficas de <i>Alstroemeria pulchra</i> desde una perspectiva integrativa	56
Introducción.....	57
Materiales y métodos	62
Análisis citológico.....	62
Extracción de ADN.....	63
Amplificación, secuenciación y análisis cpADN.....	64
Secuenciación y análisis MIG-seq.....	65
Relaciones filogenéticas y estructura genética	66
Modelos de distribución de especies (SDMs)	68
Resultados	72
Análisis citológicos	72
Relaciones filogenéticas y estructura genética	74
Modelos de distribución de especies (SDMs).....	82
Discusión.....	84
Conclusión	89
Tratamiento taxonómico	91
<i>Alstroemeria maxima</i> (Phil.) N. Villalobos y C.M. Baeza <i>comb. y stat. nov.</i> ...	91
<i>Alstroemeria pulchra</i> Sims.....	98
Clave para reconocer las subespecies de <i>Alstroemeria pulchra</i> Sims.....	98
Conclusiones	110
Bibliografía.....	113

ÍNDICE DE TABLAS

CAPÍTULO 1

Tabla 1. Colectores, número de población, ID, localidad, fecha de recolección y datos de GPS de las poblaciones de <i>A. pulchra</i> incluidas en este estudio. Población incluida en cada aproximación: CL: colorimetría CIELab, CD: Colordistance, PTT: Patternize, GM: Morfometría geométrica, TM: Morfometría tradicional.	29
Tabla 2. Variables colorimétricas y morfológicas derivadas del perigonio de <i>Alstroemeria pulchra</i> con sus rangos/unidades, incluidas en los análisis multivariados.....	39
Tabla 3. Promedio y desviación estándar de cada una de las coordenadas colorimétricas CIELAB y medias morfométricas entre los taxones infraespecíficos de <i>A. pulchra</i> sometidos a ANOVA. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los grupos basado en test a posteriori de Tukey. !: variables analizadas bajo ANOVA no paramétrico (Kruskal-Wallis).....	40
Tabla 4. Tabla con resultados de la validación cruzada obtenida del Análisis discriminante lineal entre los grupos <i>A. pulchra</i> subsp. <i>pulchra</i> (<i>A. pulchra</i> var. <i>pulchra</i> y <i>A. pulchra</i> var. <i>maxima</i>) y <i>A. pulchra</i> subsp. <i>lavandulacea</i> . DM Distancia de Mahalanobis calculada entre los centroides de cada grupo. Error promedio entre las aproximaciones evaluadas: 12.12%.....	47
Tabla 5. Resultado validación cruzada de ADL entre los grupos <i>A. pulchra</i> var. <i>pulchra</i> and <i>A. pulchra</i> var. <i>maxima</i> . DM. Distancia de Mahalanobis entre los centroides de los grupos obtenidos. Error promedio de las aproximaciones evaluadas: 10.75%.....	48
CAPÍTULO 2	
Tabla 1. Especies e información de colecta de las poblaciones incluidas para los estudios citológicos y moleculares del presente estudio. * Poblaciones consideradas para análisis citológico.....	70
Tabla 2. Valores de índices cariotípicos entre los taxones infraespecíficos de <i>A. pulchra</i> : (mínimo-máximo) promedio \pm desviación estándar. *Diferencia estadísticamente significativa ($p>0,05$) basado en la prueba de Tukey-Kramer implementado en el ANOVA.....	73

ÍNDICE DE FIGURAS

INTRODUCCIÓN

Figura 1. A. Distribución geográfica de <i>Alstroemeria</i> (puntos azules) y <i>Bomarea</i> (puntos rojos) en Sudamérica. El sombreado, indica precipitación anual en milímetros. B. Taxones de <i>Alstroemeria</i> por país (Sanso 1996, Assis 2001, Muñoz-Schick y Moreira, 2003, Assis y Mello-Silva 2002, Finot et al., 2018a). C. Distribución del género <i>Alstroemeria</i> en Chile, basado en las colecciones de los herbarios CONC y SGO. A: Modificado de Chacón et al., 2012b; B y C: Modificado de Finot et al., 2018a.	2
---	---

CAPÍTULO 1

Figura 1. Tépalos prensados y digitalizados de <i>A. pulchra</i> var. <i>pulchra</i> (Villalobos 18). Fuente: elaboración propia.	21
Figura 2. Diversidad floral del complejo <i>A. pulchra</i>	28
Figura 3. Mapa poblaciones de <i>A. pulchra</i> evaluadas en estudio morfo-colorimétrico. Fuente: Elaboración propia.	31
Figura 4. Tépalos prensados y digitalizados de <i>A. pulchra</i> var. <i>pulchra</i> (Villalobos 18). Fuente: Elaboración propia.	32
Figura 5. Reflectancia de tépalos externos (a), internos inferiores(b) e internos superiores(c) por taxa infraespecífico de <i>A. pulchra</i> dentro del espectro visible (400-700 nm). Fuente: Elaboración propia.	41
Figura 6. PCA obtenidos de los datos de colorimetría(a), reflectancia(b), proporción de colores(c), y patrón de máculas(d). Fuente: Elaboración propia.	44
Figura 7. PCA obtenidos de los datos de: A. morfometría lineal(a); B. morfometría geométrica de los tépalos externos; C. morfometría geométrica de los tépalos internos superiores; D. Análisis combinado de datos de morfometría geométrica y patrones de máculas. Fuente: Elaboración propia.	46
Figura 8. Análisis discriminante datos combinados de datos de morfometría geométrica de los tépalos externos y patrones de máculas de los tépalos internos superiores Fuente: Elaboración propia.	50

CAPÍTULO 2

Figura 1. Flor de <i>Alstroemeria maxima</i> . Fuente: Elaboración propia.	56
Figura 2. Cariotipos e ideogramas de <i>A. pulchra</i> var. <i>pulchra</i> (a); <i>A. pulchra</i> subsp. <i>lavandulacea</i> (b) y <i>A. pulchra</i> var. <i>maxima</i> (c). Fuente: Elaboración propia.	73
Figura 3. Gráficos de puntos con valores de índices cariotípicos entre los taxones de <i>A. pulchra</i> . a. CV _{CL} v/s LTC; b. M _{CA} v/s LTC; c. M _{CA} v/s CV _{CL} . CV _{CL} : coeficiente de variación del largo de los cromosomas; M _{CA} : índice de asimetría de la media centromérica; LTC: longitud total de los cromosomas (µm). Cada círculo representa un individuo diferente, círculos verdes: <i>A. pulchra</i> var. <i>maxima</i> ; círculos rojos: <i>A. pulchra</i> var. <i>pulchra</i> ; círculos cian: <i>A. pulchra</i> subsp. <i>lavandulacea</i> . Fuente: Elaboración propia.	74
Figura 4. Árbol ML de cpDNA de las regiones concatenadas <i>trnL-trnF</i> , <i>rpL16</i> y <i>petA-psbJ</i> . Solo se muestran los valores de soporte de aquellas ramas bien soportadas. Fuente: Elaboración propia.	76
Figura 5. Árbol ML obtenido con 827 SNPs. Solo se muestran los valores de soporte de aquellas ramas bien soportadas. Fuente: Elaboración propia.	76
Figura 6. Izquierda: Valores de Delta K en base al número de clúster genéticos obtenidos del análisis de STRUCTURE determinados mediante el método de Evanno et al. (2005) implementado en Structure Harvester. Derecha: gráfico valores BIC versus número de clústeres genéticos obtenidos mediante la función findclusters en el paquete adegenet (Jombart y Ahmed, 2011). Línea roja indica el número óptimo de clúster genéticos determinados. Fuente: Elaboración propia.	78

Figura 7. Clústeres obtenidos mediante inferencia bayesiana utilizando STRUCTURE. Se incluyeron individuos de P (<i>Alstroemeria pelegrina</i>), HO (<i>A. hookeri</i>), LG (<i>A. ligtu</i>), MG (<i>A. magnifica</i>), MAX (<i>A. pulchra</i> var. <i>maxima</i>), PUL (<i>A. pulchra</i> var. <i>pulchra</i>), LAV (<i>A. pulchra</i> subsp. <i>lavandulacea</i>) basado en 872 SNPs. Cada barra representa la estructura genética de cada individuo particionada en segmentos que indican su presencia dentro de los clústeres genéticos determinados (k). Cada color representa un clúster genético diferente. Fuente: Elaboración propia.	79
Figura 8. Mapa con gráficos que representan la estructura genética de los SNPs nucleares de las distintas poblaciones de <i>Alstroemeria</i> analizadas mediante STRUCTURE. Colores: Clústeres genéticos; Números: N° de colecta de las poblaciones estudiadas (tabla 1); Fondo: elevación: blanco 0 m s.m., negro 6.000 m. s.m. Fuente: Elaboración propia.	79
Figura 9. Grupos genéticos identificados mediante DAPC basado en 571 SNPs. Las elipses representan el 95% de la variabilidad genética estimada para el grupo. Fuente: Elaboración propia.	80
Figura 10. Red filogenética no enraizada incluyendo los tres taxa infraespecíficos de <i>A. pulchra</i> a partir de los datos de SNPs, basado en distancia sin corregir de P.	81
Figura 11. El gráfico de la izquierda muestra estos índices en el espacio ambiental: condiciones ambientales cubiertas por el nicho de la especie 1 (azul), condiciones ambientales cubiertas por el nicho de la especie 2 (rojo). El histograma de la derecha muestra los resultados de una prueba de similitud de nicho. Superposiciones de nichos "nulos" (gris). Superposición observada (rojo).	83
Figura 12. Resumen de las aproximaciones utilizadas en la diferenciación de los taxones infraespecíficos del complejo <i>A. pulchra</i> (columnas). KA: Cariotipos; cpDNA: filogenia regiones cloroplastidiales; ST: Structure, DAPC: Análisis discriminante de componentes principales, ambos análisis fueron realizados con los datos obtenidos mediante MIG-seq; ENM: Modelamiento de Nicho ecológico (métrica de D); MG: Morfometría geométrica; COL: Colorimetría; PAT: Patrones de máculas. *Caracteres evaluados en un trabajo anterior (Villalobos et al., 2023).	91
Figura 13. <i>Alstroemeria maxima</i> . A. Inflorescencia; B. Flor; C. plantas en su hábitat; D. Tallos estériles. Escala 1 cm. Fotografías N. Villalobos et al., (11) A y B: 10-2017, C y D: 8-2022. Fuente: Elaboración propia.	97
Figura 14. Puntos de ocurrencia y distribución potencial en base a colectas y datos de herbario de <i>A. maxima</i> consideradas en este estudio.	98
Figura 15. <i>Alstroemeria pulchra</i> subsp. <i>pulchra</i> . a, b, c: Variación floral; d: estado vegetativo. Fotografías: a: N. Villalobos y P. Carrasco (23); b: N. Villalobos y P. Carrasco (20); c, d: N. Villalobos et al. (11).	105
Figura 16. Puntos de presencia (amarillos) y distribución potencial (rojo) (idoneidad ambiental) estimado con MaxEnt de <i>Alstroemeria pulchra</i> subsp. <i>pulchra</i> , extensión, polígono convexo mínimo basado en los puntos de presencia de las muestras revisadas en este estudio. Elevación en m s.n.m.	106
Figura 17. <i>Alstroemeria pulchra</i> subsp. <i>lavandulacea</i> . a, b: flores; c: frutos (capsulas); d. hojas en estado vegetativo. Fotografías: a. N. Villalobos et al. (01), b, c: N. Villalobos (50), d: N. Villalobos y M. Gatica 10.	109
Figura 18. Puntos de ocurrencia y distribución potencial (idoneidad Ambiental) estimado con MaxEnt para <i>A. pulchra</i> subsp. <i>lavandulacea</i> , extensión, polígono mínimo convexo. Elevación en m s.n.m.	110

RESUMEN

Esta tesis doctoral se centró en la caracterización detallada del complejo *Alstroemeria pulchra*, utilizando un enfoque integrativo que combinó análisis morfo-colorimétricos, citológicos, moleculares y ecológicos para discernir unidades taxonómicas discretas. A través de métodos avanzados en morfometría geométrica y análisis colorimétricos, se logró una cuantificación y comparación precisa de la morfología y coloración florales, destacando la diferenciación de *Alstroemeria pulchra* var. *maxima* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* de *A. pulchra* var. *pulchra*. Los análisis discriminantes destacaron la capacidad de estos caracteres para diferenciar taxones, especialmente de *A. pulchra* var. *maxima* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* con sus características morfológicas y colorimétricas distintivas. Además, la inclusión de estudios citológicos y moleculares proporcionó una comprensión más profunda de la estructura genética y la evolución del complejo. La variabilidad genética encontrada en *A. pulchra* var. *pulchra*, *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* y *A. magnifica* subsp. *magenta* sugiere la existencia de procesos adaptativos recientes o activos, resaltando la importancia de estudios futuros que incluyan más especies y poblaciones para explorar eventos de hibridación dentro del género. Este trabajo contribuye al conocimiento taxonómico de *Alstroemeria*, enfatizando la necesidad de enfoques multidisciplinarios para una taxonomía botánica precisa y fundamentada, proporcionando bases sólidas para la conservación y comprensión de la biodiversidad en este género endémico de alto interés ecológico y ornamental.

ABSTRACT

This doctoral thesis focused on the detailed characterization of the *Alstroemeria pulchra* complex, using an integrative approach that combined morpho-colorimetric, cytological, molecular, and ecological analyses to discern discrete taxonomic units. Through advanced methods in geometric morphometry and colorimetric analyses, precise quantification and comparison of floral morphology and coloration were achieved, highlighting the differentiation of *Alstroemeria pulchra* var. *maxima* and *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* from *A. pulchra* var. *pulchra*. Discriminant analyses emphasized the ability of these characters to differentiate taxa, particularly *A. pulchra* var. *maxima* and *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* with their distinctive morphological and colorimetric characteristics. Furthermore, the inclusion of cytological and molecular studies provided a deeper understanding of the genetic structure and evolution of the complex. The genetic variability found in *A. pulchra* var. *pulchra*, *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*, and *A. magnifica* subsp. *magenta* suggests the existence of recent or active adaptive processes, highlighting the importance of future studies that include more species and populations to explore hybridization events within the genus. This work contributes to the taxonomic knowledge of *Alstroemeria*, emphasizing the need for multidisciplinary approaches for accurate and evidence-based botanical taxonomy, providing solid foundations for the conservation and understanding of biodiversity in this genus of high ecological and ornamental interest.

INTRODUCCIÓN

En Chile, el catálogo de flora vascular realizado por Rodríguez y colaboradores (Rodríguez et al., 2018) representa la síntesis taxonómica y geográfica más reciente de la flora vascular de Chile continental e insular. Esta obra evidencia la alta riqueza y endemismo de la flora vascular presente en el país, contabilizando 5.471 especies distribuidas en 1.121 géneros y 186 familias. De estas, el 85,1% son nativas y un 39,2% (2.145 especies) son endémicas de Chile (Rodríguez et al., 2018). La mayor biodiversidad se concentra en la zona central del país, siendo esta reconocida como uno de los 25 *hotspots* globales, debido al gran número de especies endémicas presentes y el grado de amenaza que enfrentan (Myers et al., 2000). En años recientes se ha demostrado que estos *hotspots* se han visto más afectados durante el Antropoceno (Le Roux et al., 2019). Dentro de las monocotiledóneas, *Alstroemeria* L. con 57 taxones aceptados sobresale como uno de los géneros más diversos entre las Monocotiledóneas presentes en el *hotspot* de Chile central, con un 82% de endemismo (Muñoz-Schick y Moreira, 2003; Finot et al., 2018b). De estos taxones, cinco especies son compartidas con Argentina y una con Perú (Sanso, 1996; Hofreiter y Rodríguez, 2006; Finot et al., 2018a).

Alstroemeria L. pertenece a la familia Alstroemeriaceae Dumort. *nom. cons.* que agrupa alrededor de 200 especies, todas endémicas del hemisferio sur y predominantemente sudamericanas. Se reconocen dos subfamilias dentro de Alstroemeriaceae: Luzuriagoideae, que incluye a los géneros *Drymophila* R. Br. (1 sp.) y *Luzuriaga* Ruiz y Pav. (4 spp.), con representantes en Australia, Chile y Nueva Zelanda; y la subfamilia Alstroemerioideae, que comprende tres géneros: *Alstroemeria* (91 spp.), *Bomarea* Mirb. (120 spp.) y *Leontochir* Phil. (1 sp.) (Chacón et al., 2012b; Givnish et al., 2016; Finot et al., 2018b).

Después de *Bomarea*, *Alstroemeria* se posiciona como el segundo género más diverso de la familia, con una biodiversidad concentrada principalmente en Chile y Brasil (Fig. 1b) (Chacón et al., 2012b). En el territorio chileno, *Alstroemeria* ha sido documentada desde los 20°S (Región de Tarapacá) hasta los 53°S (Región de Magallanes), con una mayor presencia entre los 28°S (Región de Coquimbo) y 37°S (Región del Biobío) (Finot et al., 2018a) (Fig. 1c). Esta última zona también es la que ha sido más impactada por efectos antrópicos, principalmente por el cambio en el uso de suelos y las consecuencias posteriores como los incendios forestales y colonización de especies invasoras, los bosques nativos han sido reemplazados por terrenos urbanizados, cultivos o plantaciones forestales con una rápida expansión especialmente durante el periodo entre 1986 a 2001, con daños irreparables para estos ecosistemas (Arroyo et al., 2008; Heilmayr et al., 2016).

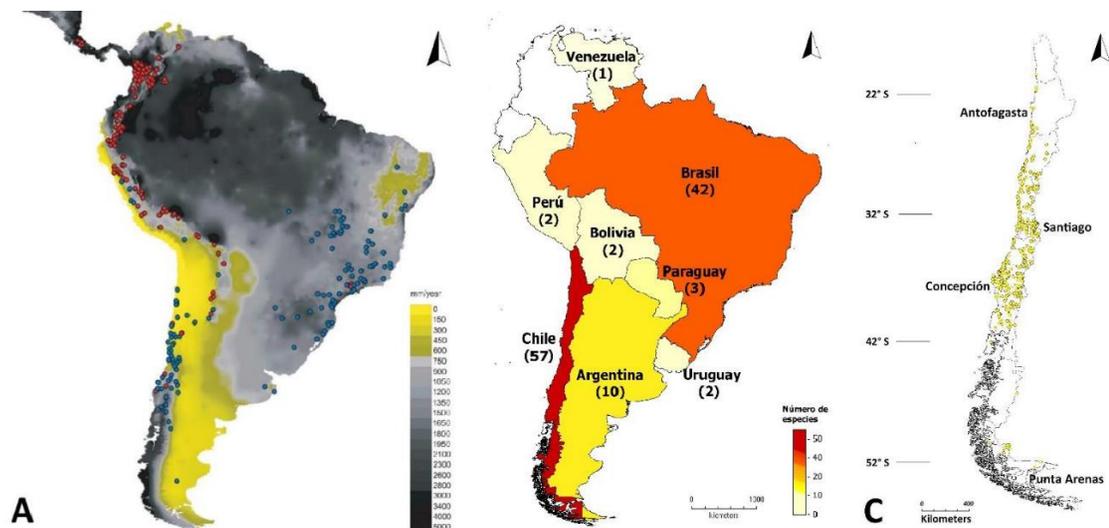


Figura 1. a. Distribución geográfica de *Alstroemeria* (puntos azules) y *Bomarea* (puntos rojos) en Sudamérica. El sombreado, indica precipitación anual en milímetros. b. Taxones de *Alstroemeria* por país (Sanso, 1996; Assis, 2001; Muñoz-Schick y Moreira, 2003; Assis y Mello-Silva, 2002; Finot et al., 2018a). c. Distribución del género *Alstroemeria* en Chile, basado en las colecciones de los

herbarios CONC y SGO. s: Modificado de Chacón et al., 2012b; b y c: Modificado de Finot et al., 2018a.

Estudios taxonómicos en *Alstroemeria*

El género *Alstroemeria* fue establecido por Linneo en 1762, en honor a su discípulo, el botánico sueco Klaus von Alströmer. Linneo originalmente incluyó tres especies que habían sido descritas previamente por el Padre Louis Feuilee en 1714 bajo el nombre *Hemerocallis* L. La familia Alstroemeriaceae fue reconocida inicialmente por Dumortier en 1829. Sin embargo, varios autores posicionaron al género dentro de Amaryllidaceae (Herbert, 1837; Baker, 1888; Pax, 1888), debido a las flores epiginas y la inflorescencia umbelada presente en la mayoría de las especies. Buxbaum (1954) argumentó que las flores son pseudoepiginas, ya que para ser consideradas epiginas, estas deben formarse por la unión de la parte basal de los tépalos y filamentos con el ovario. Dahlgren et al. (1985) reconocieron a Alstroemeriaceae como una familia separada de las Amarilidáceas, destacando la presencia de nectarios en el perigonio (sin nectarios septales) y patrones de máculas en los tépalos como sinapomorfías del orden Liliales. Hutchinson (1959) agrupó a Alstroemeriaceae junto a Petermanniaceae y Philesiaceae dentro del orden Alstroemeriales.

Análisis basados en secuencias de ADN han mostrado a Alstroemeriaceae en un clado monofilético junto a Luzuriagaceae Ruiz y Pav., Uvulariaceae p.p., y Colchicaceae (*sensu* Dahlgren et al., 1985). Chase et al. (1995a) basaron su descripción de este clado en la información del gen cloroplastidial *rbcL*. Posteriormente, Chase et al. (1995b) y Rudall et al. (2000) realizaron análisis utilizando información combinada de dos regiones cloroplastidiales (*rbcL*, *trnL-F*) y datos morfológicos. Chacón et al. (2012b) llevaron a cabo un estudio filogenético utilizando tres genes cloroplastidiales (*ndhF*, *matK*, *rbcL*), uno mitocondrial (*matR*), y el espaciador nuclear ribosomal

transcrito interno completo (ITS) de 153 individuos, representando 125 de las 200 especies de la familia Alstroemeriaceae para ese entonces. Este estudio sugirió que el ancestro común entre las familias Colchicaceae y Alstroemeriaceae vivió en el Cretácico tardío, en el sur de Sudamérica y Australasia. Las especies chilenas de *Alstroemeria*, adaptadas a climas más secos, se diversificaron entre 11,2 a 26,8 millones de años atrás (Chacón et al., 2012b).

Diversos autores han realizado importantes estudios taxonómicos en la familia Alstroemeriaceae, particularmente en *Alstroemeria* y *Bomarea*, aportando significativamente a la descripción de las especies de estos diversos géneros. Destacan los trabajos de Sanso (1996; 2002) en *Alstroemeria* y Sanso y Xifreda (1995) en *Bomarea*. Adicionalmente, junto a otros autores llevaron a cabo estudios citológicos, morfológicos y genéticos en ambos géneros (Xifreda, 1992; Xifreda y Sanso, 1992; Sanso y Hunziker, 1998; Sanso y Xifreda, 2001; Aagesen y Sanso, 2003). Marta Camargo de Assis realizó una revisión de *Alstroemeria* para Brasil y países aledaños (Assis, 2001). Trabajos posteriores realizados por Assis y colaboradores describen nuevos taxones, ascendiendo a 40 las especies descritas para esa zona geográfica (Assis y Mello-Silva, 2002; Assis y Mello-Silva, 2004; Assis, 2003, 2004, 2006, 2009).

En Chile, el reconocimiento y estudio de *Alstroemeria* se amplió principalmente gracias a los trabajos de Gay (1854) y Philippi (1860-1896), quienes, en conjunto, reconocieron 33 especies. Posteriormente Bayer (1987) realizó una revisión taxonómica del género *Alstroemeria* para Chile, incluyendo 31 especies y numerosos taxones infraespecíficos, ascendiendo a 42 el número de taxones reconocidos para Chile. En años posteriores, los trabajos realizados por Muñoz-Schick y Moreira (2003) y los de Finot y colaboradores (Finot et al., 2018a; Finot et al., 2018b) son obras que han ayudado a la difusión de los

estudios y conocimiento de la biodiversidad de este género en Chile. En la actualidad, se reconocen 38 especies y 19 taxones infraespecíficos de *Alstroemeria* (Finot et al., 2018a). Recientemente, el análisis de caracteres complementarios (morfológicos y citológicos) permitió reconocer una nueva especie, *Alstroemeria esteparica* Gl. Rojas, endémica de la Patagonia sur de Chile y Argentina (Rojas y Baeza 2021).

Una característica de las especies chilenas del género es que pocas especies son consideradas como entidades bien delimitadas (Bayer, 1987). La presencia de formas de transición entre los extremos de algunas especies estrechamente relacionadas como *Alstroemeria pulchra* Sims y *Alstroemeria magnifica* Herb.; *Alstroemeria hookeri* G.Lodd., *Alstroemeria angustifolia* Herb. y *Alstroemeria pallida* Graham; *Alstroemeria ligtu* L. y *Alstroemeria presliana* Kunth, ha dificultado la delimitación de sus entidades infraespecíficas (Bayer, 1987). Adicionalmente, el número de taxones infraespecíficos descritos para estas y otras especies ha aumentado considerablemente (Bayer, 1987), para Chile se reconocen diez (10) subespecies y nueve (9) variedades de *Alstroemeria* (Finot et al., 2018a). En la actualidad, once de estas especies son consideradas como complejos, especies compuestas por dos a cuatro entidades taxonómicas infraespecíficas (subespecies y variedades) (Ruiz et al., 2010; Dhiman y Kashyap, 2022).

Estudios morfométricos en *Alstroemeria*

La morfología floral, en particular la forma y el color de la flor, son las características más reconocidas en *Alstroemeria* y otros géneros de flores ornamentales (Hatamzadeh et al., 2012). Estos atributos no solo determinan su valor comercial, sino que también tienen una importancia ecológica al

desempeñar un papel crucial en la polinización (He et al., 2011).

Varias especies de *Alstroemeria* carecen de descripciones taxonómicas detalladas (p. ej. Sims, 1823; Herbert, 1837; Philippi, 1860), estudios posteriores se han basado en complementar los antecedentes taxonómicos y evaluar los límites entre los taxones utilizando principalmente medidas lineales de las estructuras vegetativas y de sus flores, describiendo sus colores, patrones de ornamentación y mediciones diferenciadas entre tépalos externos, internos superiores e interno inferior (Bayer, 1987; Sanso, 1992, Kashihara et al., 2011). Debido a la relación de los caracteres morfológicos con factores genéticos, ecológicos y evolutivos, resulta importante estudiar la forma de las flores y su variación (Bookstein, 2022). En este sentido, y a diferencia de la morfometría lineal, que se basa principalmente en medidas como el largo y ancho, la morfometría geométrica se centra en la forma de las estructuras, en palabras simples, este enfoque permite descomponer la variación de la forma y tener una comprensión más detallada de los patrones de variación morfológica, que con métodos tradicionales puede ser imperceptible (Slice, 2007).

Estudios en especies de la familia Orchidaceae han demostrado que la morfometría geométrica presenta gran utilidad para caracterizar la forma de sus flores, ayudando a resolver problemas taxonómicos en grupos fenotípicamente afines, analizando sus formas variables y complejas (p. ej. Gomez y Perfectti, 2010; Van der Niet et al., 2010; Hernández y Aké, 2014; Innangi y Izzo, 2014). En *Alstroemeria*, la morfometría geométrica ha sido escasamente explorada (Chitwood et al., 2012), y posee el potencial para capturar sutilezas en la forma floral que podrían ser cruciales para delimitar las entidades taxonómicas. Un estudio reciente (Ruiz, 2023) analizó la variación en la forma del contorno de 130 tépalos del complejo *A. hookeri* mediante morfometría geométrica en dos dimensiones (2D), sí bien obtuvieron diferencias morfométricas estadísticamente

significativas, no les fue posible obtener un patrón reconocible entre las cuatro subespecies del complejo.

Por otro lado, un estudio en el complejo *A. presliana*, demostró la utilidad de combinar caracteres colorimétricos y morfométricos en la delimitación de sus taxones infraespecíficos (Finot et al., 2016). La integración de la colorimetría y morfometría geométrica con otras fuentes de información podría ser una estrategia prometedora para abordar y resolver los desafíos taxonómicos actuales en *Alstroemeria*.

Estudios colorimétricos en *Alstroemeria*

El color de las flores es una característica que ha sido tradicionalmente descrita en base a un criterio subjetivo debido a la percepción e interpretación humana (Finot et al., 2015). En *Alstroemeria*, la variabilidad en el color de las flores es notable, abarcando desde tonos blancos hasta amarillos, naranjos, rosas, rojos y violetas (Muñoz-Schick y Moreira, 2003). Pero esta variación no es casual, el color de las flores es una característica que desempeña un papel crucial en la atracción de polinizadores y, por lo tanto, en su reproducción. Algunos trabajos han evidenciado que los insectos pueden diferenciar una flor de otra en base al color y patrones de ornamentación, estas variaciones podrían, por ejemplo, influir en la tasa de visita de una flor (Chittka et al., 2004; McEwen y Vamosi, 2010).

Los caracteres morfológicos utilizados en descripciones y claves taxonómicas en *Alstroemeria* derivan principalmente de sus flores: color predominante, forma, posición y patrones de manchas de los tépalos, morfología de la inflorescencia, junto con la forma de las hojas y otros caracteres vegetativos (Bayer, 1986; Sanso, 1996; Finot et al., 2018a).

Diversos estudios han demostrado que el color de la corola, medido objetivamente, posee gran valor discriminante incluso entre subespecies o variedades (Nørbaek et al., 1996; Abdelaziz et al., 2011; Finot et al., 2015, 2016). Por ejemplo, diversos autores han utilizado técnicas colorimétricas para resolver problemas taxonómicos en especies de la familia Orchidaceae (p. ej. Smith et al., 2010; Kolanowska et al., 2016; Szlachetko et al., 2022; Castellanos-Ramírez et al., 2023). Estos estudios han demostrado que la cuantificación precisa del color puede ser una herramienta útil en la delimitación de especies y variedades dentro de grupos taxonómicos fenotípicamente afines.

Los primeros estudios que cuantificaron el color de las flores en *Alstroemeria* se enfocaron en identificar los pigmentos responsables y su variación a partir de material cultivado en invernadero (Saito et al., 1985, 1988). Años después, Nørbaek et al. (1996) a partir del estudio de 28 especies de *Alstroemeria*, de procedencia chilena en su mayoría, identifica siete antocianinas responsables de la coloración de las flores, caracterizando, cuantificando y comparando su variación entre los taxones evaluados. Este autor hace referencia a la utilidad taxonómica del color de las flores, debido a las diferencias cuantificadas entre especies y taxones infraespecíficos (Nørbaek et al., 1996).

Estudios posteriores del color de las flores (Finot et al., 2015a, 2016, 2018a) se han centrado en la medición del color en tépalos frescos a través de espectrofotometría, que permite caracterizar el color de un objeto en un espacio de color determinado, el más utilizado es el espacio CIELab (CIE, 1978) que permite representar los colores de manera precisa, facilitando la identificación de diferencias cromáticas no detectables en otros espacios de color. Aunque esta aproximación puede ser limitada en la estimación de los diferentes colores presentes en un tépalo, es una replicable aproximación para estimar el color principal de los tépalos y puede ser complementada con otras fuentes de

información, su estudio y análisis ha permitido diferenciar taxones de *Alstroemeria* a nivel inter e intraespecífico, minimizando el error por interpretación y corroborando el valor taxonómico de este carácter, aún no estudiado en diversos taxones de *Alstroemeria* (Finot et al., 2015a, 2016, 2018a).

Estudios cariológicos en *Alstroemeria*

Se ha demostrado ampliamente que los estudios cariológicos representan una valiosa y complementaria herramienta de comparación a distintos niveles taxonómicos (Schrader et al., 2000; Matsumoto et al., 2000).

Dentro de estos estudios, se ha detectado una gran variación en el tamaño y arquitectura del ADN de las monocotiledóneas para organizar sus cromosomas, características destacables en comparación al resto de las angiospermas (Leitch et al., 2007; Chacón et al., 2012a). Una revisión de las características genómicas de las monocotiledóneas se basó en 534 de los cerca de 2.800 géneros, revelando que el orden Liliales posee amplios genomas y rangos de poliploidía (hasta 22x) (Leitch et al., 2010). La información citogenética de Liliales aún es dispersa y escasa, y muchos clados aún no han sido analizados desde un contexto filogenético (Chacón et al., 2012a). Por ejemplo, la apariencia básica del set cromosómico es conocido como cariotipo y muestra una variación taxonómica comparable a la morfología de un organismo (Kim, 1992), su estudio ha permitido evidenciar una tendencia hacia el aumento de la asimetría de los cariotipos en angiospermas, como se ha evidenciado en Asteráceas (Kim, 1992).

En *Alstroemeria* los estudios cariológicos han demostrado ser un efectivo método para detectar patrones de variabilidad genética incluso entre poblaciones de un mismo taxón y representa una importante característica que ayuda a comprender los procesos evolutivos de las especies y su taxonomía (Cajas et al., 2009; Baeza et al., 2010, 2015a, 2015b, 2018a, 2018b).

Solo el 24% de la familia Alstroemeriaceae ha sido estudiada desde perspectivas citogenéticas, siendo el género *Alstroemeria* el más representativo (27 taxa), en Chile aún se desconoce el cariotipo de diversos taxones a nivel inter e intraespecífico (Jara-Seguel et al., 2021), dilucidar los cariotipos de distintos taxa y poblaciones podrían dar una mejor visión de los procesos cromosómicos que están ocurriendo en *Alstroemeria*.

Estudios genéticos en *Alstroemeria*

Para entender la variabilidad genética de las especies y poblaciones de *Alstroemeria*, es importante considerar algunos métodos de dispersión de sus poblaciones, como el modo de multiplicación vegetativa, modo de polinización o de dispersión de semillas, entre otros (Ruiz et al. 2010). En *Alstroemeria*, las semillas son dispersadas por un modo denominado por Vittoz y Engler (2007) como balocoria, donde la explosión del fruto (cápsula) eyecta y dispersa las semillas (Finot et al., 2018b). En general, las distancias publicadas son escasas y variadas, dentro de rangos generales las distancias van 1 a 5 metros de la planta (Vittoz y Engler, 2007). Este modo de dispersión de semillas es limitado si se compara con otros como el asistido por el viento (anemocoria) o por animales (zoocoria) que pueden llegar hasta los 1.500 metros de distancia (Vittoz y Engler, 2007, Ruiz et al., 2010).

Por otro lado, el principal modo de propagación de individuos en las poblaciones de *Alstroemeria* es vegetativa, a través de la multiplicación y división de sus rizomas, este factor podría contribuir a mantener altos niveles de estructura genética en sus poblaciones (Ruiz et al., 2010).

La polinización es un proceso fundamental relacionado al intercambio genético de una planta, si los individuos tienen una polinización entomófila activa, se

esperaría una alta variabilidad genética a nivel intrapoblacional y una baja variabilidad interpoblacional (Hamrick y Godt, 1996). En contraste, cuando existe autocompatibilidad y reproducción vegetativa, es esperable encontrar una baja variabilidad intrapoblacional y una alta variabilidad interpoblacional (Hamrick y Godt, 1996).

Un estudio realizado en *A. hookeri* (Ruiz et al., 2010) estimaron los niveles de variabilidad genética y estructura poblacional, detectando que los individuos de las poblaciones analizadas están fuertemente influenciados por su sistema de reproducción cruzada (con autofecundación ocasional), reproducción vegetativa y la limitada capacidad de dispersión de semillas, adicionalmente aquellas poblaciones que enfrentan un mayor aislamiento geográfico, sumado a condiciones climáticas contrastantes, limitarían aún más el flujo génico entre poblaciones (Ruiz et al., 2010).

Los estudios moleculares son cruciales para determinar la variabilidad genética, estimar relaciones filogenéticas y poner a prueba las hipótesis de especies, nos pueden ayudar a comprender los procesos evolutivos y adaptativos de los diferentes taxones y sus poblaciones. Sin embargo, para lograr estimar filogenias, previamente es necesario superar algunos desafíos, como por ejemplo, obtener ADN de calidad y encontrar regiones genéticas con suficiente resolución para mostrar la divergencia de los taxones estudiados (Koopman, 2005).

Diversas aproximaciones han sido utilizadas para caracterizar la diversidad genética en estudios sistemáticos y evolutivos (Allendorf et al., 2010). En *Alstroemeria*, diversos métodos moleculares se han utilizado en el último tiempo incluyendo reconstrucciones filogenéticas a partir de ADN cloroplastidial, mitocondrial y nuclear (Ruiz et al., 2010; Souto y Premoli, 2003; Chacón, 2012).

Chacón et al. (2012a) realizó estudios filogenéticos en el género

Alstroemeria, basándose en secuencias de ADN y datos citológicos de muestras de Chile, Argentina y Brasil. Los altos valores de soporte de Bootstrap obtenidos en ese estudio respaldan las subfamilias Alstroemeroideae y Luzuriagoideae y los géneros *Drymophila*, *Luzuriaga*, *Bomarea* y *Alstroemeria* como clados monofiléticos. Las especies chilenas de *Alstroemeria* analizadas son separadas en dos grupos geográficos: zona norte y zona centro sur de donde derivarían posteriormente las especies brasileñas del género que se agrupan en un clado monofilético. Se estima que la diversificación de *Alstroemeria* comenzó hace unos ocho millones de años aproximadamente (Chacón et al., 2012a).

A pesar de lo prometedor de estos resultados, diversas especies del grupo chileno aún no han sido documentadas genéticamente, mucho menos a escala de poblaciones, dificultando la obtención de evidencia relevante para estimar patrones locales de diversificación, particularmente en especies con dudosa integridad taxonómica (Finot et al., 2018a).

Las nuevas y accesibles tecnologías de secuenciación de próxima generación (Next Generation Sequencing o NGS) ofrecen nuevas posibilidades para analizar la diversidad genética a escala genómica (Davey et al., 2011). La detección de polimorfismos simples de ADN nuclear (SNPs) en organismos con genomas grandes y desconocidos ya no es una limitante y la información obtenida puede ser utilizada para análisis comparativos entre organismos a diferentes escalas (Andrews et al., 2016). La implementación de SNPs puede ser una mejora significativa para la estimación de diversidad genética, proporcionando marcadores codominantes con alta capacidad de análisis y significancia estadística, en comparación con otras metodologías como los AFLP que requieren una mayor cantidad y calidad de ADN (Allendorf et al., 2010, 2012). Para propósitos taxonómicos, los SNPs pueden mejorar la utilidad de secuencias de ADN para estimar relaciones filogenéticas entre individuos usando regiones

específicas, especialmente cuando otros enfoques y datos no clarifican los límites entre los taxones en estudio o existen discrepancias en los resultados obtenidos (Lahaye et al., 2008).

Una de las desventajas de algunos análisis basados en NGS es que poseen ciertas limitantes para realizar estudios genómicos si no se conocen las enzimas de restricción específicas del organismo en estudio, esto es una dificultad especialmente en organismos donde no se cuenta con información previa sobre su genoma (Suyama y Matsuki, 2015). Una solución es la generación de librerías de datos genéticos mediante PCR (Polymerase Chain Reaction), que permite amplificar un importante número de SNPs del genoma, a partir de múltiples partidores adaptados a plataformas NGS, como los ISSR (inter-simple sequence repeats) (Zietkiewicz et al., 1994) una técnica molecular enfocada en amplificar las regiones entre microsatélites (o SSR, simple sequence repeats). En esta línea, se ha propuesto el “multiplexed ISSR genotyping by sequencing” (conocido como MIG-seq) (Suyama y Matsuki, 2015), un eficiente método NGS basado en PCR que permite la identificación *de novo* de secuencias de ADN, esta técnica permite obtener una gran cantidad de datos genéticos altamente variables, útiles para estudios de diversidad genética, poblaciones y/o relaciones filogenéticas, permitiendo obtener perfiles genéticos sin la necesidad de información previa sobre el ADN de los individuos estudiados (Suyama y Matsuki, 2015). Dado que el proceso MIG-Seq se basa en PCR, una de sus principales ventajas es que no requiere grandes cantidades de ADN para obtener buenos resultados. Se pueden obtener muchos datos de secuencia útiles para análisis filogenéticos y genética de poblaciones a partir de una muestra con un pequeño volumen de ADN (Suyama y Matsuki, 2015).

Debido a la alta variabilidad de estos marcadores amplificados arbitrariamente, esta técnica destaca como una alternativa donde los ITS u otras

secuencias variables comúnmente utilizadas no poseen suficiente resolución, ubicándose en la interfaz entre la filogenia y la biología de poblaciones (Bussell et al., 2005). Por ejemplo, estos marcadores podrían ser útiles para análisis filogenéticos que involucren especies estrechamente relacionadas o presentan radiaciones recientes (Bussell et al., 2005).

El uso de NGS y técnicas de amplificación de ISSR en *Alstroemeria* puede resultar desafiante debido a la dificultad de estandarizar estas técnicas en organismos con genomas amplios y/o desconocidos (Pan et al., 2015). Pese a ello, trabajos realizados en organismos no modelo han demostrado ser evidencia de la viabilidad del método para obtener datos genotípicos útiles para estudios en sistemática y taxonomía (Suyama y Matsuki, 2015; Binh et al., 2018; Murakami et al., 2020).

Taxonomía Integrativa

La taxonomía es fundamental para explorar y entender la biodiversidad, donde la taxonomía alfa estudia las especies mientras que la beta las categorías superiores (Schlick-Steiner et al., 2010).

La integración de diversas fuentes de información (morfológica, citológica, molecular, ecológica) puede ayudar a aclarar la delimitación y reconocimiento de entidades discretas (específicas o infraespecíficas) (Schlick-Steiner et al., 2010). Diferentes aproximaciones permiten poner a prueba las hipótesis de especies, dando un soporte multidimensional y más objetivo a la delimitación taxonómica (Dayrat, 2005).

Un desafío particular en la delimitación de los límites de especies bajo enfoques integrativos es la diversidad de hipótesis generadas a partir de los diferentes datos obtenidos (Edwards y Knowles, 2014). Tradicionalmente, la morfología ha sido el criterio utilizado por los taxónomos para identificar y

delimitar especies, un criterio que se ha mantenido en muchos casos hasta la actualidad (Padial y De la Riva, 2009). Parte del problema de los caracteres morfológicos radica cuando un taxón presenta una alta variabilidad, hay convergencia en los caracteres diferenciadores y/o sus caracteres han sido abordados desde perspectivas cualitativas.

Dentro del marco conceptual de la taxonomía integrativa (Dayrat, 2005), las especies son hipótesis y, para construir hipótesis robustas, se deben utilizar diversas fuentes de información independientes (Padial y De la Riva, 2007). Las hipótesis de especie respaldadas por múltiples fuentes de evidencia son más robustas en comparación a aquellas respaldadas por un solo tipo de evidencia (Dayrat, 2005).

Un enfoque integrativo es esencial tanto para la taxonomía como para la filogenia. Schlick-Steiner et al. (2009) recomendaron incluir al menos tres disciplinas independientes, como morfología, genética y un tercer conjunto de datos, para explorar la biodiversidad. Las hipótesis de filogenia molecular también deben conciliarse con datos morfológicos para determinar sinapomorfías en clados y discrepancias entre el árbol molecular y la clasificación actual. Es necesario un esfuerzo conjunto para desarrollar nuevos caracteres e integrar las bases de datos morfológicos y moleculares (Boury-Esnault et al., 2013).

Complejo *Alstroemeria pulchra*

Debido a su variabilidad, *Alstroemeria pulchra* Sims ha sido fuente de discusión desde su descripción y en años posteriores. Fue originalmente descrita por John Sims en 1823. Posteriormente, en agosto del mismo año, fue nuevamente descrita como *Alstroemeria flos-martinii* por Ker Gawler, Hooker, meses más tarde, la describe con el nombre de *Alstroemeria tricolor* Hook. En 1888, Baker

la subordina como una variedad de *Alstroemeria ligtu* [*A. ligtu* var. *pulchra* (Sims) Baker] (Muñoz-Schick y Moreira, 2003; Finot et al., 2018b).

En trabajos posteriores, estos nombres fueron sinonimizados bajo *Alstroemeria pulchra* Sims (Bayer, 1987; Muñoz-Schick y Moreira, 2003; Finot et al., 2018a, b).

Philippi (1864) describe la variedad *Alstroemeria pulchra* var. *maxima* Phil., este taxón fue descrito como una variedad de mayor tamaño de *A. pulchra* var. *pulchra* (Muñoz-Schick y Moreira, 2003). *A. pulchra* var. *maxima* se caracterizan por poseer escapos florales de gran altura (hasta 170 cm) y flores de gran tamaño, sus colores y patrones de ornamentación son similares a los de *A. pulchra* var. *pulchra*. Su inflorescencia umbelada posee hasta 12 rayos (8 en *A. pulchra* var. *pulchra*) (Finot et al. 2018b). Pese a estas diferencias, la variabilidad de colores, diseños de las flores y subjetividad en la interpretación de los caracteres diagnósticos, dificulta su discriminación, por lo que los límites entre estos taxones no están del todo clarificados (Finot et al., 2018b).

Sus similitudes de distribución, morfología, tamaño de la planta y flores provocó que fuese asociada al complejo *A. magnifica* (Bayer, 1987). Trabajos posteriores (Muñoz-Schick y Moreira, 2003; Finot et al., 2015) rechazan esta hipótesis, considerando la propuesta original de Philippi (1864) propuesta que se ha mantenido hasta la actualidad (Finot et al., 2018a).

Bayer (1987) describe otro taxón infraespecífico para *A. pulchra*, *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*, basándose en especímenes cultivados a partir de semillas, colectadas en Santa Juana en la provincia de Concepción por A. Rodríguez en 1983 (Finot et al. 2018b). La describe morfológicamente de menor tamaño en comparación con *A. pulchra* var. *pulchra*, tépalos de color "lavanda", bien mucronados, que la diferenciarían de *A. pulchra* var. *pulchra* que posee flores blanquecinas y tépalos levemente mucronados (Bayer, 1987; Finot et al.,

2018b). Estudios cariológicos que incluyeron individuos de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* y *A. pulchra* var. *pulchra*, detectaron una fórmula cariotípica muy similar para ambos taxones y un carácter citológico particular, un polimorfismo de tamaño en el primer par de cromosomas homólogos (Baeza et al., 2018). Por otro lado, el cariotipo de *A. pulchra* var. *maxima* aún no ha sido documentado.

A. pulchra subsp. *lavandulacea* es un taxón escasamente documentado, con una distribución restringida. En su monografía, Muñoz-Schick y Moreira (2003) no les fue posible encontrar este taxón, tomando como referencia la localidad donde fueron colectadas las semillas. En un trabajo posterior (Finot et al., 2018b) se mencionan nuevas poblaciones para este taxón, que se suman a la de Santa Juana en la provincia de Concepción, Región del Biobío. Hutchinson en 1952 realiza una colecta de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*, en la localidad de Los Alpes, a 4 km de Angol, región de la Araucanía, ejemplar depositado en el herbario SGO (abreviatura según Thiers, 2023). Se cita otro material con ubicación poco específica (solo dice *Chili australis*) colectado por Neger entre 1893 y 1897, el espécimen está depositado en M (München) con la etiqueta "Paratipo". En años recientes, nuevas poblaciones ha sido documentadas (Finot et al., 2018b): en la rivera del Rio Claro, cerca del puente Rio Claro al norte de Talca en la provincia del Maule (35°10'S, 71°23'O), en el Cerro Cayumanque en la región de Ñuble (36°42'S, 72°31'O), y poblaciones aisladas en terreno ahora convertidos en plantaciones forestales, cerca de Angol (37°52'S) en la región de la Araucanía, crecen en suelos soleados, duros y arcillosos entre los 90 y 350 m s.m.

Dada la escasez de registros para *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*, fue catalogada por Ravenna et al. (1998) como "insuficientemente conocida". Posteriormente, la propuesta del comité de clasificación del Ministerio del Medio

Ambiente (2012), clasificó este taxón como “EN PELIGRO [EN B1ab(iii)+B2ab(iii)]”, por poseer una extensión de presencia menor a 500 km², (en el documento sólo citan dos localidades), su hábitat ha sido fuertemente perturbado por plantaciones forestales, agricultura y acción de herbívoros no nativos (MMA, 2012). Tampoco ha sido documentada en algún SNASPE del país, sólo se menciona que crece cerca del límite del Parque Nacional Nahuelbuta (MMA, 2012).

Alstroemeria pulchra var. *maxima* presenta una morfología general similar a *A. pulchra*, principalmente en el color y patrones de ornamentación de sus flores. Sin embargo, su mayor tamaño y algunas características morfológicas la vinculan también con *A. magnifica*. La diferenciación entre *A. pulchra* var. *maxima* y *A. magnifica* ha sido reconocido por diversos autores (Muñoz-Schick y Moreira, 2003; Finot et al., 2015). Por otro lado, *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* presentan diferencias en sus distribuciones geográficas, se ha documentado poblaciones aisladas de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* en el valle interior entre las regiones del Maule a la Araucanía, mientras que *A. pulchra* var. *pulchra* se distribuye principalmente desde la región de Coquimbo hacia el sur, desde Santiago hasta la región del Maule sólo ha sido documentada en la zona costera.

Morfológicamente, poseen leves diferencias en la forma y color de sus flores, *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* se caracteriza por tépalos más mucronados y de tonos lilas.

Debido a la alta variabilidad observada en *A. pulchra* var. *pulchra* es posible que estos parámetros se solapen entre sus subespecies y variedades. *A. pulchra* es una de las especies consideradas como complejos, su falta de estudio, las entidades infraespecíficas que la componen, su amplia distribución, variabilidad de colores y patrones florales (especialmente en *A. pulchra* var.

pulchra, observación propia), y la falta de estudios que caractericen y evalúen la variabilidad de los caracteres diagnósticos, impiden una clara diferenciación de sus entidades infraespecíficas. Desde una perspectiva sistemática, se deben considerar dos principales objetivos: descubrir y describir especies; y determinar las relaciones filogenéticas entre estas especies (Wiens, 2007).

En este estudio se adoptará un enfoque basado en hipótesis, donde el conjunto de especímenes de *A. pulchra* serán analizados mediante aproximaciones morfométricas, colorimétricas, citológicas, moleculares y ecológicas, evaluando la capacidad discriminante de cada aproximación en la delimitación de los taxones infraespecíficos *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*, *A. pulchra* var. *maxima* y *A. pulchra* var. *pulchra*.

Hipótesis

Las diferencias morfométricas, colorimétricas, citológicas y genéticas cuantificadas permiten diferenciar a *Alstroemeria pulchra* var. *maxima* del complejo *A. pulchra*, pudiendo ser considerada una especie diferente. *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* y *A. pulchra* subsp. *pulchra* son entidades diferenciables a través de caracteres morfométricos y moleculares de alto valor diagnóstico.

Objetivo general

Caracterizar la variabilidad morfológica, citológica y molecular del complejo *Alstroemeria pulchra* para inferir unidades taxonómicas discretas.

Objetivos específicos

- Identificar y evaluar caracteres morfológicos florales de alto valor diagnóstico entre los taxones del complejo *A. pulchra* mediante análisis estadísticos cuantitativos.
- Estimar diferencias cariotípicas entre los taxones infraespecíficos de *Alstroemeria pulchra*.
- Caracterizar la variabilidad genética en *Alstroemeria pulchra* y estimar sus relaciones filogenéticas.
- Analizar e integrar la información proveniente de las distintas fuentes de información, para determinar el estatus taxonómico de las entidades que comprenden el complejo *Alstroemeria pulchra*.

CAPÍTULO 1: CARACTERIZACIÓN MORFO-COLORIMÉTRICA DEL PERIGONIO DE *ALSTROEMERIA PULCHRA* (ALSTROEMERIACEAE) COMO UNA AYUDA PARA DELIMITAR SUS TAXA INFRAESPECÍFICOS

Villalobos, N. I., Finot V. L., Toro-Núñez, O., Baeza, C., Ruiz, E., Carrasco, P., Campos, J. y 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.



Figura 1. Tépalos prensados y digitalizados de *A. pulchra* var. *pulchra* (Villalobos 18). Fuente: elaboración propia.

Introducción

Alstroemeria L. (1762) es considerado uno de los géneros más diversos dentro de las Monocotiledóneas presentes en Chile (Finot et al., 2018a). Sin embargo, la falta de estudios taxonómicos detallados ha llevado a la descripción de más de 116 especies, muchas de ellas consideradas como sinónimos o con nombres de aplicación incierta, por ejemplo, por la ausencia del material tipo en los herbarios (Finot et al., 2018a). La mayoría de las especies de este género crecen entre los 28°–37°S y cerca de un 82% son endémicos del *hotspot* de biodiversidad “*Chilean winter rainfall-Valdivian forests*” (Myers et al., 2000; Finot et al., 2018b). En la actualidad, la principal amenaza de este hotspot es la degradación de los hábitats que aumenta a un 58% en la zona mediterránea sur del país (38°S) (Arroyo et al., 2008).

Estudios recientes reconocen 38 especies y 19 taxones infraespecíficos de *Alstroemeria* para Chile (9 subespecies y 10 variedades) (Finot et al., 2018a). Once de estas especies forman complejos, entidades que poseen de dos a cuatro taxones infraespecíficos (subespecies o variedades), muchos de ellos fenotípicamente afines (Ruiz et al., 2010; Dhiman y Kashyap, 2021). Los colores, patrones de ornamentación, la forma y tamaño de las flores de *Alstroemeria*, son atributos que le dan valor comercial a diversas especies, y son los principales caracteres utilizados en claves y descripciones taxonómicas (Bayer, 1987; Sanso, 1996; Muñoz-Schick y Moreira, 2003; Finot et al., 2018a). Por otro lado, caracteres descritos cualitativamente como el color de la flor, puede estar sujeto a la percepción e interpretación del observador, dificultando su identificación, problema que se hace más frecuente en taxones infraespecíficos (Finot et al., 2015).

El estudio del color ha motivado diversos trabajos que le han otorgado un respaldo cuantitativo a este carácter y han evidenciado diferencias

colorimétricas entre especies, subespecies y variedades de *Alstroemeria* (Saito et al., 1985, 1988; Nørbaek et al., 1996, 1998; Finot et al., 2015, 2016).

En la última década, gracias al acceso y edición a imágenes de alta resolución, diversos estudios se han focalizado en el análisis de imágenes, en esa línea, diversos paquetes de R (R Core Team, 2022) han sido diseñados con métodos consistentes y aplicaciones versátiles. Algunas de estos paquetes se han enfocado en cuantificar caracteres a partir de estructuras biológicas digitalizadas, sus funciones incorporadas permiten resumir, analizar y visualizar la información obtenida, aplicable a diferentes tipos de estudio (Bonhomme et al., 2014; Van Belleghem et al., 2017; Weller y Westneat, 2018). El uso de aproximaciones objetivas en el estudio de los complejos infraespecíficos de *Alstroemeria* han demostrado gran poder resolutivo (Bayer, 1987; Ruiz et al., 2010; Finot et al., 2016).

Dentro de las aproximaciones más desarrolladas en *Alstroemeria*, la citología ha abordado el estudio de los complejos y ha permitido diferenciar taxones incluso entre subespecies y variedades, ya sea por diferencias en la arquitectura o en los índices de asimetría de sus cromosomas (Cajas et al., 2009; Baeza et al., 2010, 2015a, 2015b, 2018a, 2018b). Un estudio reciente combinó antecedentes morfológicos, ecológicos y citotaxonómicos que les permitió identificar una nueva especie endémica de la estepa patagónica, *Alstroemeria esteparica* (Rojas y Baeza, 2021).

La morfometría geométrica (MG) es una técnica avanzada en biología cuantitativa que permite el análisis detallado de las formas y tamaños de los organismos mediante métodos matemáticos y estadísticos (Cope et al., 2012). La morfometría geométrica abarca el análisis de landmarks y semilandmarks, que son puntos específicos utilizados para capturar la geometría de estructuras biológicas, esenciales para estudios de variación, adaptación y evolución

(Bookstein, 1991; Zelditch, Swiderski, y Sheets, 2012). Especialmente relevante en este campo es el análisis de contornos mediante elipses de Fourier (EFDs), que transforma los contornos de las formas en series de elipses, proporcionando una representación matemática que facilita la comparación cuantitativa de contornos (Kuhl y Giardina, 1982).

La información obtenida a partir de estos métodos puede ser sometida a análisis de componentes principales, entregando con la mínima pérdida de información, un nuevo conjunto de variables no correlacionadas, estas variables pueden ser sometidas sin problema a análisis predictivos y evaluar la capacidad discriminante de la información obtenida con fines taxonómicos, o estudiar su variación en un contexto evolutivo (Yoshioka et al., 2004; Yoshioka, 2011).

En la familia Orchidaceae muchas de las especies poseen flores con formas complejas, a través de la MG se ha demostrado la posibilidad de cuantificar la forma de estas flores o tépalos, obteniendo gran poder resolutivo en la delimitación de taxones y complejos taxonómicos (Shipunov y Bateman, 2005; Menini et al., 2019). Por otro lado, los trabajos de MG en *Alstroemeria* son virtualmente escasos (Chitwood et al., 2012).

Los estudios morfo-colorimétricos en angiospermas se han centrado principalmente en semillas (p.ej. Smykalova et al., 2011; Santo et al., 2014; Lo Bianco et al., 2017; Sarigu et al., 2017; Farris et al., 2021; Rabieyan et al., 2022), hojas (p.ej. Gutierrez-Gamboa et al., 2021,) y escasamente en flores (p.ej. Peruzzi et al., 2019). La información obtenida puede servir de complemento con otras aproximaciones (p. ej. moleculares, ecológicas) que ayuden desde una perspectiva integrativa (Dayrat, 2005), a comprender las relaciones entre los taxones estudiados. El escaso estudio de estas perspectivas en los complejos de *Alstroemeria* proporciona una interesante área

de investigación que caracteres que pueden servir de base para estudios taxonómicos, ecológicos o de conservación.

Entre los complejos presentes en Chile *Alstroemeria pulchra* Sims (Figura 2) es una especie que ha sido reconocida por su potencial ornamental, siendo cultivada en Europa desde el siglo XIX (Gay, 1853; Muñoz-Schick y Moreira, 2003). Es una especie endémica de Chile central, crece discontinuamente entre los 30° y 37°S en suelos duros, colinas, quebradas o terrenos soleados (Finot *et al.*, 2018b).

A. pulchra fue originalmente descrita por John Sims (1823), en la primera mitad de ese año. Durante la segunda mitad del mismo año, se describen dos especies con iconotipos similares, *Alstroemeria flos-martini* Ker-Gawl. (1823) y *Alstroemeria tricolor* Herbert (1823). El nombre *A. pulchra* tiene prioridad sobre *A. flos-martini* y *A. tricolor*. Años después, se describe *Alstroemeria bicolor* Hooker, en su descripción se incluye una imagen de una planta con flores blanquecinas, una mancha amarilla y leves patrones de ornamentación.

Posteriormente fueron descritas dos variedades para *Alstroemeria pulchra* Sims: var. *bicolor* Lodd. ex Herb. (Herbert, 1837) y var. *maxima* Philippi (Philippi 1864). En 1896, Andreas Voss describe diversas especies de *Alstroemeria* incluyendo claves taxonómicas y diversos cambios nomenclaturales:

Alstroemeria pulchra fue subordinada bajo *Alstroemeria ligtu* L.: *A. ligtu* f.

pulchra (Sims) Voss (Voss 1896), propuesta que no tuvo aceptación posterior.

En 1971, se describe la forma *A. pulchra* Sims f. *liliacina* Garaventa (1971), pero sin su descripción en latín.

Bayer (1987) realiza una revisión de las especies chilenas del género *Alstroemeria* y realiza diversos cambios nomenclaturales, la descripción de nuevas especies y numerosos taxones infraespecíficos. En este trabajo, varios problemas taxonómicos en las especies de *Alstroemeria* fueron inicialmente

resueltos, pero es necesaria la aplicación de nuevos estudios que ayuden a aclarar la relación entre los taxones de *Alstroemeria* (Bayer, 1987). En el caso de *A. pulchra* Sims, Bayer (*op. cit.*) reduce a la sinonimia la mayoría de los taxones anteriormente mencionados bajo *A. pulchra*, con excepción de *A. pulchra* var. *maxima*, que subordina bajo *Alstroemeria magnifica* Herb. con el rango de subespecie (*A. magnifica* subsp. *maxima*), en base a sus similitudes morfológicas, florales y de distribución.

En el mismo trabajo, se describe *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* Bayer, que se diferencia de la subespecie típica por sus “flores lilas” y notorios mucrones en los tépalos externos. Por otro lado, no se describen diferencias significativas en las medidas de los tépalos de las subespecies de *A. pulchra* descritas.

Ravenna (1988) describe *Alstroemeria spectabilis*, el ejemplar tipo se encuentra en su herbario personal al cual no se tiene acceso, no hay registro en los herbarios CONC o SGO, tampoco hay algún registro virtual de isotipos depositados en los herbarios mencionados por el autor (BM, G, NY, U) (Ravenna, 1988) (abreviaturas según Thiers, continuamente actualizado).

En la actualidad, estudios taxonómicos relacionados al complejo *A. pulchra* son virtualmente escasos. En el trabajo de Nørbaek et al., (1996) sólo se detectaron leves diferencias de concentración en dos de las cinco antocianinas cuantificadas para *A. pulchra* y *A. pulchra* var. *maxima*. Cyanidin 3-manolyglucoside antocianina que presenta mayor presencia en *A. pulchra*, y Delphinidin 3-manolyglucoside que presenta mayor presencia en *A. pulchra* var. *maxima*. El autor también destaca que observó una gran variación en las cantidades relativas de antocianinas cuantificadas en *A. pulchra* como en otras especies de *Alstroemeria* estudiadas (Nørbaek et al., 1996).

Años después, Muñoz-Schick y Moreira (2003) en su monografía de las especies chilenas del género *Alstroemeria*, presentan con dudas, tres taxones

infraespecíficos para *A. pulchra*: *A. pulchra* var. *pulchra*, *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* y *A. pulchra* var. *maxima*, lectotipificando este último taxón, en base a material colectado y herborizado por Philippi en 1860 en Cajón del Boldo, Catemu, Provincia de Aconcagua (SGO 38096), rechazando la propuesta taxonómica *A. magnifica* subsp. *maxima* (Bayer, 1987).

En un estudio colorimétrico posterior (Finot et al., 2015), cuantificaron el color las flores de individuos de *A. pulchra* y *A. magnifica*. Los resultados obtenidos les permitieron diferenciar colorimétricamente estas dos especies y determinaron que *A. pulchra* var. *maxima* posee mayor similitud colorimétrica con *A. pulchra*, corroborando la propuesta *A. pulchra* var. *maxima* (Philippi, 1864).

Por otro lado, *Alstroemeria pulchra* subsp. *lavandulacea* es un taxón escasamente documentado y no ha sido incluido en trabajos colorimétricos o morfométricos hasta ahora. Muñoz-Schick y Moreira (2003) mencionan la necesidad de determinar con mayor exactitud la distribución actual de este taxón, del cual no les fue posible encontrar plantas ni semillas en terreno.

En un trabajo reciente (Finot et al., 2018b) mencionan la presencia de escasas poblaciones de este taxón en las regiones del Maule, Ñuble y Araucanía, una causa de su baja presencia sea efecto de la escases de hábitats inalterados en su área de distribución, donde estas tres regiones incluyendo a la del Bío-bio concentran cerca del 75% del total de plantaciones forestales del país (Heilmayr et al., 2016).

Baeza et al. (2018) cuantifican y comparan los cariotipos de *A. pulchra* var. *pulchra* y de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* colectada en la periferia de la ciudad de Angol, Región de la Araucanía. Se detectó una característica particular compartida en ambos taxones estudiados, un polimorfismo de tamaño en un par de sus cromosomas homólogos, una anomalía poco documentada en

Alstroemeria y en Angiospermas en general (Baeza et al., 2018). Por otro lado, el cariotipo de *A. pulchra* var. *maxima* aún no ha sido documentado.

En el presente estudio se presentan formalmente los resultados de la aplicación de diferentes perspectivas que permitieron cuantificar caracteres morfométricos y colorimétricos derivados del perigonio en diferentes poblaciones del complejo *A. pulchra*.

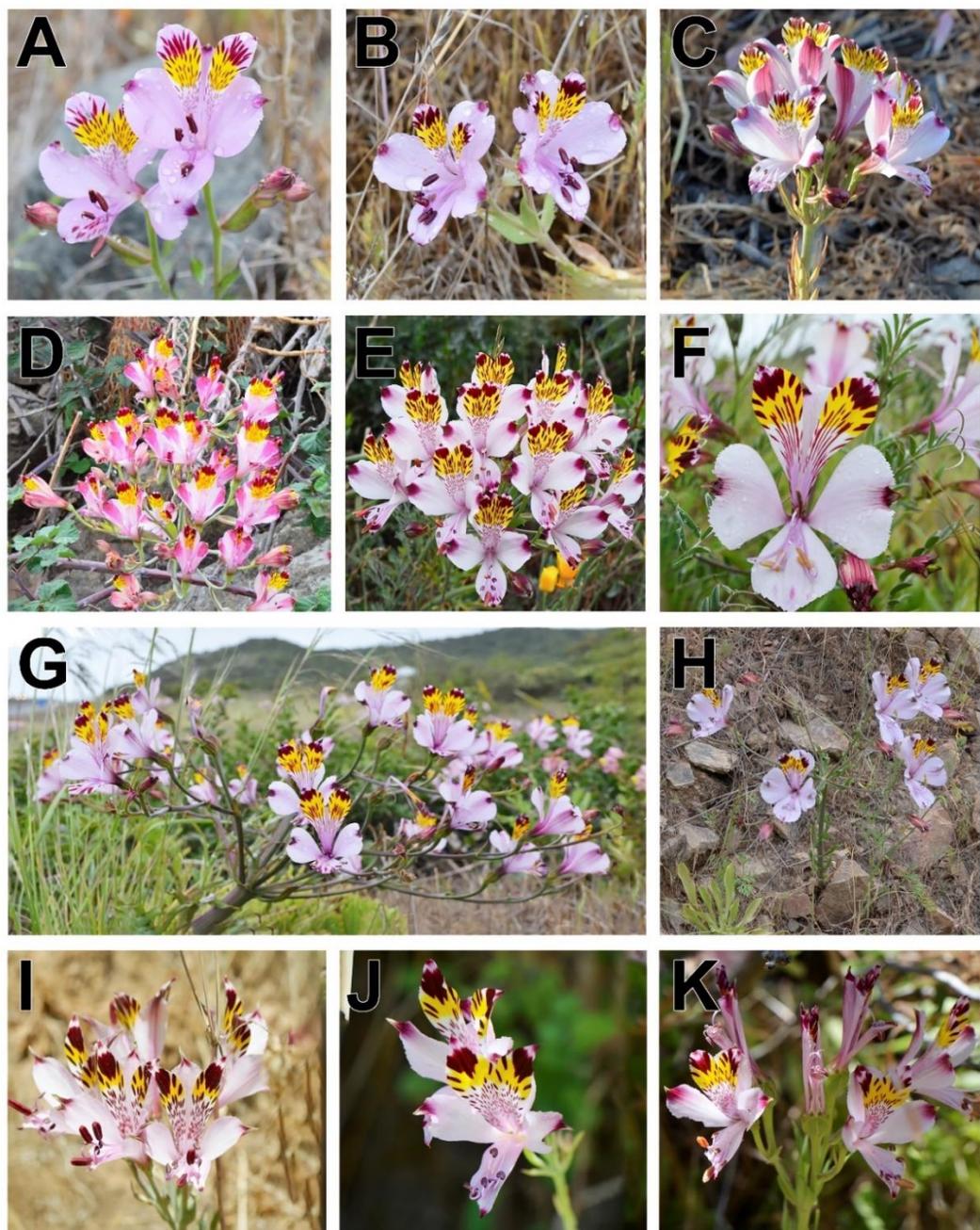


Figura 2. Diversidad floral del complejo *A. pulchra*.

Materiales y métodos

Muestreo. Ciento setenta flores fueron colectadas en su hábitat natural de poblaciones de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* (5 poblaciones), *A. pulchra* var. *pulchra* (9 poblaciones) y *A. pulchra* var. *maxima* (6 poblaciones) (de 1 a 5 flores por población) (Tabla 1) (Figura 3). Cada individuo fue identificado en terreno (ID *a priori*) utilizando un concepto morfológico de especie (Martín-Villuendas, 2019), para su identificación se consideraron características generales de la flor (colores y forma general), caracteres vegetativos y su distribución geográfica, información obtenida de literatura relacionada (Muñoz-Schick y Moreira, 2003; Finot et al., 2018b). Muestras representativas de las poblaciones estudiadas fueron depositadas en el herbario de la Universidad de Concepción, Chile (CONC) (abreviatura según Thiers, continuamente actualizado).

Tabla 1. Colectores, número de población, ID, localidad, fecha de recolección y datos de GPS de las poblaciones de *A. pulchra* incluidas en este estudio. Población incluida en cada aproximación: CL: colorimetría CIELab, CD: Colordistance, PTT: Patternize, GM: Morfometría geométrica, TM: Morfometría tradicional.

Colectores	N° pop	ID a priori	Localidad y fecha de colecta	GPS y elevación	CL, CD, PTT, GM, LM
P. Carrasco	109	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>pulchra</i>	Quebrada estero Margarita, Quilpué. 10-2017	33°04'59" S 71°25'32" W 141 m.	CL
P. Carrasco	116	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>pulchra</i>	Humedal de Mantagua, Sector Ritoque, Región de Valparaíso. 10- 2017	32°52'40" S 71°29'3" W 26 m.	CL, CD, PTT, GM, TM
M. Baeza	4382	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>maxima</i>	Petorca, los molles, sitio eriazó, calle Gabriela mistral 1438. 11-2013	32°14' S 71°31' W 35 m.	PTT, GM, TM
M. Baeza	4384	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>pulchra</i>	Petorca, comuna, La Ligua, Los Hornos, Huerquén al interior. 11-2013	32°14' S 71°20' W 206 m.	GM

M. Baeza	4385	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>maxima</i>	Petorca, la ligua, inicio cuesta el melón, desde el norte a sur. 11-2013	32°35' S 71°14' W 340 m.	CD, PTT, GM, TM
N. Villalobos, E. Ruiz, P. Carrasco	01	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>lavandulacea</i>	Colina colindante a Villa México, Angol, Región de la Araucanía. 12-2017.	37°49'09" S 72°41'19" W 100 m.	CL, CD, PTT, GM, TM
N. Villalobos, E. Ruiz, P. Carrasco	02	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>lavandulacea</i>	Colina colindante a Villa México, Angol, Región de la Araucanía. 12-2017.	37°49'10" S 72°41'15" W 101 m.	CL, CD, PTT, GM, TM
N. Villalobos P. Carrasco	10	<i>A. pulchra</i> var. <i>pulchra</i>	Ladera sur ruta Villa Alemana Quillota, km 26. 10-2018	32°57'53.6" S 71°17'28.4" W 153 m.	CL, CD, PTT, GM, TM
N. Villalobos P. Carrasco	11p	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>pulchra</i>	Orilla carretera, canal agua lluvia, Ruta 5, km 190, Los molles-Pichidangui, suelo pedregoso. 10-2018	32°12'14.2" S 71°30'57.3" W 57 m.	CL, CD, PTT
N. Villalobos P. Carrasco	11m	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>maxima</i>	Orilla carretera, canal agua lluvia, Ruta 5, km 190, Los molles-Pichidangui, suelo pedregoso. 10-2018	32°12'14.2" S 71°30'57.3" W 57 m.	CL, CD, PTT, GM, TM
N. Villalobos P. Carrasco	13	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>maxima</i>	Orilla camino hacia puente Cabildo. 10-2018	32°09'22.7" S 71°09'46.63" W 1006 m.	CL
N. Villalobos P. Carrasco	17	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>maxima</i>	Orilla camino línea férrea antigua camino pedregoso KM 178. 10-2018	32°17'40.8" S 71°27'41.1" W 46 m.	CL
N. Villalobos P. Carrasco	18	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>maxima</i>	Ruta los Vilos – Papudo orilla camino. 10-2018	32°26'58" S 71°19'31.9" W 22 m.	CL, TM
N. Villalobos P. Carrasco	19	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>maxima</i>	Quebrada puente Catapilco, Santa Bertina, Alta-vista Olivo Santo. 10-2018	32°36'57.3" S 71°24'09.1" W 7 m.	CL
N. Villalobos P. Carrasco	20	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>pulchra</i>	Recinto privado orilla oeste camino ruta Concon – Ma-intencillo, Bosque Eucaliptus, suelo arenoso. 10-18	32° 53'34.3" S 71°30'20.8" W 9 m.	CL
N. Villalobos P. Carrasco	22	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>pulchra</i>	La calera orilla camino ladera sur orilla línea tren. 11-2018	32°53'34.3" S 71°30'20.8" W 228 m.	CL, CD, PTT
N. Villalobos P. Carrasco	23	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>pulchra</i>	Orilla camino cerca rotonda Quillota San Pedro. 11-2018	32°56'27.5" S 71°17'11.8" W 80 m.	CL
N. Villalobos	30	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>lavandulacea</i>	Colina colindante a Villa México, Angol, Región de la Araucanía. 12-2019.	37°49'14.4" S 72°41'22.5" W 118 m.	PTT,GM
N. Villalobos	50	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>lavandulacea</i>	Camino rural cerca orilla rio claro, ladera norte. 12-2020	35°10'49.75" S 71°23'8.81" W 221 m.	CD, PTT

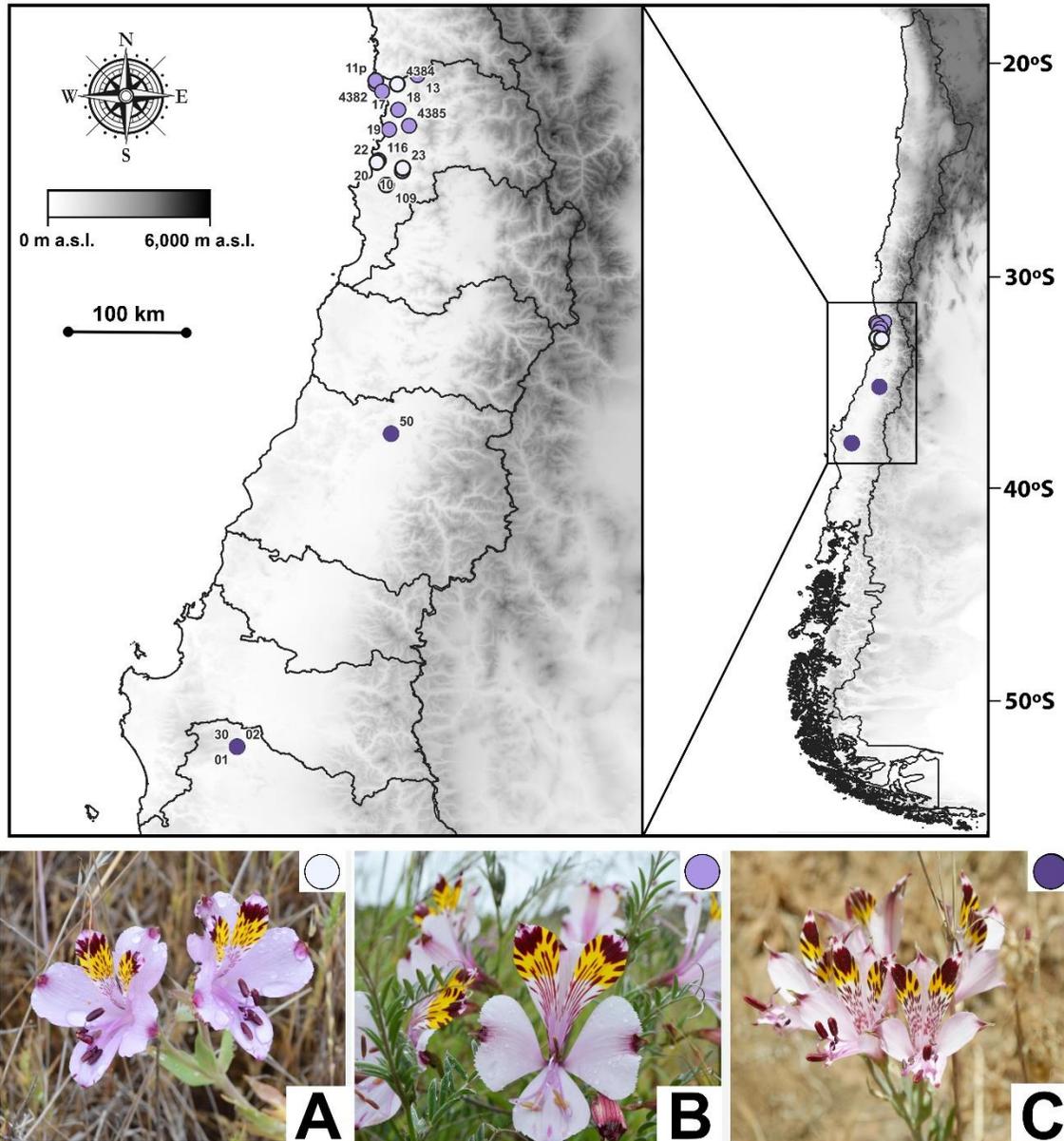


Figura 3. Mapa poblaciones de *A. pulchra* evaluadas en estudio morfo-colorimétrico. a. *A. pulchra* var. *pulchra*; b. *A. pulchra* var. *maxima*; c. *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*. Fuente: Elaboración propia.

Para la caracterización colorimétrica y morfométrica del complejo *A. pulchra*, los tépalos de ciento diez flores fueron cuidadosamente separados, extendidos, prensados, secados y montados de manera ordenada en carpetas de herbario, para su posterior digitalización (p.ej. Fig. 4).



Figura 4. Tépalos prensados y digitalizados de *A. pulchra* var. *pulchra* (Villalobos población n°18). Fuente: Elaboración propia.

Morfometría tradicional. El largo (desde el ápice a la base del tépalo) y ancho (en la parte más ancha del tépalo) de tépalos herborizados de *A. pulchra* fueron medidos (en cm) y registrados en un libro Excel con su correspondiente identificación, posteriormente se calculó la relación largo/ancho para cada tépalo. Un total de 540 medidas fueron tabuladas en una matriz de datos que fue posteriormente analizada.

Color principal y reflectancia de los tépalos. A sesenta y dos flores frescas se les midió el color y la reflectancia de la superficie de sus tépalos, diferenciados por tépalos externos (A), tépalos internos superiores (I), y tépalo interno inferior

(UL). Las mediciones colorimétricas se realizaron en la zona media de la cara adaxial de cada tépalo previamente separado, siguiendo métodos de trabajos anteriores (Finot et al., 2015; Finot et al., 2016). Cada medición colorimétrica fue realizada por triplicado en un colorímetro-espectrofotómetro Hunterlab Colorquest. El color principal de los tépalos fue representado a través de las coordenadas de color CIELab L* (luminosidad; 0–100), a* (verde–rojo; -100–100), y b* (azul–amarillo; -100–100) (CIE 1978). Con los valores de las coordenadas a* y b* se calculó la saturación (C*) $[(a^*2+b^*2)^{1/2}]$, y el tono (h) $[\arctg(b^*/a^*)]$ de cada muestra (Finot et al., 2016). Los valores de reflectancia fueron medidos como el porcentaje de luz incidente reflejada por la muestra dentro del espectro visible (400 a 700 nm) cada 10 nm.

Las 93 variables de reflectancia fueron tabuladas en una matriz de datos en un libro Excel, ubicando en filas los individuos y en columnas las variables. De igual manera los valores colorimétricos obtenidos a través de las coordenadas CIELab L*, a*, b*, C* y h fueron tabulados. A cada matriz de datos generada, se le agregaron cuatro columnas adicionales para ser posteriormente usadas como variables categóricas, codificadas como *ID a priori*, n° población, n° individuo y set de tépalo.

Digitalización. Debido a que los tépalos (I) presentan ornamentaciones y más de un color, fueron analizados a través de aproximaciones digitales, para ello se utilizaron las utilidades disponibles en los paquetes de R Patternize (ver. 0.0.3; Van Belleghem et al., 2017) y Colordistance (ver. 1.0; Weller y Westneat, 2018). Las carpetas con las flores herborizadas fueron digitalizadas con un escáner plano Cannon 5600F a una resolución de 600dpi, incluyendo su respectiva escala y paleta de colores para la posterior calibración del color (Pascale, 2006; Van Belleghem et al., 2017). Posteriormente las imágenes obtenidas fueron editadas, cada tépalo fue recortado y guardado como un archivo de imagen

(jpg) independiente, identificado con su número de población, individuo y set de tépalo correspondiente. Basado en descripciones anteriores (Bayer, 1987; Finot et al., 2018b), para los análisis morfométricos sólo se consideraron los tépalos del lado derecho debido a la simetría de las partes del perigonio (tépalos externos e internos superiores), aquellos tépalos decolorados o dañados durante la herborización, no fueron incluidos en los análisis. La metodología de cada aproximación se describe a continuación:

Caracterización de los patrones de máculas. Sesenta imágenes de tépalos l fueron integradas y analizadas utilizando las herramientas disponibles en el paquete de R Patternize (ver. 0.0.3; Van Belleghem et al., 2017). Patternize es un paquete de R que cuantifica la variación en los patrones de color obtenidos a partir de los datos de imágenes. Para obtener homología entre los patrones de las muestras analizadas a través del registro de imágenes, la identificación de patrones se realizó categorizando los colores presentes en una imagen utilizando umbrales RGB preestablecidos. Permitiendo seleccionar el color a partir de cualquiera de las muestras analizadas u otro valor preestablecido por el usuario. La información extraída de cada imagen fue transformada a un archivo *raster* que contiene la información del color extraído. La cuantificación de los patrones de color fue visualizada a través de mapas de calor y se comparó su distribución entre los taxones infraespecíficos de *A. pulchra*. Utilizando la función *patPCA*, los archivos *raster* fueron transformados a valores 0 y 1 para ser sometidos a análisis de componentes principales (Van Belleghem et al., 2017). Se seleccionaron imágenes representativas al azar en cada taxón infraespecífico de *A. pulchra*, los valores de color RGB a extraer para cada taxón fueron: *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* R:102, G:36, B:55. *A. pulchra* var. *pulchra*, R:112, G:9, B:56. *A. pulchra* var. *maxima* R:88 G:27 B:42, *color offset*: 0.3, el resto de los parámetros se utilizaron por defecto.

Los patrones extraídos fueron registrados y resumidos en archivos *raster*. La información de los archivos *raster* fue representada gráficamente como mapas de calor, destacando las zonas de los tépalos con mayor presencia de máculas entre las muestras analizadas. La información de patrones obtenida fue posteriormente sometida a análisis multivariados.

Caracterización de la proporción de colores. Utilizando las herramientas disponibles en el paquete de R *Colordistance* (Weller y Westneat, 2018), se estimaron los colores presentes en 52 imágenes de tépalos I. A través del método de agrupamiento por histogramas cada imagen fue integrada y leída como un objeto 2D, cuantificando los colores presentes en el espacio de color CIELab. Luego de estudios exploratorios, los colores cuantificados fueron agrupados en cuatro categorías. El análisis se realizó con la configuración predeterminada, excepto para las coordenadas de color CIELab ($L^*:1$, $a^*: 2$ $b^*: 2$), tamaño del muestreo (10000), blanco de referencia (D50), y valores de corte para eliminar el color blanco de fondo: inferior (0.8, 0.8, 0.8), superior (1, 1, 1). Luego de estudios exploratorios y dentro de las métricas disponibles en *Colordistance* para estimar las distancias de color entre imágenes, se utilizó la métrica EMD (Earth mover's distance), recomendada por el autor (Rubner et al., 2000; Weller y Westneat, 2018). Los valores de distancia de color entre muestras fueron resumidos en una matriz de datos. Para poder someter la matriz obtenida a análisis multivariado, fue transformada a una matriz de distancia euclidiana cuadrada a través de la función *dist* incluida en el R package *stats* de R (ver. 4.1.2; R core Team, 2022). La matriz euclidiana obtenida fue posteriormente sometida a análisis de coordenadas principales, recomendado para este tipo de datos (Goslee, 2010), las dos primeras coordenadas principales fueron graficadas y se seleccionaron tres histogramas, colocados junto al gráfico de PCO, para representar la variación en la

proporción de colores de los tépalos cuantificados. Las coordenadas principales obtenidas fueron exportadas a un libro Excel para posteriormente ser sometida a análisis discriminante.

Contorno de los tépalos. 81 tépalos A y 61 tépalos I fueron seleccionados y posteriormente transformadas a imágenes binarizadas (blanco y negro), modificando el contraste y brillo para obtener una forma definida del contorno del tépalo. Para estimar la forma de los contornos de los tépalos A e I, las imágenes fueron analizadas utilizando morfometría geométrica en 2D utilizando las herramientas disponibles en el paquete de R Momocs (Bonhomme et al., 2014), analizando cada set de tépalos por separado. Para tener un registro objetivo de contornos, las imágenes fueron previamente ajustadas y alineadas a través del análisis de Procrustes (GPA, Slice, 2007), utilizando tres puntos homólogos o landmarks (uno en el ápice y dos en la base de cada tépalo). Se determinó el número óptimo de coeficientes armónicos que capturen el 99.9% de la forma a evaluar. La información obtenida (coeficientes armónicos) de cada set de tépalos fue subsecuentemente sometida a análisis multivariado.

Análisis multivariado. Para someter la información de cada aproximación a análisis estadísticos paramétricos, las variables de las matrices obtenidas a partir de la colorimetría CIELab, reflectancia y morfometría tradicional fueron sometidas a prueba de normalidad (test Shapiro-Wilks modificado). Las variables que no cumplieron con la prueba de normalidad fueron analizadas mediante estadística no paramétrica, utilizando la prueba de Kruskal-Wallis (Kruskal y Wallis, 1952) como método comparativo (valor de significancia p : 0.05).

Las variables seleccionadas de cada matriz fueron sometidas a estadística descriptiva mediante análisis de varianza (ANOVA). Como método comparativo se utilizó la prueba de Tukey (Tukey, 1949) (valor de significancia p : 0.05).

Para representar gráficamente la variabilidad estimada de cada aproximación, la información obtenida fue sometida a análisis de componentes principales (PCA) o análisis de coordenadas principales (PCoA) según corresponda, las componentes principales (PC) o coordenadas principales (PCO) obtenidas fueron utilizadas como variables discriminantes en análisis posteriores.

Seis de matrices de datos (Color CIELab, reflectancia, patternize, morfometría tradicional, morfometría geométrica tépalos A, morfometría geométrica tépalos I) fueron sometidas a PCA y una (proporción de colores) a través de PCoA, cada matriz incluyó cuatro columnas adicionales como variables categóricas o de identificación: 1. ID *a priori*, 2. número de individuo, 3. número población y 4. grupo de tépalo (A, I, UL) como identificación. Adicionalmente se generó una matriz de datos que combina las tres primeras componentes principales de la forma de los tépalos A y las tres primeras de los patrones de ornamentación de 55 tépalos I, que fueron sometidas a análisis discriminante.

Las componentes principales (CP) y coordenadas principales (CoP), según corresponda, obtenidas de cada aproximación fueron posteriormente sometidas a análisis discriminante lineal (ADL), utilizadas como variables discriminantes. Inicialmente se evaluó la capacidad discriminante de cada aproximación entre los grupos definidos como *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* y *A. pulchra* subsp. *pulchra* (que incluye a *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* var. *maxima*).

Posteriormente se evaluó la capacidad discriminante entre las variedades *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* var. *maxima*. Por otro lado, la matriz de datos combinada sometida a ADL incluyó tres grupos *a priori*, *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*, *A. pulchra* var. *maxima* y *A. pulchra* var. *pulchra*. A través de los ADL se obtuvieron las funciones discriminantes, ejes canónicos y los centroides de cada grupo. A través de la distancia de Mahalanobis (DM) se calcularon las distancias entre los centroides de los grupos determinados, útil para estimar la

distancia (proximidad, diferenciación) entre los grupos analizados (Mahalanobis, 1936; Escobedo y Salas, 2008). Adicionalmente, se obtuvo una tabla de clasificación cruzada (tasa de error aparente) con el número de casos correctamente identificados y el porcentaje de error de la clasificación *a priori* para cada set de datos analizado.

La dispersión de los datos obtenidos de cada aproximación en el espacio de las componentes principales, coordenadas principales o ejes canónicos según corresponda, se representaron a través de gráficos de puntos en 2D, destacando cada taxón infraespecífico de *A. pulchra* definido *a priori* con diferentes formas y colores. Adicionalmente la variabilidad de cada taxón infraespecífico a través de las PC o PCoA fue representado a través de gráficos de Boxplot, las cajas representan el rango 20-75% y los bigotes los rangos máximos y mínimos, los outliers fueron representados como puntos negros. La edición y procesamiento de imágenes se realizaron utilizando Adobe Photoshop (ver. 22.0.0; Adobe Inc. 2019). La información obtenida con los R packages *Patternize* y *Momocs* fue sometida a PCA a través de la función *prcomp* disponible en el R package *stats* (ver. 4.1.2; R Core Team 2022) utilizando parámetros por defecto. Los análisis y herramientas de los paquetes de R (ver. 4.1.2; R Core Team 2022) utilizados en este estudio fueron ejecutados con ayuda de los programas RStudio (Posit Team, 2022) e Infostat (ver. 2020e; Di Rienzo et al., 2016). Para un mejor entendimiento, los caracteres y variables morfo-colorimétricas utilizadas en los análisis del perigonio de *Alstroemeria pulchra* se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Variables colorimétricas y morfológicas derivadas del perigonio de *Alstroemeria pulchra* con sus rangos/unidades, incluidas en los análisis multivariados.

Variable cuantificada	Rango, unidad
Colorimetría CIELab (set tépalos A, I, UL)	
Coordenada L*	-100–100 (Brillo)
Coordenada a*	-100–100 (Verde–Rojo)
Coordenada b*	-100–100 (Azul–Amarillo)
Coordenada C*	0–100 (Saturación)
Coordenada h	0–360 (Tono/hue)
Reflectancia	0–100%
Morfometría lineal (set tépalos A, I, UL)	
Longitud tépalo	En cm
Ancho tépalos	En cm
Relación largo/ancho	
Proporción de colores tépalos I	Coordenadas principales
Patrones de máculas tépalos I	Componentes principales
Forma contorno tépalos A	Coeficientes armónicos, componentes principales
Forma contorno tépalos I	Coeficientes armónicos, componentes principales

Resultados

Color principal de los tépalos y reflectancia.

El promedio y desviación estándar de las coordenadas CIELab obtenidos fueron separados por taxa infraespecífico de *A. pulchra* y por set de tépalos, se resumen en la tabla 2. A través de los ANOVA se calcularon diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las variables colorimétricas de los taxones infraespecíficos de *A. pulchra*, representadas con diferentes letras (Tabla 3).

Tabla 3. Promedio y desviación estándar de cada una de las coordenadas colorimétricas CIELAB y medias morfométricas entre los taxones infraespecíficos de *A. pulchra* sometidos a ANOVA. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los grupos basado en test a posteriori de Tukey. !: variables analizadas bajo ANOVA no paramétrico (Kruskal-Wallis).

Coordenadas colorimétricas CIELab	Grupos asignados a priori					
	subsp. <i>lavandulacea</i>		var. <i>pulchra</i>		var. <i>maxima</i>	
L* set tépalos A	60.4 ± 1.8	a	58.0 ± 0.9	a	57.1 ± 0.9	a
a* set tépalos A	3.3 ± 0.6	a	-0.1 ± 0.3	b	2.3 ± 0.3	a
b* set tépalos A	1.3 ± 0.8	a	3.1 ± 0.4	a	-2.0 ± 0.4	b
C* set tépalos A	3.6 ± 0.7	a	3.5 ± 0.4	a	3.5 ± 0.4	a
h set tépalos A	0.4 ± 0.3	a	0.4 ± 0.2	b	-0.5 ± 0.2	a
L* set tépalos UL	48.2 ± 1.9	a	50.0 ± 0.9	a	55.0 ± 1.0	b
a* set tépalos UL	3.9 ± 0.6	a	-1.1 ± 0.3	b	1.7 ± 0.3	c
b* set tépalos UL	0.3 ± 0.9	a	2.6 ± 0.5	b	-1.7 ± 0.4	a
C* set tépalos UL	4.0 ± 0.8	a	3.1 ± 0.4	a	3.1 ± 0.4	a
h set tépalos UL	0.1 ± 0.3	a	-0.7 ± 0.1	b	-0.7 ± 0.1	b
L* set tépalos I	36.5 ± 1.6	a	43.6 ± 0.7	b	41.5 ± 0.8	b
a* set tépalos I	4.5 ± 0.7	a	3.8 ± 0.4	a	6.9 ± 0.4	b
b* set tépalos I !	5.9 ± 2.5	a	13.6 ± 7.0	a	30.8 ± 7.2	b
C* set tépalos I !	7.7 ± 1.2	a	14.4 ± 6.5	a	31.7 ± 7.1	b
h set tépalos I !	0.9 ± 0.3	a	1.2 ± 0.3	b	1.3 ± 0.1	b
Morfometría lineal						
Largo set tépalos A	3.5 ± 0.1	a	3.2 ± 0.1	b	3.9 ± 0.1	c
Ancho set tépalos A !	1.1 ± 0.3	a	1.2 ± 0.2	a	2.1 ± 0.3	b
Largo set tépalos UL !	2.9 ± 0.1	a	2.5 ± 0.1	b	3.6 ± 0.1	c
Ancho set tépalos UL !	1.0 ± 0.2	a	1.0 ± 0.2	a	1.7 ± 0.3	b
Largo set tépalos I	3.8 ± 0.2	a	3.8 ± 0.4	a	5.2 ± 0.6	b
Ancho set tépalos I !	0.8 ± 0.2	a	1.0 ± 0.2	b	1.5 ± 0.2	c

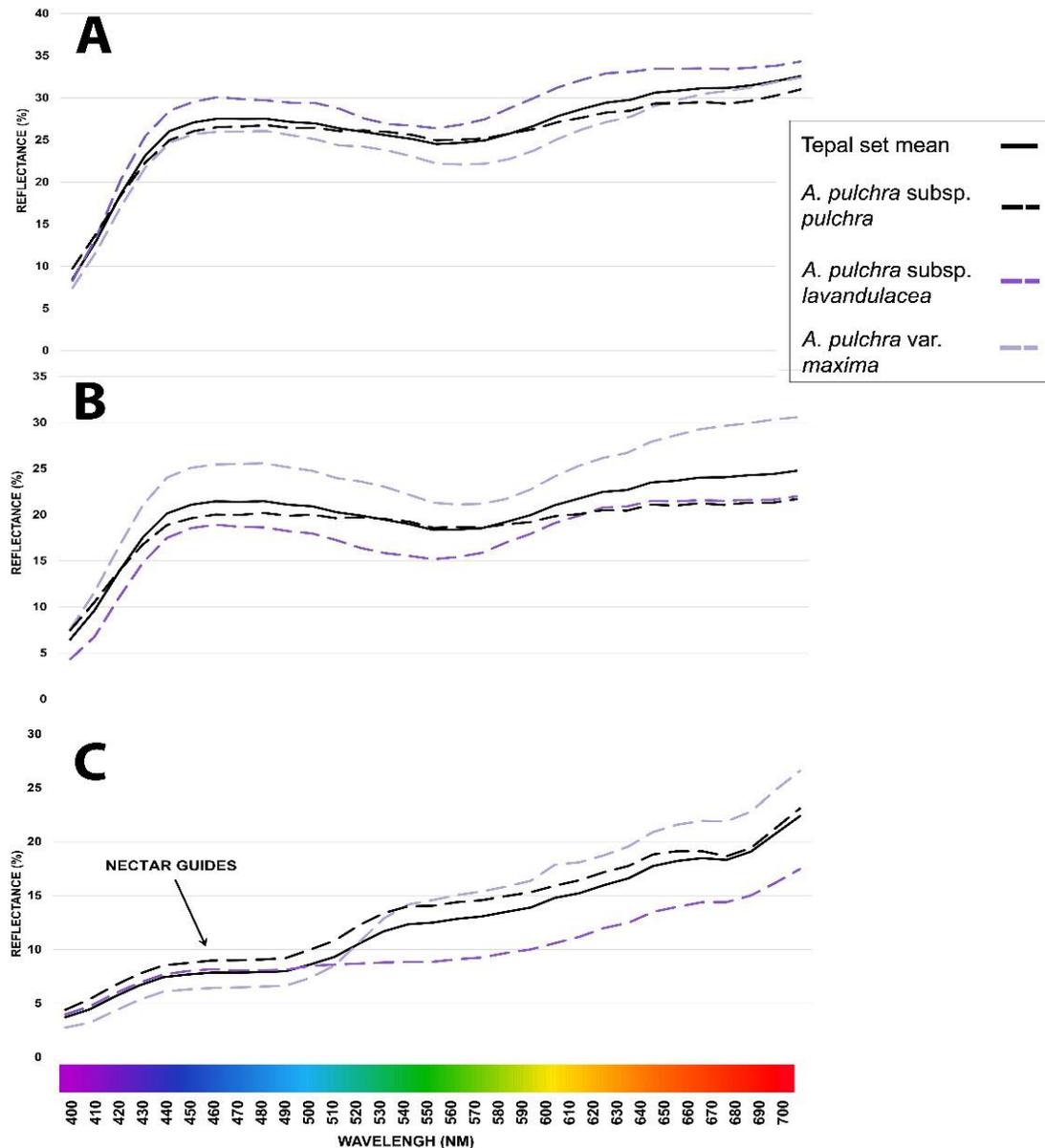


Figura 5. Reflectancia de tépalos externos (a), internos inferiores; (b) e internos superiores(c) por taxa infraespecífico de *A. pulchra* dentro del espectro visible (400-700 nm). Fuente: Elaboración propia.

Los espectros de reflectancia de los tépalos A y UL tienden a ser similares donde, en general, los tépalos UL son aproximadamente un 5% más oscuros que los tépalos A. Los tépalos I poseen, en promedio, los menores valores de reflectancia en comparación a los otros sets de tépalos, valores influenciados principalmente por la presencia de las máculas (patrones de ornamentación) que le otorgan menores valores de reflectancia (Fig. 5). Los

datos de reflectancia de los tépalos A sometidos a PCA muestran similares tendencias de dispersión de las observaciones en comparación a los datos CIELab, separando principalmente a *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* de *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* var. *maxima*, mientras que la segunda PC separa a *A. pulchra* var. *pulchra* de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* y *A. pulchra* var. *maxima*, en este último se visualizó una gran variabilidad en los valores de reflectancia (Fig. 6A).

En general, los tépalos externos poseen los tonos más claros, seguido de los tépalos internos inferiores y los tépalos internos superiores que poseen los menores valores de L* registrados. Solo la coordenada CIELab a* de los tépalos UL presentó diferencias estadísticamente significativas entre los taxones infraespecíficos de *A. pulchra*.

Luego de las pruebas de normalidad y a través de PCA preliminares (no mostrado en este estudio), las coordenadas CIELab L*, a* y b* de los tépalos UL, fueron las variables seleccionadas para representar el color principal de los tépalos. Las dos primeras componentes principales obtenidas representan el 94% de la variabilidad colorimétrica estimada, donde es posible apreciar un leve solapamiento de las observaciones colorimétricas identificadas *a priori* cerca del origen de las PC (Fig. 6B).

La influencia de la variable b* hacia la izquierda de la primera componente reúne a las observaciones identificadas como *A. pulchra* var. *pulchra*, influenciadas por los valores positivos de la coordenada b* (2.0 ± 0.5) y levemente negativos de a* (-0.4 ± 0.4), traducido en tépalos con tonos blanquecinos a levemente verde-amarillentos. Las observaciones identificadas como *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* y *A. pulchra* var. *maxima* se ubican a la derecha de la primera PC influenciadas principalmente por la coordenada a*. Estos grupos se diferencian principalmente por mayores valores de las

coordenadas a^* (3.9 ± 1.0) y valores cercanos a 0 de b^* en *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* (0.3 ± 1.2), traducido en flores con tonos levemente rojizos o liliáceos. Mientras que menores valores de a^* (1.9 ± 0.5) y valores levemente negativos de b^* (-0.8 ± 0.7) en *A. pulchra* var. *maxima* la diferencian al poseer tépalos con tonos levemente rojo-azulado.

Proporción de colores. A través del análisis de imágenes fue posible determinar cuatro colores predominantes presentes en los tépalos I de *A. pulchra* caracterizados como: 1. Color principal de fondo; 2. Color de las máculas, 3. Tonos amarillos, y 4. Otros colores presentes diferente de los anteriores. Siete histogramas fueron agregados al gráfico de PCO obtenido compuesto por las dos primeras coordenadas principales obtenidas, que representan en conjunto un 78% de la variabilidad de color estimada (Fig. 6C). En general, los análisis mediante esta herramienta no permitieron diferenciar grupos separados entre las observaciones analizadas (Fig. 6C).

Patrones de máculas. Las dos primeras PC obtenidas explican un 27% de la variabilidad de patrones estimada. La dispersión de los datos en las PC permite diferenciar tres grupos no solapados que se aproximan cerca del origen (Fig. 6D). A través de mapas de calor fue posible visualizar gráficamente la presencia de una mácula central presente en el tercio superior de los tépalos, variando en forma e intensidad entre los taxones infraespecíficos de *A. pulchra* (Fig. 6D). Los patrones menos marcados se evidenciaron en *A. pulchra* var. *pulchra* que ocupa una posición intermedia, cerca del origen de las PC. La distribución de los patrones de máculas de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* la ubican en el eje negativo de la primera componente (16% de la variabilidad de patrones estimada), con la presencia de una gran mácula central en el tercio superior, similar en largo y ancho. Por otro lado, la mácula central de *A. pulchra* var. *maxima*, también restringida al tercio superior del tépalo, posee una distribución

más horizontal, distribuida a lo ancho del tépalo, que la diferencia de los otros dos taxones, ubicándola en el eje positivo de la primera PC.

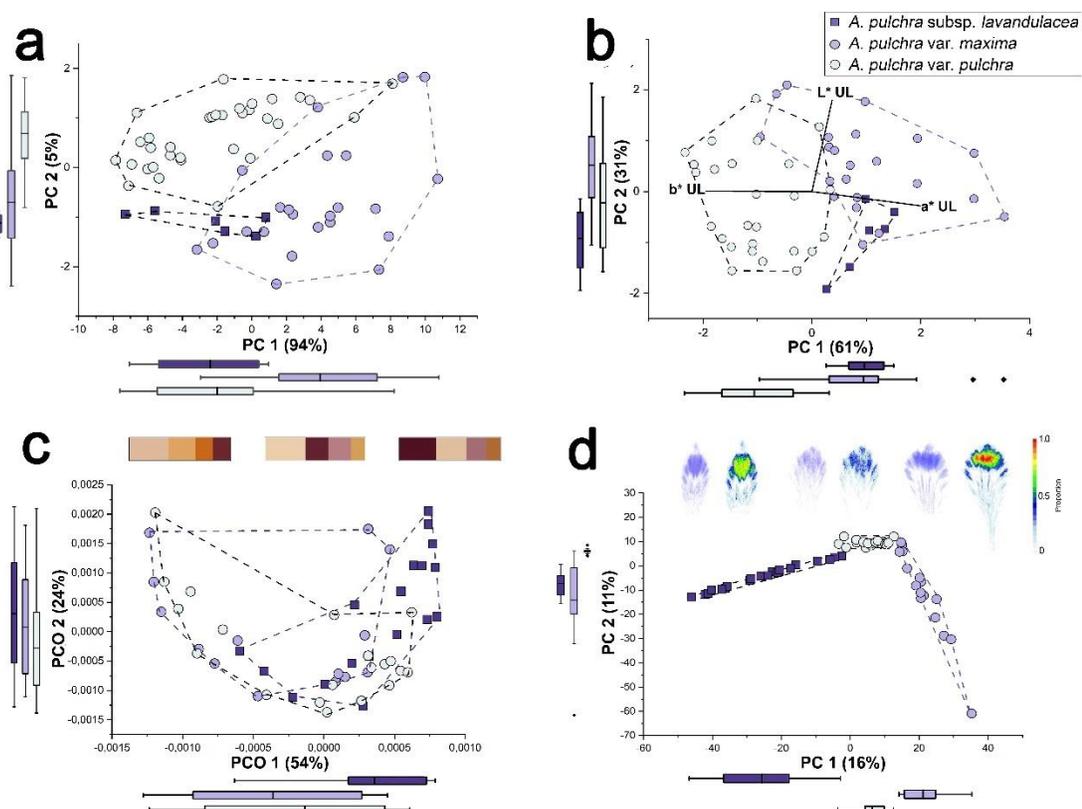


Figura 6. PCA obtenidos de los datos de: a. Reflectancia; b. Colorimetría; c. Proporción de colores; d. Patrón de máculas.

Medidas morfométricas tradicionales. Las mediciones lineales demostraron que *A. pulchra* var. *maxima* posee diferencias significativas en el tamaño de los tépalos de sus flores, tanto en el largo como en el ancho (Tabla 2).

Las medias del largo de los tépalos A, largo de los tépalos UL y ancho de los tépalos I poseen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos evaluados. El ancho de los tépalos A y UL y el largo de los tépalos I, diferencian a *A. pulchra* var. *maxima* del resto de las observaciones con tépalos I de 5.2 cm

de largo, mientras que los otros taxones poseen en promedio tépalos de 3.8 cm de largo (Table 2). Posterior a las pruebas de normalidad, y evitar sobrerrepresentación de los datos, solo tres caracteres fueron considerados para el análisis de componentes principales (largo tépalos UL, ancho tépalos A y relación largo/ancho de los tépalos I). Las primeras dos componentes principales obtenidas en conjunto explican un 94% de la variabilidad estimada y se observa un solapamiento de los tres taxones infraespecíficos de *A. pulchra* (Fig. 7A). Las observaciones identificadas como *A. pulchra* var. *maxima* que poseen en promedio, tépalos más largos y anchos se dispersan hacia el eje positivo de la primera PC, influenciadas por el largo de los tépalos UL y ancho de los tépalos A (Fig. 7A). Mientras que las observaciones identificadas como *A. pulchra* var. *pulchra*, y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* se dispersan en el eje negativo de la primera PC y son separadas por la segunda PC (27% de la variabilidad estimada), donde la relación largo–ancho de los tépalos, separa a *A. pulchra* var. *pulchra* de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* que posee, en general, tépalos más largos y angostos (Tabla 2, Fig. 7A).

Contorno de los tépalos. Los coeficientes de Fourier analizados permitieron reconstruir la forma general de los tépalos A1 e I1 de *A. pulchra*, que representan la forma general de los tépalos externos e internos superiores, su representación a través de las componentes principales permitió estimar su variación en el morfoespacio (Fig. 7B-C). La variación de la forma general de los tépalos externos va desde espatulados a obovados, con el ápice acuminado, redondeado o menos prominente (Fig. 7B). La forma de los tépalos internos superiores varía de espatulados a obovados siendo más estrechos en la base de los tépalos (Fig. 7C). Las PC graficadas evidenciaron similares tendencias de agrupamiento, donde *A. pulchra* var. *maxima* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* que ocupan posiciones opuestas entre sí en relación con el origen

de la primera PC y no se solapan (87% de la variabilidad para los tépalos A, y 45% para los tépalos I). Por otro lado, *A. pulchra* var. *pulchra* en ambos análisis se detectó una alta variabilidad y ocupa una posición intermedia, solapándose con *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* y *A. pulchra* var. *maxima* (Fig. 7B-C).

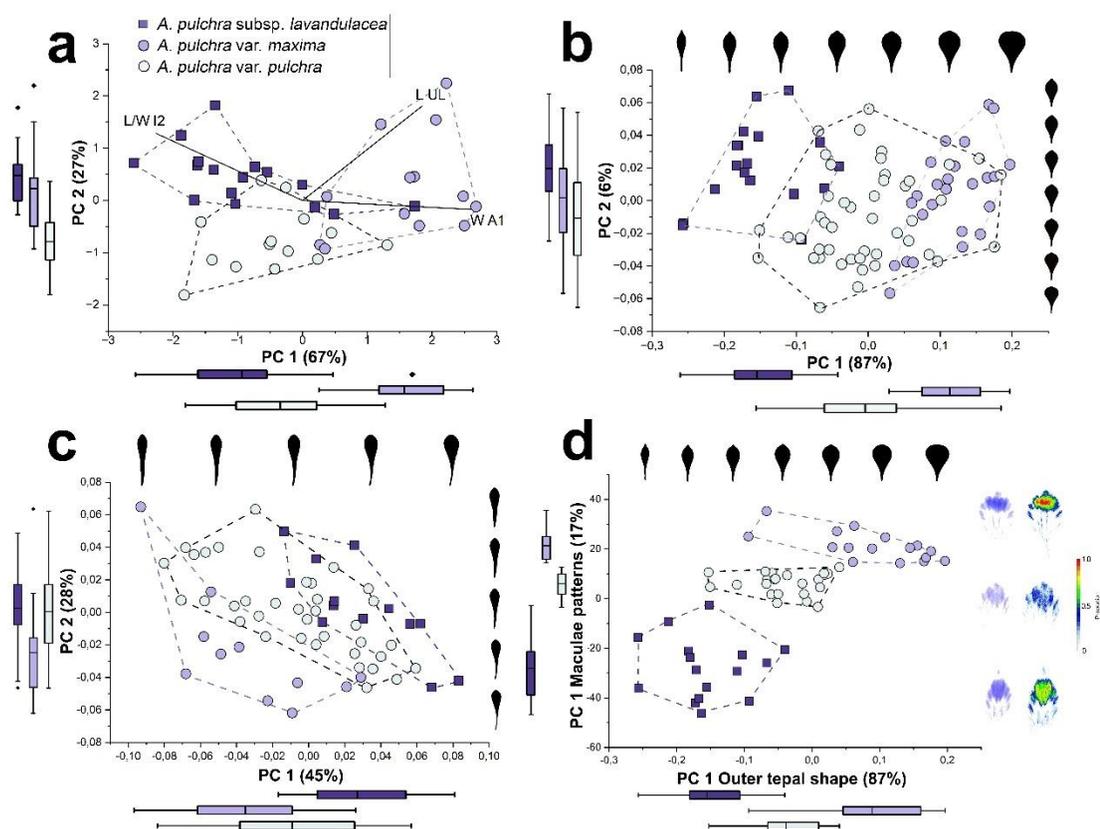


Figura 7. ACP obtenidos de los datos de: a. morfometría lineal; b. morfometría geométrica de los tépalos externos; c. morfometría geométrica de los tépalos internos superiores; d. PCs combinados PC 1: datos de morfometría geométrica (87% variabilidad estimada); PC 2: datos de patrones de máculas (17% variabilidad estimada). Fuente: Elaboración propia.

Análisis discriminante lineal (ADL). Los casos correctamente clasificados, el error promedio de la clasificación *a priori* y la distancia entre los centroides de los taxones infraespecíficos de *A. pulchra* estimados a través de la distancia de

Mahalanobis (DM), se resumen en la tabla 4 para las subespecies y tabla 5 para las variedades de *A. pulchra*.

Tabla 4. Tabla con resultados de la validación cruzada obtenida del Análisis discriminante lineal entre los grupos *A. pulchra* subsp. *pulchra* (*A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* var. *maxima*) y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*. DM Distancia de Mahalanobis calculada entre los centroides de cada grupo. Error promedio entre las aproximaciones evaluadas: 12.12%.

Aproximación, carácter (N° flores analizadas)	Grupo <i>a priori</i>	Asignación <i>a posteriori</i> análisis discriminante		Error promedio	DM
		subsp. <i>pulchra</i>	subsp. <i>lavandulacea</i>		
Color (CIELab) tépalos A (56)	subsp. <i>pulchra</i>	100% (48)		0.0%	25.3
	subsp. <i>lavandulacea</i>		100% (6)		
Color reflejado (% reflectancia) (62)	subsp. <i>pulchra</i>	78.6% (44)	21.4% (12)	10.7%	2.35
	subsp. <i>lavandulacea</i>		100% (6)		
Patrones de máculas tépalos I (patternize) (66)	subsp. <i>pulchra</i>	100% (45)		7.1%	18.4
	subsp. <i>lavandulacea</i>	14.3% (3)	85.7% (18)		
Proporción colores (Colordistance) tépalos I (52)	subsp. <i>pulchra</i>	76.5% (26)	23.5% (8)	31.2%	2.1
	subsp. <i>lavandulacea</i>	38.9% (7)	61.1% (11)		
Morfometría Lineal (45)	subsp. <i>pulchra</i>	78.6% (22)	21.4% (6)	19.5%	3.5
	subsp. <i>lavandulacea</i>	17.7% (3)	82.4% (14)		
Forma contorno tépalos I (61)	subsp. <i>pulchra</i>	100% (48)		0.0%	20.8
	subsp. <i>lavandulacea</i>		100% (13)		
Forma contorno tépalos A (88)	subsp. <i>pulchra</i>	90.0% (63)	10.0% (7)	13.3%	8.8
	subsp. <i>lavandulacea</i>	83.3% (15)	16.7% (3)		
Datos combinados: Patrones de máculas tépalos I + forma contorno tépalos A (55)	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>pulchra</i>	100% (39)		3.1%	30.5
	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>lavandulacea</i>	6.2% (1)	93.8% (15)		

Tabla 5. Resultado validación cruzada de ADL entre los grupos *A. pulchra* var. *pulchra* and *A. pulchra* var. *maxima*. DM. Distancia de Mahalanobis entre los centroides de los grupos obtenidos. Error promedio de las aproximaciones evaluadas: 10.75%.

Aproximación, carácter (N° flores analizadas)	Grupos <i>a priori</i>	Asignación <i>a posteriori</i>		Error promedio	DM
		var. <i>pulchra</i>	var. <i>maxima</i>		
Color principal tépalos externos (CIELab) (48)	var. <i>pulchra</i>	84.6% (22)	15.4% (4)	10.0%	6.8
	var. <i>maxima</i>	4.5% (1)	95.5% (21)		
Color reflejado (reflectancia) (56)	var. <i>pulchra</i>	90.9% (30)	9.1% (3)	11.1%	10.7
	var. <i>maxima</i>	13.0% (3)	87.0% (20)		
Patrones de máculas tépalos I (patternize) (45)	var. <i>pulchra</i>	100% (29)		0.0%	10.0
	var. <i>maxima</i>		100% (16)		
Proporción colores tépalos I (Colordistance) (34)	var. <i>pulchra</i>	65.0% (13)	35.0% (7)	21.1%	3.5
	var. <i>maxima</i>	7.1% (1)	92.9% (13)		
Morfometría lineal (28)	var. <i>pulchra</i>	86.7% (13)	13.3% (2)	18.2%	5.4
	var. <i>maxima</i>	23.1% (3)	76.9% (10)		
Forma contorno tépalos I (48)	var. <i>pulchra</i>	86.5% (32)	13.5% (5)	15.9%	6.1
	var. <i>maxima</i>	18.1% (2)	81.1% (9)		
Forma contorno tépalos A (70)	var. <i>pulchra</i>	82.2% (37)	17.8% (8)	14.9%	3.6
	var. <i>maxima</i>	88.0% (22)	12.0% (3)		
Datos combinados: CP patrones de máculas tépalos I, forma contorno tépalos A (39)	var. <i>pulchra</i>	100% (23)		0.0%	26.9
	var. <i>maxima</i>		100% (16)		

En general, las mayores distancias de Mahalanobis obtenidas entre los grupos definidos *a priori* se registraron entre las subespecies de *A. pulchra*, es decir, a mayor valor de Mahalanobis mayor distancia entre centroides. Las mayores distancias estimadas fueron obtenidas a partir del análisis discriminante de los datos combinados de patrones de máculas y forma de los

tépalos, obteniendo entre un 93 a un 100% de diferenciación entre los grupos definidos *a priori*.

Los CP de los datos de colorimetría CIELab y forma de los tépalos I sometidos a ADL permitieron discriminar sin margen de error a *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* y *A. pulchra* subsp. *pulchra*. Los valores de reflectancia, patrones de ornamentación, forma y tamaño de los tépalos poseen errores promedio que no superan el 22% en la clasificación *a priori*. La aproximación con el mayor margen de error obtenido mediante los análisis discriminantes entre las subespecies de *A. pulchra* fue la proporción de colores de los tépalos con un 31.2% de error promedio.

Los datos sometidos a ADL también permiten diferenciar las variedades de *A. pulchra*, *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* var. *maxima* con márgenes de error levemente menores en comparación al análisis entre las subespecies de *A. pulchra* (10.75%). El análisis de los contornos de los tépalos internos superiores permitieron diferenciar las subespecies de *A. pulchra* sin margen de error.

Los resultados del ADL de la matriz que incluyó las componentes principales de los patrones de máculas y forma de los tépalos nos permitió diferenciar los taxones infraespecíficos de *A. pulchra* con aproximadamente un 97% de casos correctamente identificados y la mayor distancia entre grupos calculada (Tabla 4. DM). Con los mismos datos no se obtuvo error en la clasificación de las variedades de *A. pulchra*.

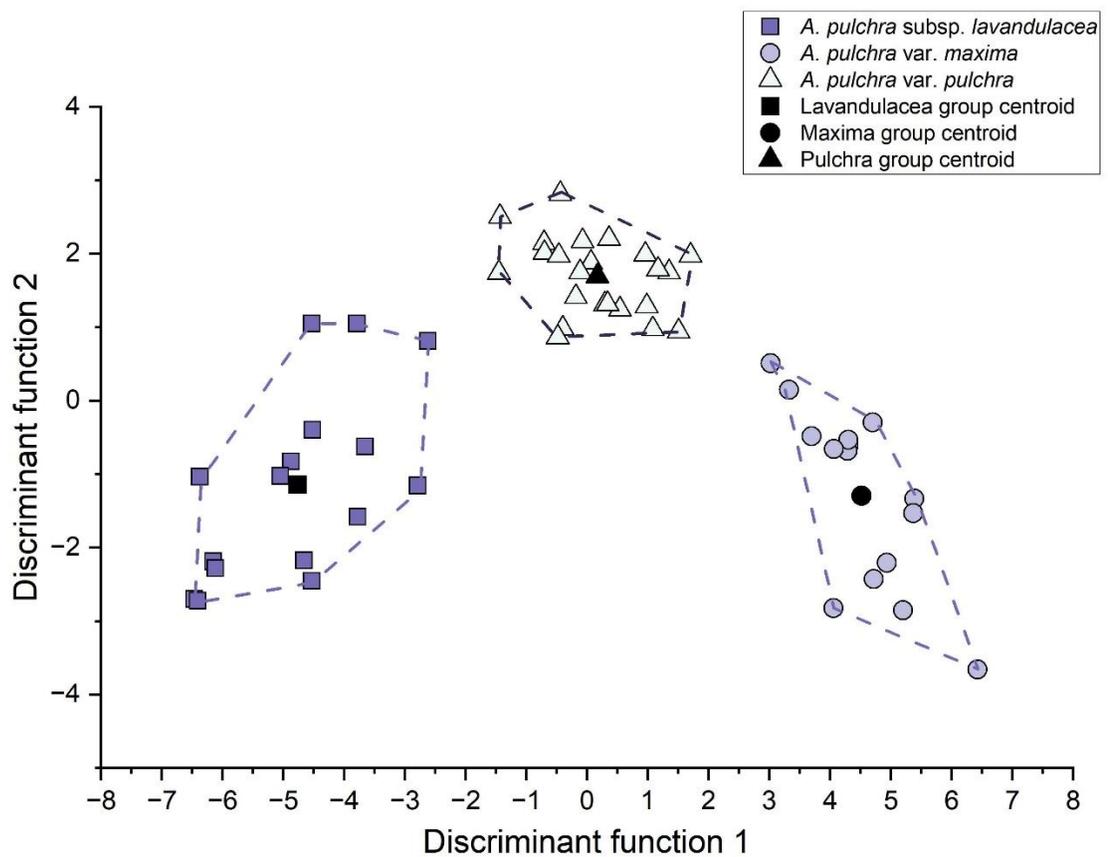


Figura 8. Análisis discriminante datos combinados de datos de morfometría geométrica de los tépalos externos y patrones de máculas de los tépalos internos superiores de *A. pulchra*, diferenciando con colores cada uno de sus taxones infraespecíficos.

Discusión

Las especies de *Alstroemeria* han sido tradicionalmente descritas e identificadas utilizando un concepto morfológico de especie basado principalmente en las características cualitativas de sus flores (Bayer, 1987). Además, muchos de los taxa descritos no han sido evaluados contando sólo con la información de su descripción, tampoco se ha estimado la variabilidad de sus caracteres morfológicos. Estudios cuantitativos posteriores han respaldado la utilidad taxonómica del color y forma de las flores sometidas a análisis multivariados, con suficiente resolución para la diferenciación de especies,

subespecies y variedades de *Alstroemeria* (Norbaek et al. 1998; Finot et al., 2015, 2016).

La representación de la variabilidad morfo-colorimétrica a través de ACP, no permitió determinar discontinuidades a partir de la forma del contorno de los tépalos entre los taxa estudiados. Pese a ello, los datos sometidos a análisis discriminante permitieron diferenciar los grupos asignados *a priori* con un margen de error promedio que no superó el 13%.

La caracterización morfo-colorimétrica del perigonio de *Alstroemeria pulchra* ha demostrado ser una herramienta valiosa en la delimitación de sus taxa infraespecíficos. Los resultados obtenidos apoyan la hipótesis inicial, evidenciando diferencias morfológicas y colorimétricas significativas de *Alstroemeria pulchra* var. *maxima* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*. Estas diferencias subrayan la importancia de integrar análisis morfológicos y colorimétricos en la taxonomía de *Alstroemeria*. Además, este enfoque destaca la relevancia de los caracteres morfo-colorimétricos, tradicionalmente utilizados en taxonomía, proporcionando un marco cuantitativo para su interpretación y aplicación.

El estudio colorimétrico de las flores de *Alstroemeria* ha demostrado ser una buena herramienta en la diferenciación de taxones a diferentes escalas (especies, subespecies, variedades o cultivares), los resultados obtenidos corroboran que el color de las flores medido objetivamente posee utilidad taxonómica para diferenciar taxones infraespecíficos en *Alstroemeria* (Nørbaek et al., 1996; Finot et al., 2015, 2016). Diferencias colorimétricas entre los tépalos externos e internos superiores también habían sido documentadas en trabajos previos (Finot et al., 2015, 2016). En *A. pulchra*, los tépalos internos superiores poseen una mancha amarilla bajo la mácula central en el tercio superior, resaltando las máculas presentes (guías de néctar), mientras que los

tépalos externos y el interno inferior generalmente poseen un solo color, carácter denominado como el “color principal de la flor” (Bayer, 1987). Estos contrastes de color entre estos tépalos son necesarios para que los polinizadores puedan diferenciar las guías de néctar del color principal de la flor, se ha demostrado que insectos de la orden Hymenoptera, principales polinizadores de *Alstroemeria* (Botto-Mahan et al., 2011, Gonzalez et al., 2015), son capaces de distinguir estas diferencias de color y su ausencia puede ser interpretado por el insecto como un daño de la flor o que la recompensa de néctar no está presente (Chitka y Raine 2006; Suárez et al., 2009; Botto-Mahan et al., 2011).

Las diferencias de color entre las subespecies y variedades de *A. pulchra* se evidencian a través de los valores de las coordenadas CIELab a^* y b^* , *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* posee flores con tonos más intensos y rojizos (valores positivos de a^* y b^*), mientras que *A. pulchra* var. *pulchra* posee flores con tonos muy tenues (valores cercanos a 0 de a^* y levemente positivos de b^*), resultados similares se obtuvieron en un estudio previo que incluyó a *A. pulchra* subsp. *pulchra* y *A. pulchra* var. *maxima* (Finot et al., 2015).

Cualitativamente Bayer (1987) describe la diferencia en el color principal de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* como “flores lilas” y la utiliza como carácter taxonómico para distinguirla de *A. pulchra* var. *pulchra*. Este trabajo entrega antecedentes colorimétricos y morfométricos que validan la propuesta de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* como un taxón diferenciable de *A. pulchra* var. *pulchra* como lo propone Bayer (1987), información que se complementan con estudios previos que han incluido y diferenciado estas subespecies (Baeza et al., 2018). En un trabajo anterior, Nørbaek et al. (1996) determinaron una mayor presencia de Antocianinas del tipo Cianidinas en *A. pulchra* var. *pulchra*, dominante en flores de tonos púrpura, por otro lado, en *A. pulchra* var. *maxima*

se determinó una mayor presencia de delfinidina, antocianina identificada en flores con tonalidades que van del violeta al azul (Saito y Harborne 1992, Nørbaek et al., 1996), estos resultados se correlacionan con las diferencias colorimétricas encontradas en este estudio entre *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* var. *maxima*.

Morfométricamente, *A. pulchra* var. *maxima* posee en promedio los tépalos más largos y anchos en comparación a los otros taxones de *A. pulchra*, esto se correlaciona con el tamaño general de la planta, se ha documentado individuos de hasta 170 cm de alto e inflorescencias de hasta 20 cm de diámetro, que hacen alusión a su nombre varietal (Finot et al., 2015). La mayor diferencia fue detectada para el largo de los tépalos internos superiores que en *A. pulchra* var. *maxima* sobresalen notoriamente, llegando a ser un cuarto más largo que los tépalos externos.

Respecto a la información obtenida a desde morfometría geométrica, en uno de los pasos preliminares (análisis de Procrustes), para obtener homología, los tamaños son modificados, por ende no es posible apreciar esta variable a través de la morfometría geométrica y podría ser una explicación de la mayor afinidad obtenida entre *A. pulchra* y *A. pulchra* var. *maxima* desde estas perspectivas. Pese a ello, fue posible determinar diferencias notorias entre los tépalos de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* y *A. pulchra* var. *maxima*, mientras que *A. pulchra* var. *pulchra* ocupa una posición intermedia.

En base a los datos obtenidos hasta ahora, la mayor similitud morfométrica y colorimétrica encontrada entre las variedades de *A. pulchra* puede estar fuertemente influenciada por su distribución geográfica solapante, *A. pulchra* var. *maxima* crece desde el norte de la región de Coquimbo hasta Santiago (29°26'–33°29'S). *A. pulchra* var. *pulchra* que crece desde el sur de la región de Coquimbo hasta la región del Maule (31°58'–35°49'S), ambos

taxones poseen una distribución simpátrica principalmente en la zona central del país (32°–33°S). En algunas poblaciones estudiadas, ambas variedades de *A. pulchra* se encontraron creciendo juntas y están dentro de los puntos que se solapan en los análisis.

Por otro lado, *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* posee una distribución alopátrica con *A. pulchra* var. *pulchra*. Hasta ahora se han documentado unas pocas poblaciones de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* geográficamente aisladas entre sí, a un costado del río Claro, frente a terrenos con viñedos en la región del Maule (35°10'S), en el cerro Cayumanque en la región de Ñuble (36°07'S), recientemente afectado por incendios forestales en verano de 2023, y en unas quebradas o a orillas de caminos en plantaciones de *Eucalyptus globulus* Labill. en las cercanías de la ciudad de Angol en la región de la Araucanía (37°52'S) (Finot et al., 2018b). No se han documentado ejemplares de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* y *A. pulchra* var. *pulchra* creciendo juntas, la escasa documentación existente, el gran deterioro de sus hábitats y reemplazo por plantaciones forestales (Heilmayr et al., 2016), impide tener más información al respecto.

Los antecedentes generados en este trabajo respaldan a *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* como un taxón reconocible y diferenciable de *A. pulchra* var. *pulchra* y en mayor grado de *A. pulchra* var. *maxima*, entregando antecedentes que reconocen su identidad y evidencian la escasa documentación existente para este taxón, es importante tomar medidas respecto a su conservación si su distribución es escasa y se encuentra amenazada.

La variabilidad intra e inter poblacional es uno de los desafíos al momento de aplicar este tipo de aproximaciones debido a la variabilidad natural existente en los organismos, la cuantificación morfológica es una de las

primeras líneas de evidencia que permiten estimar el grado de variabilidad presente en organismos o poblaciones, su combinación con otras perspectivas de estudio (p. ej. Citológicas, moleculares, ecológicas) pueden ayudar a entender las causas de la variabilidad, y evaluar integralmente las hipótesis de especies existentes.

**CAPÍTULO 2: REVELANDO LAS RELACIONES INFRAESPECÍFICAS DE
ALSTROEMERIA PULCHRA DESDE UNA PERSPECTIVA INTEGRATIVA**

Villalobos N.I., Baeza C.M., Toro-Núñez Ó., Ruiz E., Noda H., Takayama K., Finot V.L., Collado G.A., y Mora-Poblete F. *Alstroemeria maxima* (Alstroemeriaceae, Alstroemerieae) a “giant” revealed through integrative taxonomy. *Brazilian Journal of Botany*: accepted.



Figura 1. Flor de *Alstroemeria maxima*. Fuente: Elaboración propia.

Introducción

Los estudios taxonómicos y tratamientos enfocados en las especies chilenas de *Alstroemeria* L. (Alstroemeriaceae: Alstroemerieae), así como en la mayoría de las especies, se han basado tradicionalmente en conceptos fenéticos o morfológicos de especie (Martín-Villuendas, 2019). La interpretación de los atributos florales y vegetativos ha sido relevante en los intentos por consolidar una propuesta taxonómica estable a partir de caracteres que presentan una variabilidad natural, esto ha llevado a la generación de numerosos taxones nominales por diversos autores, muchos de los cuales actualmente se consideran sinónimos o de aplicación incierta (Finot et al., 2018a).

Si bien la morfología permite obtener antecedentes relacionados a la variabilidad de sus caracteres, las causas que la provocan es difícil de determinar mediante estas perspectivas, el uso de varias disciplinas puede ayudar a la taxonomía a ir más allá de nombrar las especies, apuntando hacia el entendimiento de los procesos que están relacionados (Schick-Steiner et al., 2010).

En la actualidad el uso de múltiples disciplinas permiten poner a prueba las hipótesis de especies (Dayrat, 2005), como cuando una delimitación de especies a partir de la morfología se prueba utilizando genética de poblaciones (Schick-Steiner et al., 2010).

Dentro de las áreas más estudiadas en la cuantificación y estimación de diferencias a nivel inter e intraespecífico en *Alstroemeria*, la citología ha contribuido a aclarar diversos problemas taxonómicos (p. ej. Cajas et al., 2009; Baeza et al., 2010, 2011, 2015a, 2015b, 2016a, 2016b, 2018). En años recientes, la inclusión de rasgos morfológicos en estudios citológicos también

ha facilitado el descubrimiento de nuevos taxones en *Alstroemeria* (Negritto et al., 2015; Baeza y Ruiz, 2011; Finot et al., 2018a; Rojas y Baeza, 2021). Los estudios cariológicos han permitido examinar y comparar diferencias citológicas estructurales, como el número arquitectura y simetría/asimetría de los cromosomas, encontrando diferencias a diferentes escalas taxonómicas, estas diferencias pueden ser indicativos de divergencias estructurales significativas, por ejemplo, debido a posibles barreras o mecanismos adaptativos por variación del flujo genético (Levin, 2002).

En general, la incorporación de datos morfométricos, moleculares y/o citológicos, ha ayudado significativamente a aclarar las relaciones taxonómicas entre taxones afines o grupos taxonómicos complejos, al obtener múltiples fuentes de evidencia desde diferentes disciplinas (Schick-Steiner et al., 2010; Batista et al. 2023; Suetsugu et al., 2023; Hodac et al., 2023). En este sentido, la taxonomía integrativa emerge como un enfoque prometedor, particularmente en la evaluación y reconciliación de discrepancias entre las hipótesis de especies existentes con mayor evidencia y objetividad (Padial et al., 2010). Considerando la situación actual de los taxones chilenos de *Alstroemeria*, es probable que la aplicación de un enfoque integrativo sea de gran utilidad para aclarar las incertidumbres taxonómicas actuales.

De las 39 especies de *Alstroemeria* actualmente aceptadas para Chile, once se consideran complejos, entidades que contienen entre dos a cuatro taxones infraespecíficos y sus relaciones taxonómicas permanecen poco claras (Ruiz et al., 2010; Dhiman y Kashyap, 2021). Además, los caracteres utilizados desde perspectivas cualitativas a menudo no son objetivos o carecen de suficiente resolución para diferenciar especies o variedades de *Alstroemeria* fenotípicamente afines (Finot et al., 2015). Considerando estos desafíos

taxonómicos, se hace evidente que existe una necesidad en el uso de nuevos enfoques más robustos y objetivos.

Debido a sus llamativas flores y amplia distribución en el centro de Chile, *Alstroemeria pulchra* Sims ha sido históricamente una fuente de discrepancias taxonómicas (ver Villalobos et al., 2023). Actualmente, los taxones infraespecíficos aceptados para *A. pulchra* son *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*, *A. pulchra* var. *maxima* y *A. pulchra* var. *pulchra* (Finot et al., 2018a; Villalobos et al., 2023). Hasta ahora sólo se han explorado disciplinas citológicas y morfológicas en el complejo *A. pulchra* (Baeza et al., 2018; Villalobos et al., 2023). Baeza et al. (2018) a partir de placas metafásicas descubrieron un polimorfismo de tamaño en poblaciones de *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*, los autores mencionan que ambos taxones poseen una fórmula cariotípica similar ($2n = 16$). Entre los resultados más significativos, está la presencia de un polimorfismo de tamaño en uno de sus pares cromosómicos, característica presente en ambos taxones geográficamente distantes, es además, una característica escasamente documentada en otras especies de *Alstroemeria* y angiospermas en general (Baeza et al., 2018).

Desafortunadamente, este patrón no ha sido confirmado para todo el complejo, ya que la descripción y comparación de los cariotipos de *A. pulchra* var. *maxima*, *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* y *A. pulchra* var. *pulchra* aún no se han evaluado, y el cariotipo de *A. pulchra* var. *maxima* aún es desconocido.

Un reciente análisis morfo-colorimétrico utilizando diferentes técnicas de registro permitió diferenciar las entidades infraespecíficas de *A. pulchra* con un bajo margen de error, cuantificando a través de un marco integrador, el color, la forma y los patrones de ornamentación de sus pétalos (Villalobos et al., 2023). En la mayoría de los conjuntos de datos registrados, *A. pulchra* var. *maxima* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* ocupan posiciones opuestas, diferenciándose

de *A. pulchra* var. *pulchra*, dejando preguntas sobre las casusas de la variabilidad y las relaciones entre los taxones infraespecíficos del complejo *A. pulchra* (Villalobos et al., 2023).

En estudios taxonómicos integrativos, la inclusión de datos de ADN y ecológicos resulta fundamental para el establecimiento de propuestas taxonómicas robustas. Por ejemplo, el uso de ADN como códigos de barras (Hebert et al., 2003; Crawford y Mort, 2004; CBOL Plant Working Group, 2009; Hollingsworth, 2011; Shaw et al., 2014) ha permitido su aplicación como herramienta de clasificación para asignar especímenes a especies conocidas donde las características fenotípicas pueden ser engañosas o como complemento a otras fuentes de información taxonómica en la delimitación de especies (Schindel y Miller, 2005), también puede ser usada como fuente de información complementaria para programas de biodiversidad y conservación (Jiménez y Collada, 2000).

El avance en secuenciación de última generación (o NGS por sus siglas en inglés) ha permitido la amplificación y acceso a múltiples loci de genomas de especies no modelo o desconocidos. Estos métodos pueden ofrecer una visión más detallada de la variabilidad genética a escalas infragenéricas o intra-poblacionales (Leaché et al., 2014; Suyama y Matsuki, 2015).

El uso de NGS y técnicas de amplificación de regiones ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) en *Alstroemeria* puede resultar desafiante debido a la dificultad de estandarizar estas técnicas en organismos con genomas amplios y/o desconocidos (Pan et al., 2015). Pese a ello, trabajos realizados en organismos no modelo han demostrado ser evidencia de la viabilidad del método para obtener datos genotípicos útiles para estudios en sistemática y taxonomía (Suyama y Matsuki, 2015; Binh et al., 2018; Murakami et al., 2020) y presenta gran potencial para su aplicación y uso en *Alstroemeria*.

Otro aspecto interesante por abordar son las diferencias en nichos ecológicos y su uso para inferir límites entre taxones y rangos de idoneidad de distribución. La cuantificación de las diferencias de nicho entre especies ha sido un tema de interés en ecología durante décadas (por ejemplo, Colwell y Futuyma, 1971). Como extensión, la cuantificación de las diferencias de nicho a lo largo de gradientes ambientales, es decir, relacionadas con los nichos Grinnellianos (1924) y Hutchinsonianos (1978) utilizando datos de presencia de especies se volvió común a fines de la década de 1990 con el desarrollo de modelos de nichos y distribuciones de especies (Guisan y Zimmermann, 2000). Posteriormente, Warren et al. (2008) desarrollaron un método basado en modelos de nicho (y pruebas de aleatorización asociadas) para cuantificar las diferencias de nicho utilizando comparaciones de predicciones píxel por píxel en el espacio geográfico. Broennimann et al. (2012) desarrollaron un método de cuantificación similar y pruebas de aleatorización asociadas al espacio ambiental, la ventaja de este método es la cuantificación y superposición de nichos en un espacio ambiental definido utilizando densidades de ocurrencia suavizadas, considerando además la métrica de solapamiento D de Schoener (1968). Este enfoque y otras herramientas han sido implementadas en el paquete Wallace (Kass et al., 2023). Wallace, está diseñado para facilitar la investigación de la biodiversidad espacial y permite caracterizar el espacio ambiental, modelar distribuciones y evaluar superposición de nichos de especies, utilizando conjuntos de datos de ocurrencia y variables predictivas ambientales. Estos modelos también conocidos como modelos de distribución de especies (o SDMs por sus siglas en inglés) proporcionan una estimación de la respuesta de la especie a las condiciones ambientales (Kass et al., 2023).

Aunque los SDMs no pueden reemplazar metodologías taxonómicas tradicionales, es una alternativa complementaria y su integración puede ofrecer

una visión más holística de los taxones estudiados (Mayo, 2022; Kass et al., 2023).

En el contexto de la conservación de la biodiversidad, un mayor número de fuentes de evidencia pueden ser especialmente útiles cuando la integridad o taxonomía de los taxones es puesta en duda, por otro lado, pueden ser grandes fuentes de biodiversidad no explorada, diferencias morfológicas distintivas, la singularidad de sus hábitats y altos grados de estructura genética de las poblaciones no solo pueden proporcionar una comprensión más profunda de la identidad y relaciones filogenéticas de los taxones estudiados, sino que también subrayan valor único dentro de la biodiversidad (Jiménez y Collada, 2000).

El objetivo de este estudio fue utilizar nuevas perspectivas no evaluadas previamente que ayuden a clarificar la taxonomía del complejo *A. pulchra*, basándonos en características vegetativas de material herborizado, citológicas, moleculares (cpDNA y MIG-seq), y de modelamiento de nicho ecológico, considerando también datos morfométricos y colorimétricos previamente publicados (Villalobos et al., 2023). Basándose en estos resultados, se proporciona una nueva propuesta taxonómica, que considera a *A. pulchra* var. *maxima* como una entidad genéticamente estructurada y morfológicamente diferenciable de *A. pulchra*. Además, se proporcionan claves morfométricas, descripciones de distribución, características vegetativas y florales actualizadas para las subespecies de *A. pulchra*.

Materiales y métodos

Análisis cariológico. A partir de dieciocho individuos colectados en terreno y cultivados en invernadero de *A. pulchra* var. *maxima*, *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* (Tabla 1), se extrajeron puntas de raíces las cuales fueron diseccionadas en fragmentos de 1-2 cm de longitud y fijadas con

una solución de 8-hidroxiquinolina (2mM) por 24 h a 4°C. Luego, las muestras fueron fijadas en una mezcla de etanol-ácido acético (3:1) durante 24 h. Posteriormente se realizaron aplastados de las muestras pretratadas con una solución de HCl 0,5 N durante 17 min a 42°C. El material fue lavado con abundante agua destilada y teñidas con solución orceína aceto-clorhídrica al 1%. Las placas metafásicas obtenidas fueron fotografiadas en un microscopio Zeiss Axioskop con cámara de video incorporada. Los cromosomas obtenidos fueron medidos con la ayuda del programa MicroMeasure (ver. 3.3; Reeves, 2001). Se midieron y tabularon un total de 18 placas metafásicas, se calculó el coeficiente de variación del largo de los cromosomas (CV_{CL}), media de la asimetría centromérica (M_{CA}) (Peruzzi y Eroglu, 2013) y la longitud total de los cromosomas (LTC) en μm . En análisis preliminares, todas las variables presentaron distribución normal y homocedasticidad, por lo que fueron sometidas a análisis de varianza paramétrico (ANOVA). Como método comparativo se utilizó la prueba *a posteriori* de Tukey-Kramer, los análisis estadísticos fueron realizados en Infostat (ver. 2020e; Di Rienzo et al., 2016).

Extracción de ADN. Para la extracción de ADN se pesaron y maceraron 6 mg de hojas previamente deshidratadas en sílica gel de cuarenta y tres individuos provenientes de once poblaciones de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*, *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* var. *maxima*. Adicionalmente, como especies relacionadas, se incluyeron doce individuos provenientes de seis poblaciones de *Alstroemeria magnifica*, *Alstroemeria ligtu*, *Alstroemeria hookeri*, *Alstroemeria diluta*, *Alstroemeria pelegrina* L. y *Alstroemeria marticorenae* (Anexo 1). La extracción se realizó utilizando el kit DNeasy® Plant (QUIAGEN Inc., EE.UU.) siguiendo las instrucciones del fabricante. La presencia y calidad

del ADN se detectó utilizando GelRed™ (Biotum Inc, EE.UU.) en un transiluminador UV.

Amplificación, secuenciación y análisis cpADN. Se realizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar las secuencias de tres regiones cloroplastidiales (*petA-psbJ*, *rpL32-trnL* y el intrón *rpL16*) con los siguientes parámetros: Para *petA-psbJ* los primers utilizados fueron *petA* (AAC ART TYG ARA AGG TTC AAT T) y *psbJ* (ATA GGT ACT GTA RCY GGT ATT). Para *rpL32-trnL* los primers utilizados fueron *trnL*_(UAG) (CTG CTT CCT AAG AGC AGC GT) y *rpL32-F*: (CAG TTC CAA AA A AAC GTA CTT C), las condiciones de PCR para ambas regiones fueron: Desnaturalización a 80°C durante 5 min seguido de 30 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 1 min, alineamiento a 50°C durante 1 min, seguido de una rampa de 0,3°C/s a 65°C, extensión del primer a 65°C por 4 min; seguido de un paso de extensión final de 5 min a 65°C (Shaw et al., 2007). Para la ampliación del Intrón *rpL16* se utilizaron los primers *rpL16F71* (GCT ATG CTT AGT GTG TGA CTC GTT G) y *rpL16R1516* (CCC TTC ATT CTT CCT CTA TGT TG) (Small et al., 1998). Los parámetros de amplificación fueron: Desnaturalización por 5 min a 80°C; alineamiento: 35 ciclos (95°C, 1 min; 50°C, 1 min con una rampa de 0,3°C/s; 65°C, 5 min); extensión final a 65°C por 4 min (Shaw et al., 2005). Para la amplificación de las secuencias se emplearon 6,25 µL de SapphireAmp fast PCR-hot-start master mix (Takara Bio USA, Inc.), 0,5 µL de cada primer (10 µM) y 1 µL de ADN). Los productos obtenidos por PCR fueron secuenciados por la empresa Macrogen (Corea del Sur), tras lo cual se realizó un análisis BLAST para verificar la correcta amplificación de las regiones utilizando la información disponible del plastoma de *Alstroemeria aurea* (KC968976.1). Las secuencias identificadas fueron depositadas en la base de datos de GeneBank. Las secuencias fueron editadas con los programas UGENE (Okonechnikov et al.,

2012), Bioedit (ver. 7.2.5; Hall, 1999), y alineadas utilizando ClustalX2 v2.1 (Larkin et al., 2007).

Secuenciación y análisis MIG-seq. Utilizamos el método de secuenciación “Multiplexed inter-simple sequence repeats genotyping by sequencing” o MIG-seq para la detección de polimorfismos de nucleótidos simples (SNPs) del genoma nuclear de cuarenta y tres muestras, siguiendo el procedimiento previamente descrito (Suyama y Matsuki, 2015; Suyama et al., 2022). La biblioteca de datos genéticos se obtuvo mediante la plataforma Illumina MiSeq utilizando un kit de reactivos MiSeq v3 de 150 ciclos (Illumina, San Diego, CA, EE. UU.). Una vez obtenidas las lecturas en bruto, se eliminaron las regiones de los primers y posteriormente se sometieron a un filtrado de calidad utilizando FASTX Toolkit (v0.013; http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/) con los ajustes por defecto, excepto $q=30$ y $p=40$. Las lecturas extremadamente cortas se eliminaron utilizando TagDust (v2.2; Lassmann et al. 2009). Los SNPs se obtuvieron de las lecturas nucleares filtradas utilizando ipyrad (v0.9; Eaton y Overcast, 2020) con ajustes predeterminados, excepto para el método de ensamblaje (*de novo*), umbral de agrupamiento para el ensamblaje *de novo* (0.92) y longitud mínima de lecturas después del recorte del adaptador (79). Finalmente, los SNPs recuperados se evaluaron utilizando SNPfiltR (v1.0.1; DeRaad, 2022) siguiendo el flujo de trabajo propuesto por el mismo autor (disponible en: <https://cran.r-project.org/web/packages/SNPfiltR/vignettes/reproducible-vignette.html>). Adicionalmente, se implementó un filtro de equilibrio alélico convirtiendo genotipos heterocigotos recuperados fuera del rango de 0.25-0.75 a NA. Se estableció un límite para datos faltantes por muestra, eliminando muestras por encima de este valor (valor predeterminado: 0.9). Finalmente, considerando el

número total de SNPs para los análisis posteriores y en base a estudios preliminares, el límite mínimo de datos presentes permitidos por SNP se estableció en 0.3.

Relaciones filogenéticas y estructura genética

Las relaciones filogenéticas entre las muestras (34 muestras para cpDNA y 43 para MIG-seq) se analizaron utilizando el método de Máxima Verosimilitud (ML) con el programa IQ-Tree (ver. 2.0; Nguyen et al. 2015; Trifinopoulos et al., 2016). El soporte de las ramas se obtuvo con 1,000 réplicas a través de una aproximación ultra rápida de Bootstrap (UFBoot2) (Hoang et al., 2018). Para reducir el riesgo de sobreestimación en el soporte de las ramas con UFBoot, se aplicó el método sugerido de intercambio de vecinos más cercanos (NNI) (Hoang, et al. 2016), y la prueba SH-aLRT (Guidon et al., 2010) (-alrt 1000). El mejor modelo de sustitución de nucleótidos se determinó mediante ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017) basado en el Criterio de Información Bayesiana (BIC). Para las regiones no codificantes seleccionadas del cloroplasto *trnL-rpL32*, *rpL16* y *petA-psbJ*, el mejor modelo fue F81+F, mientras que para la matriz de datos concatenados de MIG-seq, fue TPM2u+F+R2. Para construir la matriz concatenada de MIG-seq, se consideró un SNP por locus. Las relaciones filogenéticas entre las entidades se representaron a través de un árbol filogenético utilizando Figtree v4 (Huson y Brayant, 2006). El nivel de soporte de rama aceptado es la prueba SH-aLRT $\geq 75\%$ y UFbootstrap $\geq 80\%$. Las categorías de soporte de ramas consideradas fueron: sin soporte ($< 50\%$), débil (50%–74%), moderado (75%–84%), y bueno (85%–100%).

Para inferir la estructura poblacional de las muestras y los clústeres genéticos, los SNPs filtrados se analizaron utilizando dos métodos: Inferencia Bayesiana con STRUCTURE (v.2.3.4; Pritchard et al., 2000); y análisis multivariado a través del Análisis Discriminante de Componentes Principales

(DAPC) (Jombart et al., 2010), incluido en el paquete R Adegenet (ver. 2.1.10; Jombart y Ahmed 2011). Para STRUCTURE, se consideraron clústeres genéticos (K) desde 2 hasta 10. Para cada valor de K, se realizaron 10 réplicas de 100,000 generaciones, descartando las primeras 10,000, aplicando un modelo de frecuencias alélicas correlacionadas y admixture. El número óptimo de clústeres genéticos (K) se determinó utilizando el método de Evanno et al. (2005) implementado en Structure Harvester (ver. 0.6.94, Earl y VonHoldt, 2012).

Para el análisis discriminante de componentes principales (DAPC) (Jombart et al., 2010), el número óptimo de componentes principales se determinó preliminarmente para evitar la sobreestimación, utilizando la prueba de validación cruzada incluida en el paquete de R adegenet (ver. 2.1.1; Jombart y Ahmed, 2011). Estas funciones implementan el procedimiento de agrupamiento utilizado en el análisis discriminante de componentes principales (DAPC, Jombart et al. 2010). Para determinar el número óptimo de clústeres genéticos, se utilizó la función *findclusters* que consiste en ejecutar análisis sucesivos de K-means con un número creciente de clústeres (k), después de transformar los datos mediante un análisis de componentes principales (PCA). Para cada modelo, se calcula una medida estadística de bondad de ajuste (por defecto, BIC), que permite elegir el K óptimo. Los resultados se representaron gráficamente con ayuda de los paquetes ade4 (ver. 1.7; Dray y Dufour 2007) y ggplot2 (ver. 3.4.3; Wickham, 2016).

SplitsTree (Huson y Bryant, 2006) es una aplicación ampliamente utilizada para calcular redes filogenéticas a partir de datos de secuencias moleculares. A partir de la matriz de SNP, se descartarán aquellos taxones genéticamente distantes del complejo *A. pulchra*, para ello, preliminarmente se evaluarán las distancias genéticas entre los taxones más afines a *A. pulchra* a

partir de los análisis filogenéticos y de estructura genética, la red filogenética no enraizada será representada con ayuda del programa SplitsTree (v.4.19; Huson y Bryant, 2006).

Modelos de distribución de especies (SDMs). Adicionalmente, se realizaron SDMs para construir, evaluar y visualizar los modelos de distribución en cada uno de los taxa de *A. pulchra* estudiados, mediante el paquete R Wallace (ver. 2.0.6; Kass et al., 2022). Se consideraron un total de 114 datos de ocurrencia para los SDMs, 62 para *A. pulchra* var. *pulchra*, 37 para *A. pulchra* var. *maxima* y 15 para *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*. Los datos de presencia se obtuvieron de colecciones de campo (Tabla 1) y datos de ocurrencia de especímenes examinados de los herbarios CONC y SGO (especímenes estudiados en las descripciones). Debido a los pocos registros de herbario de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*, los datos se complementaron con observaciones de ocurrencia obtenidas de la plataforma iNaturalist Chile con fotografía, fecha y ubicación GPS (<https://inaturalist.mma.gob.cl/>), su identificación fue previamente corroborada a través de las imágenes de flores disponibles en la misma plataforma dentro del área de distribución conocida. Como filtro espacial, se descartaron ocurrencias a menos de 1 km de distancia. El área de extensión de fondo para cada taxón se estimó utilizando el polígono mínimo convexo con una distancia de amortiguamiento de 0.1 grados (aproximadamente 11.1 km) y 1,000 puntos de fondo. Para el componente ambiental, se obtuvieron diecinueve variables bioclimáticas con una resolución de 30 segundos de arco (1 km²) desde Worldclim (Fick y Hijmans, 2017).

Se utilizó la formalización de nicho que caracteriza un hipervolumen n-dimensional donde una especie puede persistir y reproducirse en un espacio matemático definido por gradientes ambientales no agotables (Hutchinson, 1978; Peterson, 2011). Para caracterizar el espacio ambiental, realizar análisis y

visualizaciones del nicho para dos especies seleccionadas, Wallace (Kass et al., 2022), permite al usuario: 1) realizar un Análisis de Componentes Principales (PCA) para reducir la dimensionalidad del espacio ambiental original; 2) calcular la densidad de ocurrencias de las especies a lo largo de las dos primeras componentes del PCA; y 3) realizar análisis de superposición de nichos utilizando la métrica D de Schoener (Schoener, 1968). La similitud de nichos se evaluó utilizando el paquete ecospat (Di Cola et al., 2017), cuantificada por la métrica D (Schoener, 1968) que provee un índice general de solapamiento de nicho que va de 0 (nichos diferentes) a 1 (nichos idénticos). Se calculó la superposición de nichos entre: *A. pulchra* var. *pulchra*-*A. pulchra* var. *maxima*, *A. pulchra* var. *pulchra*-*A. pulchra* subsp. *lavandulacea* y *A. pulchra* var. *maxima*-*A. pulchra* subsp. *lavandulacea*. Como datos de salida, el programa genera dos gráficos en el análisis de similitud de nicho: Un gráfico que representa el espacio ambiental compuesto por las dos primeras componentes principales (a partir del PCA de los datos bioclimáticos, ejecutado para representar las variables ambientales en pocas dimensiones) y la presencia de las especies 1 y 2 en este espacio: las condiciones ambientales cubiertas solo por el nicho de la especie 1 (azul), las condiciones ambientales cubiertas solo por el nicho de la especie 2 (rojo), las condiciones ambientales cubiertas por ambos, o la superposición del nicho (púrpura). Adicionalmente, un histograma es generado y representa los resultados de una prueba de similitud de nicho. Esta prueba es análoga a la prueba presentada por Warren et al. (2008), excepto que corresponde al espacio ambiental más que geográfico. En la prueba, los nichos de ambas especies analizadas se desplazan aleatoriamente alrededor de la extensión del fondo (1.000 puntos de fondo), y estas superposiciones de nichos "nulos" simulados se calculan (barras grises). Si la superposición observada (línea roja) es superior al 95% de las

superposiciones simuladas (valor de significancia: $p < 0,05$), la prueba indica que las dos especies son más similares que las aleatorias (Kass et al., 2022).

Para construir los SDMs, se utilizó el algoritmo MaxEnt (Phillips et al., 2006), los multiplicadores de regularización se seleccionaron entre 0.5 y 2 con un valor de paso de 0.5, seleccionando aquellos con valores más altos de AUC (Área bajo la curva, o AUC por sus siglas en inglés), las predicciones de idoneidad se representaron en mapas de distribución de los taxones descritos a continuación. Los gráficos se representaron con ayuda de los paquetes `ade4` (ver. 1.7; Dray y Dufour, 2007) y `ggplot2` (v3.4.3; Wickham, 2016) integrados en el paquete R `Wallace` (ver. 2.0.6; Kass et al., 2022). Además, los datos de ocurrencia se cargaron en el programa QGIS (ver. 3.3; <http://www.qgis.org/>) junto con capas vectoriales de planificación del uso del suelo disponibles en IDE Chile (IDE Chile, 2020): Ecorregiones, pisos vegetacionales (Luebert y Pliscoff, 2017), sitios prioritarios y áreas SNASPE (Sistema Nacional de Áreas Silvestres Protegidas del Estado) presentes en Chile, para determinar la presencia de los taxones infraespecíficos de *A. pulchra* dentro de estas capas para complementar su información de hábitat. Los mapas se generaron con el programa QGIS.

Tabla 3. Especies e información de colecta de las poblaciones incluidas para los estudios citológicos y moleculares del presente estudio. * Poblaciones consideradas para análisis citológico.

Especie	N° pop	Localidad, datos de colecta, fecha de colecta	Latitud, Longitud, elevación (m s.m)
<i>A. hookeri</i>	4271	Región de Valparaíso, Prov. de Valparaíso, Dunas de Concón. Diciembre 2007.	32°56'0" S, 71°32'0" O, 103.
<i>A. marticorenae</i>	4262	Región de Valparaíso, Prov. de Valparaíso, camino Santa Hill a Las Palmas. Diciembre 2007.	33°04'0" S, 71°44'0" O, 293.
<i>A. marticorenae</i>	4269	Región de Valparaíso, Prov. de Valparaíso, Playa Ancha, La Fábrica. Diciembre 2007.	33°03'0" S, 71°38'0" O, 270.

<i>A. pelegrina</i>	1306	Región de Valparaíso; Prov. Valparaíso, Acantilados costeros de la península de Cu-rauma, Laguna Verde. Octubre 2021.	33°06'14.9" S, 71°41'17.54" O, 50.
<i>A. magnifica</i>	4383	Región de Valparaíso, Prov. de Petorca, 2 km al sur de Los Molles. Noviembre 2013.	32°14'0" S, 71°29'0" O, 37.
<i>A. ligtu</i>	4178	Región del Bío-bío, Prov. de Concepción, camino a Ramuntcho. Diciembre 2002.	36°47'0" S, 73°10'0" O, 60.
<i>A. ligtu</i>	Lhualp	Región del Biobío, Prov. de Concepción, Desembocadura Río Biobío, Península de Hualpén. Diciembre 2018.	36°48'24.94" S, 73°10'19.10" O, 24.
<i>A. diluta</i>	4393	Región del Maule, Prov. de Talca, Río Claro, 300 N Puente Río Claro, Km 216. Noviembre 2013	35°10'0" S, 71°23'0" O, 220.
<i>A. pulchra</i> subsp. <i>lavandulacea</i>	01	Región de la Araucanía, Prov. Angol, sitio eriazo aledaño a Villa México. Diciembre 2017	37°49'10" S, 72°41'19" O, 100.
<i>A. pulchra</i> subsp. <i>lavandulacea</i>	50	Región del Maule, Prov. de Talca, camino rural cerca orilla Río Claro, ladera Norte. Diciembre 2020	35°10'49,746" S, 71°23'8.808" O, 221.
<i>A. pulchra</i> subsp. <i>lavandulacea</i>	51	Región del Maule, Prov. de Talca, Canal de agua lluvia cercano a carretera. Diciembre 2020	35°10'54.90" S, 71°23'21.57" O, 227.
<i>A. pulchra</i> subsp. <i>lavandulacea</i>	4393a*	Región del Maule, Prov. de Talca, 300m Puente Río Claro, Km 216. Noviembre 2013	35°10'0" S, 71°23'0" O, 220.
<i>A. pulchra</i> subsp. <i>pulchra</i>	10	Región de Valparaíso, Prov. Marga Marga, Ladera sur ruta Villa Alemana-Quillota, Km 26. octubre 2018	32°57'53,6" S, 71°17'28.4" O, 283.
<i>A. pulchra</i> var. <i>pulchra</i>	11	Región de Valparaíso, Prov. de Petorca, orilla carretera, canal agua lluvia, Ruta 5 Km 190, Los Molles-Pichidangui, suelo Pedregoso. octubre 2018	32°12'14.2" S, 71°30'57.3" W, 57.
<i>A. pulchra</i> var. <i>pulchra</i>	12	Región de Coquimbo, Prov. del Choapa, cerro al Este de Pichidangui entrada Norte, camino hacia las antenas, camino pedregoso. octubre 2018	32°09'22.1" S, 71°28'50.8" O, 481.
<i>A. pulchra</i> var. <i>pulchra</i>	18	Región de Valparaíso, Prov. de Petorca, Ruta La Ligua – Papudo Orilla Camino. octubre 2018	32°26'58" S, 71°19'31.9" O, 22.
<i>A. pulchra</i> var. <i>pulchra</i>	113*	Región de Valparaíso, Prov. de Valparaíso, Quebrada estero Margarita, Quilpué. Octubre 2017	33°04'0" S, 71°25'0" O, 122.
<i>A. pulchra</i> var. <i>pulchra</i>	4382	Región de Valparaíso, Prov. de Petorca: Los Molles, Sitio Eriazo Calle Gabriela Mistral 1348. Noviembre 2013	32°14'0" S, 71°31'0" O, 35.
<i>A. pulchra</i> var. <i>maxima</i>	11*	Región de Valparaíso, Prov. de Petorca, orilla carretera, canal agua lluvia, Ruta 5 Km 190, Los Molles-Pichidangui, suelo Pedregoso. Octubre 2018	32°12'14,2" S, 71°30'57.3" O, 57.
<i>A. pulchra</i> var. <i>maxima</i>	14	Región de Coquimbo, Prov. del Choapa, quebrada lado derecho, orilla camino, entre Quilon y Tilama. Octubre 2018	32°07'50.33" S, 71°09'59.4" O, 798.
<i>A. pulchra</i> var. <i>maxima</i>	18	Región de Valparaíso, Prov. de Petorca, Ruta La Ligua – Papudo Orilla Camino. Octubre 2018	32°26'58" S, 71°19'31.9" O, 22.
<i>A. pulchra</i> var. <i>maxima</i>	19	Región de Valparaíso, Prov. de Petorca, Quebrada Puente Catapilco, Santa Bertina, Altavista, Olivo Santo. Octubre 2018	32°36'57.3" S, 71°24'9.1" O, 7.

A. pulchra var. *maxima* 4385 Región de Valparaíso, Prov. de Petorca, La 32°35'0" S, Ligua, cuesta El Melón. Noviembre 2013 71°14'0" O, 340.

Resultados

Análisis cariológicos. Todas las muestras analizadas presentaron una dotación cromosómica $2n=16$. Los ideogramas de los taxones infraespecíficos de *A. pulchra* se resumen en la figura 2. Los índices cariotípicos (media \pm desviación estándar) y la fórmula cariotípica se resumen en la Tabla 2. La longitud total de los cromosomas (LTC) evidencia diferencias significativas para *A. pulchra* var. *maxima* que presenta un cariotipo de menor tamaño en comparación a los de *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* (Tabla 2, Fig. 3). Sólo *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* presentaron un polimorfismo de tamaño en el par de cromosomas metacéntricos. No se detectaron polimorfismos de tamaño en las placas metafásicas evaluadas de *A. pulchra* var. *maxima*. En cuanto a las diferencias estructurales del cariotipo entre los taxones evaluados entre *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* exhibieron variaciones menores en el número de cromosomas submetacéntricos y telocéntricos, diferenciándose tan solo en uno. Por otro lado, *A. pulchra* var. *maxima* presentó un perfil cariotípico distintivo, con solo dos cromosomas submetacéntricos y cinco telocéntricos. *A. pulchra* var. *maxima* presentó cuatro cromosomas telocéntricos con satélites, mientras que *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* solo se detectaron tres, pero en distintos pares cromosómicos (Fig. 2).

Los datos sometidos a ANOVA y la prueba a posteriori de Tukey sólo encontró diferencias significativas ($p > 0.05$) en el LTC de *A. pulchra* var. *maxima* que no superó los 106,5 μm , mientras que *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* poseen cromosomas de mayor tamaño, reflejado

en los valores de LTC que variaron entre 140,0-198,0 μm en *A. pulchra* var. *pulchra* y 126,0-158,6 μm en *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* (Tabla 2).

Tabla 4. Valores de índices cariotípicos entre los taxones infraespecíficos de *A. pulchra*: (mínimo-máximo) promedio \pm desviación estándar. *Diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) basado en la prueba de Tukey-Kramer implementado en el ANOVA.

	<i>A. pulchra</i> var. <i>pulchra</i>	<i>A. pulchra</i> subsp. <i>lavandulacea</i>	<i>A. pulchra</i> var. <i>maxima</i>
CV_{CL}	(42,7-47,9) 46,1 \pm 1,9	(37,3-54,3) 46,8 \pm 6,7	(48,4-52,0) 49,9 \pm 1,5
M_{CA}	(47,9-54,4) 50,5 \pm 5,5	(48,0-53,9) 51,0 \pm 2,2	(47,5-53,4) 50,3 \pm 2,2
LTC (μm)	(140,0-198,0) 165,4 \pm 20,7	(126,0-158,6) 147,0 \pm 17,2	(92,0-106,5) 104,0 \pm 9,1*
Fórmula cromosómica*	1m*+3sm+4t	1m*+4sm+3t	1m+2sm+5t
haploide	*polimorfismo de tamaño cromosomas homólogos	*polimorfismo de tamaño cromosomas homólogos	

CV_{CL}: Coeficiente de variación de la longitud de los cromosomas (índice de asimetría intercromosomal); M_{CA}: Índice de asimetría de la media centromérica (índice de asimetría intracromosomal); LTC: longitud total diploide de los cromosomas.

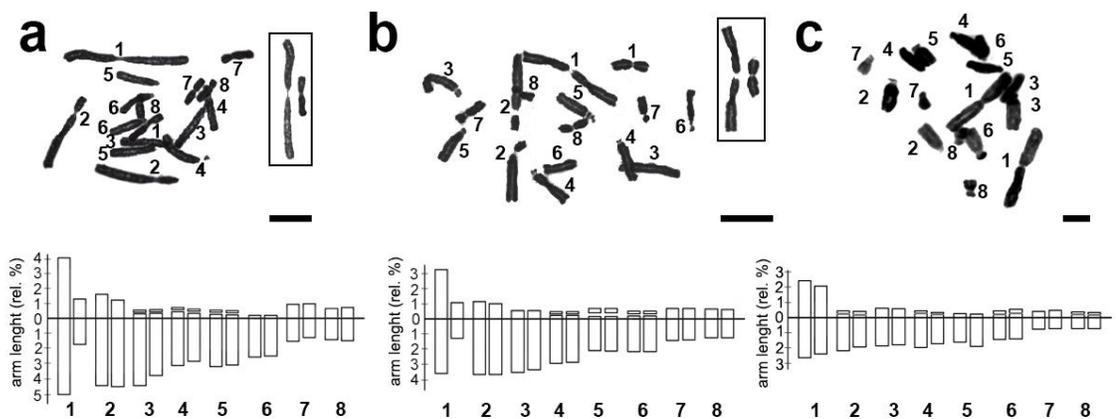


Figura 2. Cariotipos e ideogramas de *A. pulchra* var. *pulchra* (a); *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* (b) y *A. pulchra* var. *maxima* (c). Fuente: Elaboración propia.

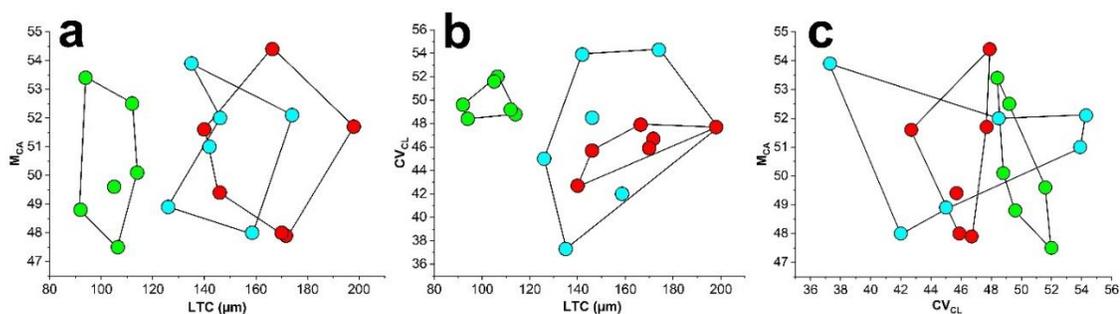


Figura 3. Gráficos de puntos con valores de índices cariotípicos entre los taxones de *A. pulchra*. a. CV_{CL} v/s LTC; b. M_{CA} v/s LTC; c. M_{CA} v/s CV_{CL} . CV_{CL} : coeficiente de variación del largo de los cromosomas; M_{CA} : índice de asimetría de la media centromérica; LTC: longitud total de los cromosomas (μm). Cada círculo representa un individuo diferente, círculos verdes: *A. pulchra* var. *maxima*; círculos rojos: *A. pulchra* var. *pulchra*; círculos cian: *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*. Fuente: Elaboración propia.

Relaciones filogenéticas y estructura genética. Para las treinta y cuatro muestras, la región *trnL-rpL32* contenía veintinueve patrones distintos, tres caracteres informativos para parsimonia, cinco sitios singulares y 840 sitios constantes. Para el intrón *rpL16* se estimaron nueve patrones distintos, un sitio informativo para parsimonia y 778 sitios constantes; la región *petA-psbJ* tiene 15 patrones distintos, 1 sitio singular y 612 sitios constantes. Ambas regiones no codificantes *rpL16* y *petA-psbJ* no tienen caracteres informativos para parsimonia. Las longitudes de secuencia variaron desde 613 para *petA-psbJ*, 779 pb para *rpL16* hasta 848 pb para *trnL-rpL32*.

La alineación de la matriz concatenada, que incluía los tres marcadores cloroplastidiales, consideró 43 secuencias con 2.240 pb, 44 patrones distintos, 4 sitios informativos para parsimonia, 6 singletons y 2.230 sitios constantes. El árbol de Máxima Verosimilitud (ML) generado (Fig. 4) no permitió diferenciar los taxones infraespecíficos de *A. pulchra*. Un clado bien soportado en una posición basal (prueba SH-aLRT: 91.6%; UFbootstrap: 96%) agrupó a *A. marticorenae* y *A. hookeri* junto con una muestra de *A. magnifica*. En una posición más derivada, entre las muestras de *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* var.

maxima, se identifica un clado bien soportado (prueba SH-aLRT: 91.1%; UFbootstrap: 96%), incluyendo muestras de *A. pulchra* var. *maxima* de poblaciones diferentes. Las muestras de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* de la población del sur (01) y la población del norte (51) aparecen en clados separados.

Para el análisis de datos de MIG-seq, después de eliminar las secuencias de los primers y las lecturas de baja calidad, se obtuvo un total de 6.509.781 lecturas (151.390 ± 68.560 lecturas por muestra) de 7.073.254 lecturas en bruto (164.494 ± 70.547 lecturas por muestra). Posteriormente, el filtrado de SNP retuvo un total de 872 loci, que fueron seleccionados para análisis filogenéticos y de estructura genética.

El árbol filogenético de máxima verosimilitud basado en SNPs reveló que las muestras de *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* (con excepción de dos) forman un clado bien soportado (99.1/86) (Fig. 5). Por otro lado, *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* no conforma un clado monofilético. Todas las muestras de *A. pulchra* var. *maxima* ocupan una posición intermedia diferenciada de *A. marticorenae*, *A. hookeri* y las muestras de *A. pulchra* var. *pulchra* analizadas (Fig. 5).

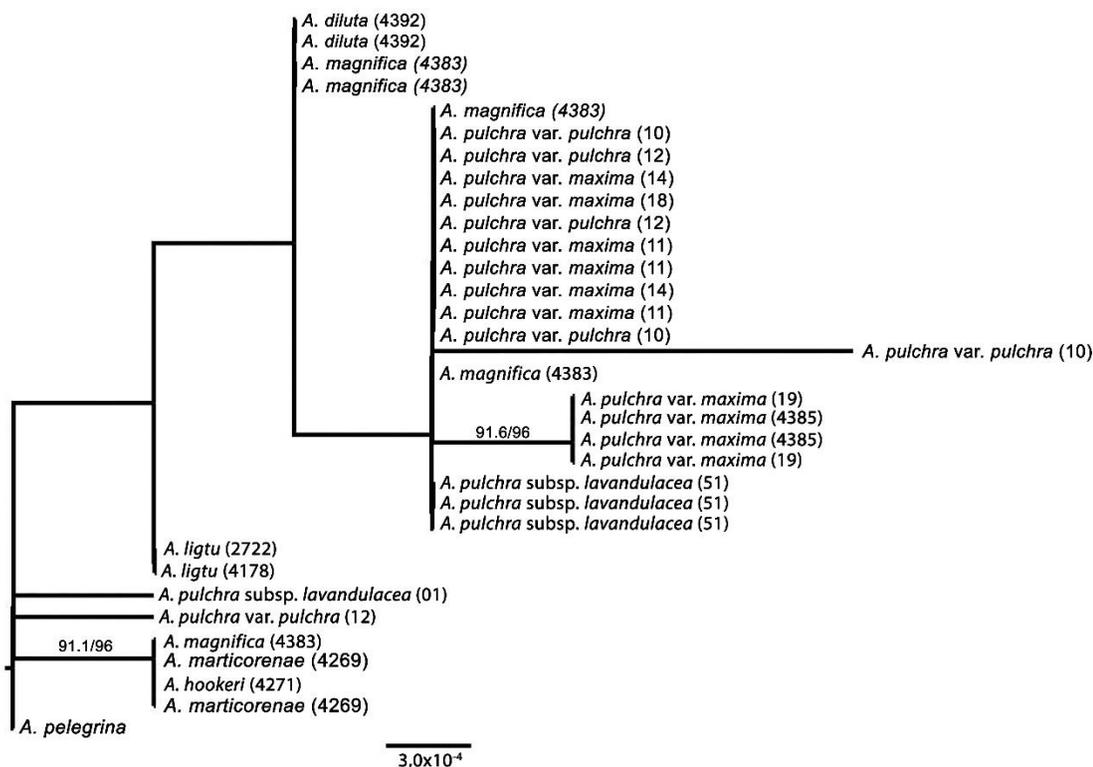


Figura 4. Árbol ML de cpDNA de las regiones concatenadas *trnL-trnF*, *rpL16* y *petA-psbJ*. Solo se muestran los valores de soporte de aquellas ramas bien soportadas. Fuente: Elaboración propia.

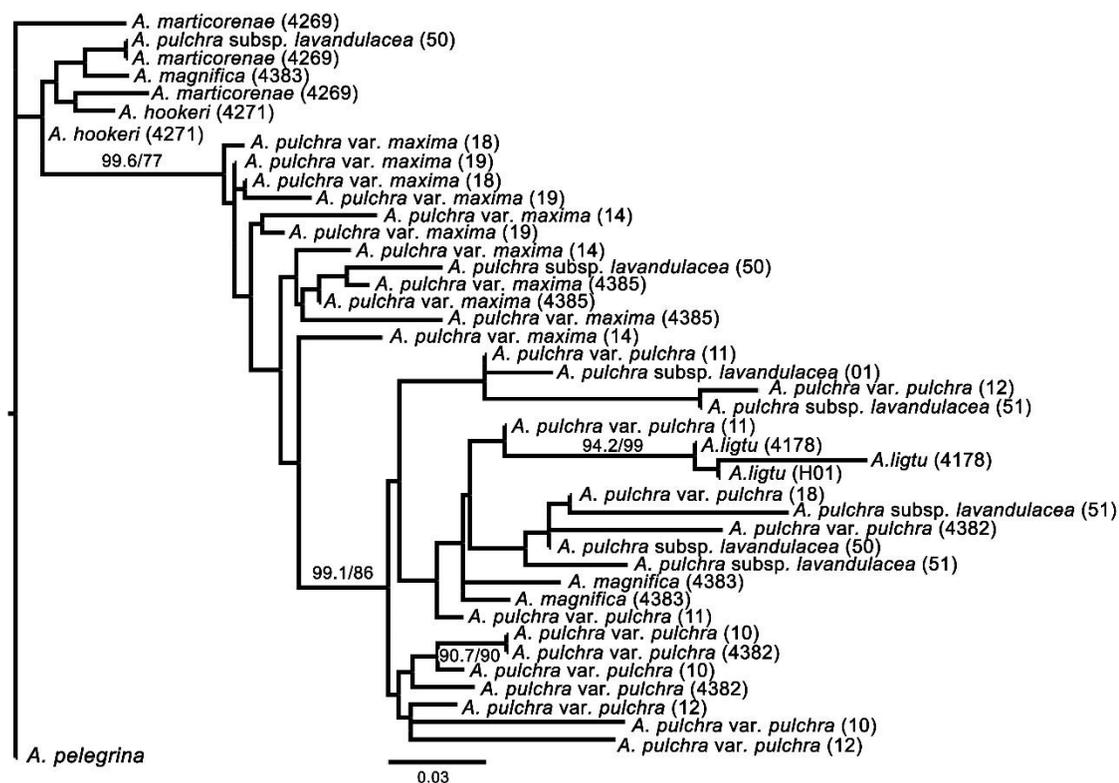


Figura 5. Árbol ML obtenido con 872 SNPs. Solo se muestran los valores de soporte de aquellas ramas bien soportadas. Fuente: Elaboración propia.

Estructura genética. En ambos análisis se obtuvieron tendencias de agrupamiento genético similares. Para el análisis de STRUCTURE se determinó que el número más adecuado de clústeres genéticos fue $K=3$, basado en el mayor valor promedio de probabilidad posterior (ΔK) (Fig. 6).

El primer clúster genético (Fig. 7, azul) incluyó a las muestras de *A. pelegrina* (P), *A. marticorenae* (MA) y *A. ligtu* (LG) donde sus individuos presentaron una alta integridad genética, además, una muestra de *A. hookeri* (HO), *A. magnifica* (MG) y dos muestras de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* (LAV) fueron agrupadas en este clúster. El segundo clúster genético (Fig. 7, verde) incluyó a todas las muestras de *A. pulchra* var. *maxima* (MAX) con alta integridad genética, también en este clúster se agrupó una muestra de LAV. El clúster III (Fig. 7, rojo) incluyó a las muestras de *A. pulchra* var. *pulchra* (PUL), *A. magnifica* (MG), una muestra de HO, cuatro muestras de LAV, dos de ellas con estructura genética débil. Se determinaron diferencias significativas entre los clústeres genéticos definidos, los índices de fijación (F_{ST}) para cada clúster genético fueron de 0.52, 0.39 y 0.55.

Adicionalmente, las estructuras genéticas de cada población obtenida con los datos de STRUCTURE se representó espacialmente a través de mapas con ayuda del programa QGIS, diferenciados con los mismos colores del análisis de STRUCTURE (Fig. 8).

Para el DAPC, los clústeres genéticos óptimos sugeridos por el DAPC fueron dos (valor BIC: 120.0991) (Fig. 6). Se realizó una identificación *a priori* de cada muestra para evaluar la capacidad discriminante de los datos genéticos, evaluando ocho grupos morfológicos, correspondientes a cada

especie y taxón infraespecífico considerados para este estudio. Siete fue el número óptimo de componentes principales basado en la validación cruzada a considerar para el análisis discriminante. La proporción de varianza conservada fue del 42%.

La estructura genética de las muestras analizadas mediante DAPC mostraron resultados similares en comparación con el análisis de agrupamiento bayesiano para $K=8$ (Fig. 7, parte inferior). Similar a los resultados obtenidos usando STRUCTURE, *A. pulchra* var. *maxima* aparece en un clúster genético distinto de *A. pulchra* var. *pulchra* y otras especies de *Alstroemeria* evaluadas en este estudio.

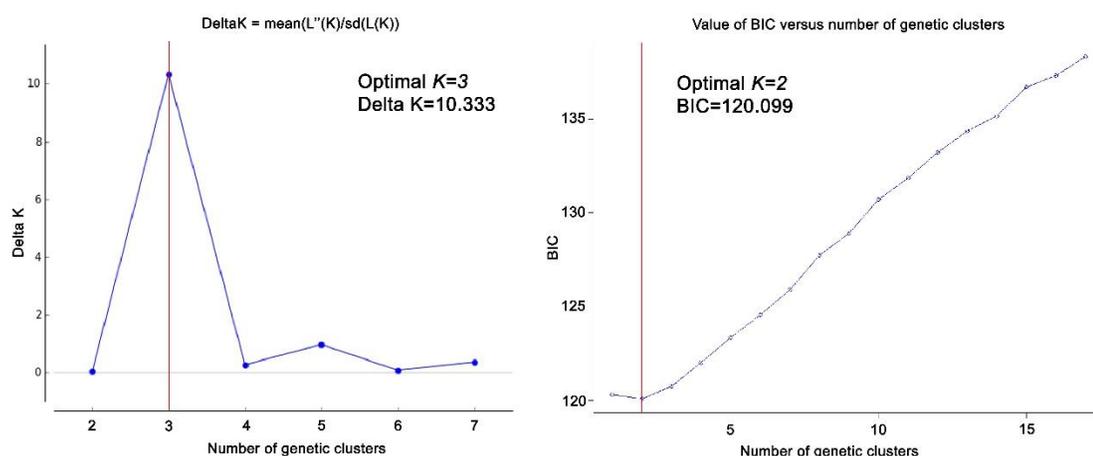


Figura 6. Izquierda: Valores de Delta K en base al número de clúster genéticos obtenidos del análisis de STRUCTURE determinados mediante el método de Evanno et al. (2005) implementado en Structure Harvester. Derecha: gráfico valores BIC versus número de clústeres genéticos obtenidos mediante la función *findclusters* en el paquete *adegenet* (Jombart y Ahmed, 2011). Línea roja indica el número óptimo de clúster genéticos determinados. Fuente: Elaboración propia.

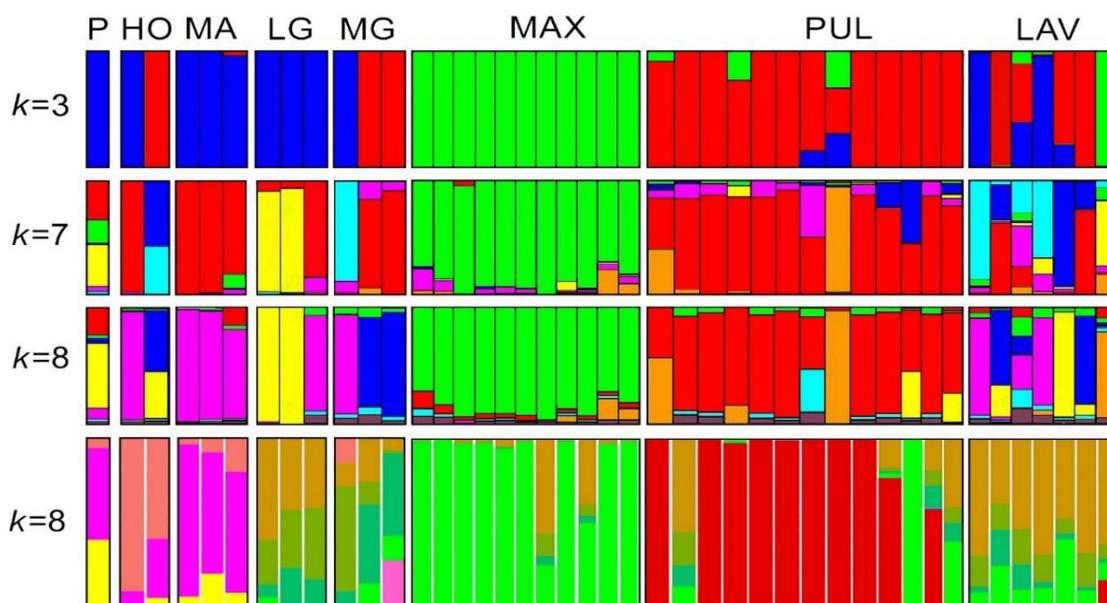


Figura 7. Clústeres obtenidos mediante inferencia bayesiana utilizando STRUCTURE. Se incluyeron individuos de P (*Alstroemeria pelegrina*), HO (*A. hookeri*), LG (*A. ligtu*), MG (*A. magnifica*), MAX (*A. pulchra* var. *maxima*), PUL (*A. pulchra* var. *pulchra*), LAV (*A. pulchra* subsp. *lavandulacea*) basado en 872 SNPs. Cada barra representa la estructura genética de cada individuo particionada en segmentos que indican su presencia dentro de los clústeres genéticos determinados (k). Cada color representa un clúster genético diferente. Fuente: Elaboración propia.

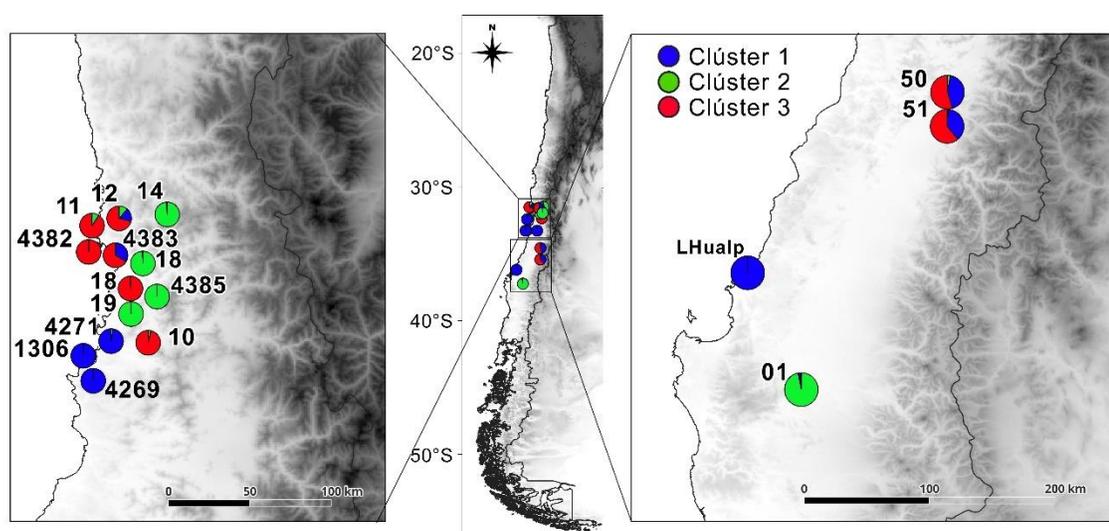


Figura 8. Mapa con gráficos que representan la estructura genética de los SNPs nucleares de las distintas poblaciones de *Alstroemeria* analizadas mediante STRUCTURE. Colores: Clústeres genéticos; Números: N° de colecta de las poblaciones estudiadas (tabla 1); Fondo: elevación: blanco 0 m s.m., negro 6.000 m. s.m. Fuente: Elaboración propia.

Un segundo análisis genético fue realizado, descartando aquellas muestras genéticamente más distantes en base a los resultados obtenidos (*A. martcorenae* y *A. hookeri*). Eliminando las columnas invariantes, la nueva matriz de datos consideró 571 SNPs. A fin de evaluar la capacidad discriminante de los datos genéticos obtenidos, fueron nuevamente sometidos a DAPC, considerando como grupos *a priori* su identificación morfológica. El gráfico del análisis discriminante obtenido (Fig. 9) muestra dos grupos genéticos más diferenciados del set de datos, que corresponden a las muestras de *A. pulchra* var. *maxima* (verde) y *A. ligtu* (beige), mientras que, en el eje negativo de la segunda función discriminante se agrupa *A. pulchra* var. *pulchra* (rojo) y cerca del origen del gráfico más próximas entre sí las muestras identificadas como *A. magnifica* (lila) y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* (celeste). El número óptimo de componentes principales en base a la validación cruzada fue de 12. La proporción de varianza conservada fue del 67,7%.

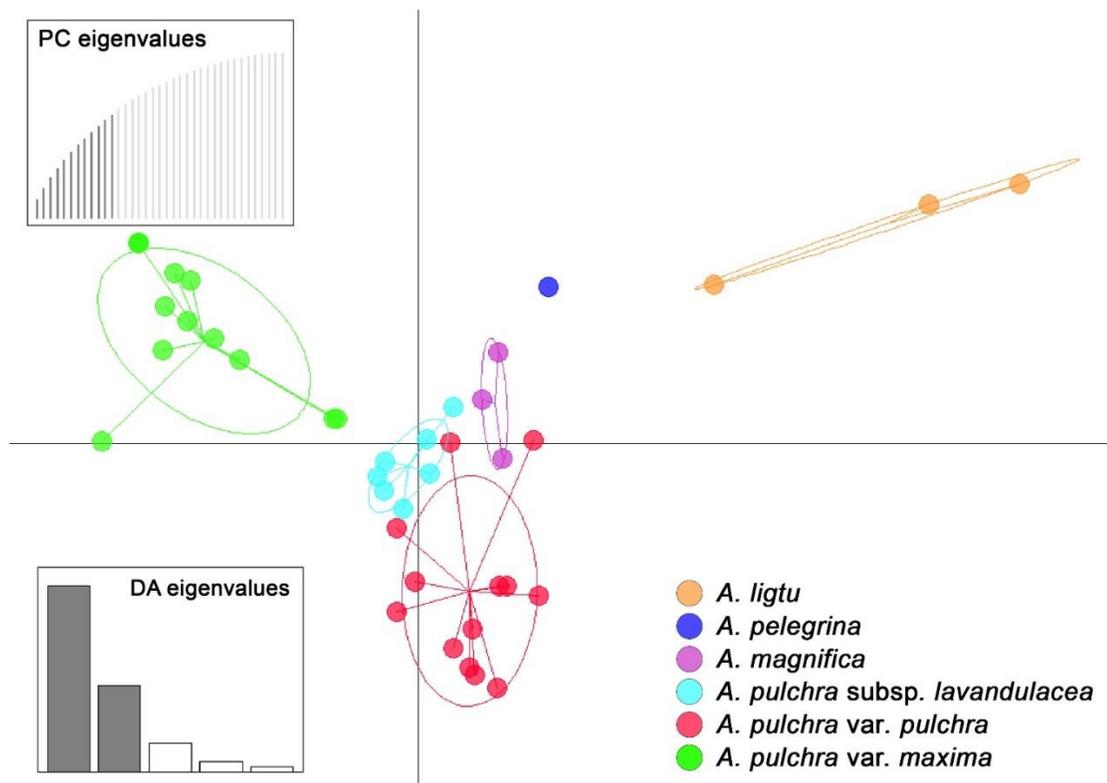


Figura 9. Grupos genéticos identificados mediante DAPC basado en 571 SNPs. Las elipses representan el 95% de la variabilidad genética estimada del grupo. Fuente: Elaboración propia.

El análisis de redes filogenéticas no enraizado incluyendo sólo las muestras del complejo *A. pulchra* (Fig. 10), reveló que los individuos identificados como *A. pulchra* var. *maxima* se agrupan en un extremo de la red, mientras que las muestras de *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* se agrupan en distintas ramas, tampoco se apreció agrupación asociada a las poblaciones de procedencia, evidenciando una variada distancia genética a nivel intrapoblacional e interpoblacional. Las muestras analizadas de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* y *A. magnifica* subsp. *magenta* (4383) no son diferenciables de *A. pulchra* var. *pulchra*, pero sí de *A. pulchra* var. *maxima*.

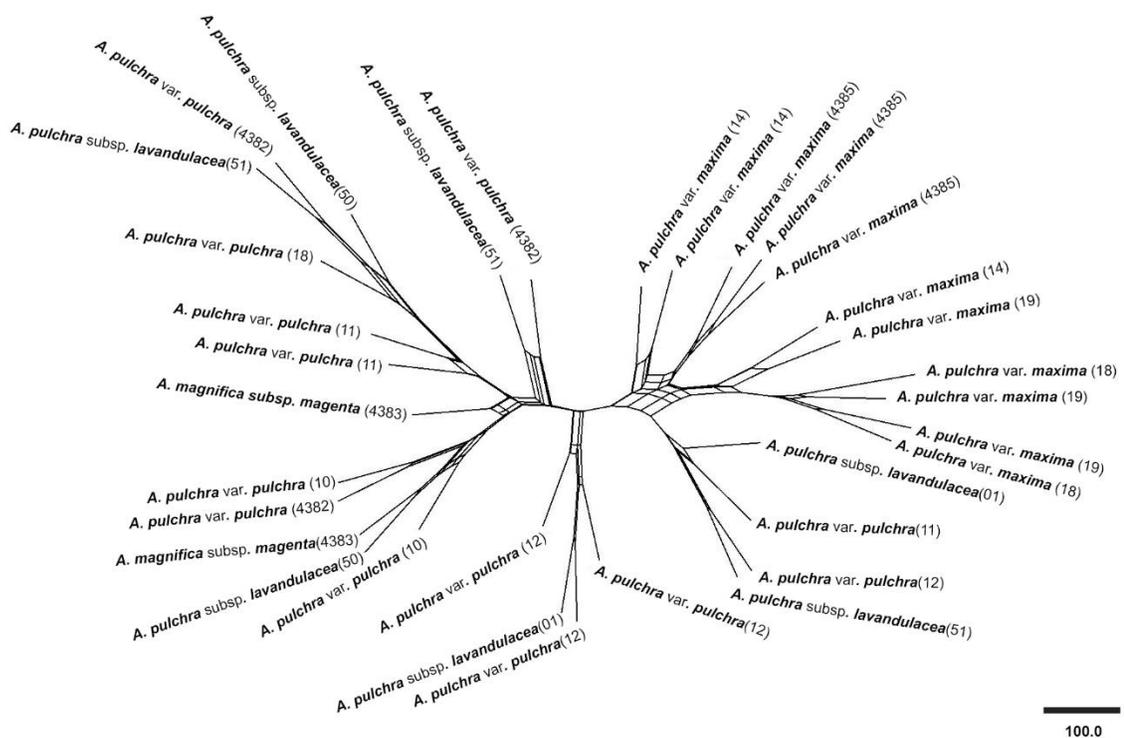
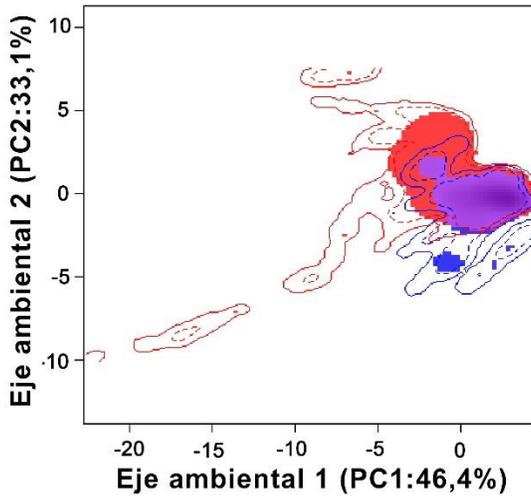


Figura 10. Red filogenética no enraizada incluyendo los tres taxa infraespecíficos de *A. pulchra* a partir de los datos de SNPs, basado en distancia sin corregir de P.

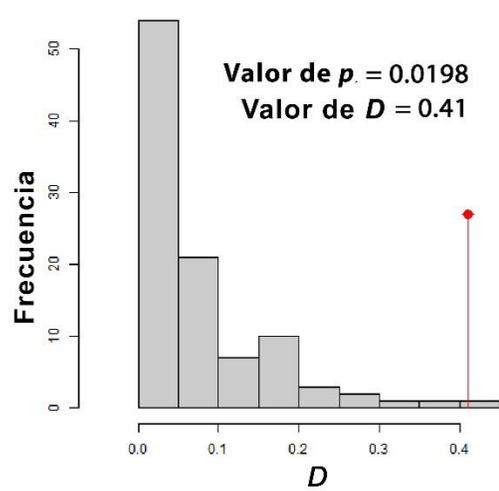
Modelos de distribución de especies (SDMs). Basado en los análisis realizados, los resultados indican algunas diferencias significativas ($p > 0,05$) en los nichos ecológicos entre algunos taxones infraespecíficos de *A. pulchra*. El índice D de 0.4 indica solapamiento de nicho dentro del espacio ambiental general, pero el valor de significancia de p del test entre *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* var. *maxima* ($p = 0.0198$) indica que las diferencias de nicho no serían estadísticamente significativas pese a su superposición parcial, donde *A. pulchra* var. *pulchra* (rojo) debido a su mayor distribución ocupa una mayor área dentro del espacio ambiental representado (Fig. 11). Por otro lado, el índice D evaluado entre *A. pulchra* var. *pulchra* - *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* y *A. pulchra* var. *maxima* - *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* fue de 0, mientras que el valor de p obtenido indica que la similitud de nicho ($p = 0$) no es estadísticamente significativa, indicando que no hay superposición y que los espacios ambientales entre estos taxones evaluados son completamente diferentes (Fig. 11).

Distribución en el espacio ambiental

A. pulchra var. *pulchra* - *A. pulchra* var. *maxima*

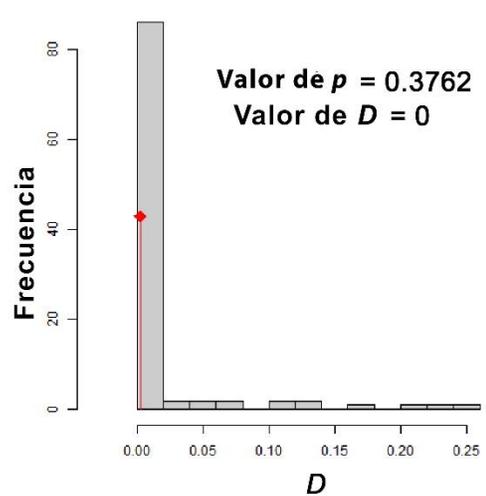
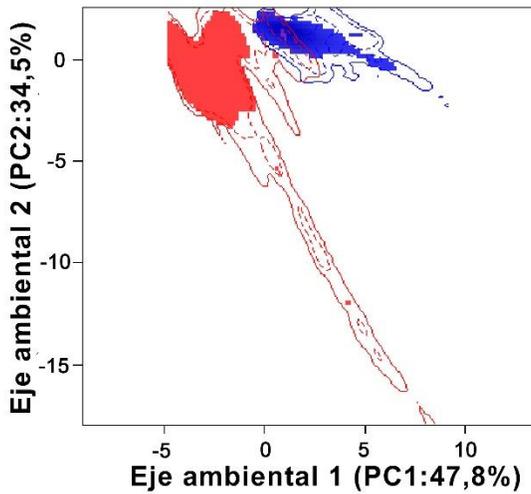


Significancia test de similitud de Nicho



Distribución en el espacio ambiental

A. pulchra var. *pulchra* - *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*



Distribución en el espacio ambiental

A. pulchra var. *maxima* - *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*

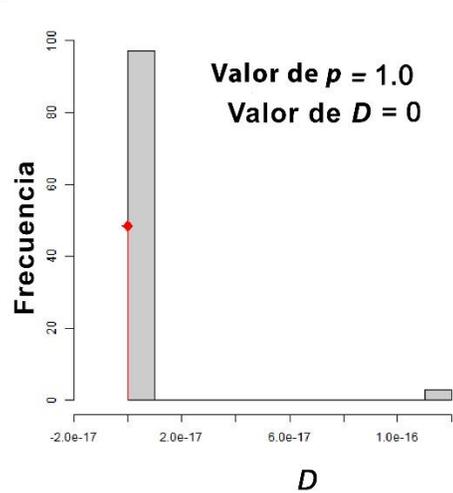
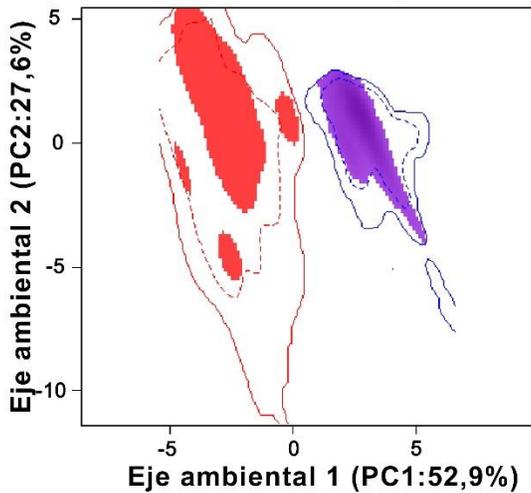


Figura 6. El gráfico de la izquierda muestra estos índices en el espacio ambiental: condiciones ambientales cubiertas por el nicho de la especie 1 (azul), condiciones ambientales cubiertas por el nicho de la especie 2 (rojo). El

histograma de la derecha muestra los resultados de una prueba de similitud de nicho. Superposiciones de nichos "nulos" (gris). Superposición observada (rojo).

Discusión

Implicaciones en la delimitación taxonómica. En ciertos casos, la morfología por sí sola puede ser engañosa para fines taxonómicos, debido, por ejemplo, al efecto de la convergencia evolutiva o la plasticidad fenotípica generando variación de morfotipos, esto resalta la importancia de combinar diferencias morfológicas con otras fuentes información (Dayrat, 2005; Padial et al., 2010). Con los avances tecnológicos, la taxonomía ha evolucionado para incorporar diversos tipos de datos. Como se evidenció en este estudio, un enfoque integrador que combine morfología, citología, genética y ecología puede proporcionar una perspectiva más completa, que ayude a comprender la diversidad de especies y su evolución, así como sus relaciones (Padial et al., 2010; Schlick-Steiner et al., 2010; Popiela y Molnár, 2020). Diversas disciplinas dependen de la taxonomía para definir estrategias de conservación efectivas que informen sobre la singularidad y vulnerabilidad de las especies, en términos de conservación son pasos críticos hacia una protección efectiva de la biodiversidad (Miller et al., 2011; Molinari, 2023).

En este estudio, las regiones no codificantes de cpDNA evaluadas mostraron pocos caracteres parsimoniosamente informativos, a pesar de que las regiones seleccionadas poseen una alta contribución de caracteres potencialmente informativos (PICs) (Shaw et al., 2014). Una explicación a la topología obtenida con los datos cloroplastidiales, podría deberse precisamente a que las regiones seleccionadas no poseen suficiente resolución, por ejemplo, en taxa que presentan diversificaciones evolutivas recientes (Duminil y Michele, 2009).

Por otro lado, la transferencia de genes, especialmente en organismos fotosintéticos, puede complicar las topologías de ADN cloroplastidial. Por ejemplo, cuando los genes del cloroplasto se transfieren entre especies no relacionadas, esto puede resultar en señales filogenéticas conflictivas que no reflejan las relaciones evolutivas verdaderas, impidiendo la formación de clados monofiléticos claros (Martin, 2017). Además, el genoma cloroplastidial tiende a ser altamente conservado debido a su función esencial en la fotosíntesis. La baja tasa de mutación puede limitar la variabilidad genética necesaria para resolver las relaciones filogenéticas a nivel de especies o entre taxones cercanamente relacionados, lo que dificulta la diferenciación clara de clados monofiléticos. Lo que explicaría a su vez la incongruencia entre los análisis de datos genéticos cloroplastidiales y nucleares, estas discordancias filogenéticas entre el genoma cloroplastidial y el genoma nuclear pueden deberse a eventos como la hibridación, introgresión genética o la herencia uniparental del cloroplasto, que pueden llevar a discrepancias entre la filogenia cloroplastidial y la verdadera historia evolutiva de las especies, complicando la identificación de clados monofiléticos (Martin, 2017; Palmer, 2019).

Los datos obtenidos proporcionan una referencia para entender cómo la topología del ADN cloroplastidial puede presentar limitaciones al tratar de resolver relaciones filogenéticas y los procesos evolutivos que puedan estar ocurriendo en *Alstroemeria*.

Si estos resultados se comparan con las otras disciplinas evaluadas, discrepancias entre datos morfológicos, citológicos y de ADN cloroplastidial o nuclear pueden ser indicadores de divergencias y procesos evolutivos recientes, donde solo algunas aproximaciones poseen poder resolutivo (Cronk et al., 2004; Arnold, 2006; Soltis et al., 2009; Soltis et al., 2018). Por otro lado, estas discrepancias recalcan la importancia en el uso de diferentes fuentes de

información taxonómica, combinando múltiples fuentes de datos para obtener una imagen más holística de la historia evolutiva de los taxones estudiados (Padial et al., 2010).

Datos cariotípicos. El tamaño del cariotipo ha sido objeto de estudio en relación con la evolución de las plantas en Liliales, la diversidad cromosómica y la evolución se han vinculado principalmente al tamaño del genoma y a su arquitectura cariotípica (Peruzzi et al., 2009). Los cariotipos ancestrales tienden a tener genomas más pequeños con altos valores de CV_{CL} (Leitch et al., 2012; Peruzzi et al., 2009). *A. pulchra* var. *maxima*, que tiene un cariotipo más pequeño (menor LTC) y valores más altos de CV_{CL} en comparación con *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*, son fuentes de evidencia de su historia evolutiva y diferenciación.

Por otro lado, tanto *A. pulchra* var. *pulchra* como *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* presentan la evidencia de un polimorfismo de tamaño en sus cromosomas homólogos, que podría estar indicando un tipo de evolución cromosómica, esta modificación les permitiría adaptarse a nichos ecológicos específicos, especialmente en especies que poseen una capacidad limitada de dispersión de polen o semillas (Ruiz et al., 2010; Wendel et al., 2016). Estos cambios cromosómicos podrían estar impulsados por mecanismos como la reestructuración genómica, que a menudo precede a la diversificación funcional (Soltis et al., 2009). Por lo tanto, el tamaño y la estructura del cariotipo pueden considerarse como marcadores evolutivos y adaptativos valiosos (Vimala et al., 2021), en este caso proporcionan información complementaria para la diferenciación de *A. pulchra* var. *maxima*.

Integridad genética de *A. pulchra*. Los resultados obtenidos en este estudio plantean preguntas sobre la variación en la estructura genética obtenida por SNPs nucleares de algunos taxones. Los análisis filogenéticos y de estructura

genética revelan que *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* var. *maxima* representan clústeres genéticos separados. Por otro lado, se determinó una posición polifilética de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*, los resultados obtenidos podrían atribuirse a los datos faltantes en las muestras analizadas de este taxón, alcanzando hasta un 87% en algunas de las muestras analizadas. Se ha evidenciado que estos caracteres incompletos e informativos para parsimonia pueden ser considerados por los análisis en un marco probabilístico (Roure et al., 2013). En un análisis preliminar, se evaluó la influencia de los datos faltantes en la diferenciación de *A. pulchra* var. *maxima*, con un 50%, 40% y 30% de datos faltantes, si bien la distancia entre los clústeres genéticos obtenidos disminuyó a medida que se eliminaron los datos faltantes (debido probablemente a la menor cantidad de datos disponibles), *A. pulchra* var. *maxima* se mantiene como un clúster genético diferenciable de *A. pulchra*. Por ejemplo, para la matriz de datos de SNPs, el filtro de datos faltantes se ajustó a un 30% mínimo de datos de presencia, reteniendo 872 locus, 731 patrones distintivos y 145 sitios parsimoniosamente informativos. En un análisis preliminar, para la misma matriz, aplicando un filtro de un 40%, los patrones distintivos disminuyeron a 107 y solo 12 sitios parsimoniosamente informativos, el árbol generado y análisis de STRUCTURE (no mostrado), mantiene la diferenciación genética entre *A. pulchra* var. *maxima* y *A. pulchra* var. *pulchra*. Tanto la variabilidad genética como las modificaciones estructurales cariotípicas en *A. pulchra* var. *maxima*, *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* pueden ser signos de mecanismos adaptativos y procesos microevolutivos subyacentes que pueden estar ocurriendo en estos taxones (Ruiz et al., 2010; Popiela y Molnar, 2020).

Implicaciones ecológicas y de conservación. La identificación y clasificación precisas de las especies son pasos fundamentales en la biología de la

conservación y para comprender la biodiversidad, también permiten medidas de conservación más efectivas, pueden marcar la diferencia entre la preservación o la pérdida de especies únicas y valiosas (Cowling et al., 2003). Como entidades que causa alteraciones en los ecosistemas, la humanidad es responsable de preservar la biodiversidad (Collado et al., 2023). En relación con *A. pulchra* var. *maxima*, su reconocimiento como una entidad separada conlleva responsabilidades significativas y nuevos parámetros para la conservación, siendo su estructura genética un parámetro importante desde perspectivas de conservación que tienen una importancia selectiva frente a cambios ambientales, y otros factores como la destrucción del hábitat debido a efectos antropogénicos (Ruiz et al., 2010; Arroyo et al., 2008). El reconocimiento de *A. pulchra* var. *maxima* como una especie separada tiene implicaciones que van más allá de la taxonomía, con cambios en extensión y ocupación, influyendo en áreas como la ecología, evolución y conservación (Smith et al., 2004; Balding y Williams, 2016). Las diferencias ecológicas que distinguen a taxones estrechamente relacionados reflejan adaptaciones, por ejemplo, morfológicas, ecológicas o moleculares, como es el caso de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*. Las diferencias de nicho encontradas en *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* pueden ser interpretadas como indicadores de nichos ecológicos únicos, un parámetro que debe considerarse al definir amenazas a la biodiversidad y estrategias de conservación (Phillips et al., 2006; Quiroga y Souto, 2022). Por otro lado, si bien era esperable encontrar un grado de solapamiento en base a lo evidenciado en terreno entre *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* var. *maxima*, los caracteres colorimétricos, morfométricos y citológicos evaluados en trabajos anteriores (Baeza et al., 2018; Villalobos et al., 2023), respaldan los resultados obtenidos mediante SNPs nucleares en este estudio, permitiendo diferenciar estas entidades con un bajo margen de error.

La taxonomía debe ser un campo en constante evolución, con la llegada de nuevas tecnologías y metodologías, los taxónomos están mejor equipados que nunca para explorar y comprender la vasta biodiversidad del planeta y clarificar la identidad de complejos taxonómicos (p. ej. Pessoa et al., 2012; Barrett et al., 2022; Batista et al., 2023; Zhang et al., 2023). Sin embargo, con un mayor número de disciplinas, aumentan también la cantidad de datos a analizar y las hipótesis resultantes que no siempre son congruentes, así como se evidenció en este estudio. Es esencial continuar adoptando enfoques integrados en otras especies de *Alstroemeria*, de manera que permita tener una visión más compartida y obtener resultados que permitan resolver y evidenciar que la clasificación de los organismos vivos reflejan sus relaciones morfológicas, evolutivas y ecológicas, delimitación fundamental para estudios en diferentes áreas de la biología y la conservación (Pyron, 2023; Padin y Calviño, 2023).

Conclusión

Este estudio, apoyado por un análisis morfo-colorimétrico previo de las flores de *Alstroemeria pulchra*, justifica elevar a *A. pulchra* var. *maxima* al nivel de especie. Esto se basa en diferencias genéticas identificadas a través del análisis de SNPs nucleares, características morfológicas, citológicas y taxonómicas, que la diferencian de *A. pulchra* (Fig. 12).

Por otro lado, el análisis morfo-colorimétrico junto con su nicho ecológico diferenciado a través de los SDMs son evidencia de que *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* es un taxón diferenciado de *A. pulchra* var. *pulchra*, pero su similitud cariotípica y su variada estructura genética detectada en los análisis no permiten respaldarla como una entidad distinguible de *A. pulchra*.

No se observaron variaciones genéticas o citológicas significativas en muestras de poblaciones donde coexisten *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* var. *maxima*, en comparación con poblaciones donde solo se documentó *A. pulchra* var. *maxima*. Por otro lado, *A. magnifica* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* muestran división en múltiples clados en los análisis de cpDNA y nrDNA, indicando la necesidad de realizar estudios integradores y evidencia adicional a escala de poblaciones, para aclarar su integridad genética y relaciones con especies simpátricas, considerando un potencial flujo de genes entre las especies nominales existentes.

Encontrar evidencia sobre el proceso subyacente que potencialmente puede estar ocurriendo entre especies simpátricas de *Alstroemeria* es crucial para aclarar su taxonomía y evolución, impactando en estrategias de conservación y manejo, especialmente para especies endémicas afectadas por la degradación del hábitat.

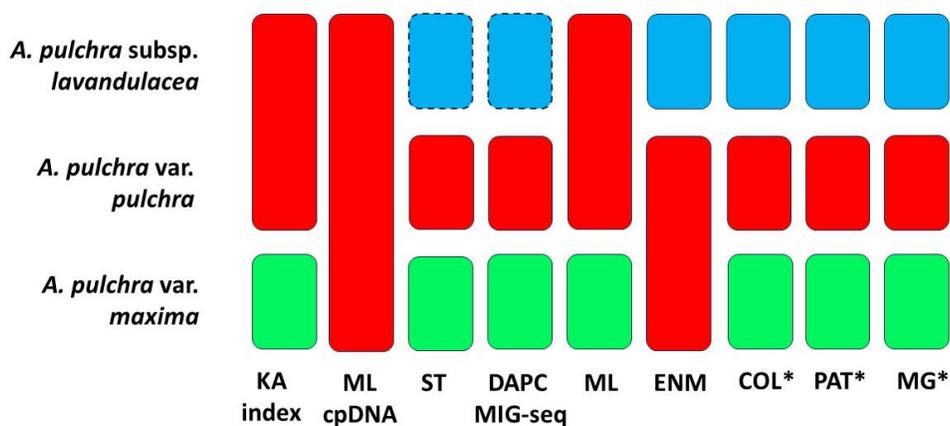


Figura 7. Resumen de las aproximaciones utilizadas en la diferenciación de los taxones infraespecíficos del complejo *A. pulchra* (columnas). KA: Cariotipos; MLcpDNA: análisis de máxima verosimilitud de tres regiones cloroplastidiales concatenadas; ST: Structure, DAPC: Análisis discriminante de componentes principales, ML: análisis de máxima verosimilitud, (ST, DAPC y ML) fueron realizados con los datos obtenidos mediante MIG-seq (ntDNA); ENM: Modelamiento de Nicho ecológico (basado en métrica de *D*); MG: Morfometría geométrica; COL: Colorimetría; PAT: Patrones de máculas. *Caracteres evaluados en un trabajo anterior (Villalobos et al., 2023).

Tratamiento taxonómico

***Alstroemeria maxima* (Phil.) N. Villalobos y C.M. Baeza comb. y stat. nov.**

Alstroemeria pulchra var. *maxima* Phil., Linnaea. 33(17): 266. 1864.

Alstroemeria magnifica subsp. *maxima* (Phil.) Ehr. Bayer, Gatt. Alstr. Chile 244.

1986 (1987). *Alstroemeria spectabilis* Ravenna, Phytologia 64: 284. 1988. TIPO: CHILE, Región de Valparaíso, Prov. San Felipe de los Andes, Prope Catemu, Prov. Aconcagua observavi. Philippi s.n. (Lectotipo SGO 038096 imagen!). (Fig. 13).

Hierbas perennes, rizomatosas con brotes estériles con hojas agrupadas en una roseta o brotes que no superan los 50 cm de longitud. Los brotes florales son altos y vigorosos, de color marrón verdoso, alcanzando hasta 170 cm de altura. Las hojas son resupinadas en la base, lineales a lanceoladas, con 13 venas paralelas, resupinadas, midiendo $7,2 \pm 2,3 \times 1,3 \pm 1,0$ cm. La inflorescencia comprende de 3 a 20 rayos, de hasta 20 cm de diámetro, con flores grandes, de color blanco a lila azulado. Los tépalos externos son anchamente espatulados, $3,9 \pm 0,1 \times 2,1 \pm 0,3$ cm, con márgenes lisos en la base a irregularmente dentados cerca del ápice, ápice obtuso a emarginado, con un ligero mucrón, verdoso o similar en color a las máculas. Los tépalos internos superiores son espatulados con ápice redondeado, ligeramente mucronado, un cuarto más largo que los tépalos externos, midiendo $5,0 \pm 0,6 \times 1,4 \pm 0,2$ cm, con una mancha amarilla en la mitad superior; encima de esta mancha, hay una gran mancha oscura distribuida a lo ancho del tépalo, interrumpida cerca del ápice; las guías de néctar son delgadas y lineales, disminuyendo en tamaño e intensidad hacia la base del tépalo, que carece de ornamentaciones. El tépalo interno inferior mide $3,6 \pm 0,1 \times 1,7 \pm 0,3$ cm, similar

en forma y color a los tépalos externos, generalmente sin ornamentaciones, con ápice obtuso, emarginado o ligeramente mucronado. La cápsula es elipsoidal, típicamente con más de seis costillas (6-12), midiendo 11-15 mm de diámetro. Las semillas son ásperas, redondas y de color marrón oscuro, midiendo 3-4.5 mm.

Distribución y hábitat. Endémica de Chile, documentada entre las regiones de Coquimbo, Valparaíso y Metropolitana de Santiago (29°26'-33°29') (Fig. 14), a elevaciones que van desde los 5 hasta los 1.091 metros sobre el nivel del mar, crece en suelos duros, rocosos, colinas, quebradas o llanuras soleadas. De los especímenes estudiados, solo uno fue documentado en el Parque Nacional Fray Jorge. *A. maxima* crece predominantemente en la ecorregión del matorral chileno, y algunos especímenes se asociaron al bosque templado valdiviano. Se encuentra en formaciones vegetales del bosque esclerófilo, bosque espinoso, matorral esclerófilo y matorral desértico.

Fenología. La floración ocurre entre septiembre y diciembre, y su fructificación desde octubre.

Especímenes examinados. CHILE. Región de Coquimbo: Provincia del Limarí, cerro pan de azúcar, ruta longitudinal a Ovalle, 29°59'0"S, 71°15'0"O, 100-200 m, 8 septiembre 1942, Muñoz y Pisano 3304 (SGO); Entre ruta 5 norte hacia Fray Jorge, 30°40'0"S, 71°40'0"O, 450 m, 19 octubre 1963, Garaventa 4562, (CONC). Provincia de Elqui, Sector El Manzano, Andacollo, 30°12'0"S, 71°8'0"O, 8 octubre 2000, Brinck s/n (SGO). Prov. de Choapa, 11 Km al norte de Quilimarí, 32°1'0"S, 71°30'0"W, 10 m, 15 octubre 1971, Marticorena et al., 1336 (CONC); Cruce Pichidanguí Km 194.5, 32°9'46"S, 71°30'50"O, 88 m, 26 octubre 2002, Muñoz M. 4193 (SGO); Illapel, Cuzcuz, 31°39'0"S, 71°14'0"O, 26 Noviembre 1985, Trivelli y Muñoz s/n (SGO); Los Vilos - Illapel, cerro Cavilolén, 31°46'0"S, 71°20'0"O, 27 octubre 1991, Brinck s/n (SGO); En quebrada, a orilla

de camino hacia Cabildo, 32°9'22.7"S, 71°9'46.63"O, 1006 m, 30 Octubre 2018, Villalobos N. y Carrasco P. 13 (CONC); Ruta 5 norte, Pichidangui, 32°9'0"S, 71°31'0"O, 15 m, 18 octubre 1963, Garaventa 4563 (CONC); Pichidangui, 32°8'0"S, 71°31'0"O, 27 octubre 1991, Brinck s/n (SGO); Pichidangui, 32°9'0"S, 71°31'0"W, 6 m, 8 septiembre 1982, Montero 12235 (CONC); Plan de Hornos entre Illapel y Combarbalá, 31°24'0"S, 71°4'0"O, 10 noviembre 1989, Brinck 34 (SGO); Camino entre Quilón y Tilama, lado derecho, 32°7'50.33"S, 71°9'59,4"O, 789 m, 30 octubre 2018, Villalobos N. y Carrasco P. 14 (CONC). Región de Valparaíso, Provincia de Marga Marga, Granizo, Olmue, Cerro Campana, 32°59'0"S, 71°8'0"W, 250 m, 28 noviembre 1937 Garaventa 4199 (CONC); Limache, detrás de cerro al final de camino Las Américas; 32°58'S30"S, 71°16'0"O, 9 noviembre 2002, Moreira A. 749 (SGO); Limache, cerro lado norte, 33°1'0"S 71°16'0"O, 90 m, 15 octubre 1916, Behk s/n (CONC). Provincia de Petorca, Camino entre Putaendo y Cabildo en una quebrada, 32°S33'0"S, 70°55'0"O, 19 septiembre 1991, Moreira I. s/n, (SGO); Cerro imán entre cajones Guaquén y La Chicharra, 32°14'0"S, 71°19'0"O, 520 m, 23 noviembre 1981 Villagrán y Meza 1046 (SGO); Cuesta El Melón, 32°S34'0"S, 71°15'0"O, 500 m, von Bohlen 649, (SGO); Cuesta El Melón, 32°S37'16"S, 71°14'44"O, 26 octubre 2002, Muñoz M. 4174 (SGO); Cuesta El Melón, 32°40'S, 71°13'0"O, 7 octubre 2000, Brinck s/n (SGO); Entrada a Los Molles, 32°13'45"S, 71°30'54"O, 54 m, 26 octubre 2002, Muñoz M. 4190 (SGO); Los Molles, al N de Los Molles, 32°13'0"S, 71°30'0"O, 17 octubre 1992, Muñoz M. 3183 (SGO); Norte de Los Molles, 32°13'0"S, 71°30'0"O, 19 octubre 1984, Muñoz M. 1880a (SGO); Norte Pichicuy Km 183, 32°15'6"S, 71°28'36"O, 26 octubre 2002, Muñoz M. 4187 (SGO); Orilla Carretera, Canal Agua Lluvia, Ruta 5 Km 190, Los Molles-Pichidangui, suelo pedregoso, 32°12'14,2"S 71°30'57,3"O, 57 m, 30 octubre 2018, Villalobos N. y Carrasco P. 11 (CONC); Cuesta El Melón, 32°S35'0"S,

71°14'0"O, 290 m, 29 octubre 2001, Fuenzalida y Rougier 13 (CONC); La Liga, Cuesta El Melón, 32°S35'0"S,71°14'0"O, 340 m, 1 noviembre 2013, Baeza et al., 4385 (CONC); Ruta 5 norte, km 193, sur de plaza peaje, 32°11'0"S, 71°31'0"O, 65 m, 6 diciembre 2006, Rosas y Acosta 4315 (CONC); ruta La Liga-Papudo a un costado del camino, 32°26'58"S, 71°19'31,9"O, 22 m, 31 octubre 2018, Villalobos N. y Carrasco P. 18, (CONC); Quebrada entrada Santa Bertina, Altavista Olivo Santo, 32°36'57,3"S, 71°24'9,1"O, 7 m, 31 octubre 2018, Villalobos N. y Carrasco P. 19 (CONC); Quillota, Cuesta El Melón, 32°40'S, 71°15'0"O, 500 m, 13 septiembre 1957, Ricardi y Marticorena 4212 (CONC); Provincia de San Felipe de Aconcagua, Catemu, 32°48'0"S, 70°58'0"O, 1860, Philippi s/n (SGO); Cuesta Las Chilcas, 32°51'0"S, 70°51'0"O, 7 octubre 2001, Brinck s/n (SGO); Cuesta Las Chilcas, 32°51'0"S, 70°51'9"O, 12 octubre 2002, Muñoz M. 4165 (SGO); Quebrada Llaillay, ruta Panamericana, 32°48'0"S, 70°57'0"O, 10 noviembre 1958, Bailey s/n (SGO). Región Metropolitana de Santiago, Provincia de Chacabuco, Tiltill, camino el atajo al fondo, 33°5'0"S, 70°54'0"O, 670 m, 26 octubre 2001, Moreira A. 586 (SGO); Cuesta Lo Prado, oeste, 33°S29'0"S, 70°57'0"O, 450 m, 23 noviembre 1998, Muñoz M. 3859 (SGO); Rinconada de Lo Cerda, quebrada La Plata, Maipú, 33°S29'0"S, 70°52'0"O, octubre 1936, Muñoz C. s/n, (SGO).

Observaciones: *A. maxima* es morfológicamente distinta de *A. magnifica*, esta última presenta flores con tépalos internos superiores más pequeños en tamaño en comparación con sus tépalos externos, contrario a *A. maxima* que posee tépalos internos superiores de hasta un cuarto más largos que los externos. Además, *A. magnifica* posee guías de néctar que tienden a concentrarse hacia la base de los tépalos, mientras que en *A. maxima*, las guías de néctar disminuyen en tamaño y presencia hacia la base de los tépalos internos superiores que no tienen ornamentaciones, al igual que lo documentado para *A.*

pulchra y otras especies. *A. maxima* generalmente tiene hojas de forma lanceolada, mientras que las hojas de *A. magnifica* tienen una forma más ovada, enangostadas en la base. Por otro lado, la similitud en el patrón de ornamentación y la forma de los tépalos a menudo se confunde con *A. pulchra* subsp. *pulchra*. Como su epíteto lo indica, *A. maxima* comprende plantas grandes (inflorescencias de hasta 170 cm de altura), lo cual también se refleja en sus estructuras florales, este carácter la distingue de *A. pulchra* subsp. *pulchra* que posee un menor tamaño en general. En estado vegetativo, *A. maxima* posee hojas de crecimiento arrosetado (Fig. 13d), sus hojas son resupinadas, anchamente lanceoladas, enangostándose hacia el ápice, en *A. pulchra* subsp. *pulchra* las hojas son lanceoladas, estrechas, dispuestas en varas que no superan los 100 cm (Fig. 15D), además las flores de *A. pulchra* poseen tépalos externos espatulados y mucronados, mientras que *A. maxima* tiene tépalos anchamente espatulados menos mucronados y con ápice generalmente emarginado.

Muñoz-Schick y Moreira (2003), designan el lectotipo SGO 038096, parte del material originalmente colectado por Philippi para *A. pulchra* var. *maxima*. Un estudio previo (Garaventa, 1971) designa el mismo espécimen como "typus". Para fines de prioridad bajo el Código de Shenzhen (Turland et al. 2018), el término *typus* se acepta para publicaciones anteriores al 1 de enero de 2001, y tiene prioridad en la designación del lectotipo para *A. maxima*.



Figura 8. *Alstroemeria maxima*. a. Inflorescencia; b. Flor; c. varas florales; d. hojas vegetativas. Escala 1 cm. Fotografías N. Villalobos et al., (11) A y B: 10-2017, C y D: 8-2022. Fuente: Elaboración propia.

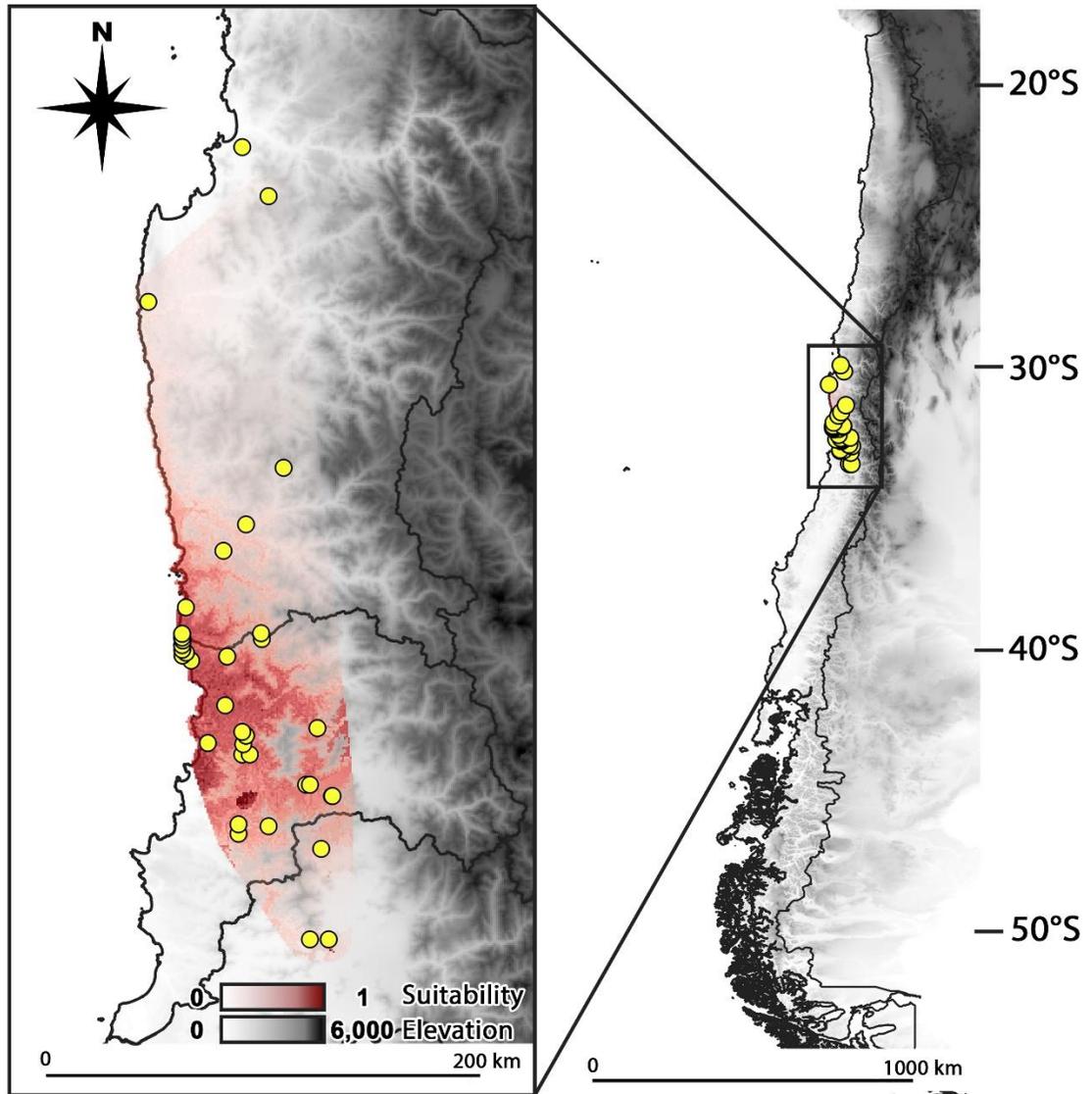


Figura 9. Puntos de ocurrencia y distribución potencial en base a colectas y datos de herbario de *A. maxima* consideradas en este estudio.

***Alstroemeria pulchra* Sims**

J. Sims Bot. Mag. 50: 2421. 1823(1822). TIPO: CHILE, Native of Chile. Com. J. Walker Esq., of Arnos grove Southgate. (iconotipo image!).

Clave para reconocer las subespecies de *Alstroemeria pulchra* Sims.

1. Tépalos con ápices redondeados, levemente mucronados, mucrón no mayor a 4 mm, tépalos externos con o sin ornamentaciones, de $3,2 \pm 0,1 \times 1,2 \pm 0,2$ cm; tépalos internos superiores de $3,8 \pm 0,3 \times 1,0 \pm 0,2$ cm; subespecie distribuida entre los $31^{\circ}58'S$, hacia el sur ha sido documentadas por la zona costera hasta los $35^{\circ}49'S$***A. pulchra* subsp. *pulchra***

1'. Tépalos con ápices acuminados, muy mucronados, mucrón de 3 a 7 mm, tépalos externos sin ornamentaciones, de $3,5 \pm 0,1 \times 1,1 \pm 0,3$ cm; tépalos internos superiores de $2,9 \pm 0,1 \times 1,0 \pm 0,2$ cm; subespecie distribuida en el valle central y seco interior desde los $35^{\circ}10'S$ hasta $37^{\circ}50'S$ ***A. pulchra* subsp. *lavandulacea***

Alstroemeria pulchra* subsp. *pulchra

Alstroemeria flos-martini (Ker-Gawl.), Bot. Reg. 9: 731. 1823. *Alstroemeria tricolor* Hook., Exot. Fl. 1(5): 65. 1823. *Alstroemeria bicolor* Hook., Exot. Fl. 2(9): 95. 1824. *Alstroemeria pulchra* var. *bicolor* Lodd. ex Herb., Amaryllidaceae 93 (1837). *Alstroemeria ligtu* f. *pulchra* (Sims) Voss, Vilm. Blumengärtn., ed. 3. 1: 1040 (1896). (Fig. 15).

Hierba perenne, rizomatosa. Tallos estériles de hasta 40 cm de altura, tallos fértiles de hasta 100 cm de altura, erectos. Hojas lineales resupinadas en la base, miden $5,4 \pm 1,7 \times 0,4 \pm 0,1$ cm con 5 a 6 venas paralelas. Inflorescencia

con 2-8 rayos. Flores de color blanco a lila rojizo. Tépalos externos espatulados, generalmente sin ornamentaciones, midiendo $3,2 \pm 0,3 \times 1,2 \pm 0,2$ cm, con ápice obtuso a redondeado, mucronado, con un mucrón que es verdoso o similar al color de las máculas. Tépalos internos superiores espatulados, mucronados, más largos que los tépalos externos, midiendo $3,8 \pm 0,3 \times 1,0 \pm 0,2$ cm, sobre el tercio superior del tépalo resalta una mancha amarilla de fondo, sobre ella, variables en presencia y distribución en el tépalo presentan una gran mácula central o varias maculas de menor tamaño hasta cerca del ápice, de color violáceo oscuras, escasamente ausentes. Guías de néctar presentes principalmente en el tercio medio del tépalo, disminuyendo en tamaño y densidad hacia la base, la cual que no posee ornamentaciones. Tépalos internos inferiores miden $2,5 \pm 0,4 \times 1,0 \pm 0,2$ cm, generalmente sin ornamentaciones, similares en forma y tamaño a los tépalos externos. Cápsula elipsoidal con 6 costillas, midiendo 12 x 8 mm de diámetro. Semillas marrones oscuras, rugosas, redondas, midiendo 1,8-2,2 mm.

Distribución y Hábitat. Especie endémica del centro de Chile, presente en las regiones de Coquimbo, Valparaíso y Metropolitana de Santiago ($29^{\circ}26'S$ - $33^{\circ}29'S$), entre altitudes de 5-1500 m s.m. Crece en suelos arcillo-arenosos o arcillo-arenosos-arenosos bajo el dosel de especies arbustivas o en llanuras soleadas. *Alstroemeria pulchra* subsp. *pulchra* crece principalmente en la ecorregión del matorral chileno, la estepa andina del sur y el bosque templado valdiviano. Está presente en bosque esclerófilo, matorral esclerófilo, formaciones de bosque espinoso y algunos ejemplares han sido documentados en bosques caducifolios costeros. Documentada en las áreas del SNASPE en R.N. Lago Peñuelas, P.N. La Campana y R.N. Río Blanco (Muñoz-Schick y Moreira, 2003).

Fenología. Florece entre septiembre a noviembre, fructifica desde noviembre.

Especímenes examinados. CHILE. Región de Coquimbo: Provincia de Choapa, 20 Km al norte de los Molles S32°4", 71°30'0"O, 25 m, 25 noviembre 1980, Rodríguez y Marticorena 1538 (CONC); Cerro al Este de Pichidanguí entrada Norte, camino hacia las antenas, orilla camino pedregoso. S32°9'22,1", 71°28'50,8"O, 431 m, 30 octubre 2018, Villalobos N. y Carrasco P. 12 (CONC).

Región de Valparaíso: Provincia de Petorca, Cabildo al S, Mina Peumo, 32°S30'21"S, 71°4'9"O, 850 m, 29 diciembre 2001, Moreira A. 655 (SGO); Cerro imán entre cajones Guaquen y La Chicharra, valle de Petorca, 32°14'0"S, 71°19'0"O, 520 m, 1 diciembre 1980, Villagrán y Meza 744 (SGO); Laguna Maitencillo, 32°S37'0"S, 71°25'0"O, 28 octubre 1991, Brinck s/n (SGO); Orilla camino línea férrea en desuso, camino pedregoso Km 178, 32°17'40,8"Sm 71°27'41,1"O, 31 octubre 2018, Villalobos N. y Carrasco P. 17 (CONC); Orilla Carretera, canal agua lluvia, Ruta 5 Km 190, Los Molles-Pichidanguí, 32°12'14,2"S, 71°30'57,3"O, 30 octubre 2018, Villalobos N. y Carrasco P. 11 (CONC); La Ligua, Los Hornos, Huaquén, 32°14'0"S, 71°20'0"O, 206 m, 1 noviembre 2013, Baeza et al. 4384 (CONC); Los Molles, Sitio eriazo calle Gabriela Mistral 1348, 32°14'0"S, 71°31'0"O, 35 m, 1 noviembre 2013, Baeza et al. 4382 (CONC); Zapallar. Cerro De La Cruz 32°S33'0"S, 71°28'0"O 25 m, 11 noviembre 1941, Behk s/n CONC; Recinto privado orilla oeste camino ruta Concon – Maitencillo, S32°53'34,3", 71°30'20,8"O, 31 octubre 2018, Villalobos N. y Carrasco P. 20 (CONC); Ruta 5 entre Longotoma y Pichicuy, Km 167, 32°21'54"S, 71°23'28"O, 17 noviembre 2002, Moreira A., 774 (SGO); Ruta Los Vilos – Papudo orilla camino, 32°26'58"S, 71°19'31,9"O, 31 octubre 2018, Villalobos N. y Carrasco P., 18 (CONC); San Felipe: entre Putaendo y Cabildo, 32°S33'0"S, 70°50'0"O, 1000 m, 22 octubre 1999, Teillier 4692, (CONC); Tierras Blancas, Km 6 camino Catapilco a la Laguna, 32°S33'0"S, 71°17'0"O, 28 octubre 2001, Valdés s/n (SGO); Tierras Blancas, Km 6 Camino Catapilco a la

Laguna, 32°S33'0"S, 71°17'0"O, 28 octubre 2001, Valdés C. s/n (SGO); Zapallar, 32°S33'0", 71°27'0"O, 1 octubre 1948, HartOing s/n (SGO); Zapallar, quebrada El Tigre, 32°S33'0"S, 71°25'41"O, 16 noviembre 2022, Moreira A. 765 (SGO). Provincia de Los Andes, Rio Blanco, a orillas de camino, 32°54'0"S, 70°18'0"O, 26 m, noviembre 1978, Muñoz M. 1269 (SGO). Provincia de Quillota, Cerro Mauco, Camino entre Colmo y Valle Alegre, comuna de Quillota, 32°52'0"S, 71°26'0"O, 420 m, 1 octubre 2017, Carrasco 112 (CONC); Humedal de Mantagua, Sector Ritoque, 32°52'40"S, 71°29'36"O, 26 m, 1 octubre 2017, Carrasco P. 116 (CONC); La Calera, Orilla Camino Ladera Sur, Orilla Línea Tren, 32°53'S34,3"S, 71°30'20,8"O, 1 noviembre 2018, Villalobos N. y Carrasco P. 22 (CONC). Provincia de Valparaíso: a 10 Km de Concón, 32°51'0"S, 71°29'0"O 8 noviembre 1971, Beckett et al. 4223 (SGO); Cuesta Zapata, camino Valparaíso a Santiago, cerca de La Cumbre, 33°22'0"S, 71°15'0"O, noviembre 2023, Muñoz M., 3191 (SGO); Camino Casablanca - Quilpué, desvío a Las Palmas, 33°6'0"S, 71°22'0"O, 23 noviembre 1999, Muñoz M. 3862 (SGO); Casablanca, Fundo El Cuadro, 33°15'0"S, 71°17'0"O, 400 m, 2 noviembre 1937, Garaventa 4216 (CONC); Cuesta Balmaceda, entre camino La Pólvora y Quebrada honda, 33°6'29"S, 71°38'17,1"O, 300 m, Baeza 4263 (CONC); Jardín Botánico lote C, Bosque Esclerófilo al costado estero Marga Marga, 33°3'5,41"S,71°29'33,76"O, 1 noviembre 2009, Fernández 570 (CONC); Punta Curaimilla. Camping Las Gaviotas 33°5'0"S, 71°43'0"O, 58 m, 11 diciembre 2007, Baeza 4266 (CONC); Punta Curaimilla. Camping Las Gaviotas, 33°5'0"S, 71°43'0"O, 58 m, 11 diciembre 2007 Baeza 4268 (CONC); Punta Curaumilla, al sur del faro, sobre bajada a la playa, 33°5'51"S, 71°43'53"O, 50 m, 3 diciembre 2002, Moreira A. 810 (SGO); Punta Curaumilla, explanada desde el faro, 33°6'0"S, 71°44'20"O, 65 m, Moreira y Pliscoff 1376A (CONC); Quebrada del cura, cerro El Melón, 32°44'42"S, 71°6'28"O, 1250 m, 22 noviembre 2001,

Moreira A. 608 (SGO); Quebrada del cura, cerro El Melón, aguada del palqui, 32°45'34"S, 71°6'10"O, 860 m, 22 noviembre 2001 Moreira A. 593 (SGO); Quebrada del cura, cerro El Melón, aguada del palqui, 32°45'S34"S, 71°6'10"O, 860 m, 22 noviembre 2002, Moreira A. 593 (SGO); Quebrada estero Margarita, comuna de Quilpué, 33°4'0"S, 71°25'0"O, 122 m, 1 octubre 2017, Carrasco 113 (CONC); Quebrada estero Margarita, comuna de Quilpué, 33°4'0"S, 71°25'0"O, 141 octubre 2017, Carrasco 109 (CONC); Reserva Nacional Lago Peñuelas 33°11'27"S, 71°27'13,7"O, 410 m, 1 noviembre 2000, Arroyo et al. 205435 (CONC); Reserva Nacional Lago Peñuelas, 33°11'50,7"S, 71°29'6,1"O, 380 m, 5 noviembre 2000, Arroyo et al. 205544 (CONC); Reserva Nacional Lago Peñuelas, 33°8'21,7"S, 71°30'7,2"O, 8 noviembre 2000, Arroyo et al. 205627 (CONC); Reserva Nacional Lago Peñuelas, lado S, 33°11'42,3"S, 71°28'34,9"O, 460 m, 15 noviembre 2000, Arroyo et al. 203623 (CONC); Tunquen, Estero Casablanca, 33°16'0"S, 71°39'0"O, 50 m, 1 noviembre 2001, Teillier 5860 (CONC); Valparaíso, Quebrada Verde, 33°6'0"S, 71°38'0"O, 5 noviembre 1985, GoseOijn 1380 (SGO); Viña Del Mar, Quebrada Del Tranque, 33°2'0"S, 71°34'0"O, 50 m, 1 noviembre 1922, Behk s/n (CONC). Provincia de Marga Marga, Aconcagua: Cerro El Roble, lado Palmas de Alvarado, 33°1'0"S, 71°4'0"O, 1000 m, 9 diciembre 1937, Garaventa 3265 (CONC); Cerro Penitentes, 32°58'0"S, 71°8'0"O, 350 m, 19 septiembre 1936, Schlegel 18 (CONC); Embalse Los Aromos, 32°56'0"S, 71°20'0"O, 100 m, 10 noviembre 2001, Aedo 6800 (CONC); La Campana, camino a La Gotera, 32°56'0"S, 71°7'0"O, 15 noviembre 1971, Beckett et al. 4234 (SGO); Ladera sur ruta Villa Alemana Quillota, Km 26, 32°57'53,6"S, 71°17'28,4"O, 29 octubre 29 2018, Villalobos N. y Carrasco P. 10 (CONC); Limache, cerro detrás de las casas, al final calle Las Américas, 32°58'30"S, 71°16'0"O, 9 noviembre 2002, Moreira A. 748 (SGO); Limache, Lliu-Lliu, 33°6'0"S, 71°13'0"O, 255 m, 14 noviembre 1931,

Garaventa 2592 (CONC); Oasis de La Campana, sendero San Francisco, parcela La Crispina, 32°54'7"S, 70°2'8"O, 547 m, 12 octubre 2002, Muñoz M. 4166 (SGO); Olmue, camino al cerro La Campana, 32°59'0"S, 71°9'0"O, 180 m, 28 noviembre 1937, Garaventa 4200 (CONC); Olmué, El Granizo, 32°59'0"S, 71°8'0"O, 250 m, 19 septiembre 1936, Schlegel 13 (CONC); Orilla camino cerca rotonda Quillota San Pedro, 32°56'27,5"S, 71°17'11,8"O, 1 noviembre 2018, Villalobos N. y Carrasco P. 23 (CONC); P. Nacional La Campana 32°55'52,01"S, 71°5'6,74"O, 1 noviembre 2018, Villalobos N. y Carrasco P. 21 (CONC); Parque Nacional La Campana, Sector Granizo, 32°58'51,168"S, 71°7'55,488"O, 730 m, 26 octubre 2000, Moreira A. 463 (SGO); Parque Nacional La Campana, sector Granizo, borde camino principal, 32°59'0"S, 71°8'0"O, 10 noviembre 2001, Moreira A. 590 (SGO); Parque Nacional La Campana, Sector Granizo, desde Portezuelo a Ocoa, 32°58'S31"S, 71°5'54"O, 1130 m, 11 diciembre 2000, Moreira A. 491 (SGO); Región Metropolitana de Santiago: Provincia de Chacabuco, Caleu, Borde Embalse Rungue Cerca Cruce Caleu, 33°1'0"S, 70°54'0"O, 18 noviembre 2001, Moreira A. 591 (SGO); Provincia de Maipo, al norte Angostura de Paine, águila Sur, Parcela 8, Colegio Ecológico Paine, 33°54'54,3"S, 70°45'43"O, 455 m, 19 noviembre 2005, Muñoz M. 4729, (SGO); Norte túnel angostura, primera entrada, 33°54'41,9"S, 70°43'16,7"O, 430 m, 22 octubre 2006, Muñoz M. 4835 (SGO); Provincia de Melipilla, Cuesta Lo Prado, 33°28'0"S, 70°56'0"O, 490 m 13 noviembre 2001, Rougier 19 (CONC); Cuesta Lo Prado, Bajada Poniente, 33°29'0"S, 70°57'0"O, 450 m, 23 noviembre 1997, Muñoz M. 3858 (SGO); quebrada La Plata, rinconada de lo cerda, Maipú, 33°S29'0"S, 70°52'0"O, Muñoz C. s/n (SGO); Quebrada Lo Prado, 33°S29'0"S; 70°57'0"O, 200 m, 3 noviembre 1951, Levi 875 (CONC); Quebrada Lo Prado, 33°S29'0"S, 70°57'0"O, 200 m, 1 diciembre 2001, Levi 875 (CONC); Quebrada La Plata, 33°29'0"S, 70°54'0"O, 740 m, 25

octubre 1961, Schlegel 4057 (CONC); Provincia de Talagante, Talagante, 33°40'0"S, 70°56'0"O, 23 noviembre 1929, Looser s/n (CONC); Región del Libertador General Bernardo O'Higgins: Provincia de Cardenal Caro, Pichilemu, Cahuil, 34°29'42,2"S, 71°1'22"O, 31 m, 29 octubre 2005, Saldivia y Larraín 322 (CONC); Pichilemu, 34°23'0"S, 72°0'0" O, 15 m, 7 diciembre 1973 Montero 9275 (CONC); Región del Maule: Provincia de Curicó, 12.5 Km al oeste de Rauco, camino la huerta, 34°59'0"S, 71°26'0"O, 165 m, 15 noviembre 1990, Lammers et al. 7940 (CONC).

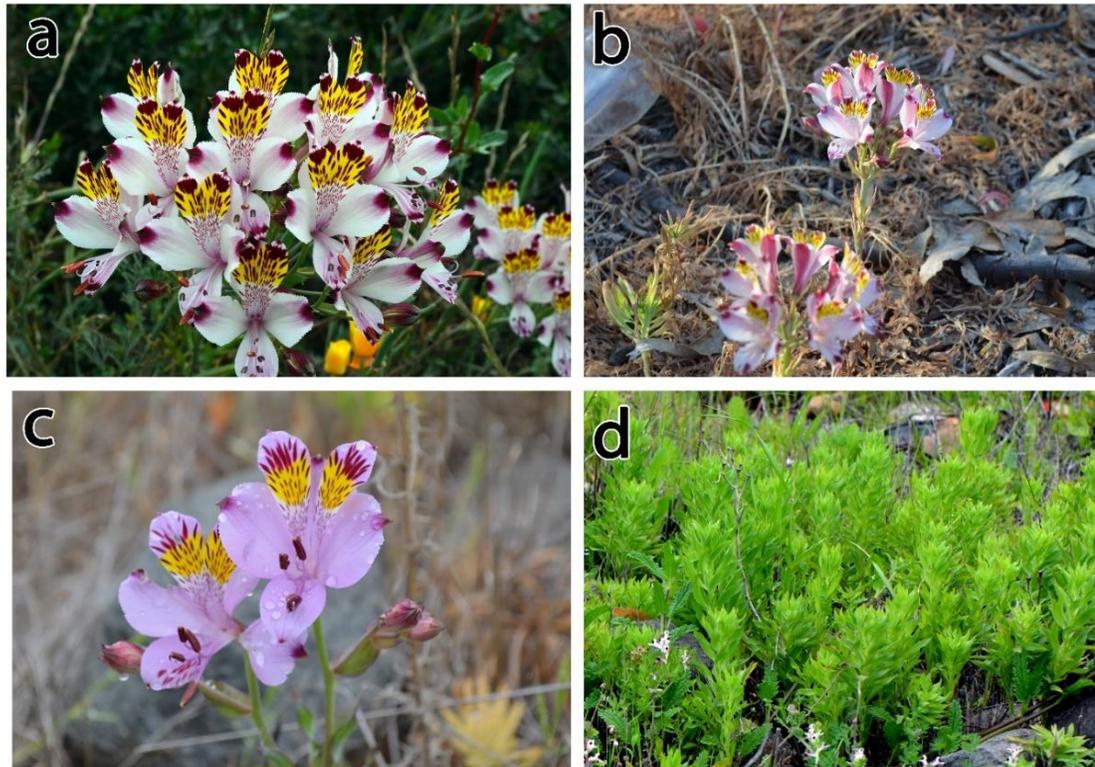


Figura 10. *Alstroemeria pulchra* subsp. *pulchra*. a, b, c: Variación floral; d: varas vegetativas. Fotografías: a: N. Villalobos y P. Carrasco (23); b: N. Villalobos y P. Carrasco (20); c, d: N. Villalobos et al. (11).

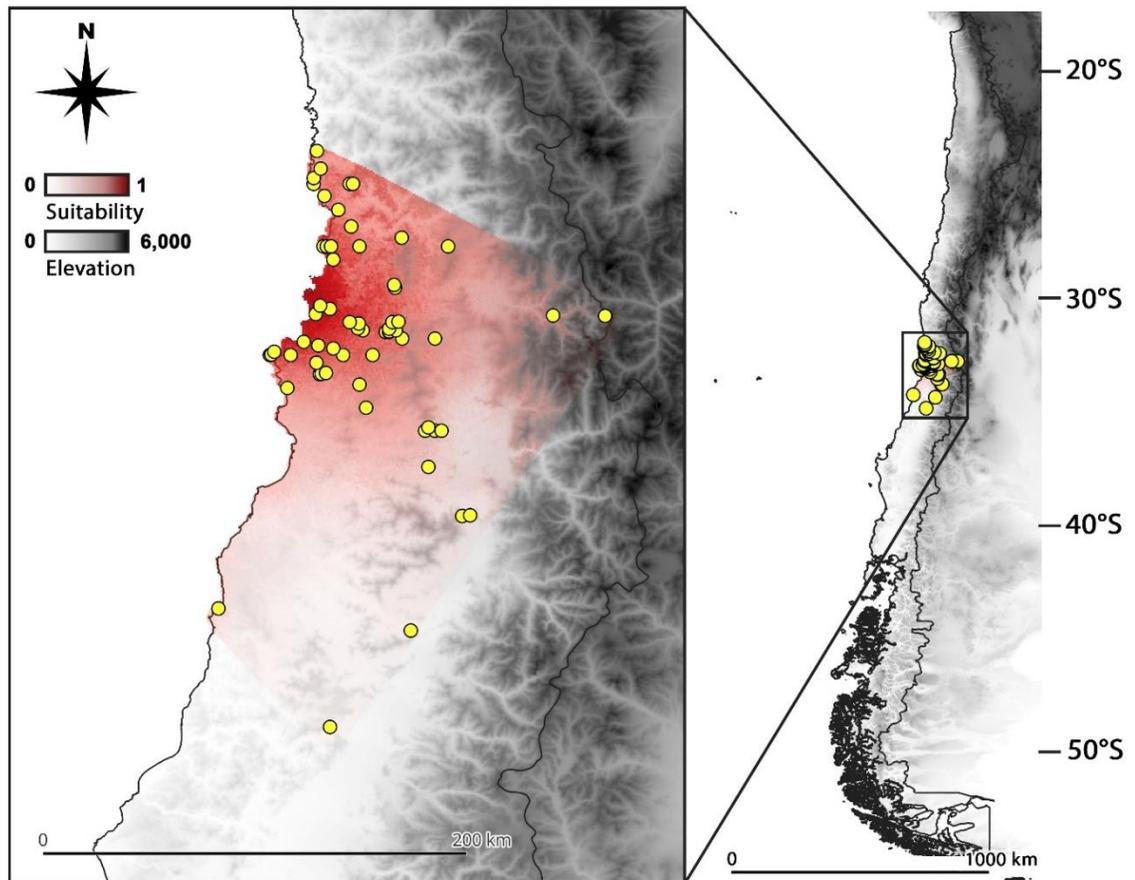


Figura 11. Puntos de presencia (amarillos) y distribución potencial (rojo) (idoneidad ambiental) estimado con MaxEnt de *Alstroemeria pulchra* subsp. *pulchra*, extensión, polígono mínimo convexo basado en los puntos de presencia de las muestras revisadas en este estudio. Elevación en m s.m.

***Alstroemeria pulchra* subsp. *lavandulacea* Ehr. Bayer**

Ehr. Bayer. Mitt. Bot. Staatssamml. Muenchen 24: 187. 1987. TIPO: CHILE, Región del Biobío, Provincia de Concepción, Curalí bei Santa Juana, leg. A.

Rodríguez, kult. Inst. f. Syst. Bot. Univ. Muenchen, 8.7.1984 (Holotipo: M). Chili australis, 1893-1897, *Neger s/n* (Paratipo: M imagen!) (Fig. 17).

Hierba perenne y rizomatosa con tallos estériles de hasta 30 cm de altura y tallos fértiles de hasta 50 cm de altura. Hojas lineales de $4,4 \pm 0,8 \times 0,3 \pm 0,1$ cm, sésiles, resupinadas en la base. Inflorescencia de 2-4 rayos, cada uno con

2 a 4 flores. Flores de color blanco a lila. Los tépalos externos son espatulados, de $3,6 \pm 0,2 \times 1,1 \pm 0,3$ cm, con ápice mucronado o acuminado, de color verdoso o similar al de las máculas (violáceo oscuro). Los tépalos internos superiores son más largos que los externos, con ápice acuminado, levemente más largos que los externos, de $3,8 \pm 0,3 \times 0,8 \pm 0,2$ cm. Presentan una mancha amarilla central en la mitad superior, sobre la cual hay una mácula oscura discontinua hasta el ápice, generalmente más larga que ancha. Las guías de néctar son pequeñas manchas alargadas, abundantes en la parte central del tépalo, disminuyendo en tamaño e intensidad hacia la base, la cual no tiene ornamentaciones. Los tépalos internos inferiores miden $2,9 \pm 0,2 \times 1,0 \pm 0,2$ cm, generalmente sin ornamentaciones. La cápsula es elipsoidal con seis costillas, mide 12-14 mm de longitud y 10-12 mm de diámetro. Las semillas son rugosas, redondas y de color marrón oscuro, miden 2-2,5 mm de diámetro.

Distribución y Hábitat. Crece en lugares soleados, con suelos duros y arcillosos, barrancos o bajo el dosel de especies esclerófilas, entre 90 y 700 m s.n.m. Crece asociada a las ecorregiones matorral chileno y bosque templado valdiviano. Crece en bosques mediterráneos del centro sur de Chile: bosque espinoso, bosque caducifolio y bosque esclerófilo. Con los nuevos registros documentados en este trabajo, *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* ha sido documentada para las regiones del Libertador Bernardo O'Higgins, del Maule, Ñuble y de la Araucanía. No se evidenció la presencia de *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* en algunas de las áreas del SNASPE. Basado en registros de iNaturalist Chile, ha sido registrada en sitios prioritarios de conservación como el Cerro Cayumanque y Altos de Ninhue en la región de Ñuble, en Altos de Lolol y Chépica en la región del Libertador Bernardo O'Higgins.

Fenología. Florece de noviembre a diciembre, fructifica en diciembre-enero.

Ejemplares Examinados. CHILE. Región del Libertador General Bernardo O'Higgins, Prov. de Colchagua, Chépica, 34°45'56"S, 71°23'23,6"O, 190 m, Faúndez et al. 496 (CONC); Entre Candelaria y Lima, orilla de camino, 34°45'6"S, 71°23'22,2"O, 190 m, 15 noviembre 2005, Faúndez et al. 496 (CONC). Región del Maule, Prov. de Talca, 300 m N Puente Rio Claro, camino rural cerca orilla Rio Claro, ladera norte, 35°10'49,746"S, 71°23'8,808"O, 221 m, 4 Diciembre 2020, Villalobos N. y Carrasco P. 50 (CONC); 300 m al N Puente Rio Claro, canal de agua lluvia cercano a carretera, 35°10'54,898"S, 71°23'21,574"O, 227 m, 4 Diciembre 2020, Villalobos N. and Carrasco P. 51 (CONC); 300 N Puente Rio Claro, Km 216, 35°10'0"S, 71°23'0"O, 220 m 9 noviembre 2013, Baeza et al. 4393a (CONC); Región de la Araucanía, Prov. de Malleco, Quebrada cerca Villa Las Naciones, 37°49'9"S, 72°41'19"O, 100 m, 19 diciembre 2017, Villalobos N. et al. 1 (CONC); En bosque de Eucaliptus, en quebrada cerca de Villa Las Naciones, 37°49'10"S, 72°41'19"O, 100 m, 19 diciembre 2017, Villalobos N. et al., 2 (CONC); Sector Villa Las Naciones, 37°49'1"S, 72°41'0"O, 90 m, Baeza et al. 4432 (CONC); Deuco, 37°52'0"S, 72°45'0"O, 350 m, 6 noviembre 1976, Montero 10264 (CONC).

Observaciones. Bayer (1987) describe a *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* que se caracteriza por tener generalmente tépalos de color lila y, con ápices mucronados y acuminados, en terreno se ha podido apreciar tépalos blanquecinos. Desde su descripción, este taxón ha sido poco documentado. En su monografía, Muñoz-Schick y Moreira (2003) mencionan que no les fue posible encontrar ejemplares para una descripción adicional. Finot et al. (2018b) mencionan solo seis localizaciones ampliamente dispersas. En este estudio, gracias a datos disponibles de los herbarios CONC y SGO, así como de la plataforma iNaturalist, se documentaron quince poblaciones. Las poblaciones documentadas están bastante distantes entre sí, y la distribución de este taxón

es significativamente afectada por factores antropogénicos, donde los hábitats naturales (matorral chileno, bosque esclerófilo) han sido reemplazados principalmente por plantaciones forestales (Heilmayr et al. 2016). En 2012, su estado de conservación fue evaluado por el MMA (MMA, 2012) y categorizado como EN PELIGRO B1ab(iii)+2ab(iii), ya que se conocían solo dos poblaciones en ese momento. Se recomienda realizar una nueva evaluación de su área de ocupación y estado de conservación, especialmente a la luz de los nuevos antecedentes, debido a sus diferencias morfológicas, citológicas y ecológicas, junto con nuevos antecedentes genéticos, podría potencialmente reclasificarse como un taxón separado de *A. pulchra*. Por otro lado, su presencia en sitios prioritarios de conservación (Ley 19.300, sobre bases generales del medio ambiente, Chile) destaca la importancia de establecer, conservar y recuperar estos sitios donde especies endémicas y fuertemente afectadas puedan ser protegidas.



Figura 12. *Alstroemeria pulchra* subsp. *lavandulacea*. a, b: flores; c: frutos (capsulas); d. hojas en estado vegetativo. Fotografías: a. N. Villalobos et al. (01), b, c: N. Villalobos (50), d: N. Villalobos y M. Gatica 10.

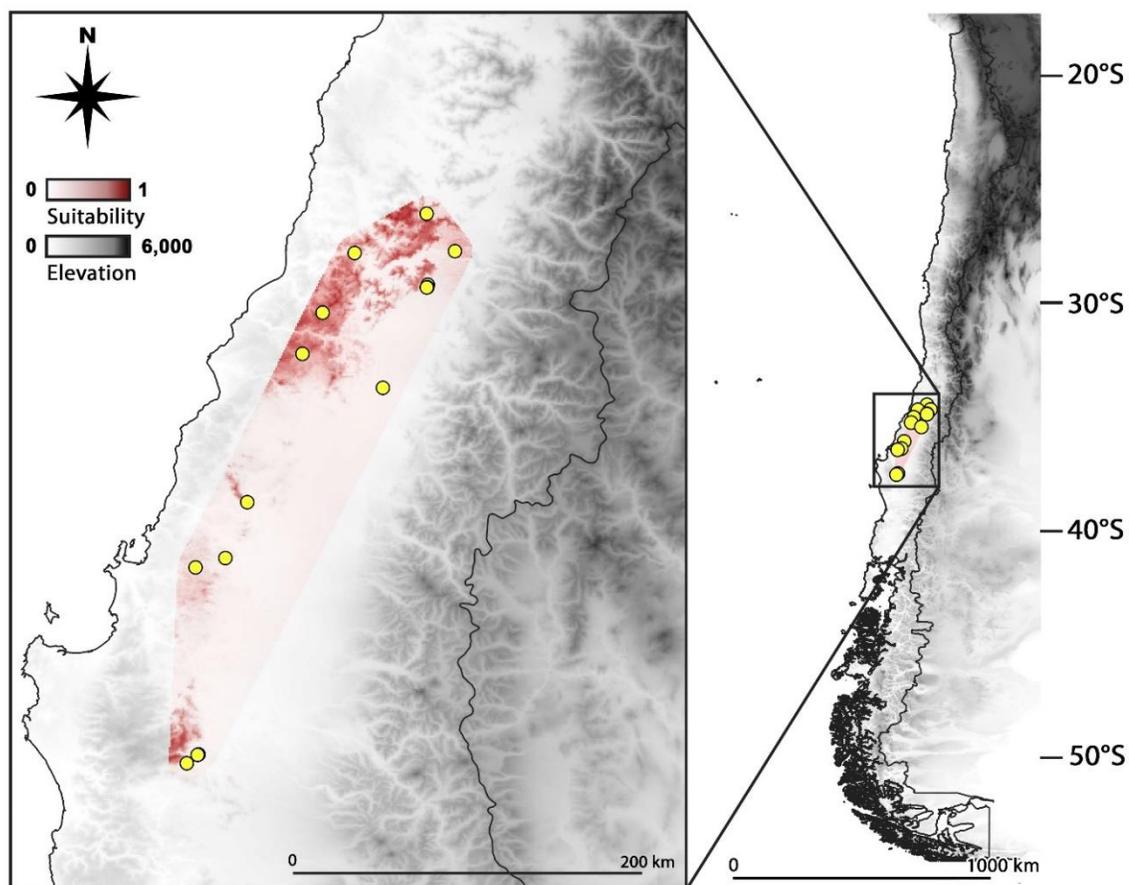


Figura 13. Puntos de presencia y distribución potencial (idoneidad Ambiental) estimado con MaxEnt para *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*, extensión, polígono mínimo convexo. Elevación en m s.n.m.

CONCLUSIONES

En el primer capítulo, se resalta la relevancia y las innovaciones en los estudios morfo-colorimétricos aplicados a *Alstroemeria*, en particular al complejo *Alstroemeria pulchra*. Los análisis morfométricos y colorimétricos aportaron una visión detallada y cuantificada de la variabilidad y la especificidad de los caracteres florales, facilitando la diferenciación de *Alstroemeria pulchra* var. *maxima* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*. Estas técnicas avanzadas, que incluyen morfometría geométrica y análisis colorimétricos, han permitido una evaluación precisa de los contornos, colores y patrones de las flores, crucial para la delimitación taxonómica y de relevancia ecológica y ornamental en el género. Además representan un avance significativo, ofreciendo una resolución detallada y replicable en la identificación de variaciones morfológicas y colorimétricas cruciales para la delimitación taxonómica.

Los datos morfo-colorimétricos analizados mediante técnicas discriminantes, confirman la utilidad taxonómica de caracteres derivados de las flores permitiendo diferenciar a *Alstroemeria pulchra* var. *maxima* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*, a pesar de la posición intermedia de *A. pulchra* var. *pulchra*. La combinación de morfometría geométrica y lineal abordó efectivamente la forma y tamaño de los tépalos, también revelando características distintivas entre los taxones.

Diferencias morfológicas y de la coloración de las flores son importantes no solo del punto de vista taxonómico, también lo son para la polinización y, consecuentemente, para la reproducción y supervivencia de las especies, para comprender de mejor manera los factores que influyen en su variabilidad, es necesario su estudio desde disciplinas moleculares y/o ecológicas.

El segundo capítulo se amplía la perspectiva en el estudio del complejo *A. pulchra* incorporando datos citológicos, moleculares y ecológicos. La evidencia de múltiples disciplinas respalda que *A. pulchra* var. *maxima* posee atributos únicos, justificando su reconocimiento como una especie distinta de *A. pulchra*. Este enfoque multidisciplinario clarifica la posición taxonómica de *A. pulchra* var. *maxima* y destaca la necesidad de estudios adicionales que integren otras especies, enriqueciendo nuestra comprensión de la biodiversidad y las relaciones evolutivas en *Alstroemeria*.

La variabilidad morfológica y genética observada en *A. pulchra* var. *pulchra* y *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* sugiere la existencia de potenciales procesos adaptativos de estos taxones. Se plantea la importancia de realizar investigaciones futuras que incluyan otras especies como *A. magnifica* y *A. diluta* y de poblaciones, particularmente aquellas en distribución simpátrica con *A. pulchra*, y evaluar posibles interacciones e influencias en procesos de hibridación y adaptación.

La distinción de *A. pulchra* var. *maxima* como *A. maxima* subraya la importancia de preservar la diversidad morfológica y genética en la flora chilena, destacando la necesidad de enfoques integrativos y cuantitativos en la taxonomía. Estos estudios proporcionan evidencia crucial para desarrollar estrategias de conservación efectivas, y proteger nuestro patrimonio natural afectado fuertemente por la degradación de hábitats.

En conclusión, este trabajo no solo clarifica la taxonomía de un grupo desafiante en *Alstroemeria* sino que también sienta las bases para futuras investigaciones, subrayando la importancia de enfoques integrativos que combinan diversas disciplinas para obtener una comprensión más profunda y precisa de la diversidad biológica y sus procesos evolutivos. La integración de tecnologías avanzadas y el análisis de datos a gran escala son cruciales para

abordar la complejidad taxonómica y contribuir al conocimiento y conservación del género *Alstroemeria* y su biodiversidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Aagesen, L., y Sanso, A. M. (2003). The phylogeny of the Alstroemiaceae, 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>
- Allendorf, F. W., Hohenlohe, P. A., y Luikart, G. H. (2010). Genomics and the future of conservation genetics. *Nature reviews* 11, 697-710. <https://doi.org/10.1038/nrg2844>
- Allendorf, F. W., Luikart, G. H., y Aitken, S. N. (2012). *Conservation and the genetics of populations* (2a. ed.). Chichester: John Wiley y Sons.
- Andrews, K. R., Good, J. M., Miller, M. R., Luikart G. H., y Hohenlohe P. A. (2016). Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *Nature Reviews Genetics*, 17, 81-92. <https://doi.org/10.1038/nrg.2015.28>
- Arnold, M. L. (2006). *Evolution through genetic exchange*. Oxford: University Press. Recuperado de [https://books.google.cl/books?hl=esylr=yid=R5QUdAAAQBAJyoi=fndypg=PR11yDq=Arnold,+M.+L.+\(2006\).+Evolution+through+genetic+exchange.+Oxford:+University+Press.yots=Q0s9T9Mo7iysig=czBIBaqr1LApT6f6qJ9QC7Vjz_M#v=onepageyq=Arnold%2C%20M.%20L.%20\(2006\).%20Evolution%20through%20genetic%20exchange.%20Oxford%3A%20University%20Press.yf=false](https://books.google.cl/books?hl=esylr=yid=R5QUdAAAQBAJyoi=fndypg=PR11yDq=Arnold,+M.+L.+(2006).+Evolution+through+genetic+exchange.+Oxford:+University+Press.yots=Q0s9T9Mo7iysig=czBIBaqr1LApT6f6qJ9QC7Vjz_M#v=onepageyq=Arnold%2C%20M.%20L.%20(2006).%20Evolution%20through%20genetic%20exchange.%20Oxford%3A%20University%20Press.yf=false)
- Arroyo, M. T., P. Marquet, C. Marticorena, J. Simoneti, L. Cavieles, F. Squeo, R. Roíz y F. Massardo. (2008). El hotspot chileno, prioridad mundial para la conservación. En Rovira, J., Ugalde J., y Stutzin M. (eds.). *Biodiversidad de Chile, Patrimonio y Desafíos, CONAMA* (pp. 90-93). Santiago de Chile: Ocho Libros Editores. Recuperado de https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/120068/Kalin%20Arroyo%20MT_Hotspot.pdf?sequence=1
- Assis, M. C. (2001). *Alstroemeria L. (Alstroemiaceae) do Brasil*. (Ph.D. Thesis). University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brasil. Recuperado de <https://repositorio.usp.br/item/001181486>
- Assis, M. C. (2003). Duas novas espécies de *Alstroemeria L.* (Alstroemiaceae) para o Brasil. *Acta Botânica Brasilica*, 17(2), 179-182. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062003000200002>
- Assis, M. C. (2004). New species of *Alstroemeria* (Alstroemiaceae) from Brazilian Savannas. *Novon*, 14, 17-19. <https://www.jstor.org/stable/3393430>
- Assis, M. C. (2006). A new species of *Alstroemeria* (Alstroemiaceae) from Pará, Brazil. *Brittonia*, 58(3), 267-269. [https://doi.org/10.1663/0007-96X\(2006\)58\[267:ANSOAA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1663/0007-96X(2006)58[267:ANSOAA]2.0.CO;2)
- Assis, M. C. (2009). New Species of *Alstroemeria* (Alstroemiaceae) from Brazil. *Novon*, 19(2), 145-149. doi: 10.3417/2007073. <https://doi.org/10.3417/2007073>

- Assis, M. C., y Mello-Silva, R. (2002). Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Alstroemeriaceae. *Boletín Botánica Universidad de Sao Paulo*, 20, 49-52. <https://www.jstor.org/stable/42871518>
- Assis, M. C., y Mello-Silva, R. (2004). Typifications and a new name in *Alstroemeria* L. (Alstroemeriaceae). *Taxon*, 53(1), 182-184. <https://doi.org/10.2307/4135510>
- Baeza, C. M., Schrader, O., Ruiz E., y Negritto, M. (2007). Análisis omparativo del cariotipo en poblaciones de *Alstroemeria aurea* R. Graham (Alstroemeriaceae) de Chile. *Gayana Botánica*, 64(1), 33-39. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432007000100004>
- Baeza, C. M., Schrader, O., Ruiz, E., y Negritto, M. (2008). *Alstroemeria presliana* Herb. (Alstroemeriaceae) en Chile bajo una perspectiva citogenética. *Chilean journal of agricultural research*, 68(4), 328-333. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392008000400002>
- Baeza, C., Ruiz, E. y Negritto, M. (2010). Comparative karyotypic analysis in the *Alstroemeria hookeri* Lodd. (Alstroemeriaceae) complex *sensu* Bayer (1987). *Genetics and Molecular Biology*, 33(1), 119-124. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572010005000012>
- Baeza, C., y Ruiz, E. (2011). *Alstroemeria hookeri* Lodd. subsp. *sansebastianana* C.M. Baeza y E. Ruiz, nueva para la flora de Chile. *Gayana Botánica*, 68(2): 313-315. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432011000200019>
- Baeza, C., Finot, V. L., y 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., y González, A. (2016). Comparative karyotypic analysis and cytotaxonomy in the *Alstroemeria ligtu* L. (Alstroemeriaceae) complex of Chile. *Brazilian Journal of Botany*, 39, 305-313. <https://doi.org/10.1007/s40415-015-0220-4>.
- Baeza, C. M., Finot, V. L., Ruiz, E., Carrasco, P., Novoa, P., y Rosas, M. (2016). Cytotaxonomic analysis in the *Alstroemeria diluta* E. Bayer (Alstroemeriaceae) complex from Chile. *Gayana Botánica*, 73(2), 220-225.
- Baeza, C., Toro, O., Ruiz, E., Finot, V., Carrasco, P., y Villalobos, N. (2018). Polimorfismo de tamaño entre cromosomas homólogos, un caso extremo en *Alstroemeria pulchra* Sims. (Alstroemeriaceae), especie endémica de Chile. *Gayana. Botánica*, 75(2), 663-666.
- Baker, J. G. (1888). Handbook of the Amaryllideae including the Alstroemerieae and Agaveae. London: George Bell. Recuperado de <https://www.biodiversitylibrary.org/item/52710#page/9/mode/1up>
- Balding, M., y Williams, K. J. (2016). Plant blindness and the implications for plant conservation. *Conservation biology*, 30(6), 1192-1199. <https://doi.org/10.1111/cobi.12738>

- Batista, J. A. N., Castro, C., Sambin, A., Cruz-Lustre, G., y Pansarin, E. R. (2023). Clarifying the identity of the *Cleisthes rosea* complex (Orchidaceae) based on integrative taxonomy. *Systematics and Biodiversity*, 21(1), 2207575. <https://doi.org/10.1080/14772000.2023.2207575>
- Barrett, C. F., Santee, M. V., Fama, N. M., Freudenstein, J. V., Simon, S. J., y Sinn, B. T. (2022). Lineage and role in integrative taxonomy of a heterotrophic orchid complex. *Molecular ecology*, 00, 1-20. <https://doi.org/10.1111/mec.16617>
- Bayer, E. (1987). Die Gattung *Alstroemeria* in Chile. *Mitteilungen der Botanischen Staatssammlung Munchen* 24: 1-362. <https://www.biodiversitylibrary.org/item/53464#page/463/mode/1up>
- Binh, H. T., Van Ngoc, N., Tagane, S., Toyama, H., Mase, K., Mitsuyuki, C., Strijk, J. S., Suayama, Y, y Yahara, T. (2018). A taxonomic study of *Quercus langbianensis* complex based on morphology and DNA barcodes of classic and next generation sequences. *PhytoKeys*, 95, 37. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.95.21126>.
- Bonhomme, V., Picq, S., Gaucherel, C., y Claude, J. (2014). Momocs: outline analysis using R. *Journal of Statistical Software*, 56, 1-24. <https://www.jstatsoft.org/v56/i13/>.
- Bookstein, F. L. (2022). Dimensions of morphological integration. *Evolutionary Biology*, 49(3), 342-372.
- Botto-Mahan, C., Ramírez, P. A., Gloria Ossa, C., Medel, R., Ojeda-Camacho, M., y González, A. V. (2011). Floral herbivory affects female reproductive success and pollinator visitation in the perennial herb *Alstroemeria ligtu* (Alstroemeriaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 172(9), 1130-1136. <https://doi.org/10.1086/662029>
- Boury-Esnault, N., Lavrov, D. V., Ruiz, C. A., y Pérez, T. (2013). The Integrative Taxonomic Approach Applied to Porifera: A Case Study of the Homoscleromorpha, *Integrative and Comparative Biology* 53(3), 416-427. <https://doi.org/10.1093/icb/ict042>
- Broennimann, O., Fitzpatrick, M.C., Pearman, P.B., Petitpierre, B., Pellissier, L., Yoccoz, N.G., Thuiller, W., Fortin, M.-J., Randin, C., Zimmermann, N.E., Graham, C.H., y Guisan, A. (2012). Measuring ecological niche overlap from occurrence and spatial environmental data. *Global Ecology and Biogeography*, 21, 481-497. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2011.00698.x>
- Bussell, J. D., Waycott, M., y Chappill, J. A. (2005). Arbitrarily amplified DNA markers as characters for phylogenetic inference. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 7(1), 3-26. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2004.07.001>
- Buxbaum, F. (1954). Morphologie der Blüte und Frucht von *Alstroemeria* und der Anschluß der Alstroemeriodeae bei den echten Liliaceae. *Österreichische Botanische Zeitschrift*, 101(4), 337-352. <https://www.jstor.org/stable/23653052>

- CBOL Plant Working Group. (2009). A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 12794-12797.
- Cajas, D., Baeza, C., Ruiz, E., y Negritto, M. (2009). Análisis Citogenético en poblaciones de *Alstroemeria hookeri* lodd. ssp. *hookeri* (Alstroemeriaceae) en la Región del Bio-Bío, Chile. *Gayana Botánica*, 66(2), 117-126. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432009000200001>
- Camelo-Junior, A. E., Ferreira, A. W., Andrade, I. M., Mayo, S. J., Nollet, F., Silva, J. L., y Pessoa, E. M. (2022). Species delimitation in the *Trichocentrum cepula* (Oncidiinae, Orchidaceae) complex: a multidisciplinary approach. *Systematics and Biodiversity* 20(1), 1-18. <https://doi.org/10.1080/14772000.2022.2099478>
- Castellanos-Ramírez, M., Rosas, U., Guzmán-Ramos, M. C., y Sandoval-Zapotitla, E. (2023). Contribution of Morphoanatomic Characters to the Taxonomy of the Genus LAELIA (Orchidaceae) in Mexico and Their Implication in Environmental Adaptation. *Plants*, 12(5), 1089. <https://doi.org/10.3390/plants12051089>
- Chacón, J., de Assis, M. C., Meerow, A. W., y Renner, S. S. (2012a). From east Gondwana to Central America: historical biogeography of the Alstroemeriaceae. *Journal of Biogeography*, 39(10), 1806-1818. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2012.02749.x>
- Chacón, J., Sousa, A., Baeza, C. M., y Renner, S. S. (2012b). Ribosomal DNA distribution and a genus-wide phylogeny reveal patterns of chromosomal evolution in *Alstroemeria* (Alstroemeriaceae). *American Journal of Botany*, 99(9), 1501-1512. <https://doi.org/10.3732/ajb.1200104>
- Chase, M. W., M. R. Duvall, H. G. Hills, J. G. Coran, A.V. Cox, L. E. Eguiarte, J. Hartwell, M. F. Fay, L. R. Caddick, K. M. Cameron, y S. Hoot. (1995a). *Monocotyledons: systematics and evolution* En P. J. Rudall, P. J. Cribb, D. F. Cutler y C. J. Humphries (eds.), *Molecular phylogenetics of Liliaceae* (pp. 109–137). Kew: Royal Botanic Gardens.
- Chase, M. W., D. W. Stevenson, P. Wilkin y P. J. Rudall. (1995b). Monocot systematics: a combined analysis. En P. J. Rudall, P. J. Cribb, D. F. Cutler and C. J. Humphries (eds.), *Monocotyledons: systematics and evolution* (pp. 685–730). Kew: Royal Botanic Gardens.
- Chittka, L., Shmida, A. V. I., Troje, N., y Menzel, R. (1994). Ultraviolet as a component of flower reflections, and the colour perception of Hymenoptera. *Vision research*, 34(11), 1489-1508. [https://doi.org/10.1016/0042-6989\(94\)90151-1](https://doi.org/10.1016/0042-6989(94)90151-1)
- Chittka, L., y Raine, N. E. (2006). Recognition of flowers by pollinators. *Current opinion in plant biology* 9(4), 428-435. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.05.002>
- Chitwood, D. H., Naylor, D. T., Thammaphichai, P., Weeger, A. C., Headland, L. R., y Sinha, N. R. (2012). Conflict between intrinsic leaf asymmetry and phyllotaxis in the resupinate leaves of *Alstroemeria psittacina*. *Frontiers in plant science*, 3, 182. <https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00182>

- Cronk, Q. C., Bateman, R. M., y Hawkins, J. A. (Eds.). (2004). *Developmental genetics and plant evolution*. London: CRC Press. Recuperado de [https://books.google.cl/books?hl=esylr=yid=iWC1DwAAQBAJyoi=fnidypg=PP1ydq=Cronk,+Q.+C.,+Bateman,+R.+M.,+%26+Hawkins,+J.+A.+\(Eds.\).+\(2004\).+Developmental+genetics+and+plant+evolution.+London:+CRC+Press.yots=_FfhySCmQ0ysig=j68whRiG6k6BApLvprpZXWSasZM](https://books.google.cl/books?hl=esylr=yid=iWC1DwAAQBAJyoi=fnidypg=PP1ydq=Cronk,+Q.+C.,+Bateman,+R.+M.,+%26+Hawkins,+J.+A.+(Eds.).+(2004).+Developmental+genetics+and+plant+evolution.+London:+CRC+Press.yots=_FfhySCmQ0ysig=j68whRiG6k6BApLvprpZXWSasZM)
- Collado, G. A., Flores, N., Vidal, M. A., Torres-Díaz, C., y Valladares, M. A. (2023). Distribution, conservation assessment and management perspectives of Chilean micro-snails of the family Charopidae. *Nature Conservation*, 53, 297-317. <https://doi.org/10.3897/natureconservation.53.100631>
- Colwell, R. K., y Futuyma, D. J. (1971). On the measurement of niche breadth and overlap. *Ecology*, 52(4), 567-576. <https://doi.org/10.2307/1934144>
- Commission Internationale de l'Eclairage. (1978). Colorimetry: Recommendations on Uniform Color Spaces-Color Difference Equations, Psychometric Color Terms. *Bureau Central de la CIE*, Supplement 2.
- Cope, S. C., Corney, D., Clark, J. Y. Remagino, P. y Wilkin, P. (2012). Plant species identification using digital morphometrics: A review. *Expert Systems with Applications*, 39, 7562-7573. <https://doi.org/10.1016/j.eswa.2012.01.073>
- Cowling, R. M., y Pressey, R. L. (2003). Introduction to systematic conservation planning in the Cape Floristic Region. *Biological conservation*, 112(1-2), 1-13. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(02\)00418-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(02)00418-4)
- Crawford, D. J., y Mort, M. E. (2004). Single-locus molecular markers for inferring relationships at lower taxonomic levels: observations and comments. *Taxon*, 53(3), 631-635. <https://doi.org/10.2307/4135439>
- Dahlgren, R.M., H.T. Clifford, y P. F. Yeo. (1985). *The families of the monocotyledons*. Berlin: Springer Verlag.
- Davey, J. W., Hohenlohe, P. A., Etter, P. D., Boone, J. Q., Catchen, J. M., y Blaxter, M. L. (2011). Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nature Reviews Genetics*, 12(7), 499-510. <https://doi.org/10.1038/nrg3012>
- Dayrat, B. (2005). Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of The Linnean Society* 85, 407-415. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2005.00503.x>
- DeRaad, D. A. (2022). SNPfiltR: an R package for interactive and reproducible SNP filtering. *Molecular Ecology Resources*, 22(6), 2443-2453. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13618>
- Dhiman, M.R., y Kashyap, B. (2021). *Alstroemeria*: Conservation, Characterization, and Evaluation. En: Datta, S.K., Gupta, Y.C. (eds) *Floriculture and Ornamental Plants. Handbooks of Crop Diversity: Conservation and Use of Plant Genetic Resources*. Singapore: Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1554-5_7-1
- Di Cola, V., Broennimann, O., Petitpierre, B., Breiner, F. T., D'Amen, M.,

- Randin, C., Engler, R., Pottier, J., Pio, D., Dubuis, A., Pellissier, L., Mateo, R. G., Hordijk, W., Salamin, N. y Guisan, A. (2017), ecospat: an R package to support spatial analyses and modeling of species niches and distributions. *Ecography*, 40: 774-787. <https://doi.org/10.1111/ecog.02671>
- Di Rienzo J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada y C. W. Robledo. InfoStat (versión 2020). Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>
- Dray, S., y Dufour, A. B. (2007). The ade4 Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists. *Journal of Statistical Software*, 22(4), 1-20. <https://doi.org/10.18637/jss.v022.i04>
- Duminil, J., y Di Michele, M. (2009). Plant species delimitation: a comparison of morphological and molecular markers. *Plant Biosystems*, 143(3), 528-542. <https://doi.org/10.1080/11263500902722964>
- Dumortier, B.C. (1829). Analyse des Familles des plantes. Tournay: Imprimerie de J. Casterman, Ainé. Recuperado de [https://books.google.cl/books?hl=esylr=yid=FDKEphIkL0ACyoi=fndypg=P A5ydq=Dumortier,+B.C.+\(1829\).+Analyse+des+Familles+des+plantes.+Tournay:+Imprimerie+de+J.+Casterman,+Ain%C3%A9.yots=XOalimvUWU ysig=YHtU4GH5sPTsKUOQFVA_ZQHB5DI#v=onepageyqyf=false](https://books.google.cl/books?hl=esylr=yid=FDKEphIkL0ACyoi=fndypg=P A5ydq=Dumortier,+B.C.+(1829).+Analyse+des+Familles+des+plantes.+Tournay:+Imprimerie+de+J.+Casterman,+Ain%C3%A9.yots=XOalimvUWU ysig=YHtU4GH5sPTsKUOQFVA_ZQHB5DI#v=onepageyqyf=false)
- Earl, D. A., y VonHoldt, B. M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation genetics resources*, 4, 359-361. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>
- Eaton, D. A., y Overcast, I. (2020). ipyrad: Interactive assembly and analysis of RADseq datasets. *Bioinformatics*, 36(8), 2592-2594. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz966>
- Edwards, D. L. y L. L. Knowles. (2014). Species detection and individual assignment in species delimitation: can integrative data increase efficacy?. *Proceedings of the Royal Society* 281,1-7. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.2765>
- Eguchi, K., Oguri, E., Sasaki, T., Matsuo, A., Nguyen, D. D., Jaitrong, W., Yahya, B. E., Chen, Z., Satria, R., Wang, W. Y., y Suyama, Y. (2020). Revisiting museum collections in the genomic era: potential of MIG-seq for retrieving phylogenetic information from aged minute dry specimens of ants (Hymenoptera: Formicidae) and other small organisms. *Myrmecological News*, 30. https://doi.org/10.25849/myrmecol.news_030:151
- Evanno, G., Regnaut, S., y Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*, 14(8), 2611-2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- Fick, S. E., y 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. L., Baeza, C. M., Melín, P., Novoa, P., Campos, J., Ruiz, E., Fuentes, G., Albornoz, P., Fuentealba, V., y Carrasco, P. (2015). ¿Es *Alstroemeria pulchra* Sims var. *maxima* Phil. (Alstroemeriaceae) un miembro del complejo *A. magnifica* Herbert?: Estudio colorimétrico de los tépalos externos e internos de la flor. *Gayana Botánica*, 72(1), 101-113. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432015000100013>
- Finot, V. L., Baeza, C. M., Ruiz, E., Carrasco, P., y Melín, P. S. (2016). Análisis colorimétrico y morfométrico de la flor de *Alstroemeria presliana* (Alstroemeriaceae). *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 10, 89-108. <https://www.jstor.org/stable/44858830>
- Finot, V., Baeza, C., Ruiz, E., Toro, O., y Carrasco, P. (2018). Towards an integrative taxonomy of the genus *Alstroemeria* (Alstroemeriaceae) in Chile: a comprehensive review. *Studies in Biodiversity*, 229-265. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71823>
- Finot, V., Baeza, C., Muñoz-Schick, M., Ruiz, E., J. Espejo, D. Alarcón, P. Carrasco, P. Novoa y M. T. Eyzaguirre. (2018b). Guía de Campo *Alstroemerias* Chilenas. Ed. Corporación Chilena de la Madera, Concepción, Chile, 292p. Recuperado de <https://www.corma.cl/wp-content/uploads/2020/01/Alstroemerias-Chilenas.pdf>
- Forero, M. G., Beltrán, C. E., Troncoso, A., y González-Santos, C. (2020). Classification of *Cattleya trianae* and its varieties by using colorimetry. En pattern recognition: 12th Mexican Conference, MCPR 2020, *Proceedings 12*. Morelia, Mexico: Springer International Publishing.
- Gay, C. (1853). Historia Física y Política de Chile, Botánica. Paris: E. Thunot y Cia. Recuperado de <http://www.bibliotecanacionaldigital.gob.cl/visor/BND:355665>
- Guindon, S., Dufayard, J. F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., y 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>
- Givnish, T. J., Zuloaga, A., Marques, I., Lam, V. H. Y., Soto, M., Iles, W. J. D., Ames, M., Spalink, D., Moeller, J. R., Briggs, B. G., Lyon, S. P., Stevenson, D. W., Zomlefer W., y Graham, S. W. (2016). Phylogenomics and historical biogeography of the monocot order Liliales: out of Australia and through Antarctica. *Cladistics*, 32, 581-605. <https://doi.org/10.1111/cla.12153>
- Gómez, J. M. y Perfectti, F. (2010). Evolution of complex traits: The case of *Erysimum* corolla shape. *International Journal of Plant Sciences*, 171: 987-998. <https://doi.org/10.1086/656475>
- González, A. V., Murúa, M. M., y Pérez, F. (2015). Floral integration and pollinator diversity in the generalized plant-pollinator system of *Alstroemeria ligtu* (Alstroemeriaceae). *Evolutionary ecology*, 29, 63-75.
- Grinnell, I. (1924). Geography and evolution. *Ecology*, 5: 225-29. <https://doi.org/10.2307/1929447>

- Guisan, A., y Zimmermann, N. E. (2000). Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological modelling*, 135(2-3), 147-186.
[https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(00\)00354-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(00)00354-9)
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98. Recuperado de
<https://www.academia.edu/download/29520866/1999hall1.pdf>
- Hamrick, J. L. y M. J. W. Godt, (1996). Effects of Life History Traits on Genetic Diversity in Plant Species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 351(1345): 1291–1298.
[doi:10.1098/rstb.1996.0112](https://doi.org/10.1098/rstb.1996.0112).
- Hatamzadeh, A., Razieh, A., Reyhaneh S. y Davoud, B. (2012). Comparison of parameters affecting flower color in *Gerbera hybrida*: A phytochemical study on new varieties. *Journal of Agricultural Science* 4, 186-194.
 Recuperado de <https://www.academia.edu/download/52539700/19078-70598-1-PB.pdf>
- He, Q., Shen, Y., Wang, M., Huang, M., Yang, R., Azhu, S., Wang, L., Xu, Y., y Wu. R. (2011). Natural variation in petal color in *Lycoris longituba* revealed by anthocyanin components. *PLOS One* 6(8): e22098.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022098>
- Heilmayr, R., Echeverría, C., Fuentes, R., y Lambin, E. F. (2016). A plantation-dominated forest transition in Chile. *Applied Geography* 75: 71-82.
<https://doi.org/10.1016/j.apgeog.2016.07.014>
- Herbert, W. (1837). *Amaryllidaceae*. Piccadilly J. Ridway y Sons. Recuperado de <https://www.biodiversitylibrary.org/>
- Herbert, W. (1843). *Edward's Botanical Register*. Piccadilly: J. Ridway.
 Recuperado de <https://www.biodiversitylibrary.org/>
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., y DeWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270(1512), 313-321.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Hernández, A. M. y Aké, J. A. (2014). A geometric, morphometrics study of stigma-anther polymorphism in the tropical distylous *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). *American Journal of Plant Sciences* 5, 1449-1458.
<http://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=45678>
- Hoang, D. T., Vinh, L. S., Flouri, T., Stamatakis, A., von Haeseler, A., y Minh, B. Q. (2016). A new phylogenetic tree sampling method for maximum parsimony bootstrapping and proof-of-concept implementation. In *Eighth International Conference on Knowledge and Systems Engineering (KSE)*. IEEE. <https://doi.org/10.1109/KSE.2016.7758020>
- Hoang, D. T., Vinh, L. S., Flouri, T., Stamatakis, A., von Haeseler, A., y Minh, B. Q. (2018). MPBoot: fast phylogenetic maximum parsimony tree inference and bootstrap approximation. *BMC evolutionary biology*, 18(1), 1-11.
<https://doi.org/10.1186/s12862-018-1131-3>

- Hodač, L., Karbstein, K., Tomasello, S., Wäldchen, J., Bradican, J. P., y Hörandl, E. (2023). Geometric morphometric versus genomic patterns in a large polyploid plant species complex. *Biology* 12(3), 418. <https://doi.org/10.3390/biology12030418>
- Hofreiter, A., y Rodríguez, E. (2006). The Alstroemeriaceae in Peru and neighbouring areas. *Revista Peruana de Biología* 13(1): 5-69. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v13n1/a02v13n01>
- Hollingsworth, P. M. (2011). Refining the DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108(49), 19451-19452. <https://doi.org/10.1073/pnas.1116812108>
- Hooker, W. J. (1823) *Exotic Flora*. Edinburgh: W. Blackwood. Recuperado de <https://doi.org/10.5962/bhl.title.51264>
- Hooker, W. J. (1828). *The botanical cabinet consisting of coloured delineations of plants from all countries*. London: John y Arthur Arch. Recuperado de <https://www.biodiversitylibrary.org/item/91650#page/203/mode/1up>
- Hutchinson, J. (1959). *The Families of Flowering Plants. II* (2nd. Ed.). Oxford: Clarendon Press.
- Hutchinson, G. E. (1978). *An introduction to population ecology*. Yale: University Press.
- Huson, D. H., y 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>
- IDE Chile (2020) Infraestructura de datos espaciales. Ministerio de Bienes Nacionales, Gobierno de Chile. Fecha de acceso: 3/2023. <https://www.ide.cl/index.php/informacion-territorial/descargar-informacion-territorial>
- Innangi, M., y Izzo, A. (2014). *Pinguicula lavalvae* (Lentibulariaceae), a new endemic butterwort from southern Italy diagnosed with the aid of geometric morphometrics. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* 149(6), 990-999. <https://doi.org/10.1080/11263504.2014.920426>
- Jara-Seguel, P., Jara-Arancio, P., Andrade, E., Urrutia-Estrada, J., Palma-Rojas, C., y Araya-Jaime, C. (2021). Cytogenetics of wild species of the Alstroemeriaceae family (Liliales). *Plant Systematics and Evolution* 307, 1-22.
- Jiménez, P., y Collada, C. (2000). Técnicas para la evaluación de la diversidad genética y su uso en los programas de conservación. *Forest Systems* 9(4): 237-248. Recuperado de https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/89020/mod_resource/content/0/evaluac_de_la_divers_genet_1_.pdf
- Jombart, T., Devillard, S., y Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC genetics*, 11(1), 1-15. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94>

- Jombart, T., y Ahmed, I. (2011). adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*, 27(21), 3070-3071. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr521>
- Kalyaanamoorthy, S., Minh, B. Q., Wong, T. K., Von Haeseler, A., y 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>
- Kashihara, Y., Shinoda, K., Murata, N., Araki, H., y Hoshino, Y. (2011). Evaluation of the horticultural traits of genus *Alstroemeria* and genus *Bomarea* (Alstroemeriaceae). *Turkish journal of Botany*, 35(2), 239-245.
- Kass, J.M., Pinilla-Buitrago, G.E., Paz, A., Johnson, B.A., Grisales-Betancur, V., Meenan, S.I., Attali, D., Broennimann, O., Galante, P.J., Maitner, B.S., Owens, H.L., Varela, S., Aiello-Lammens, M.E., Merow, C., Blair, M.E. y Anderson, R.P. (2023), wallace 2: a shiny app for modeling species niches and distributions redesigned to facilitate expansion via module contributions. *Ecography*, 2023, e06547. <https://doi.org/10.1111/ecog.06547>
- Ker-Gawler, J.B. (1823). *The Botanical Register*. Piccadilly: J. Ridway.
Recuperado de <https://www.biodiversitylibrary.org/item/312392#page/192/mode/1up>
- Klingenberg, C. P. (2010). Evolution and development of shape: Integrating quantitative approaches. *Nature*, 11, 623–635. <https://doi.org/10.1038/nrg2829>
- Kolanowska, M., Naczek, A. M., Jaskuła, R. (2016). Herbarium-based studies on taxonomy, biogeography and ecology of *Psilochilus* (Orchidaceae) *PeerJ*, 4, e2600 <https://doi.org/10.7717/peerj.2600>
- Koopman, W. J. M. (2005). Phylogenetic signal in AFLP data sets. *Systematic Biology*, 54, 197-217. <https://doi.org/10.1080/10635150590924181>
- Kuhl, F. P. y Giardina, C. R. (1982) Elliptic Fourier features of a closed contour. *Computer Graphics and Image Processing*, 18, 236-258. [https://doi.org/10.1016/0146-664X\(82\)90034-X](https://doi.org/10.1016/0146-664X(82)90034-X)
- Lahaye, R., M. Van der Bank, D. Bogarin, J. Warner, F. Pupulin, G. Gigot, O. Maurin, S. Duthoit, T. Barracloughy V. Savolainen. (2008). DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 2923-2928. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709936105>
- Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan, P. A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I. M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T. J., Higgins, D. G. (2007). Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23(21), 2947-2948. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm404>
- Lassmann, T., Hayashizaki, Y., y Daub, C. O. (2009). TagDust—a program to eliminate artifacts from next generation sequencing data. *Bioinformatics*, 25(21), 2839-2840. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp527>

- Leaché, A. D., Fujita, M. K., Minin, V. N., y Bouckaert, R. R. (2014). Species delimitation using genome-wide SNP data. *Systematic biology*, 63(4), 534-542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syu018>
- Leitch, I. J., Beaulieu, J. M., Cheung, K., Hanson, L., Lysak, M. A., y Fay, M. F. (2007). Punctuated genome size evolution in Liliaceae. *Journal of Evolutionary Biology*, 20(6), 2296-2308. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2007.01416.x>
- Leitch, I. J., Beaulieu, J. M., Chase, M. W., Leitch, A. R., y Fay, M. F. (2010). Genome size dynamics and evolution in monocots. <https://doi.org/10.1155/2010/862516>
- Leitch, I. J., y Leitch, A. R. (2012). Genome size diversity and evolution in land plants. En Greihuber J., Dolezel J., y Wendel J. F. (eds.), *Plant genome diversity volume 2: Physical structure, behaviour and evolution of plant genomes* (pp. 307-322). https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1160-4_19
- Levin, D. A. (2002). The role of chromosomal change in plant evolution. Oxford: University Press. Recuperado de [https://books.google.cl/books?hl=esylr=yid=7nsQhHGxjDYCyoifndypg=PP5ydq=Levin,+D.+A.+\(2002\).+The+role+of+chromosomal+change+in+plant+evolution.+Oxford+University+Press,+USA.yots=-KyKrxCxS9ysig=RbmXRfsFW0gJdAYOR2_cj5VHIC0#v=onepageyqyf=false](https://books.google.cl/books?hl=esylr=yid=7nsQhHGxjDYCyoifndypg=PP5ydq=Levin,+D.+A.+(2002).+The+role+of+chromosomal+change+in+plant+evolution.+Oxford+University+Press,+USA.yots=-KyKrxCxS9ysig=RbmXRfsFW0gJdAYOR2_cj5VHIC0#v=onepageyqyf=false)
- Linneo, C. (1753). *Species plantarum*. Recuperado de <http://www.botanicus.org/title/b12069590#>
- Linneo, C. (1762). Planta *Alströmeria*. *Amoenitates Academicae*, 6: 247-262. Recuperado de https://www.google.cl/books/edition/Planta_Alstr%C3%B6meria/koFQAAAAcAAJ?hl=esygbpv=1ydq=Planta+Alstr%C3%B6meriayprintsec=frontcover
- Luebert, F., y Plischoff, P. (2017). Sinopsis bioclimática y vegetacional de Chile (Vol. 2). Santiago de Chile: Editorial Universitaria. Recuperado de [https://books.google.cl/books?hl=esylr=yid=Q6TQdlb6bEwCyoifndypg=PA167ydq=Luebert,+F.,+%26+Plischoff,+P.+\(2017\).+Sinopsis+bioclim%C3%A1tica+y+vegetacional+de+Chile+\(Vol.+2\).+Santiago,+Chile:+Editorial+Universitaria.yots=i6wosYDv6_ysig=Jc6lJIEkjNM5PtqBJApC0i3QnI#v=onepageyqyf=false](https://books.google.cl/books?hl=esylr=yid=Q6TQdlb6bEwCyoifndypg=PA167ydq=Luebert,+F.,+%26+Plischoff,+P.+(2017).+Sinopsis+bioclim%C3%A1tica+y+vegetacional+de+Chile+(Vol.+2).+Santiago,+Chile:+Editorial+Universitaria.yots=i6wosYDv6_ysig=Jc6lJIEkjNM5PtqBJApC0i3QnI#v=onepageyqyf=false)
- Martin, W. F. (2017). Too much eukaryote LGT. *BioEssays*, 39(12), 1700115.
- Martín-Villuendas, M. (2019). Una discusión en torno a los límites del concepto especie. *Revista de humanidades de Valparaíso*, 14, 241-273.
- Matsumoto, S. T., Marin-Morales, M. A., De Fatima Ruas, C., y Ruas, P. M. (2000). Cytogenetic analysis of seven species of *Eucalyptus* L'Her.(Myrtaceae). *Caryologia*, 53(3-4), 205-212. <https://doi.org/10.1080/00087114.2000.10589197>
- McEwen, J. R., y Vamosi, J. C. (2010). Floral colour versus phylogeny in structuring subalpine flowering communities. *Proceedings of the Royal*

Society B: Biological Sciences, 277(1701): 2957-2965.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2010.0501>

- Menini, L. M., Berg, C. V. D., y Forzza, R. C. (2019). Linear and geometric morphometrics as tools to resolve species circumscription in the *Pseudolaelia vellozicola* complex (Orchidaceae, Laeliinae). *Plant Ecology and Evolution*, 152(1), 53-67. <https://doi.org/10.5091/plecevo.2019.1531>
- Miller, J. S., Funk, V. A., Wagner, W. L., Barrie, F., Hoch, P. C., y Herendeen, P. (2011). Outcomes of the 2011 botanical nomenclature section at the XVIII International Botanical Congress. *PhytoKeys*, (5), 1. <https://doi.org/10.3897%2Fphytokeys.5.1850>
- Molinari, J. (2023). A bare-bones scheme to choose between the species, subspecies, and 'evolutionarily significant unit categories in taxonomy and conservation. *Journal for Nature Conservation*, 72, 126335. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2023.126335>.
- Muñoz-Schick, M. y Moreira. A. (2003). *Alstroemerias* de Chile. Diversidad, distribución y conservación. *Taller la era*, Santiago. 140 pp.
- Murakami, S., Takayama, K., Fuse, S., Hirota, S. K., Koi, S., Ideno, T., Yamamoto, T., y Tamura, M. N. (2020). Recircumscription of Sections of *Hemerocallis* (Asphodelaceae) from Japan and Adjacent Regions Based on MIG-seq Data. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica*, 71(1), 1-11. <https://doi.org/10.18942/apg.201913>
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G. A. B. y Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853-858. <https://doi.org/10.1038/35002501>
- Negritto, M. A., Baeza, C. M., Ruiz, E., y Novoa, P. (2015). *Alstroemeria marticorenae* (Alstroemeriaceae), a new species from central Chile. *Systematic Botany*, 40(1), 69-74. <https://doi.org/10.1600/036364415X686341>
- Nguyen, L. T., Schmidt, H. A., Von Haeseler, A., y Minh, B. Q. (2015). IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular biology and evolution*, 32(1), 268-274. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
- Nørbaek, R., Christensen, L. P., Bojesen, G., y Brandt, K. (1996). Anthocyanins in Chilean species of *Alstroemeria*. *Phytochemistry*, 42(1), 97-100. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00859-4](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00859-4)
- Nørbæk, R., Christensen, L. P., y Brandt, K. (1998). An HPLC investigation of flower colour and breeding of anthocyanins in species and hybrids of *Alstroemeria*. *Plant Breeding*, 117(1), 63-67. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1998.tb01449.x>
- Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M., y Ugene Team. (2012). Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*, 28(8), 1166-1167. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
- Padial, J. M. y De La Riva, I. (2007). Taxonomy, the Cinderella of science, hidden by its evolutionary stepsister. *Zootaxa* 1577, 1-2. Recuperado de

[https://digital.csic.es/bitstream/10261/120862/1/Zootaxa%201577%201-2%20\(2007\).pdf](https://digital.csic.es/bitstream/10261/120862/1/Zootaxa%201577%201-2%20(2007).pdf)

- Padial, J. M., y De la Riva, I. (2009). Integrative taxonomy reveals cryptic Amazonian species of *Pristimantis* (Anura: Strabomantidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 155(1), 97-122.
<https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2008.00424.x>
- Padial, J. M., Miralles, A., De la Riva, I., y Vences, M. (2010). The integrative future of taxonomy. *Frontiers in zoology* 7(1), 1-14.
<https://frontiersinzoology.biomedcentral.com/articles/10.1186/1742-9994-7-16>
- Padin, A. L., y Calviño, C. I. (2023). Species delimitation in a recently diverged species complex of *Eryngium* (Apiaceae: Saniculoideae) from the Chilean Mediterranean and the Atacama Desert: morphological, environmental and molecular coalescent-based analyses. *Botanical Journal of the Linnean Society* 202(3), 325-345.
<https://doi.org/10.1093/botlinnean/boac073>.
- Palmer, J. D. (2019). Chloroplast DNA and phylogenetic relationships. *DNA systematics*, 63-80.
- Pan, J., Wang, B., Pei, Z. Y., Zhao, W., Gao, J., Mao, J. F., y Wang, X. R. (2015). Optimization of the genotyping-by-sequencing strategy for population genomic analysis in conifers. *Molecular Ecology Resources*, 15(4), 711-722. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12342>
- Pax, F. (1888). Amaryllidaceae. En Engler, A. y K. Prantl (eds.) Die Natürlichen Pflanzenfamilien (vol. 2). Leipzig. Recuperado de <https://bibdigital.rjb.csic.es/records/item/10925-redirect>
- Pessoa, E. M., Alves, M., Alves-Araújo, A., Palma-Silva, C., y Pinheiro, F. (2012). Integrating different tools to disentangle species complexes: a case study in *Epidendrum* (Orchidaceae). *Taxon*, 61(4), 721-734.
<https://doi.org/10.1002/tax.614002>
- Peruzzi, L., Leitch, I. J., y Caparelli, K. F. (2009). Chromosome diversity and evolution in Liliaceae. *Annals of Botany*, 103(3), 459-475.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcn230>
- Peruzzi, L., y Eroğlu, H. E. (2013). Karyotype asymmetry: again, how to measure and what to measure?. *Comparative cytogenetics*, 7(1), 1.
<https://doi.org/10.3897%2FCompCytogen.v7i1.4431>
- Peterson, A. T. (2011). Ecological niche conservatism: A time-structured review of evidence. *Journal of Biogeography*, 38(5), 817-827.
<http://dx.doi.org/10.3897/CompCytogen.v7i1.4431>.
- Philippi, R. A. (1860). Florula Atacamensis: seu, Enumeratio plantarum, quas in itinere per desertum Atacamense. Sumptibus E. Anton. Recuperado de <https://www.biodiversitylibrary.org/item/272236#page/5/mode/1up>
- Philippi, R. A. (1862). Descripción de unas plantas nuevas recojidas en el verano pasado en la provincia de Maule y en Chillán por Don Jerman Volckmann. *Anales Universidad de Chile* 21: 442-450. Recuperado de

<https://anales.uchile.cl/index.php/ANUC/article/view/2576/2494>

- Philippi, R. A. (1864). Plantarum novarum Chilensium Centauriae, inclusis quibusdam Mendocinis et Patagonicis. *Linnaea* 33: pp. 260-266. Recuperado de <https://www.biodiversitylibrary.org/item/10877>
- Philippi, R. A. (1870). Sertum mendocinum alterum: *Anales Universidad de Chile* 36, 159-212. Recuperado de <https://anales.uchile.cl/index.php/ANUC/article/view/26506/27816>
- Philippi, R. A. (1873). Descripción de las plantas nuevas incorporadas últimamente en el herbario chileno. *Anales Universidad de Chile* 43: 479-583. <https://doi.org/10.5354/0717-8883.1873.26663>
- Philippi, R. A. (1896). Plantas nuevas chilenas. *Anales Universidad de Chile* 93: 143-352. Recuperado de <https://www.biodiversitylibrary.org/item/199296#page/7/mode/1up>
- Phillips, S. J., Anderson, R. P., y Schapire, R. E. (2006). Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological modelling*, 190(3-4), 231-259. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026>
- Pinheiro, F., y De Barros, F. (2007). Morphometric analysis of *Epidendrum secundum* (Orchidaceae) in southeastern Brazil. *Nordic Journal of Botany*, 25(3-4), 129-136. <https://doi.org/10.1111/j.0107-055X.2007.00010.x>
- Pinheiro, F., y Barros, F. D. (2009). Morphometric analysis of the *Brasiliorchis picta* complex (Orchidaceae). *Brazilian Journal of Botany*, 32, 11-21. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042009000100003>
- Pyron, R. A. (2023). Unsupervised machine learning for species delimitation, integrative taxonomy, and biodiversity conservation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 189, 107939. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2023.107939>
- Popiela, A., y Molnar, V. A. (2020). Recent developments in taxonomy and phylogeny of plants. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 89(3). <http://dx.doi.org/10.5586/asbp.89314>
- Posit team, (2022) RStudio: Integrated Development Environment for R. (ver. RStudio 2023.06.2+561 "Mountain Hydrangea") Posit Software, PBC, Boston, MA. URL <http://www.posit.com/>.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., y Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>
- Quiroga, M. P., y Souto, C. P. (2022). Ecological niche modeling, niche overlap, and good old Rabinowitz's rarities applied to the conservation of gymnosperms in a global biodiversity hotspot. *Landscape Ecology*, 37(10), 2571-2588. <https://doi.org/10.1007/s10980-022-01502-z>
- Rahman, M. M., y Govindarajulu, Z. (1997). A modification of the test of Shapiro and Wilk for normality. *Journal of Applied Statistics*, 24(2), 219-236. <https://doi.org/10.1080/02664769723828>.

- Rieseberg, L. H., y Soltis, D. E. (1991). Phylogenetic consequences of cytoplasmic gene flow in plants.
- R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. (ver. 4.3) R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Ravenna, P. F. (1988) New or noteworthy species of *Alstroemeria* (Alstroemeriaceae). *Phytologia*, 64(4), 284 pp.
- Reeves, A. (2001). MicroMeasure: a new computer program for the collection and analysis of cytogenetic data. *Genome*, 44: 239-443. <https://doi.org/10.1139/g01-037>
- Rodríguez, R., Marticorena, C., Alarcón, D., Baeza, C., Cavieres, L., Finot, V. L., Fuentes, N., Kiessling, A., Mihoc, M., Pauchard, A., Ruiz, E., Sánchez, P., y Marticorena, A. (2018). Catálogo de las plantas vasculares de Chile. *Gayana. Botánica*, 75(1), 1-430. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432018000100001>
- Ronquist, F., y Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12), 1572-1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- Rohlf, F. J. (1990). Fitting curves to outlines. In: Rohlf F. J. y Bookstein F. L. (eds.) Proceedings of the Michigan Morphometric Workshop. *Ann Arbor: University of Michigan Museum of Zoology*, 167-178. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/F-Rohlf/publication/30850286_Proceedings_of_the_Michigan_Morphometric_Workshop/links/5566227508aefcb861d1971b/Proceedings-of-the-Michigan-Morphometric-Workshop.pdf#page=177
- Rojas, G. y Baeza, C. M. (2021). *Alstroemeria esteparica* (Alstroemeriaceae) una nueva especie para la flora del Cono Sur de Sudamérica. *Gayana Botánica* 78(1),77-85. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432021000100077>
- Rougier, D. L. 2005. Evolución de caracteres florales relacionados con el sistema de reproducción en el género *Alstroemeria* L. (Alstroemeriaceae) en Chile. (Tesis). Universidad de Chile, Santiago. Recuperado de <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/192112/Evolucion-de-caracteres-florales-relacionados-con-el-sistema-de-reproduccion.pdf?sequence=1>
- Roure, B., Baurain, D., y Philippe, H. (2013). Impact of missing data on phylogenies inferred from empirical phylogenomic data sets. *Molecular biology and evolution*, 30(1), 197-214. <https://doi.org/10.1093/molbev/mss208>
- Rubner, Y., C. Tomasi, L. J. Guibas. (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>
- Rudall, P. J., K. L. Stobart, W. P. Hong, J. G. Conran, C. A. Furness, G. C. Kite, y M. W. Chase. (2000). Consider the Lilies: Systematics of Liliales. Pp.

347–358 in *Monocots: Systematics and Evolution*, eds. K. L. Wilson, and D. A. Morrison. Melbourne: CSIRO. Recuperado de [https://books.google.cl/books?hl=esylr=yid=YzQBUQqLS0YCyoi=fndypg=PA347ydq=Rudall,+P.+J.,+K.+L.+Stobart,+W.+P.+Hong,+J.+G.+Conran,+C.+A.++Furness,+G.+C.+Kite,+%26+M.+W.+Chase.+\(2000\).+Consider+the+Lilies:+Systematics+of+Liliales.+Pp.+347%E2%80%93358+in+Monocots:+Systematics+and+Evolution,+eds.+K.+L.+Wilson,+and+D.+A.+Morrison.+Melbourne:+CSIRO.yots=XYDvHli1MJysig=C_NsEUNATS-F2ExeTJ-Tb-rTW_4#v=onepageyqf=false](https://books.google.cl/books?hl=esylr=yid=YzQBUQqLS0YCyoi=fndypg=PA347ydq=Rudall,+P.+J.,+K.+L.+Stobart,+W.+P.+Hong,+J.+G.+Conran,+C.+A.++Furness,+G.+C.+Kite,+%26+M.+W.+Chase.+(2000).+Consider+the+Lilies:+Systematics+of+Liliales.+Pp.+347%E2%80%93358+in+Monocots:+Systematics+and+Evolution,+eds.+K.+L.+Wilson,+and+D.+A.+Morrison.+Melbourne:+CSIRO.yots=XYDvHli1MJysig=C_NsEUNATS-F2ExeTJ-Tb-rTW_4#v=onepageyqf=false)

- Ruiz, E., Balboa, K., Negritto, M. A., Baeza, C. M., Fuentes, G., y 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://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2010000400013>
- Saito, N., Yokoi, M., Yamaji, M., y Honda, T. (1985). Anthocyanidin glycosides from the flowers of *Alstroemeria*. *Phytochemistry*, 24(9), 2125-2126. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)83139-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)83139-8)
- Saito, N., Yokoi, M., Ogawa, M., Kamijo, M., y Honda, T. (1988). 6-Hydroxyanthocyanidin glycosides in the flowers of *Alstroemeria*. *Phytochemistry*, 27(5), 1399-1401. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)80202-4](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)80202-4)
- Saito, N., y Harborne, J. B. (1992). Correlations between anthocyanin type, pollinator and flower colour in the Labiatae. *Phytochemistry*, 31(9), 3009-3015. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)83437-4](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)83437-4)
- Sanso, A. M. (1996). El género *Alstroemeria* (Alstroemeriaceae) en Argentina. *Darwiniana*, 34, 349-382. <https://www.jstor.org/stable/23223205>
- Sanso, A. M. (2002). Chromosome studies in Andean taxa of *Alstroemeria* (Alstroemeriaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 138(4), 451-459. <https://doi.org/10.1046/j.1095-8339.2002.00019.x>
- Sanso, A. M., y Hunziker, J. H. (1998). Karyological studies in *Alstroemeria* and *Bomarea* (Alstroemeriaceae). *Hereditas*, 129(1), 67-74. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1998.t01-1-00067.x>
- Sanso, A. M., y Xifreda, C. C. (1995). El género *Bomarea* (Alstroemeriaceae) en Argentina. *Darwiniana*, 33, 315-336. <https://www.jstor.org/stable/23223010>
- Sanso, A. M., y Xifreda, C. C. (2001). Generic delimitation between *Alstroemeria* and *Bomarea* (Alstroemeriaceae). *Annals of Botany*, 88(6), 1057-1069. <https://doi.org/10.1006/anbo.2001.1548>
- Schindel, D. E., y Miller, S. E. (2005). DNA Barcoding and the Consortium for the Barcode of Life. Success Stories in Implementation of the Programmes of Work on Dry and Sub-Humid Lands and the Global Taxonomy Initiative. Recuperado de https://repository.si.edu/bitstream/handle/10088/8125/Schindel_and_Miller_2005_CBD_barcoding.pdf

- Schrader, O., Budahn, H., y Ahne, R. (2000). Detection of 5S and 25S rRNA genes in *Sinapis alba*, *Raphanus sativus* and *Brassica napus* by double fluorescence in situ hybridization. *Theoretical and Applied Genetics*, 100, 665-669. <https://doi.org/10.1007/s001220051337>
- Schlick-Steiner, B. C., Steiner, F. M., Seifert, B., Stauffer, C., Christian, E., y Crozier, R. H. (2010). Integrative taxonomy: a multisource approach to exploring biodiversity. *Annual review of entomology*, 55, 421-438. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-112408-085432>
- Shaw, J., Lickey, E. B., Beck, J. T., Farmer, S. B., Liu, W., Miller, J., Siripun, C., Winder, C. T., Schilling, E. E., y Small, R. L. (2005). The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American journal of botany*, 92(1), 142-166. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.1.142>
- Shaw, J., Lickey, E. B., Schilling, E. E., y Small, R. L. (2007). Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American journal of botany*, 94(3), 275-288. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.3.275>
- Shaw, J., Shafer, H. L., Leonard, O. R., Kovach, M. J., Schorr, M., y Morris, A. B. (2014). Chloroplast DNA sequence utility for the lowest phylogenetic and phylogeographic inferences in angiosperms: the tortoise and the hare IV. *American Journal of Botany*, 101(11), 1987-2004. <https://doi.org/10.3732/ajb.1400398>
- Shipunov, A. B. y Bateman, R. M. (2005). Geometric morphometrics as a tool for understanding *Dactylorhiza* (Orchidaceae) diversity in European Russia. *Biological Journal of the Linnean Society* 85: 1-12. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2005.00468.x>
- Schoener, T. W. (1968) Anolis lizards of Bimini: resource partitioning in a complex fauna. *Ecology* 49, 704-726. <https://doi.org/10.2307/1935534>
- Slice, D. E. (2007). Geometric morphometrics. *Annual Review of Anthropology*, 36, 261-281. <https://doi.org/10.1146/annurev.anthro.34.081804.120613>
- Smith, N., Mori, S. A., Henderson, A., Stevenson, D. W., y Heald, S. V. (2004). Flowering plants of the Neotropics. Princeton: Princeton University Press.
- Sims, J. (1823). Curtis's Botanical Magazine, London: Sherwood, Jones y Co. Recuperado de <https://www.biodiversitylibrary.org/item/14334#page/180/mode/1up>
- Soltis, D. E., Albert, V. A., Leebens-Mack, J., Bell, C. D., Paterson, A. H., Zheng, C. y Soltis, P. S. (2009). Polyploidy and angiosperm diversification. *American journal of botany* 96(1), 336-348. <https://doi.org/10.3732/ajb.0800079>
- Souto, C. P., y Premoli, A. C. (2003). Genetic divergence among natural populations of *Alstroemeria aurea* D. Don: A dominant clonal herb of the understory in subalpine *Nothofagus* forests. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 44, 329-336.

- Suárez, L. H., Gonzáles, W. L., y Gianoli, E. (2009). Foliar damage modifies floral attractiveness to pollinators in *Alstroemeria exerens*. *Evolutionary Ecology*, 23, 545-555. <https://doi.org/10.1007/s10682-008-9254-4>
- Suetsugu, K., Hirota, S. K., Hayakawa, H., Fujimori, S., Ishibashi, M., Hsu, T. C., y Suyama, Y. (2023). *Spiranthes hachijoensis* (Orchidaceae), a new species within the *S. sinensis* species complex in Japan, based on morphological, phylogenetic, and ecological evidence. *Journal of Plant Research* 136(3), 333-348. <https://doi.org/10.1007/s10265-023-01448-6>
- Suyama, Y. y Y. Matsuki (2015). MIG-seq: An effective PCR-based method for genome-wide single-nucleotide polymorphism genotyping using the next-generation sequencing platform. *Scientific Reports* 5, 16963. <https://doi.org/10.1038/srep16963>.
- Suyama, Y., Hirota, S. K., Matsuo, A., Tsunamoto, Y., Mitsuyuki, C., Shimura, A., y Okano, K. (2022). Complementary combination of multiplex high-throughput DNA sequencing for molecular phylogeny (pp. 171-181). Hoboken, USA: John Wiley y Sons, Inc.
- Szlachetko, D. L., Dudek, M., Naczek, A., Kolanowska, M. (2022). Taxonomy and Biogeography of *Andinia*-Complex (Orchidaceae). *Diversity* 14(5), 372. <https://doi.org/10.3390/d14050372>
- Toro, M. V., Manriquez Soto, G., y Suazo Galdames, I. (2010). Morfometría geométrica y el estudio de las formas biológicas: de la morfología descriptiva a la morfología cuantitativa. *International Journal of Morphology* 28(4), 977-990. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022010000400001>
- Trifinopoulos, J., Nguyen, L. T., von Haeseler, A., y Minh, B. Q. (2016). W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic acids research*, 44(W1), W232-W235. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw256>
- Turland, N. J., Wiersema, J. H., Barrie, F. R., Greuter, W., Hawksworth, D. L., Herendeen, P. S., Knapp, S., Kusber, W.-H., Li, D.-Z., Marhold, K., May, T. W., McNeill, J., Monro, A. M., Prado, J., Price, M. J. y Smith, G. F. (eds.) (2018). *International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code) adopted by the Nineteenth International Botanical Congress Shenzhen, China: Regnum Vegetabile 159*. Glashütten: Koeltz Botanical Books. <https://doi.org/10.12705/Code.2018>
- Van Belleghem, S. M., Papa, R., Ortiz-Zuazaga, H., Hendrickx, F., Jiggins, C. D., Owen McMillan, W., y 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 der Niet, T., Zollikofer, C. P., de León, M. S. P., Johnson, S. D., y Linder, H. P. (2010). Three-dimensional geometric morphometrics for studying floral shape variation. *Trends in plant science*, 15(8), 423-426. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.05.005>
- Voss, A. (1896). *Vilmorin's Blumengärtnerei*. (3a ed.). Berlin: P. Parey. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.67392>

- Vimala, Y., Lavania, S., y Lavania, U. C. (2021). Chromosome change and karyotype differentiation—implications in speciation and plant systematics. *The Nucleus*, 64, 33-54. <https://doi.org/10.1007/s13237-020-00343-y>
- Vittoz, P., Engler, R. (2007). Seed dispersal distances: a typology based on dispersal modes and plant traits. *Botanica Helvetica*, 117, 109-124. <https://doi.org/10.1007/s00035-007-0797-8>
- Villalobos, N. I., Finot, V. L., Toro-Núñez, O., Baeza, C., Ruiz, E., Carrasco, P., Campos, J. y 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>
- Warren, D. L., Glor, R. E., y Turelli, M. (2008). Environmental niche equivalency versus conservatism: quantitative approaches to niche evolution. *Evolution*, 62(11), 2868-2883. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2010.01204.x>
- Weller, H. y Weastneat, M. W. (2018). 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>.
- Wendel, J. F., Jackson, S. A., Meyers, B. C., y Wing, R. A. (2016). Evolution of plant genome architecture. *Genome biology*, 17, 1-14. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-0908-1>
- Wickham, H., y Wickham, H. (2016). Data analysis (pp. 189-201). Springer Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4_9
- Wiens, J. J. (2007). Species Delimitation: New Approaches for Discovering Diversity, *Systematic Biology* 56(6), 875–878. <https://doi.org/10.1080/10635150701748506>
- Xifreda, C. C. (1992). Citas nuevas o criticas para la Flora Argentina: *Bomarea edulis* y *Alstroemeria psittacina*, (Alstroemeriaceae). *Darwiniana* 31, 321-325. <https://www.jstor.org/stable/23222571>
- Xifreda, C. C., y Sanso, A. M. (1992). *Bomarea stricta* es sinónimo de *Alstroemeria isabellana* (Alstroemeriaceae). *Darwiniana*, 31, 355-356. <https://www.jstor.org/stable/23222577>
- Yoshioka, Y. (2011). A New Behavioral Experiment using Computerized Shape Analysis of Actual Flowers. In Lestrel P. E. *Biological Shape Analysis* (pp. 1-10). https://doi.org/10.1142/9789814355247_0001
- Yoshioka, Y., Iwata, H., Ohsawa, R. Y. O., y Ninomiya, S. (2004). Analysis of petal shape variation of *Primula sieboldii* by elliptic Fourier descriptors and principal component analysis. *Annals of Botany* 94(5), 657-664. <https://doi.org/10.1093/aob/mch190>
- Zelditch, M.; Swiderski, D. L.; Sheets, H. D. y Fink, W. L. (2004). Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer. New York: Elsevier Academic Press. Recuperado de <https://books.google.cl/books?hl=esylr=yid=5DLZ4IALRTECyoi=fndyppg=P1y1dq=Zelditch,+M.%3B+Swiderski,+D.+L.%3B+Sheets,+H.+D.+%26+Fi>

nk,+W.+L.+(2004).+Geometric+Morphometrics+for+Biologists:+A+Primer.
+New+York,+Elsevier+Academic+Press.yots=rWbfSb73t4ysig=Hgzo9K-
MuYo48Uuhyv9UZdi9RrQ

Zhang, M.-H., Zhang, X.-C., Shalimov, A.P., Shmakov, A.I. and Xiang, Q.-P.
(2023), Integrative species delimitation of the *Selaginella sanguinolenta*
(Selaginellaceae) group with description of a new species, *S. baodongii*.
Taxon. <https://doi.org/10.1002/tax.13082>

Zietkiewicz, E., A. Rafalski, y D. Labuda. (1994). Genome fingerprinting by
simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction
amplification. *Genomics* 20, 176–183.
<https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>