

Tesis Doctoral

Filogenia de Tillandsia subgen. Diaphoranthema y evolución de la autogamia y la poliembrionía

Donadío, Sabina

2013-03-21

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Donadío, Sabina. (2013-03-21). Filogenia de Tillandsia subgen. Diaphoranthema y evolución de la autogamia y la poliembrionía. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Donadío, Sabina. "Filogenia de Tillandsia subgen. Diaphoranthema y evolución de la autogamia y la poliembrionía". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2013-03-21.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Ecología, Genética y Evolución

**Filogenia de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema*
y evolución de la autogamia y la poliembrionía**

Tesis presentada para optar al título de Doctor
de la Universidad de Buenos Aires en el área: CIENCIAS BIOLÓGICAS

Sabina Donadío

Director de tesis: Dr. Raúl Ernesto Pozner

Directora Asistente: Dra. Liliana Mónica Giussani

Consejera de estudios: Dra. Viviana A. Confalonieri

Lugar de trabajo: Instituto de Botánica Darwinion – IBODA

Buenos Aires, 2012



Filogenia de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* y evolución de la autogamia y la poliembrionía

RESUMEN

Tillandsia subgénero *Diaphoranthema* comprende 28 de las 540 especies de *Tillandsia* y está dividido en 6 agregados informales basados en la filotaxis, el color de los pétalos y la pubescencia de las brácteas florales. Si bien *Diaphoranthema* se distribuye ampliamente desde el sur de Estados Unidos hasta el centro de Argentina y Chile, el área geográfica de mayor diversidad específica se halla en el centro y noroeste de Argentina y en Bolivia. Las especies del subgénero son epífitas o saxícolas, habitan generalmente ambientes áridos y semiáridos, y se caracterizan fundamentalmente por sus inflorescencias reducidas y flores inconspicuas.

El subgénero *Diaphoranthema* se plantea como un interesante modelo de evolución de caracteres tanto vegetativos como reproductivos dado que sus especies presentan una alta variación morfológica vegetativa, son comunes las adaptaciones a ambientes xéricos e incluso se ha propuesto que la evolución de este grupo de especies ha sido marcada por procesos neoténicos que condujeron, entre otras cosas, a un acortamiento del ciclo de vida. En cuanto al aspecto reproductivo, la literatura sugiere para el subgénero una fuerte tendencia a la autogamia y a la poliembrionía.

Los antecedentes filogenéticos son, en su gran mayoría, estudios moleculares que demuestran un alto grado de homogeneidad molecular dentro de *Tillandsia*. El único estudio filogenético a partir de datos morfológicos ha establecido la parafilia del subgénero *Phytarrhiza* dada la inclusión de 2 especies de *Diaphoranthema* y a pesar del escaso muestreo de *Diaphoranthema* lo ha sugerido como un subgénero monofilético en estrecha relación al grupo de especies xéricas de *Phytarrhiza*.

Ante estos antecedentes, se propuso como objetivos para este trabajo realizar un análisis exhaustivo de caracteres morfológicos y generar una hipótesis filogenética robusta del subgénero *Diaphoranthema*, utilizando caracteres morfológicos y moleculares, sobre la cual poner a prueba su

monofilia y la de sus agregados y a su vez interpretar patrones evolutivos en estructuras vegetativas y reproductivas y estudiar en particular la evolución de la autogamia, la poliembrionía y los caracteres relacionados con la hipótesis de neotenia propuesta para el subgénero.

El estudio filogenético incluyó a la totalidad de las especies de *Diaphoranthema*, y para el grupo externo se seleccionaron especies de los subgéneros *Anoplophytum* y *Allardtia*, así como también especies xéricas del subgénero *Phytarrhiza*, y una especie del género *Vriesea* que fue tomada como raíz para los análisis filogenéticos. Se realizaron análisis de máxima parsimonia sobre la base de la información proporcionada por un marcador nuclear (ETS), un marcador plastídico (*matK-trnK*) y se estudiaron 87 caracteres morfológicos.

Como resultados salientes de esta tesis, se ha resuelto la identidad de *T. bryoides* y se ha descrito una nueva especie para la ciencia: *Tillandsia minutiflora*; se ha generado una hipótesis filogenética robusta de *Tillandsia* subgénero *Diaphoranthema* a partir de los datos morfológicos y moleculares, en la que el subgénero se resuelve parafilético dado que incluye a especies xéricas de *Tillandsia* subgen. *Phytarrhiza*; a su vez, dentro de *Diaphoranthema* los agregados *Loliacea* y *Rectangula* son monofiléticos, los agregados *Caliginosa* y *Myosura* son parafiléticos y los agregados *Capillaris* y *Recurvata* son polifiléticos pero podrían llegar a definirse como grupos naturales si se reevaluaran sus límites.

Los 3 clados principales en los que se divide el subgénero *Diaphoranthema* están apoyados fundamentalmente por caracteres vegetativos y seminales: filotaxis, forma de la hoja, carena foliar, distribución de los nervios en la vaina foliar, tipo de endostoma y poliembrionía. Dos de los clados principales corresponden a los agregados *Loliacea* y *Rectangula*.

La poliembrionía ha surgido varias veces independientemente en la evolución de *Diaphoranthema* mientras que el origen evolutivo de la autogamia no pudo ser determinado aunque sí se evidencia como una fuerte tendencia evolutiva del subgénero. Las modificaciones en estructuras vegetativas y reproductivas relacionadas a la neotenia hipotetizada para *Diaphoranthema* evidencian la existencia de procesos heterocrónicos en el desarrollo de las especies que no necesariamente implican un acortamiento en el ciclo de vida y

se requieren estudios futuros respecto a la naturaleza de estos procesos y su contribución adaptativa.

Por último se confirma la necesidad del replanteo de la clasificación subgenérica de *Tillandsia* y se proponen modificaciones a la clasificación de *Diaphoranthema* para lo cual los caracteres morfológicos estudiados en esta tesis y la interpretación de su evolución pueden ser de gran utilidad en un futuro.

PALABRAS CLAVE: *Tillandsia*, *Diaphoranthema*, filogenia, morfología, ETS, *matK-trnK*, autogamia, poliembrionía, neotenia, heterocronía.

Phylogeny of *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* and evolution of autogamy and polyembryony

ABSTRACT

Tillandsia subgenus *Diaphoranthema* includes 28 of 540 species of *Tillandsia* and is divided into 6 informal groups by their phyllotaxy, petal colour and indumentum of floral bracts. Although species of *Diaphoranthema* are widely distributed from southern U.S. to central Argentina and Chile, the highest diversity of species is found in central and northwestern Argentina and Bolivia. *Diaphoranthema* species are epiphytic or saxicolous, usually growing in arid and semiarid environments, and characterised by their reduced inflorescences and inconspicuous flowers.

Subgenus *Diaphoranthema* is an interesting case to study the evolution of both vegetative and reproductive characters due to the highly variable vegetative morphology and the adaptations to xeric environments. Beyond this, it has been suggested that the evolution of these species has been driven by neotenic changes that led to a shortening of the life cycle. Concerning reproductive aspects, previous papers suggest a strong tendency to autogamy and polyembryony within the subgenus.

Phylogenetic studies are mainly molecular and show low molecular variation within *Tillandsia*. The only phylogenetic study based on morphological characters, has established that subgenus *Phytarrhiza* is paraphyletic because of the inclusion of two species of *Diaphoranthema*, and despite the underrepresentation of *Diaphoranthema* species, that study suggested the latter as a monophyletic group closely related to the xeric species of subgenus *Phytarrhiza*.

Based on all these data, this thesis focuses in: 1) a deep analysis of the morphology and 2) produce a robust phylogenetic hypothesis for subgenus *Diaphoranthema* using both morphological and molecular characters, to test its monophyly, the monophyly of its informal aggregates, and at the same time, to interpret the evolutionary patterns of vegetative and reproductive structures,

particularly polyembryony, autogamy, and those characters related to the hypothesis of neoteny.

The phylonetic analysis included all *Diaphoranthema* species. Some species of subgenus *Anoplophytum* and *Allardtia* were selected as outgroup, as well as xeric species of *Phytarrhiza*, and one species of genus *Vriesea* as the root for the analysis. Molecular data from the nuclear ETS and plastidial *matK-trnK* markers in addition to 87 morphological characters were analyzed by maximum parsimony.

The main results have produced a robust phylogenetic hypothesis: subgenus *Diaphoranthema* is paraphyletic because of the inclusion of xeric species of subgenus *Phytarrhiza*; informal aggregates Loliaceae and Rectangula are monophyletic, but Caliginosa and Myosura are paraphyletic, and Capillaris and Recurvata are polyphyletic, however they may become as natural groups considering the reevaluation of their limits.

Diaphoranthema can be divided in three main clades supported by vegetative and seminal characters: phyllotaxy, leaf shape, leaf keel, distribution of nerves on the sheath, type of endostome and polyembryony. Two of those three clades correspond to the informal groups Loliacea and Rectangula.

Polyembryony has independently arisen several times within *Diaphoranthema*. The origin of autogamy could not be established; however this reproductive feature appears as a strong tendency within the subgenus. Changes in vegetative and reproductive characters previously related to neoteny within *Diaphoranthema* suggested heterochronic changes that do not necessarily imply a shortening of the life cycle, and further studies are required concerning the nature of these changes and their adaptative significance.

Finally, results confirm the need of changes in the subgeneric classification of *Tillandsia* in general, and suggest specific changes in *Diaphoranthema*. The morphological characters used in this thesis and evolutionary interpretations may be useful for future analysis.

KEY WORDS: *Tillandsia*, *Diaphoranthema*, phylogeny, morphology, ETS, *matK-trnK*, autogamy, polyembryony, neoteny, heterochrony.

Agradecimientos

A mis directores: Dr. Raúl Pozner y Dra. Liliana Giussani por la gran enseñanza, supervisión, consejos, por la paciencia y por todo el apoyo en lo profesional y humano.

Al instituto de Botánica Darwinion, a su director Dr. Fernando Zuloaga y a sus integrantes. Ha sido un enorme placer trabajar en esta prestigiosa institución y compartir el día a día con excelentes colegas, compañeros y amigos. Sin dudas, mi hogar, una gran familia para mí y el afecto de muchos años.

A los jurados de esta tesis.

A la Universidad de Buenos Aires y a todos quienes fueron mis docentes por mi formación de grado y postgrado.

A la educación pública y gratuita.

A mi tutora de estudios Viviana Confalonieri.

A CONICET por el financiamiento para mi formación doctoral mediante el otorgamiento de becas de Postgrado tipo I y tipo II.

Al Gobierno de Canadá, a través del “Canadian Bureau of International Education (CBIE)” del “Ministry of Foreign Affairs & International Trade Canada”, por el otorgamiento de la beca de intercambio internacional “Emerging Leaders in the Americas Program (ELAP) 2011-2012” para realizar una estancia en dicho país con el fin de reunir los datos moleculares para mi trabajo doctoral.

Al Dr. Julian Starr, “Associate Professor” de la Universidad de Ottawa y “Research Scientist” del “Canadian Museum of Nature” por darme la oportunidad de presentarme como candidata al “Emerging Leaders in the Americas Program (ELAP) 2011-2012”, por el financiamiento del proyecto a través de su “NSERC Grant”, por la excelente supervisión de mi trabajo en Canadá, por todas sus enseñanzas y consejos, su amabilidad y calidez. Un gran placer haber trabajado con él.

Al “Canadian Museum of Nature” (Ottawa, Canadá) y a los colegas, compañeros y amigos que he conocido trabajando en el Laboratorio de Sistemática Molecular del “Natural Heritage Building” (Aylmer, Quebec) del Museo. Fundamentalmente a Claire Gilmour, Alicia Alonso, Roger Bull, Francesco Janzen y Shan Leung. Mi estadía no hubiera sido todo lo espectacular que fue sin Uds. allí.

A la Universidad de Ottawa por el financiamiento para asistir al Congreso “Botany 2012 – Next Generation” en Columbus, Ohio, Estados Unidos de América.

A la Myndel Botanica Foundation por el aporte brindado para la realización del viaje de campaña y la colección de especies de *Tillandsia* del centro de Argentina (San Luis, San Juan, La Rioja, Catamarca y Córdoba) durante enero de 2009.

Al Dr. Fernando Zuloaga por el viaje de campaña a Tucumán y Catamarca durante octubre y noviembre de 2008.

A mis compañeros de campaña 2008 y 2009: Fernando Zuloaga y Adela Panizza y Lucio Zavala, Natalia Álvarez y Horacio Illarraga respectivamente por el compañerismo y los buenos momentos compartidos recorriendo la Argentina en dos viajes inolvidables.

A los herbarios CORD, CTES, LIL, MCNS, BHCB, LPB, SGO, WU por el préstamo de los materiales.

A Daniela Zappi (K), Hans-Joachim Esser (M), Elena Reiner Grehwald (GOET), John Hunnex y Steve Cafferty (BM) y Luis Ariza Espinar (CORD) por su ayuda en la búsqueda de los duplicados del ejemplar *P. Lorentz 128*. Especialmente a John Hunnex por el envío de imágenes y por su amabilidad y dedicación ante mis consultas.

Al Herbario de la Universidad de Córdoba (CORD) y al Herbario de la Fundación Miguel Lillo (LIL) y su personal por su cordialidad durante mis visitas del 2008 y 2009, 2008 y 2011 respectivamente.

Al Dr. Walter Till y el Dr. Michael Barfuss por el envío de materiales necesarios para completar el muestreo de especies en los análisis tanto morfológicos como moleculares y la buena predisposición y apoyo de siempre.

Al Dr. Walter Till por el envío de sus publicaciones, datos de colecciones, de los materiales tipos y las flores y por revisar el manuscrito de *Tillandsia minutiflora*. Por toda su amabilidad y calidez.

A Raúl Pozner, Osvaldo Morrone y Fernando Zuloaga por sentarse conmigo a resolver los problemas nomenclaturales de *T. bryoides*, por los consejos, por su ayuda y por la enseñanza.

A Raúl por darme una gran mano con ese trabajo, desde la descripción en latín hasta la compaginación de la lámina.

Al Dr. Andrea Cocucci por una codirección a distancia, por nuestra reunión en Córdoba y la charla sobre el estudio en semillas. Por todas las sugerencias e interesantes ideas y la buena predisposición.

A Dieter Hollweck por las traducciones de trabajos en alemán y por su calidez.

A Rosa Subils por su cálido recibimiento en Córdoba y aquella amena conversación sobre las Tillandsias.

Al Dr. Eric Gouda por el envío de sus trabajos en *Diaphoranthema*.

A Roberto Kiesling por el permiso de usar la lámina de la Flora de San Juan para la publicación de la especie nueva, por enviarme o traerme siempre Tillandsias vivas de sus viajes y por unas cuantas veces siempre tan amenas que nos hemos visto por el Darwinion y saludado por mail.

A Francisco Rojas por las láminas de las Tillandsias y por todas las veces que te hemos ido a tocar la puerta con La Negra para que nos dibujes las plantitas. Por los retoques en la lámina de *Tillandsia minutiflora* y los de mi caricatura. Excelente Francis!

A mi querida Negra Bacigalupo por todas las veces que hablamos de las Tillandsias, de las Bromeliaceas de Entre Ríos, por todas esas anécdotas e historias de vida dedicada a la botánica. Un gran placer y orgullo para mí y todo mi reconocimiento.

A mi querida Rosa Guaglianone por su gran sabiduría, todo su amor, por contagiarme de entusiasmo y fuerza, por inspirarme y por los proyectos con las Cyperaceas! Un placer tenerte y contar con vos Rosa. Sos una grande!

Al gran Coro del Instituto de Botánica Darwinion, su dire y todos mis compañeros por el canto, las risas, los ensayos con mates, alegrías y diversión.

Al Taekwon Do, mi pasión, disciplina que tanto amo y me ha enseñado y acompañado a lo largo de 25 años. Un largo camino de vida por el que seguiré transitando y cosechando en conocimiento, momentos y personas que han sido y son tan importantes y a quienes llevo en el corazón con gran satisfacción y orgullo de alumna, compañera e instructora.

A mi escuela, el Estados Unidos de San Martín.

A una docente inspiradora, Adelaida Russo, mi profesora de Biología de 4° 5° del Estados Unidos remontándonos al año 1997!

A mi profesora de Inglés Claudia Rita De Mateis divina, afectuosa, genia! Cuantos momentos de mi niñez y adolescencia en tu gran aula-living!

A mis amigas de infancia y adolescencia: Ceci, Nan, Noe, Flor y Egle por todos los momentos, todas las etapas y toda una vida juntas.

A todos mis amigos del Darwinion, en especial a: Lucio, Marce, Mabel L., Ade, Juan Camilo, Lili G., Osva y Manu, Raúl, Fer, Mabel S., Lili M., Edith, Horacio, Anita, Cristian, Jorge, Diego D., Diego S., Bigan, Normi, Dieter, Erika, Emilio y Graciélita por compartir el día a día de esta etapa que culmina, por estar en las buenas y en las malas, por todo su apoyo, sus palabras, sonrisas y abrazos!

A mis amigas de la carrera de grado, especialmente a Marian, Leti, Mariana, Vani, Gabi, Mabel y Xoana por una etapa compartida, la amistad y compañerismo, las risas y hasta con algunas las vacaciones! Al loco Emmanuel también, por supuesto! Y a los Diegos con quien compartí el mejor curso de postgrado de la historia, cómo me divertí!

A Lucía porque compartimos las Tillandsias de Argentina y qué bien nos entendemos! Una gran alegría recibir tu tesina, otra gran alegría conocerte, charlar y contar con vos!

A mis compañeros de Teatro, grupo que pocas veces se congrega tan espontáneamente, con quienes cada clase ha sido un regalo especial para mí, el olvidarnos de todo y disponernos a jugar, a divertirnos, emocionarnos y disfrutar tanto.

A mis instructores y amigos de Taekwon Do en Argentina y Canadá. Es muy valioso para mí compartir el Taekwon Do con uds.

A mis amigos y allegados en Canadá con quienes viví momentos inolvidables durante la fantástica experiencia de mi viaje: Claire y Travis, Alicia y Rober, Roser, Roger, Frankie, Ernesto, Andrew y Andrea, Paul, Dave, Neda, Wayne, Warren, Katya, Kate, Claude, Samir, Steven, Shane, David, y Facundo.

A la Citronave, o mejor denominada "Sabineta Optimus Prime", por llevarme y traerme durante toda esta etapa. Aunque no siempre portándose tan bien como su dueña quisiera, revelándose y dejándome tirada varias veces al año, así y todo, merece este gran reconocimiento ya también más de una vez me ha salvado y nada

hubiera sido lo mismo sin ella en el día a día y sus anécdotas sin fin!

A Robert's Cattery, mis gatos y perro por la compañía de cada día. El deleite del amor recibido de nuestras fieles mascotas (siempre y cuando se porten bien!).

A los claveles del aire cultivados en casa y en el insti!

A *Tillandsia*, en especial, a mis amigas de estos últimos años, "las *Diaphoranthemas*"!

A Vane, mi F. cuñado Mariano, Facu y Lara por todos los lindos momentos pasados y por los que vendrán junto al pronto por llegar, Venicio.

A Guille y Vane por la gran amistad, el apoyo, oídos y atención que han tenido con Silvi. Entonces algo así como hermanos heredados que siento me han ayudado mucho! Los quiero y están en mi corazón y desde él les agradezco infinitamente.

A Raúl por esas varias charlas personales importantes que tengo bien presentes, que me han servido mucho y nunca olvidaré.

A vos Lili G., por todo lo que nos une, porque siempre charlar con vos tiene ese toque especial que valoro tanto. Te admiro muchísimo, gracias por ser mi mentora, maestra, guía y algo así como una madre. Con mucho sentimiento, con toda la energía de esas manos y esa esperanza, con la fuerza de los abrazos de corazón y con el compañerismo que espero y creo será para largo!

A mis familiares Mari, Gero, Andre, Fer, Rosen, Fausti, Beli (aun en panza materna), Rosa, Martín y Diego, por las reuniones, los cumpleaños, las fiestas con globos y por los lazos familiares de toda la vida.

A Fredy y Adriana por ser parte de esas fantásticas y soñadas vacaciones en Bariloche. Soy feliz de haber compartido con uds. en familia y haber podido cumplir con ese sueño a tiempo. Gracias por incentivarlo tantas veces y con tanta energía! La hemos pasado de maravilla y nunca lo olvidaré... Espero volver a verlos pronto!

A Graciela y Roby porque nunca me alcanzan las palabras para decirles cómo y cuánto los quiero y los extraño. Personas tan fantásticas no se conocen tan a menudo o simplemente no hay tantas! Gracias por todo, disfruto mucho estando con uds. y me gustaría tenerlos más cerca. Nunca olvido nuestros momentos en Olivos y más recientemente en Vancouver y Squamish! Qué gran placer poder irme hasta allá a verlos, estar juntos esas 2 semanas en familia y yo ahí como una hija y por cierto, muy mimada! Qué gran emoción volver a ver a mi ahijadas gatas Constanza y Julieta! Qué lindo poder conocer a las nietas, unas divinas! Conservo puestas desde ese día sus pulseritas! Gracias por el apoyo de siempre y también por llamarme siempre!

A mi abuela Chichí, a Tati y Marisa por cuidar a Chichí con tanto amor y dedicación y también por cuidar de nosotros al igual que Rosita. Han sido una gran compañía y parte importante de mi casa!

A mis hermanos Xime y Juanjo, a Dante, Marco e Ibi, mis maravillosos sobrinos y sus papis, por el disfrute de nuestros momentos juntos que aunque no sean tantos como quisiera, siempre los tengo presentes en mi corazón!

A mi tía Liliana a quien quiero tanto, he aquí tu poroto negro! Vamos, seguimos para adelante tía! Te adoro y te abrazo! Acordate siempre de ese búho encantado, de su y mi mensaje.

A Martín, mi dulce compañero, por todo tu amor, tu alegría, tu energía, tus ganas, tu corazón y el gran sentimiento que nos une! Sos hermoso! Sabés todo lo que te amo!

A Rober, por la ayuda con la lista de materiales, por tus buenas intenciones y ternura de hermano, por bancar en todo a esta “hermanita” con quien reír, llorar y vivir. Qué bueno es tenerte! A lucharla y superar cualquier obstáculo que si se quiere, se puede. Solo hay que poner en marcha esa máquina.

A Juan José Donadío, mi papá, por tu amor y por todo lo que nos une y reúne. Por todos los “upa” de mi infancia, por estar y acompañarme, por las charlas, la contención, por tus mimos y tus abrazos pá.

A Silvina Ester Estrada, porque allí te encuentro siempre fuerte y acompañándome a cada paso. Tu amor incondicional, tu buen criterio y practicidad, tu grandeza, sabiduría, belleza, fortaleza me han marcado de manera fundamental. Hoy te extraño muchísimo pero estás presente en todo lo que soy... Te llevo en mí con tanto orgullo de hija má!

Agradecida de esta vida y tan afortunada de poder compartirla con quienes han dejado, dejan y dejarán huella en mi camino, con todas aquellas personas que he cruzado y luego de conocerme me han elegido en sus vidas, o a quienes sencillamente les he tocado en suerte!

Porque es de este sentimiento de amor, gratitud y vida del que me nutro día a día, muy sentidamente les digo GRACIAS, GRACIAS, MUCHAS GRACIAS!!!

Sabina

Filogenia de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* y evolución de la autogamia y la poliembrionía

INDICE

Resumen.....	i
Abstract.....	iv
Agradecimientos.....	vi
 Capítulo 1: Introducción general, objetivos e hipótesis	
1.1. Introducción al género <i>Tillandsia</i> y al subgen. <i>Diaphoranthema</i> ..	1
1.2. Problemática general.....	6
1.2.1. Delimitación taxonómica de especies.....	6
1.2.2. Filogenia.....	7
1.2.2.a. Monofilia del subgénero <i>Diaphoranthema</i>	8
1.2.2.b. Monofilia de los agregados de Till.....	8
1.2.3. Evolución de caracteres morfológicos y reproductivos...	9
1.2.3.a. Hipótesis de evolución por modificaciones neoténicas.....	9
1.2.3.b. Autogamia y cleistogamia.....	9
1.2.3.c. Poliembrionía.....	11
1.3. Objetivos e hipótesis.....	14
1.3.1. Objetivo general.....	14
1.3.2. Objetivos específicos.....	14
1.3.3. Hipótesis.....	14
 Capítulo 2: Selección y delimitación de las unidades de estudio	
2.1. Introducción.....	16
2.2. Materiales y métodos.....	17
2.2.1. Colecciones de herbario.....	17
2.2.2. Viajes de colección.....	18
2.2.3. Cultivo de ejemplares.....	18
2.2.4. Delimitación de las especies.....	19
2.2.5. Selección de las unidades de estudio.....	20
2.3. Resultados.....	20
2.3.1. Delimitación taxonómica de las especies problemáticas	22
2.3.2. Selección de las unidades de estudio.....	31
2.4. Conclusiones y discusión.....	31
 Capítulo 3: Definición y análisis de los caracteres morfológicos y reproductivos utilizados en el estudio filogenético	
3.1. Introducción.....	33
3.2. Materiales y métodos.....	40
3.2.1. Ensayos de autogamia y cleistogamia.....	41
3.2.2. Poliembrionía.....	41
3.2.3. Selección de los caracteres.....	41
3.3. Resultados.....	42

Lista de caracteres morfológicos y su codificación.....	44
Capítulo 4: Filogenia morfológica	
4.1. Introducción.....	60
4.2. Materiales y métodos.....	61
4.2.1. Confección de la matriz de datos morfológicos.....	61
4.2.2. Análisis de la matriz de datos morfológicos.....	62
4.3. Resultados.....	62
4.3.1. Confección de la matriz de datos morfológicos.....	62
4.3.2. Análisis filogenético de los datos morfológicos.....	69
4.4. Conclusiones y discusión a partir de la evidencia morfológica	75
Capítulo 5: Filogenia molecular	77
5.1. Introducción.....	77
5.2. Materiales y métodos.....	78
5.2.1. Materiales.....	78
5.2.2. Selección de marcadores moleculares.....	83
5.2.3. Obtención de las secuencias moleculares.....	83
5.2.4. Procesamiento de las secuencias.....	87
5.2.5. Análisis de los datos.....	87
5.3. Resultados.....	88
5.3.1. Secuencias, alineamientos y confección de las matrices de datos moleculares.....	88
5.3.2. Análisis filogenéticos de marcadores moleculares individuales.....	97
5.3.2.a. Marcador nuclear: ETS.....	97
5.3.2.b. Marcador plastidial: <i>matK-trnK</i>	100
5.3.2.c. Análisis combinado de ambas matrices moleculares.....	102
5.4. Conclusiones y discusión a partir de la evidencia molecular.....	106
Capítulo 6: Filogenia a partir de la evidencia total y evolución de los caracteres morfológicos	
6.1. Introducción.....	107
6.2. Materiales y métodos.....	108
6.3. Resultados.....	109
6.3.1. Filogenia.....	109
6.3.2. Optimización de los caracteres morfológicos.....	116
6.3.2.1. Optimización de caracteres vegetativos.....	119
6.3.2.2. Optimización de caracteres reproductivos.....	123
6.3.2.2.a. Caracteres de la inflorescencia y florales....	123
6.3.2.2.b. Caracteres del fruto y la semilla.....	128
6.3.2.2.c. Autogamia y nivel de ploidía.....	133
6.4. Conclusiones y discusión.....	137
Conclusiones generales.....	143
Bibliografía.....	146
Apéndices.....	153

CAPITULO 1

Introducción general, objetivos e hipótesis

1.1. Introducción al género *Tillandsia* y al subgénero *Diaphoranthema*

Tillandsia L. es el género con mayor número de especies de la familia Bromeliaceae (subfamilia Tillandsioideae), pues reúne unas 540 especies (Smith & Till, 1998) de los así llamados “claveles del aire”, y es también el más extensamente distribuido, desde el sur de Estados Unidos hasta el centro de Argentina, extendiéndose hacia el sur por la costa hasta la provincia de Chubut (Smith & Downs, 1977). Las especies de *Tillandsia* son ampliamente conocidas por su presencia como epífitas extremas y por su valor ornamental. Se las encuentra en los más diversos hábitats, tanto húmedos como áridos.

Tillandsia está subdividido en 6 subgéneros: *Allardtia* (A. Dietrich) Baker, *Anoplophytum* (Beer) Baker, *Diaphoranthema* (Beer) Baker, *Phytarrhiza* (Visiani) Baker, *Pseudalcantarea* Mez, y *Tillandsia*; que se diferencian entre sí generalmente por caracteres florales (Smith & Till, 1998, Benzing, 2000). Las diferencias entre los subgéneros están dadas particularmente sobre la base de la inclusión/excerción de los estambres en relación a los pétalos, la longitud del estilo, la forma y disposición de los pétalos durante la antesis, y la forma de los filodios (Smith & Downs, 1977).

Entre los subgéneros de *Tillandsia*, el más afín al subgénero *Diaphoranthema* es el subgénero *Phytarrhiza*, el cual comprende 37 especies, de las cuales 19 son méxicas (5 méxicas y 14 semi-méxicas) y 18 xéricas (Gilmartin, 1983; Gilmartin & Brown, 1986, Benzing, 2000). La afinidad entre ambos subgéneros está dada sobre la base de características florales como la presencia de estambres profundamente inclusos dentro de la corola y estilos breves (Smith & Downs, 1977; Benzing, 2000). Según las claves disponibles para la identificación de los subgéneros de *Tillandsia* (ej. Smith & Downs, 1977), la única característica distintiva entre *Phytarrhiza* y *Diaphoranthema* radica en el tamaño y la forma de los pétalos. Los pétalos de las especies de *Phytarrhiza* poseen limbo amplio, conspicuo, en forma de disco (Benzing, 2000), mientras que en las especies de *Diaphoranthema* los pétalos son inconspicuos, angostos, y lingüiformes.

Tillandsia subgen. *Diaphoranthema* (Beer) Baker comprende 28 especies y está dividido en 6 grupos informales (desarrollados bajo un enfoque taxonómico alfa, Till 1989a,b; 1991a; 1992a,b) basados en la filotaxis, el color de los pétalos y la pubescencia de las brácteas florales (tabla 1.1). *Diaphoranthema* comprende especies por lo general de porte pequeño a mediano, inflorescencias 1- a paucifloras, y flores inconspicuas que difieren mayormente en su morfología vegetativa (filotaxis, forma y tamaño foliar), inflorescencias, tamaño del escapo, número, disposición, nerviación y pilosidad de las brácteas y grado de fusión y pilosidad de los sépalos. La morfología floral es bastante uniforme, con pétalos angostos, lingüiformes de variados colores (blancos, verdes, amarillos, ocre, violetas o negros) con estambres incluidos y estilo muy corto (Smith & Downs, 1977, Benzing, 2000).

Tabla 1.1. Agregados en los que se subdivide *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* según la clasificación propuesta por Till (1992b). Las especies marcadas con (*) pertenecen a *Tillandsia* subgen. *Phytarrhiza* que han sido incluidas por el autor dentro de su clasificación.

Especies de <i>Diaphoranthema</i>	Agregado	Filotaxis	Brácteas florales	Color de los pétalos
<i>T. caliginosa</i> <i>T. cotagaitensis</i> <i>T. porongoensis</i> * <i>T. tenebra</i>	Caliginosa	Dística	Lepidotas	Marrón a violeta amarronado
<i>T. andicola</i> <i>T. angulosa</i> <i>T. gilliesii</i> subsp. <i>gilliesii</i> <i>T. gilliesii</i> subsp. <i>polysticha</i> <i>T. hirta</i> <i>T. mandonii</i> * <i>T. myosura</i> <i>T. retorta</i>	Myosura	Dística	Lepidotas	Amarillento a amarronado, raramente violeta oscuro
<i>T. copynii</i> <i>T. loliacea</i> <i>T. minutiflora</i> <i>T. spiralipetala</i> <i>T. tricholepis</i>	Loliacea	Espiralada	Mayormente lepidotas	Amarillo, raramente marrón oscuro
<i>T. aizoides</i> <i>T. brealitoensis</i> <i>T. erecta</i> <i>T. funebris</i> <i>T. pedicellata</i> <i>T. rectangula</i>	Rectangula	Espiralada	Mayormente glabras	Amarronado a violeta oscuro, raramente amarillentos o violeta claro
<i>T. capillaris</i> <i>T. castellanii</i> <i>T. kuehhasii</i> <i>T. virescens</i>	Capillaris	Dística	Glabras a lepidotas	Amarillo a marrón, raramente violeta claro a violeta oscuro
<i>T. landbeckii</i> subsp. <i>andina</i> <i>T. landbeckii</i> subsp. <i>landbeckii</i> <i>T. mollis</i> <i>T. recurvata</i> <i>T. usneoides</i>	Recurvata	Raramente espiralada	Lepidotas, raramente glabras, con bráctea del escapo floral ± por debajo	Violeta, blanco, amarronado, verde o amarillo

Las especies de *Diaphoranthema* habitan generalmente ambientes áridos y semiáridos y el área geográfica de mayor diversidad específica se halla en el centro y noroeste de Argentina y en Bolivia (Till, 1992b). Como la mayoría de las especies de *Tillandsia*, las del subgénero *Diaphoranthema* son epífitas y/o saxícolas, y algunas se comportan como “malezas” de áreas boscosas y tendidos de cables (por ej. *T. recurvata*, Caldiz et al., 1993). Sin embargo, las especies de este subgénero se encuentran no sólo en ambientes áridos y semiáridos del centro y noroeste de Argentina, Chile, Bolivia, Perú, noreste de Brasil, y a lo largo de los Andes hasta Colombia, sino también en ambientes boscosos y húmedos de la selva marginal del Río de la Plata, la Mesopotamia, Paraguay, Uruguay, sur y costa este de Brasil, y en las Yungas. El rango de altitudes en el que crecen las especies de este subgénero es muy variable encontrándose desde el nivel del mar hasta los 4300 m.s.m. (Till, 1989a). En la tabla 1.2 se detalla la distribución de las especies de *Diaphoranthema*.

Tabla 1.2. Especies de *Tillandsia* subgénero *Diaphoranthema* y su distribución según Till (1992b) y la Base de Diversidad Vegetal del Cono Sur (IRIS, IBODA). (*) Especies recientemente descritas (Gouda, 1986; 1988; Hromadnik L. & Till, 1991; Till, 1991b; 1995; Till & Hromadnik H., 1983, Till & Hromadnik L., 1984; Donadío, 2011).

Especie	Distribución
<i>T. aizoides</i>	Argentina (Salta, Catamarca, Tucumán, Santiago del Estero, La Rioja, San Luis y Córdoba).
<i>T. andicola</i>	Argentina (Catamarca y Mendoza).
<i>T. angulosa</i>	Argentina (La Rioja y Mendoza).
<i>T. brealitoensis</i> *	Argentina (Salta).
<i>T. caliginosa</i> *	Argentina (Entre Ríos, Jujuy, Salta y Tucumán)
<i>T. capillaris</i>	Argentina (Buenos Aires, Catamarca, Córdoba, Jujuy, La Rioja, Mendoza, Salta, San Juan, Santiago del Estero y Tucumán); Bolivia ; Chile ; Paraguay ; Perú .
<i>T. castellanii</i>	Argentina (San Luis y Córdoba).
<i>T. copynii</i> *	Brasil (Sur)
<i>T. cotagaitensis</i> *	Bolivia
<i>T. erecta</i>	Argentina (La Rioja y Mendoza); Bolivia ; Paraguay .
<i>T. funebris</i>	Argentina (Catamarca, Formosa, Salta y Tucumán); Bolivia , Paraguay
<i>T. gilliesii</i>	Argentina (Jujuy, Salta, Catamarca, Tucumán, La Rioja, San Juan, Mendoza, Buenos Aires y La Pampa); Bolivia (Cochabamba, Potosí y Chuquisaca); Perú (Arequipa)
<i>T. hirta</i> *	Argentina (Salta)
<i>T. kuehhasii</i> *	Bolivia (Depto. Chuquisaca/Potosí)
<i>T. landbeckii</i>	Chile ; Ecuador (?); Perú .
<i>T. loliacea</i>	Argentina (Chaco, Córdoba, Corrientes, Formosa, Jujuy, Misiones, Salta, Santiago del Estero, Santa Fe y Tucumán); Bolivia ; Brasil ; Paraguay
<i>T. minutiflora</i> *	Argentina (Buenos Aires, Catamarca, Chubut, Córdoba, Jujuy, La Pampa, La Rioja, Mendoza, Río Negro, Salta, Santiago del Estero, Santa Fe, San Juan, San Luis y Tucumán); Bolivia ; Perú .
<i>T. mollis</i> *	Bolivia (Sur)
<i>T. myosura</i>	Argentina (Catamarca, Corrientes, Jujuy, La Rioja, Mendoza, Salta, San Juan, San Luis y Tucumán); Bolivia ; Perú ; Uruguay .
<i>T. pedicellata</i>	Argentina (Catamarca, San Juan, San Luis, Mendoza, Córdoba, La Pampa y Buenos Aires); Bolivia .

<i>T. rectangula</i>	Argentina (Catamarca, Santiago del Estero, San Luis y Córdoba); Bolivia (Tarija).
<i>T. recurvata</i>	S de EE.UU hasta el centro y E de Argentina .
<i>T. retorta</i>	Argentina (Salta, Tucumán, Santiago del Estero, Mendoza, San Luis, Córdoba, Buenos Aires y La Pampa).
<i>T. spiralipetala*</i>	Bolivia
<i>T. tenebra*</i>	Argentina (La Rioja)
<i>T. tricholepis</i>	Argentina (Chaco, Córdoba, Corrientes, Formosa, Jujuy, Misiones, Salta, Santiago del Estero, Santa Fe, San Juan, San Luis y Tucumán); Bolivia ; Brasil ; Paraguay ; Perú
<i>T. usneoides</i>	SE de EE.UU hasta el centro de Argentina y Chile .
<i>T. virescens</i>	Argentina (Buenos Aires, Catamarca, Córdoba, Jujuy, La Rioja, Mendoza, Salta, San Juan, Santiago del Estero y Tucumán); Bolivia ; Chile ; Paraguay ; Perú .

1.2. Problemática general

El subgénero *Diaphoranthema* se plantea como un interesante modelo de evolución de caracteres tanto vegetativos como reproductivos. Las especies presentan una alta variación morfológica vegetativa dentro de una forma de vida muy específica (epífitas atmosféricas), son comunes las adaptaciones a ambientes xéricos e incluso se ha propuesto que la evolución de este grupo de especies ha sido marcada por procesos neoténicos que condujeron, entre otras cosas, a un acortamiento del ciclo de vida (Till, 1992b). En cuanto al aspecto reproductivo, la literatura sugiere para el subgénero una fuerte tendencia a la autogamia (Till, 1992b). A su vez, la presencia de poliembrionía en las semillas ha sido propuesta como característica de *Diaphoranthema* (Subils, 1973; Gross, 1988). Sin embargo, no se cuenta con un análisis filogenético que sustente estas hipótesis.

1.2.1. Delimitación taxonómica de especies

Si bien la taxonomía del grupo está bien resuelta, existen unas pocas excepciones dadas por problemas históricos taxonómicos y nomenclaturales que ofrecen cierto grado de conflicto al momento de enfrentarse al material de estudio. A su vez, varias especies, subespecies y variedades nuevas han sido descritas para *Diaphoranthema* en las últimas 3 décadas (Gouda, 1986; 1988;

Hromadnik L. & Till, 1991; Till 1991b; 1995; Till & Hromadnik H., 1983; Till & Hromadnik L., 1984; Donadío, 2011) y no se cuenta con una clave actualizada para la identificación de las mismas. Las especies recientemente descritas se encuentran marcadas con (*) en la tabla 1.2.

1.2.2. Filogenia

Los trabajos filogenéticos que incluyen a especies de *Tillandsia* son, en su gran mayoría, estudios moleculares que centran su atención en la resolución de relaciones infrafamiliares e intergenéricas (Terry et al., 1997; Horres et al., 2000; Barfuss et al., 2005). Estos estudios presentan poca resolución dentro de *Tillandsia* en parte debido a la necesidad de incorporar marcadores moleculares con más variación, y en parte a la poca cantidad de taxones de *Tillandsia* (ca. 60) incluidos en el análisis frente a las 540 especies totales de este género (Barfuss et al., 2004; 2005).

El único análisis filogenético a partir de datos morfológicos dentro de *Tillandsia* fue realizado en *Phytarrhiza*, subgénero afín a *Diaphoranthema*, (Gilmartin & Brown, 1986) con la finalidad de evaluar la evolución de los hábitos méxicos y xéricos dentro de este subgénero. En ese trabajo, se rechaza la hipótesis de *Diaphoranthema* como grupo hermano de *Phytarrhiza* y se define a *Phytarrhiza* como un grupo parafilético dada la inclusión de las 2 especies de *Diaphoranthema* consideradas en el análisis. Más aún, los autores sugieren la monofilia de *Diaphoranthema*, su estrecha asociación al grupo de especies xéricas de *Phytarrhiza* y la posible necesidad de una reclasificación subgenérica.

A su vez, posteriores estudios en nectarios septales (Bhôme, 1988), estigmas (Brown & Gilmartin, 1984, 1989a; Gortan, 1991), polen (Halbritter, 1992), óvulos y semillas (Gross, 1988) apoyan la estrecha relación entre *Diaphoranthema* y el grupo de especies xéricas de *Phytarrhiza*. De hecho, las diferencias entre las especies méxicas y xéricas de *Phytarrhiza* exceden a aquellas existentes entre el grupo de especies xéricas de *Phytarrhiza* y *Diaphoranthema* (Benzing, 2000).

Ante estas evidencias, Till (1992b) sugiere que *Diaphoranthema* y las especies xéricas de *Phytarrhiza* no deberían ser segregadas en diferentes

subgéneros y que el origen evolutivo de *Diaphoranthema* estaría dado a partir de especies xéricas de *Phytarrhiza*.

1.2.2.a. Monofilia del subgénero *Diaphoranthema*

A pesar de que algunos autores presuponen la monofilia de *Diaphoranthema* (véase Gilmartin, 1986), no se dispone de una filogenia robusta de *Diaphoranthema*, por lo que aún no se conoce el origen evolutivo del subgénero ni de los agregados producto de su clasificación infrasubgenérica (Till, 1992b).

1.2.2.b. Monofilia de los agregados de Till

Los 6 agregados de *Diaphoranthema* propuestos por Till (1992b) sobre la base de la morfología floral y ciertos aspectos vegetativos tienen límites poco precisos y en algunos casos se superponen. Se trata de un enfoque taxonómico en el que no se discuten las relaciones filogenéticas entre las especies de este grupo. Por ejemplo, el color de la corola es uno de los caracteres definitorios de los subgrupos del subgénero *Diaphoranthema* (Till, 1992b), pero su valor para establecer relaciones de parentesco entre las especies podría ser cuestionado, ya que existen tanto especies autóгамas o con flores cleistógamas donde los caracteres florales no afectan el éxito reproductivo de los individuos.

La hipótesis de Till (1992b) radica en que los agregados de *Diaphoranthema* han evolucionado en forma paralela a partir de raíces evolutivas en especies xéricas de *Phytarrhiza*.

Ante el alto grado de homogeneidad molecular dentro de *Tillandsia* y la ausencia de un análisis filogenético de *Diaphoranthema*, se hace relevante un análisis exhaustivo de caracteres morfológicos, que permita generar una hipótesis filogenética robusta sobre la cual evaluar la monofilia del subgénero y sus agregados y la evaluación de caracteres con significado adaptativo y de utilidad taxonómica para las especies de este subgénero.

1.2.3. Evolución de caracteres morfológicos y reproductivos

1.2.3.a. Hipótesis de evolución por modificaciones neoténicas

Desde un punto de vista evolutivo, las especies del subgénero *Diaphoranthema* se interpretan como formas neoténicas cuyo acortamiento del ciclo biológico habría sido favorablemente seleccionado en ambientes áridos y semiáridos (Till, 1992b). Los caracteres asociados al acortamiento del ciclo biológico, permitirían alcanzar rápidamente la etapa reproductiva. En este sentido, la neotenia en las especies de *Diaphoranthema* se manifiesta en el menor tamaño de los individuos, la filotaxis dística, el menor número de flores por inflorescencia y menor tamaño de las flores (Till, 1992b).

Dado que la bibliografía indica que son los aspectos referidos a la morfología vegetativa y de las inflorescencias los más variables para *Diaphoranthema*, resulta de especial interés reevaluar especialmente estos caracteres y su grado de homoplasia para poder interpretar y generar hipótesis en cuanto al curso de la evolución morfológica del grupo y a su vez testear la hipótesis de neotenia propuesta por Till (1992b) para el subgénero.

A su vez, es importante destacar que se estima que casi un 50% de las especies de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* son tetraploides (Till, 1992b). La poliploidía podría también estar asociada a cambios morfológicos y del ciclo biológico.

1.2.3.b. Autogamia y cleistogamia

Observaciones parciales realizadas por varios autores (Till, 1989a; Gilmartin & Brown, 1985) han permitido inferir que el subgénero *Diaphoranthema* tiene una fuerte tendencia a la autogamia (facultativa u obligada) e incluso a la cleistogamia (tabla 3). Sin embargo, la información básica publicada sobre el sistema reproductivo de las especies de *Diaphoranthema* es informal y fragmentaria.

La autogamia es una estrategia reproductiva frecuente en especies con flores muy pequeñas, independientemente de la rigurosidad del ambiente (Lord, 1981). Till (1992b) propone como hipótesis que la autogamia en *Diaphoranthema* es la estrategia que permite la colonización de ambientes extremos por parte de estas especies. Sin embargo, especies como *T. usneoides* y *T. recurvata* habitan ambientes boscosos y húmedos, ambas se

suponen autógamas (Billings, 1904; Birge, 1911) y al menos una de ellas es autógama obligada (*T. recurvata* L., Pozner, com. pers.). Estos casos no se ajustarían a la hipótesis propuesta por Till (1992b).

Tabla 1.3. Resumen del comportamiento reproductivo de las especies de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema*. La columna “autogamia” incluye los casos citados por la bibliografía donde no se especifica si se trata de autogamia obligada o facultativa.

Especie	Autogamia	Autogamia Facultativa	Autogamia obligada	
			Chasmógamas	Cleistógamas
<i>T. angulosa</i>				Till, 1992b
<i>T. capillaris</i>		Till, 1992b	Till, 1989a	Gilmartin & Brown, 1985 Till, 1989a
<i>T. castellanii</i>				Till, 1989a
<i>T. landbeckii</i> subsp. <i>landbeckii</i>				Till, 1992b
<i>T. minutiflora</i>	Till, 1992b			
<i>T. myosura</i>		Till, 1992b		
<i>T. pedicellata</i>	Till, 1992b			
<i>T. recurvata</i>	Birge 1911		Pozner, com. pers.	Kromer et al., 2006
<i>T. retorta</i>	Till, 1992b			
<i>T. usneoides</i>	Billings, 1904 Garth, 1964 Mc Williams, 1974			
<i>T. virescens</i>		Till, 1992b	Till, 1989a	Till, 1989a

1.2.3.c. Poliembrionía

Hay antecedentes de poliembrionía en algunas especies de *Tillandsia* (Suessenguth, 1921; Subils, 1973; Gross, 1985, 1988), que la señalan especialmente como un rasgo característico y frecuente del subgénero *Diaphoranthema* (Gross, 1985, 1988). Subils (1973) reportó por primera vez la presencia de embriones accesorios en semillas de 5 especies del subgénero (tabla 1.4). Más adelante, Gross (1985, 1988) reportó semillas poliembriónicas en 17 especies de *Diaphoranthema* (tabla 1.4), concluyendo que la poliembrionía es una característica del subgénero. Subils (1973) reportó la ausencia de poliembrionía en semillas de 6 especies mientras que según Gross (1988) solo 4 especies del subgénero presentan semillas con un único embrión de origen cigótico.

En las semillas de *Diaphoranthema* el número de embriones varía entre 1 y 4, todos ellos son completos, están separados entre sí y poseen distinta forma y tamaño. Los embriones accesorios son bastante más chicos en tamaño que el embrión de origen cigótico y siempre se encuentran en posición lateral (Subils, 1973; Gross, 1985, 1988). A su vez, la variabilidad en número de embriones no está correlacionada con cambios en el aspecto y tamaño de la semilla (Subils, 1973) y podría deberse a que los embriones accesorios abortan durante la maduración solo sobreviviendo el embrión cigótico, o bien a que los embriones accesorios no están establecidos en todos los óvulos (Gross, 1985). Subils (1973), ha comprobado que en semillas poliembriónicas de dos especies pertenecientes a *Diaphoranthema*, solo un embrión madura y a su vez reportó que el número de semillas poliembriónicas por fruto varía entre 10% y 80%.

Tabla 1.4. Resumen de las especies de *Diaphoranthema* con ausencia (A) o presencia (P) de poliembrionía según Subils (1973) y Gross (1988) de acuerdo a la delimitación taxonómica adoptada en esta tesis.

Especie	Poliembrionía	
	Subils (1973)	Gross (1988)
<i>T. aizoides</i>	P	P
<i>T. andicola</i>		P
<i>T. angulosa</i>	A	P
<i>T. brealitoensis</i>		P
<i>T. caliginosa</i>		P
<i>T. capillaris</i>	P	P
<i>T. castellanii</i>		P
<i>T. cotagaitensis</i>		P
<i>T. erecta</i>		P
<i>T. gilliesii</i> subsp. <i>gilliesii</i>	P	P
<i>T. gilliesii</i> subsp. <i>polysticha</i>		P
<i>T. hirta</i>		P
<i>T. loliacea</i>		P
<i>T. minutiflora</i>	A	P
<i>T. myosura</i>	P	P
<i>T. pedicellata</i>	A	P
<i>T. rectangula</i>		A
<i>T. recurvata</i>		A
<i>T. retorta</i>	A	
<i>T. spiralipetala</i>		A
<i>T. tricholepis</i>	A	P
<i>T. usneoides</i>		A
<i>T. virescens</i>	P/A	P

La ventaja adaptativa que presupone la presencia de poliembrionía en ambientes extremos reside en la composición genética de los embriones. Las especies poliembriónicas poseen un embrión cigótico (recombinante) y uno o más embriones accesorios de origen asexual (con un genotipo igual al de la planta madre). En estos ambientes xéricos, si el embrión de origen cigótico fuera genotípicamente muy diferente a la planta madre, cabría la posibilidad de que no fuera capaz de sobrevivir debido a las condiciones extremas del ambiente en las que la planta madre sí ha demostrado tener un desarrollo exitoso. Entonces, en el caso que el embrión cigótico resultara no viable, los embriones asexuales, genéticamente idénticos a la planta madre, serían una alternativa de germinación y desarrollo garantizados. Por otro lado, la poliembrionía permite escapar a la depresión por endocría. Ante la presencia

de autogamia en las especies del subgénero *Diaphoranthema*, la existencia de embriones accesorios asexuales asegura al menos un embrión viable por semilla en el caso de que la endocría generara el aborto del embrión de origen cigótico.

La menor importancia que poseen las flores muy pequeñas en su función de atracción a los polinizadores sumado a los mecanismos de autogamia y cleistogamia (Till, 1992b; Birge, 1911; Gilmartin & Brown, 1985; Kromer et al, 2006) y poliembrionía (Subils, 1973; Gross, 1985, 1988) frecuentes en este subgénero independizarían a los individuos de los polinizadores, y estarían favoreciendo la selección de estos mecanismos y características florales en ambientes con condiciones extremas (véase Till, 1992b). Es así como la neotenia y la autogamia han sido propuestas por este autor como factores responsables de la propagación de las especies del subgénero *Diaphoranthema* hacia zonas climáticas más extremas respecto a otras especies de *Tillandsia*.

Es de especial interés en esta tesis, evaluar de qué manera se optimizan e interpretan los caracteres relacionados con la hipótesis de neotenia en *Diaphoranthema*, la poliembrionía y la autogamia en el contexto de una hipótesis filogenética robusta del subgénero.

1.3. Objetivos e hipótesis

1.3.1. Objetivo general

Producir una filogenia robusta de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* sobre la base del análisis cladístico de caracteres morfológicos y moleculares que establezca una hipótesis acerca de las relaciones evolutivas entre las especies que conforman el subgénero.

1.3.2. Objetivos específicos

1- Resolver la delimitación de las especies y complejos de especies conflictivos dentro de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema*, como *Tillandsia bryoides* y *T. capillaris*.

2- Realizar un estudio exhaustivo de los caracteres morfológicos en las especies del subgénero, para definir las posibles homologías entre los estados de los caracteres a ser utilizados en la matriz de datos para estudios filogenéticos.

3- Poner a prueba la monofilia de *Diaphoranthema* y la de los agregados informales en los que se dividen las especies del subgénero según la clasificación propuesta por Till (1992b).

4- Proponer una hipótesis sobre la evolución de la autogamia y la poliembrionía en este subgénero.

5- Estudiar posibles patrones evolutivos de las estructuras vegetativas y reproductivas.

6- Comparar las filogenias obtenidas con los sistemas de clasificación propuestos hasta la actualidad para las especies del subgénero.

7- Proponer una nueva clasificación natural para el subgénero.

1.3.3. Hipótesis

Se plantean entonces las siguientes hipótesis a ser contrastadas con la filogenia obtenida a partir de la información combinada de los resultados morfológicos y moleculares:

1- El subgénero *Diaphoranthema* es monofilético.

2- Ningún agregado morfológico propuesto por Till es monofilético.

3- La autogamia y la poliembrionía son caracteres homoplásicos; han aparecido independientemente más de una vez en el subgénero.

- 4- Las sinapomorfías morfológicas de los grandes clados de *Diaphoranthema* están dadas mayormente por caracteres vegetativos.
- 5- Los caracteres florales relacionados con la polinización aportan poca información filogenética ya que no afectan el éxito reproductivo.
- 6- Las modificaciones vegetativas y reproductivas de las especies de este subgénero no siempre pueden explicarse por modificaciones neoténicas del desarrollo, ni están asociadas a un acortamiento temporal del ciclo de vida.

CAPITULO 2

Selección y delimitación de las unidades de estudio

2.1. Introducción

La taxonomía de las especies de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* se encuentra en general bien resuelta, y los mayores avances en este tema se produjeron durante los últimos 60 años (véase Castellanos, 1945; Smith & Downs, 1977; Till, 1989a,b). La última revisión monográfica de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* fue publicada hace más de 30 años por Smith & Downs (1977). Posteriormente, entre 1983 y 1995, se publicaron varias especies, subespecies y variedades nuevas pertenecientes a *Diaphoranthema*, que representan aproximadamente 1/3 de la totalidad de las especies del subgénero (Gouda, 1986; 1988; Hromadnik L. & Till, 1991; Till, 1991b; 1995; Till & Hromadnik H., 1983; Till & Hromadnik L., 1984), véase tabla 1.2 (capítulo 1). Entre sus autores, solo Gouda (1986; 1988) ha proporcionado una breve enmienda a la clave de Smith & Downs para incluir a las 2 especies nuevas por él descritas.

A pesar de este gran avance en la taxonomía de las especies del subgénero *Diaphoranthema*, la identificación de las especies en el campo y en el material de herbario no es sencilla. Varios de estos últimos trabajos taxonómicos en el subgénero *Diaphoranthema* han sido publicados en revistas de difícil acceso y su gran mayoría en alemán. A estas dificultades de accesibilidad, idioma y ausencia de claves actualizadas, se suma la antigüedad y estado de las colecciones, y la falta de material de algunas especies poco frecuentes.

En efecto, el material de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* disponible en la mayoría de los herbarios consultados, pertenece en su mayor parte a colecciones antiguas, datadas entre 1900 y 1950, y de difícil manipulación debido a que el material es fragmentario, quebradizo, estéril o porque se han perdido las estructuras necesarias para su identificación (flores e inflorescencias). La mayor parte del material de herbario de las especies de este subgénero se encuentra en su mayoría en fruto, habiendo relativamente poco material en flor. La revisión e identificación del material disponible se torna aún más laboriosa porque las especies pertenecientes a este subgénero

son plantas muy pequeñas que conviven en simpatría, lo que favorece la mezcla de material de distintas especies en un mismo ejemplar de herbario, ya que una misma cartulina suele contener varios individuos bajo el mismo coleccionista y número. Por otra parte, aunque la mayoría de las especies del subgénero *Diaphoranthema* crecen en Argentina, unas pocas (la mayoría descritas recientemente) son endémicas de países limítrofes y muy poco frecuentes. Razón por la cual fue necesario solicitar préstamos de material de herbario como de flores fijadas en alcohol al Herbario de la Universidad de Viena (WU), donde han sido depositados la mayoría de los materiales tipo de estas especies.

Por estas razones, y para conocer, identificar y establecer con certeza las especies de este subgénero, no sólo se estudió el material de los principales herbarios argentinos, sino también las colecciones de otros centros botánicos internacionales, se realizaron viajes de colección, se mantuvieron ejemplares en cultivo, se tomaron fotografías y observaciones de campo. Si bien se pudo estudiar material de la totalidad de las especies de *Tillandsia* subgénero *Diaphoranthema* sin más problemas que los ya mencionados, fue necesario resolver dos problemas taxonómicos: 1) la delimitación del complejo *T. capillaris* y 2) la denominación y delimitación taxonómica de *T. bryoides* Griseb. ex Baker versus *T. bryoides* auct. non Griseb. ex Baker. A continuación se describen los materiales y métodos desarrollados para la delimitación de las unidades de estudio en general y para la solución de estos dos problemas puntuales en particular.

2.2. Materiales y métodos

2.2.1. Colecciones de herbario

Se estudió, en una primera instancia, el material de herbario depositado en el Instituto de Botánica Darwinion (SI). Dado que en dicho herbario solo se encontraron disponibles ejemplares de 18 especies de *Diaphoranthema* (64% del subgénero), se procedió al pedido de préstamos del material faltante a herbarios argentinos de Córdoba, Corrientes, Tucumán y Salta (CORD, CTES, LIL, MCNS respectivamente) así como también a herbarios de países limítrofes y europeos: BHCB (Brasil), LPB (Bolivia), SGO (Chile), WU (Austria) (Thiers, B.

[permanentemente actualizado, consulta 2012] Index Herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium, <http://sweetgum.nybg.org/ih>).

Asimismo se visitaron, en más de una oportunidad, los herbarios de la Universidad de Córdoba (CORD) y de la Fundación Miguel Lillo (LIL) para la consulta y el estudio de colecciones generales y del material tipo del género *Tillandsia*. En total se revisaron aproximadamente 700 ejemplares de herbario correspondientes a la totalidad de las especies del subgénero en estudio (apéndice 1).

2.2.2. Viajes de colección

Durante los años 2007 y 2010, se realizaron nuevas colecciones de *Tillandsia*, a partir de 2 viajes a las provincias de Catamarca, Córdoba, La Rioja, San Luis, San Juan y Tucumán. Dichas colecciones incluyen material de herbario depositado en SI, material fijado en FAA (70% ETOH), material en sílica gel para estudios moleculares y material vivo destinado a cultivo. Se recolectó material de 16 especies de *Diaphoranthema* que representan el 57% del subgénero.

2.2.3. Cultivo de ejemplares

Importancia y finalidad del cultivo

Las especies de *Diaphoranthema* son variables en cuanto a su época de floración y por lo general florecen tempranamente respecto de la época de floración general en la que suelen realizarse los viajes de colección. Es por lo tanto importante poder disponer de un cultivo de estas especies que permita el monitoreo de la biología de las plantas en estudio, en especial de su floración, y la disposición de material fresco para estudios morfológicos tanto de aspectos vegetativos como reproductivos.

A su vez, disponer de plantas vivas en cultivo puede llegar a aportar nuevos caracteres solo observables en material fresco. En cuanto a esto último, Till (1992b) destacó la potencial importancia que tendrían futuras investigaciones a partir de material vivo (morfología floral, estructura de polen y estigma, citología, isozimas, ADN) ya que el tratamiento monográfico más

moderno de Smith & Downs (1977) se encuentra basado casi totalmente en estudios de material de herbario.

Por estas razones, se inició el cultivo de especies de *Tillandsia*, especialmente las pertenecientes al subgénero *Diaphoranthema* coleccionadas en los viajes de campaña al centro y NO de Argentina. Los ejemplares de referencia se hallan depositados en el herbario del Instituto Darwinion (SI). El cultivo cuenta en total con aproximadamente 810 individuos de los cuales 720 pertenecen a las siguientes especies del subgénero *Diaphoranthema*: *T. aizoides*, *T. andicola*, *T. angulosa*, *T. capillaris*, *T. castellanii*, *T. erecta*, *T. gilliesii* subsp. *gilliesii*, *T. minutiflora*, *T. myosura*, *T. pedicellata*, *T. rectangula*, *T. recurvata*, *T. retorta*, *T. tricholepis*, *T. usneoides* y *T. virescens*. Los restantes individuos en cultivo pertenecen a otras 11 especies de *Tillandsia*: *T. aëranthos*, *T. argentina*, *T. bandensis*, *T. didisticha*, *T. duratii*, *T. ixioides*, *T. lorentziana*, *T. meridionalis*, *T. reichenbachii*, *T. stricta* var. *stricta* y *T. xiphioides* var. *xiphioides*.

Procedimiento y mantenimiento del cultivo

El material vivo coleccionado en el campo para cultivo se colocó en bolsas de papel madera rotuladas para su traslado al lugar de cultivo. Una vez allí, las plantas fueron atadas con cintas de nylon a trozos de ramas secas y a su vez, las ramas con las plantas fueron atadas con precintos plásticos sobre un soporte de alambre artístico. Las plantas son rociadas con agua mediante un aspersor entre 1 y 2 veces por semana y hasta 3 veces durante épocas más calurosas. 2 ó 3 veces por año, se aplicó fertilizante líquido (FERTIFOX) que actúa como activador del follaje, favoreciendo el aumento del crecimiento de hojas y tallos, mejorando su textura y estimulando el crecimiento de brotes. La concentración usada del producto para estas plantas equivale a diluir 0.5 cc en ½ litro de agua. El tratamiento se repitió a los 15 días.

2.2.4. Delimitación de las especies

Delimitación de especies dentro del agregado *T. capillaris*:

En cuanto al complejo *T. capillaris* (Till, 1989a) y sus diferentes tratamientos taxonómicos a lo largo de la historia, se ha decidido adoptar el criterio más actual propuesto por Till (1989a), quien considera como entidades

taxonómicas separadas a las especies *T. capillaris* y *T. virescens*. La elección de adoptar este criterio taxonómico implicó la necesidad reidentificar todo el material de herbario disponible del complejo *T. capillaris*.

T. bryoides Griseb. ex Baker versus *T. bryoides* auct. non Griseb ex Baker

A partir de estudio de los tipos nomenclaturales de *T. bryoides* y el análisis de la descripción original de Grisebach (1879) así como de la enmienda de Smith (1935) y publicaciones posteriores (Castellanos, 1945; Smith & Downs, 1977; Till, 1989b), se ha publicado una especie nueva (Donadío, 2011), estableciendo la designación de un nombre válido para el taxón conocido hasta el momento como *T. bryoides* auct. (Till, 1989b).

T. bryoides Griseb. ex Baker versus *T. pedicellata*

Parte de la solución al problema de *T. bryoides* implicó revisar el holotipo de *T. pedicellata* (Mez) Castellanos (1945), que según Smith (1935) y Smith & Downs (1977) es sinónimo de *T. bryoides* Griseb. ex Baker mientras que Till (1989b) la considera una especie diferente. Nuevamente, la determinación de considerar a estas especies como entidades taxonómicas válidamente diferentes ha implicado la necesidad de reidentificar todo el material de herbario disponible.

2.2.5. Selección de las unidades de estudio

El grupo interno incluyó a la totalidad de especies de *Diaphoranthema* y la elección de las especies del grupo externo se realizó sobre la base de los antecedentes de estudios filogenéticos previos publicados para Bromeliaceae (Gilmartin & Brown, 1986; Terry et al., 1997; Barfuss et al. 2005).

2.3. Resultados

Se distinguieron 28 especies de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* de acuerdo a los criterios de Donadío, 2011; Gouda, 1986; 1988; Hromadnik L. & Till, 1991; Smith & Downs, 1977; Till, 1989a; 1991b; 1995; Till & Hromadnik H., 1983, Till & Hromadnik L., 1984 (tabla 1.2, capítulo 1).

Los problemas planteados para *T. capillaris* y *T. bryoides* se resolvieron de la siguiente manera:

1.) *Tillandsia capillaris* es una especie muy abundante, ampliamente distribuida desde Ecuador hasta el centro de Argentina y comprende formas morfológicas muy variables, por lo que ha sido tratada como: 1) múltiples especies independientes entre sí por autores como Mez (1896) y Castellanos (1945), 2) una única especie subdividida en 5 formas morfológicas (*T. capillaris* f. *capillaris*, *T. capillaris* f. *cordobensis*, *T. capillaris* f. *hieronymii*, *T. capillaris* f. *incana* y *T. capillaris* f. *virescens*) según Smith & Downs (1977), 3) dos especies independientes según Till (1989a), *T. capillaris* y *T. virescens*.

El tratamiento propuesto por Till (1989a) para el complejo *Tillandsia capillaris*, es aparentemente más sencillo ya que a grandes rasgos el autor ha sinonimizado las formas *capillaris*, *hieronymii* e *incana* propuestas por Smith & Downs (1977) bajo la especie *T. capillaris* y ha reelevado a rango de especie a la forma *virescens* incluyendo en su sinonimia a la forma *cordobensis*. Sin embargo, el criterio adoptado por Till (1989a) no concuerda con Smith & Downs (1977) en el tratamiento de los sinónimos ni en los caracteres que utiliza para establecer la delimitación de las especies. La diferencia entre las formas morfológicas descritas por Smith & Downs (1977) para *T. capillaris* están dadas principalmente por el número de nervios y la pilosidad de las brácteas florales, la longitud del escapo en relación a la longitud de las hojas, y la orientación de las láminas respecto al tallo. Till (1989a), en cambio, separa a *T. capillaris* de *T. virescens* principalmente por la pubescencia de las brácteas florales y el grado de fusión de los sépalos.

Simultáneamente al desarrollo de esta tesis, se tomó conocimiento de que una estudiante de la Universidad de Córdoba, Lucía Castello, se encontraba realizando el estudio morfométrico del complejo *Tillandsia capillaris* como tesis de licenciatura para optar al título de Licenciada en Ciencias Biológicas. Los resultados preliminares de su trabajo fueron comentados en comunicación personal. Sin embargo, al momento de la ejecución y redacción de esta tesis, los resultados del trabajo de Castello no se encuentran publicados, razón por la cual se ha resuelto utilizar la clasificación más actual del complejo *T. capillaris* propuesta por Till (1989a).

2.) En cuanto a *Tillandsia bryoides* Griseb. ex Baker, Till (1989b) sugirió que todos los elementos del lectotipo (*P. Lorentz 128*, BM) y los isotipos corresponden en realidad a *T. tricholepis* por lo que *Tillandsia bryoides* fue incluida en la sinonimia de *T. tricholepis*. Sin embargo, los materiales identificados comúnmente como *T. bryoides* pertenecen, según Till (1989b), a una especie aún no formalmente denominada ya que no concuerdan con la especie descrita por Grisebach (1879). Till (1989b) ha denominado a esta especie como *T. bryoides* auct. non Griseb. ex Baker.

Para solucionar estos conflictos y poder establecer los límites taxonómicos entre las especies de *Diaphoranthema*, fue necesario el estudio exhaustivo de los materiales de las especies del subgénero en general, prestando especial atención a aquellas especies taxonómicamente conflictivas y a sus especies afines. Este estudio permitió a su vez delimitar las unidades de estudio incluidas en los análisis filogenéticos desarrollados en los capítulos siguientes de esta tesis.

2.3.1. Delimitación taxonómica de las especies problemáticas

Tillandsia bryoides fue válidamente descrita por J. G. Baker (1878) usando el nombre que le diera A. Grisebach en su trabajo y que aparece en la etiqueta del ejemplar *P. Lorentz 128* (fig. 2.1). En un párrafo separado figuran 4 ejemplares adicionales bajo las siguientes etiquetas: *Gillies s.n.* "On trees and bushes at the foot of the Cordillera, near Mendoza" (= *T. pedicellata* (Mez) A. Cast.); *W. Lobb s.n.* "South Chili" (= *T. tricholepis* Baker); *Glaziou 3124* "Brazil" (= *T. tricholepis*) and *Christie s.n.* "Paraná" (= *T. tricholepis*), todos ellos depositados en K a excepción de *Lorentz 128* que Baker había visto en BM (Till, com. pers.). Un año después, Grisebach (1879) modificó la descripción de *T. bryoides* basándose en el ejemplar "near Córdoba", "near Tucumán" (*Lorentz 73*), y "near Jujuy", pero describiendo hojas más largas (8,5-10 mm contra 6,3-8,5 mm), brácteas más cortas (4,2-5,3 mm contra 6,3-8,5 mm) y descartando la posibilidad de inflorescencias 1-floras (2-3-floras contra 1-3-floras). Nomenclaturalmente Grisebach creó un homónimo inválido al nombre dado por Baker. Medio siglo después, L. B. Smith (1935) enmendó la descripción de *T. bryoides* porque "había sido descrita a partir de un ejemplar mixto y su

descripción original desafortunadamente contenía ambos elementos. Uno de los elementos ya había sido descrito como *T. tricholepis*, por lo que la descripción debía ser enmendada para que concordara con el segundo elemento, no descrito previamente. La única corrección es que las espigas nunca tienen más de una flor solitaria en vez de: 'Flores 1-3' ” (traducción textual de Smith, 1935). Sobre la base de las observaciones de Smith (1935) y de otros datos publicados en su monografía (Smith & Downs, 1977: 879), el ejemplar original sobre el cual Grisebach describió a *T. bryoides* contenía mezcla de individuos de *T. tricholepis* y *T. bryoides* y Smith estableció qué parte del ejemplar correspondía a la descripción de *T. bryoides* enmendada por él, siendo el lectotipo de ese nombre (véase McNeill et al., 2006: Artículo 9.12, ej. 7), y qué parte correspondía a *T. tricholepis*. Smith & Downs (1977) también estableció por primera vez que este lectotipo (que figura como holotipo) se encuentra depositado en BM con un duplicado (isotipo) en M. Estos dos especímenes así como también duplicados en G, GH y WU, resultaron ser *T. tricholepis*.

Basándose en la enmienda y los comentarios hechos por Smith (Smith, 1935; Smith & Downs, 1977), puede inferirse que al menos una parte del ejemplar *P. Lorentz 128* depositado en BM incluye elementos de *T. bryoides*, de acuerdo a la descripción original publicada por Grisebach en Baker (1978) y enmendada por Smith (1935). Sin embargo cuando W. Till (1989b) buscó el lectotipo de *T. bryoides* en BM, lo único que encontró fue media cartulina rotulada como *P. Lorentz 128* con todos sus elementos pertenecientes a *T. tricholepis* (fig. 2.1).

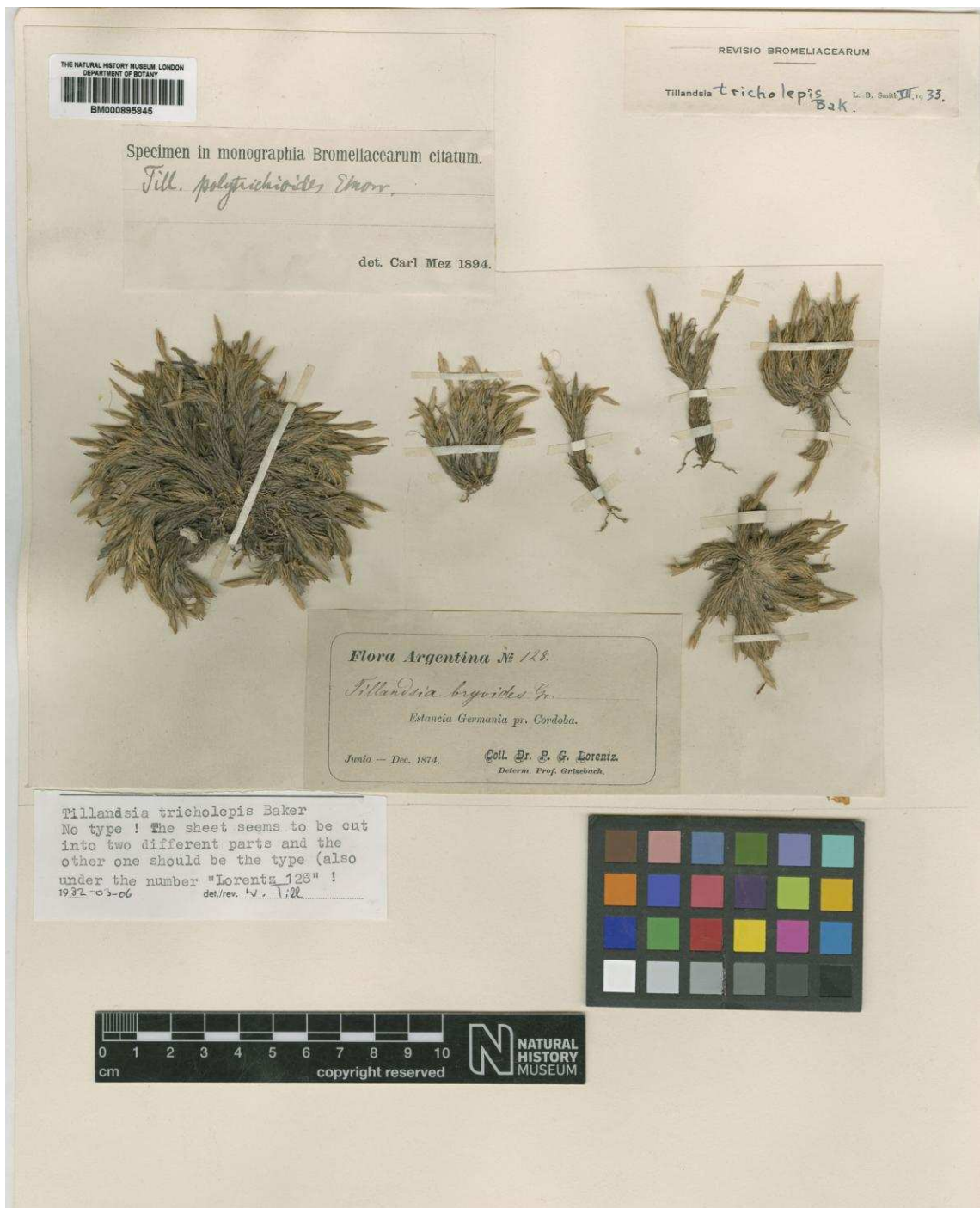


Figura 2.1. Ejemplar P. Lorentz 128 (BM) conteniendo solo elementos de *Tillandsia tricholepis*.

A partir de una reciente consulta a BM, no se ha encontrado ninguna otra cartulina bajo *P. Lorentz 128* en ese herbario (John Hunn, com. pers.). El estudio del duplicado depositado en M (M-0111455) y de un duplicado adicional encontrado en MPU, reveló que ambos contienen solo elementos pertenecientes a *T. tricholepis*. Los herbarios K y particularmente CORD (Hunziker, 1960) y GOET, en los cuales P. Lorentz depositó sus colecciones, no poseen duplicados de *P. Lorentz 128*. Esta búsqueda de isotipos de *T. bryoides* solo evidenció dos viejos especímenes, K000321909 y GOET000424, etiquetados como probables isotipos de *T. bryoides*, aunque sin ninguna información sobre colector o localidad, e incluyendo únicamente elementos de *T. tricholepis*. Todos estos hechos soportan la inclusión de *T. bryoides* a la sinonimia de *T. tricholepis*, ya sugerida por W. Till (1989b). Sin embargo, aún hay un taxón de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* que crece en el centro y noroeste de Argentina, centro de Perú, Bolivia y noroeste de Paraguay, con flores solitarias, sésiles, amarillas y una bráctea floral glabra, que ha sido conocida como *T. bryoides* (cf. Castellanos, 1945; Schinini et al., 2008; Subils, 2009) y que Till (1989b) ha distinguido como *T. bryoides* auct. Como solución a esta problemática se establece un nombre válido para el taxón conocido como *T. bryoides* auct., designándolo como nueva especie: *Tillandsia minutiflora* Donadío (Donadío, 2011).

Tillandsia minutiflora Donadío, sp. nov. TIPO: Argentina, San Juan, Depto. Valle Fértil, San Agustín de Valle Fértil, ladera del cerro, frente camping ACA, 850 m s.m., sobre *Acacia*, 14/XII/1987, M. E. Múlgura, C. Antuña & E. A. Ulibarri 704 (holotype SI). Fig. 2.2.

Tillandsiae tricholepidi similis, sed caulibus brevioribus, 1,5-3,5(-6) cm longis, foliis 3-nervatis, angustioribus, 0,5 mm latis; pedunculi semper reductis et 1-floris et bractea florali glabra, 1-nervia, mediae sepalorum aequans bene differt.

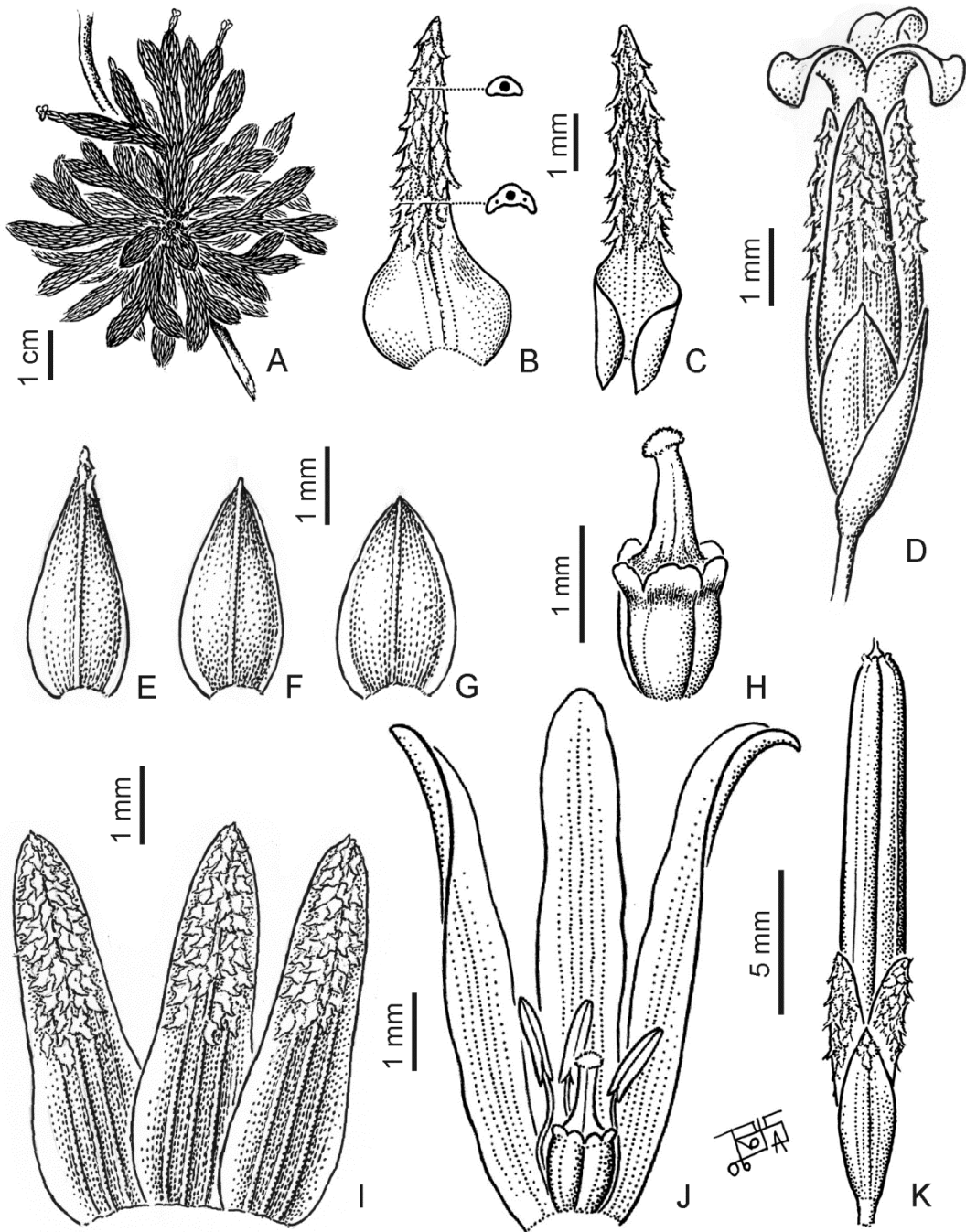


Figura 2.2. *Tillandsia minutiflora* sp. nov.: **A**, habito; **B-C**, hojas; **D**, flor con bráctea floral (frente) y una bráctea del pedúnculo (derecha); **E-F**, brácteas del pedúnculo; **G**, bráctea floral; **H**, gineceo; **I**, cáliz, vista abaxial; **J**, corola desplegada, androceo (parte) y gineceo; **K**, fruto. De *M. E. Múlgura et al. 704* (SI), tomado de Subils (2009) con modificaciones.

Descripción

Epífita, hierba diminuta, perenne, con raíces reducidas, adhesivas. Tallos cortos, 1,5-3,5(-6) x 0,3 cm (hojas incluidas). Hojas densamente imbricadas, espiraladas, adpresas, erectas, 5,5-6 x 0,5-0,7 mm; vainas delgadas, translúcidas, 2 x 1,7 mm, 3-nervadas, lámina cortamente subulada, 3,5-4 x 0,5-0,7 mm. Inflorescencia reducida a 1 flor parcialmente escondida entre las hojas apicales. Pedúnculo floral muy corto o reducido, nunca elongándose durante la maduración del fruto. Brácteas del pedúnculo 2, similares a las hojas (en forma), pero 1-nervadas (excepcionalmente 3-nervadas) y sin ápice folioso, 2,5-3,5 x 1,2-1,4 mm. Bráctea floral subulada, delgada, glabra (excepcionalmente con 2 ó 3 tricomas apicales), 1-nervada, la mitad del largo de los sépalos, 2,5-3 x 1,5 mm. Flores diminutas, 6,5 x 1,5 mm (diámetro del tubo del cáliz). Sépalos lanceolados, (4-)5(-7)-nervados, 4,8-5,5 x 1,2 mm, densamente lepidotos en su mitad distal. Pétalos lineares-oblongos, 5,5-6,5 x 1 mm, amarillos. Estambres 2,6 mm de longitud, profundamente inclusos, anteras al nivel del estigma, 1,1 mm. Gineceo 2 mm, ovario tan largo como el estilo, estigma subcapitado. Óvulos numerosos. Cápsula cilíndrica, oblonga, 20 x 0,5-1 mm, valvas rectas. Semillas numerosas, comosas.

Distribución y hábitat

Tillandsia minutiflora crece desde el centro de Perú (Till, 1989b, sub *T. bryoides* auct.) hacia Bolivia y hasta el noroeste de Paraguay y centro de Argentina, con un área disyunta en el sur de Buenos Aires (Sierra de la Ventana). Su distribución geográfica incluye áreas con altitudes entre los 600 y los 2600 m (Till, 1989b, sub *T. bryoides* auct.). *Tillandsia minutiflora* es una especie epífita que crece usualmente en arbustos y árboles pequeños en la provincia fitogeográfica “del Monte”, pero que también puede colonizar rocas.

Observaciones

Tillandsia minutiflora es morfológicamente cercana a *T. tricholepis*, y difiere por los tallos más cortos y delgados, las hojas más angostas con vaina 3-nervada, las brácteas 1-nervadas (las del pedúnculo y la floral), las inflorescencias siempre 1-floras, con un pedúnculo muy reducido que no se

elonga durante la maduración del fruto, y una bráctea floral glabra y más corta que los sépalos.

Luego del estudio de varios ejemplares de herbario y el cultivo de material abundante de *T. tricholepis*, existe fuerte evidencia morfológica para considerar a *T. pedicellata* como un taxón válido e independiente de *T. tricholepis*, ya que el primero posee flores púrpura intenso, sépalos glabros y 3-nervados, brácteas 1-nervadas, y hojas con vainas 3-nervadas. Para clarificar los límites entre *Tillandsia tricholepis*, *T. pedicellata*, y la nueva especie *T. minutiflora*, se presenta una tabla comparativa (tabla 2.1).

Tabla 2.1. Diferencias morfológicas entre *Tillandsia tricholepis* Baker, *T. minutiflora* Donadío y *T. pedicellata* (Mez) Castellanos.

Carácter	<i>T. tricholepis</i>	<i>T. minutiflora</i>	<i>T. pedicellata</i>
Tallos, longitud	Largos (4-)7-11(-15) cm.	Cortos 1,5-3,5(-6) cm.	Cortos 1,5-3,5(-6) cm.
Ramas, diámetro (hojas incluidas)	4-6 mm	3 mm	5 mm
Hojas (frescas)	6-9 x 1,5 mm	5,5-6 x 0,5-0,7 mm	7,5 x 0,8 mm
Lámina foliar, posición	Adpresa recta (erguida, erecta), o patente recta a levemente recurvada	Adpresa recta (erguida, erecta)	Adpresa recta (erguida, erecta)
Vaina foliar, nerviación	5-nervada	3-nervada	3-nervada
Inflorescencia, número de flores	Pocas, (1-)2-5(-7)	1-flora	1-flora
Inflorescencia, pedúnculo en antesis	Desarrollado	Reducido	Reducido
Inflorescencia, pedúnculo en fructificación	Desarrollado a reducido	Reducido	Desarrollado (a veces reducido)
Brácteas (pedúnculo y flores), nerviación	6-7-nervadas	1-nervadas	1-nervadas
Brácteas (pedúnculo), diferenciación respecto de las hojas	Bien diferenciadas de las hojas (en forma), con ápice folioso acortándose hacia la zona distal del pedúnculo	Similares a las hojas (en forma), pero 1-nervadas y sin ápice folioso	Similares a las hojas (en forma) pero 1-nervadas y con ápice folioso acortándose hacia la zona distal del pedúnculo

Carácter	<i>T. tricholepis</i>	<i>T. minutiflora</i>	<i>T. pedicellata</i>
Brácteas (pedúnculo), número	2-6	2	2
Brácteas (pedúnculo en fructificación), disposición	Dispersas a lo largo del pedúnculo	No corresponde	Solo en la base (cuando el pedúnculo desarrolla)
Brácteas (pedúnculo), pubescencia	Densamente lepidotas en toda la superficie	Algo lepidotas en el margen y el ápice	Densamente lepidotas en el ápice
Bráctea floral, longitud relativa	Tan larga como los sépalos	½ de la longitud de los sépalos	Tan larga como los sépalos
Bráctea floral	Sin ápice folioso	Sin ápice folioso	Con ápice folioso
Bráctea floral	Densamente lepidota en toda la superficie	glabra	Densamente lepidota en el ápice
Sépalos, nerviación	7-nervados	(4-)5(-7)-nervados	1-3-nervados
Sépalos, pubescencia	Algo lepidotos en el ápice	Densamente lepidotos en la ½ apical	Glabros
Flor, color	Amarilla	Amarilla	Violeta oscuro

2.3.2. Selección de las unidades de estudio

En cuanto a la elección y delimitación de las unidades taxonómicas de estudio a ser incluidas en el análisis cladístico, el grupo interno está conformado por la totalidad de las especies (28) de *Diaphoranthema* citadas en la tabla 1.2 (capítulo 1). El grupo externo está conformado por tres especies de *Tillandsia* subgen. *Phytarrhiza* (*T. crocata*, *T. mandonii* y *T. porongoensis*), una especie de *Tillandsia* subgen. *Anoplophytum* (*T. aëranthos*), una especie de *Tillandsia* subgen. *Allardtia* (*T. australis*), y una especie de *Vriesea* (*V. friburgensis*). Esta última especie constituirá la raíz de los árboles filogenéticos presentados en los capítulos subsiguientes de esta tesis.

2.4. Conclusiones y discusión

La revisión cuidadosa del material de herbario (ca. 700 ejemplares) y de las plantas vivas en cultivo (ca. 800 individuos) así como también la realización de observaciones de campo han revelado ciertos conflictos taxonómicos que fue necesario resolver para establecer la delimitación de las unidades de estudio.

En cuanto al complejo *T. capillaris* (Till, 1989a) y sus diferentes tratamientos taxonómicos a lo largo de la historia, se ha decidido adoptar el criterio más actual propuesto por Till (1989a), quien considera como entidades taxonómicas separadas a las especies *T. capillaris* y *T. virescens*.

En cuanto a *T. bryoides* auct., se han resuelto los problemas nomenclaturales y taxonómicos dando lugar a la publicación de una nueva especie para la ciencia: *Tillandsia minutiflora* (Donadío, 2011). Se ha proporcionado una ilustración detallada de la especie, datos de distribución y una discusión sobre sus relaciones con las especies morfológicamente más afines. *Tillandsia pedicellata* se considera una especie válida e independiente.

Por otro lado resultó indispensable contar con material coleccionado y determinado por los autores de las especies más recientemente descritas para el subgénero *Diaphoranthema*, para poder estudiar e incluir a estas especies en el estudio y obteniendo así el muestreo completo de *Tillandsia* subgen *Diaphoranthema*. El grupo interno está conformado por las 28 especies de *Diaphoranthema* y el grupo externo está compuesto por especies de los

subgéneros *Phytarrhiza*, *Anoplophytum* y *Allardtia* y una especie del género *Vriesea* que se utilizará como raíz en los análisis filogenéticos.

CAPITULO 3

Definición y análisis de los caracteres morfológicos y reproductivos utilizados en el estudio filogenético

3.1. Introducción

La subfamilia Tillandsioideae presenta una estructura vegetativa muy particular como resultado de su adaptación a la forma de vida de epífito. Básicamente las modificaciones más importantes afectan las raíces, que sólo cumplen la función de fijación pero no la de absorción o incluso pueden estar ausentes por completo, y las hojas cubiertas por tricomas peltados de simetría radial cuyo pedículo célula basal (y también el pie) tiene la capacidad de absorber el agua condensada o depositada sobre las hojas (Smith & Downs, 1977; Smith & Till, 1998; Benzing, 2000).

En lo que respecta al resto de la estructura vegetativa, las especies de *Tillandsia* responden a una monocotiledónea típica, con hojas de naturaleza filodial, rosuladas o distribuidas a lo largo del tallo, ligulares, triangulares o lineares, con base envainadora y filotaxis espiralada o dística, y raíces adventicias. En cuanto a las estructuras reproductivas, las inflorescencias de las especies de *Tillandsia* son tirsoideas, usualmente formada por espigas dísticas, raramente reducidas a una única espiga espiralada o a una sola flor. Las flores son perfectas, con sépalos libres, simétrica o adaxialmente connados y pétalos libres, desnudos. Los estambres varían en su longitud respecto a los pétalos y el gineceo de acuerdo a los diferentes subgéneros (Smith & Downs, 1977; Smith & Till, 1998) al igual que el estigma que puede ser de los tipos conduplicado-espiral, simple-erecto, coraliforme, o de lámina-convoluta (Brown & Gilmartin, 1989a; Smith & Till, 1998). El ovario es supero, con varios óvulos anátropos, caudados u obtusos en el extremo calazal, y las semillas son fusiformes con apéndice basal plumoso (Smith & Downs, 1977; Smith & Till, 1998)

Los caracteres morfológicos tradicionalmente utilizados en la sistemática de las especies del subgénero *Diaphoranthema* son: la filotaxis, la forma, sección transversal de la lámina y su longitud, ancho y disposición respecto al tallo; el número de nervios en la vaina foliar, la longitud del tallo y del escapo floral, el número de brácteas y flores, la nerviación y pubescencia en la bráctea

floral y los sépalos y el grado de fusión de estos últimos (Smith & Downs, 1977; Castellanos 1945).

A primera vista, las especies del subgénero *Diaphoranthema* parecen tener una morfología muy uniforme. Sin embargo en estudio morfológico detallado realizado en esta tesis permitió reconocer casi un centenar caracteres morfológicos, sin contar los caracteres anatómicos del tallo y la hoja. Ante este panorama tan rico y extenso, se decidió acotar el estudio de los caracteres morfológicos sólo a la exomorfología de los tallos, hojas, inflorescencia, las flores y los frutos, sin entrar en detalle con los caracteres anatómicos por el momento. Como excepción se realizó el análisis de algunos caracteres seminales pues estaban estrechamente relacionados con la poliembrionía, y porque algunos antecedentes señalan la presencia de caracteres seminales con valor comprobado dentro de las Tillandsioideae (Szidat, 1922; Gross, 1988; Magalhães & Mariath, 2012) incluyendo dentro de ellos la poliembrionía en especies de *Tillandsia* (Gross, 1985; 1988; Subils, 1973). Asimismo, la estructura de las semillas de las plantas epífitas suele estar estrechamente relacionada con las adaptaciones a la vida epífita. Por esa razón se le dedica una atención más profunda a esta estructura.

La morfología de semillas de las Bromeliaceae, especialmente la ausencia o presencia de apéndices tegumentarios, su naturaleza y posición, es un carácter de importancia taxonómica tanto para diferenciar las tres subfamilias tradicionalmente conocidas (Bromelioideae, Pitcairnioideae, y Tillandsioideae) como así también para la circunscripción de ciertos géneros dentro de las Tillandsioideae (Smith & Downs, 1974, 1977; Gross, 1988; Palací et al., 2004). De esta manera las semillas de las Bromeliáceas se dividen según sus caracteres externos de modo análogo a la clasificación sistemática de la familia (Szidat, 1922). Más aún, en su estudio de semillas de Bromeliáceas, Gross (1988) resaltó la importancia de la morfología de las semillas en el campo de la sistemática y taxonomía de la familia, y aseguró que es posible la distinción entre semillas incluso a nivel de especie para un mismo género (a excepción de Bromelioideae). La mayor variabilidad encontrada en semillas de la subfamilia Tillandsioideae respecto a Bromelioideae explica la más reciente divergencia filogenética de las especies de Tillandsioideae.

Las semillas de Tillandsioideae, adaptadas a la anemocoria, tienen una estructura común caracterizada por la presencia de apéndices plumosos apicales y basales (desarrollados en mayor o menor medida según el género) que funcionan como dispositivo de vuelo (Szidat, 1922; Smith & Downs, 1974; Gross, 1988). A eso se agregan, en las epífitas extremas del género *Tillandsia*, la presencia de órganos peculiares de agarre y sujeción al sustrato y de dispositivos capilares que procuran condiciones favorables para la germinación incluso en sitios secos e infértiles, características que se interpretan como adaptaciones más recientes al epifitismo a lo largo de la evolución de la familia (Szidat, 1922). En *Tillandsia*, el apéndice plumoso es total o predominantemente basal y recto a la madurez (apéndice micropilar), (fig. 3.1.a). Dicho apéndice es generado a partir del crecimiento del tegumento externo cuyas células, al alcanzar la madurez de la semilla, se separan en hileras con forma de pelos que forman el aparato de vuelo. Así, la capa externa del tegumento externo se desagrega dando lugar a “pelos” uniseriados que permanecen unidos a la capa interna del tegumento solo por su porción basal y cuyas células poseen su extremo distal ahorquillado (estructura posiblemente relacionada a favorecer la fijación de la semilla al sustrato) (fig. 3.2.a,b); mientras que la capa interna del tegumento externo también se desagrega en forma de pelos pero en este caso no poseen dichos extremos celulares ahorquillados y algunos de ellos se separan en sentido contrario a los primeros, quedando adheridos al cuerpo de la semilla propiamente dicha (Müller, 1895; Szidat, 1922; Smith & Downs, 1974), (fig. 3.1.a). Así el apéndice basal y la totalidad del tegumento externo, formado por ambos estratos de pelos, se transforma en el aparato de vuelo tomando la apariencia de una doble sombrilla con pelos blancos de brillo sedoso (Müller, 1895; Szidat, 1922; Gross, 1988), (fig. 3.1.a). El apéndice apical (calazal), también dado por el tegumento externo, es igualmente blanco y de brillo sedoso pero siempre bastante más corto que el apéndice basal y puede estar finamente dividido (Szidat, 1922) (fig. 3.2.c).

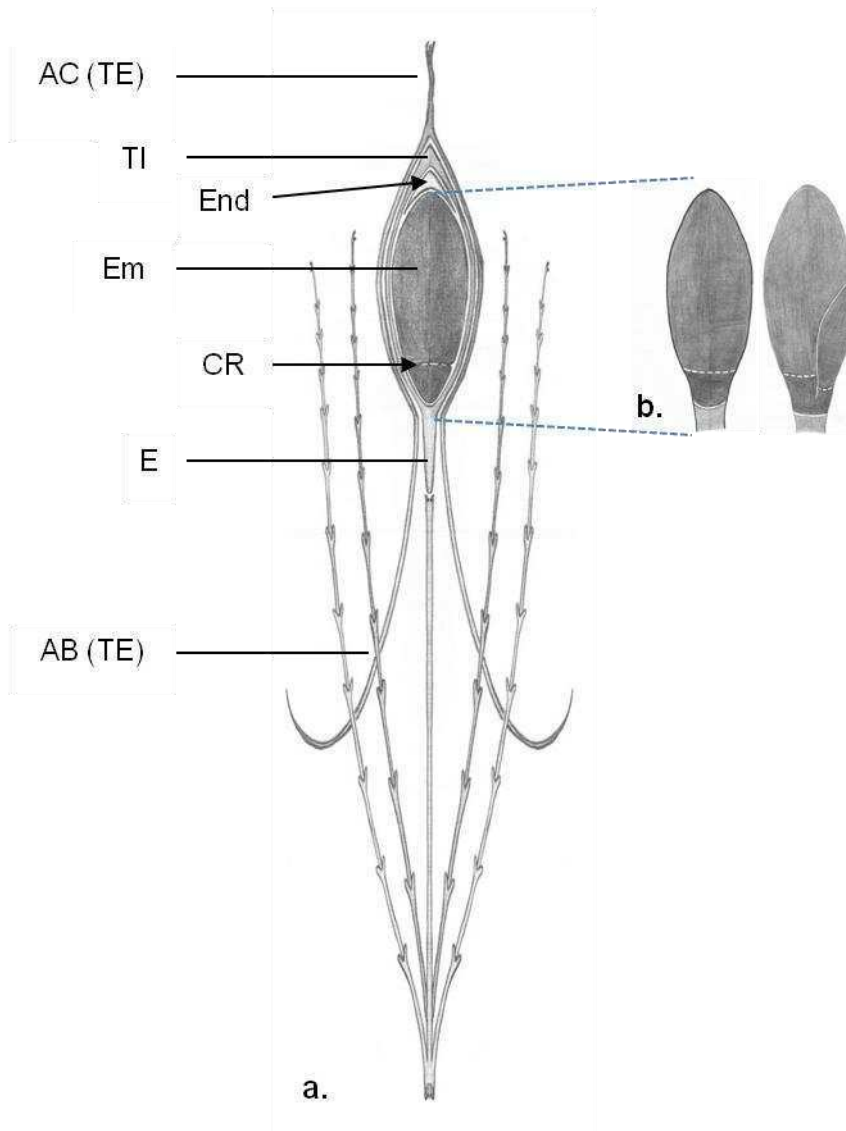


Figura 3.1. a. Esquema de la semilla de *Diaphoranthema*. Referencias: AC (apéndice calazal o apical), AB (apéndice basal o micropilar), CR (constricción radicular del embrión), E (endostoma), Em (embrión), End (tejido de reserva), TE (tegumento externo), TI (tegumento interno). **b.** Esquema del embrión en una semilla sin poliembrionía y con poliembrionía respectivamente. Se observa en este último la lateralidad y menor tamaño de los embriones accesorios.

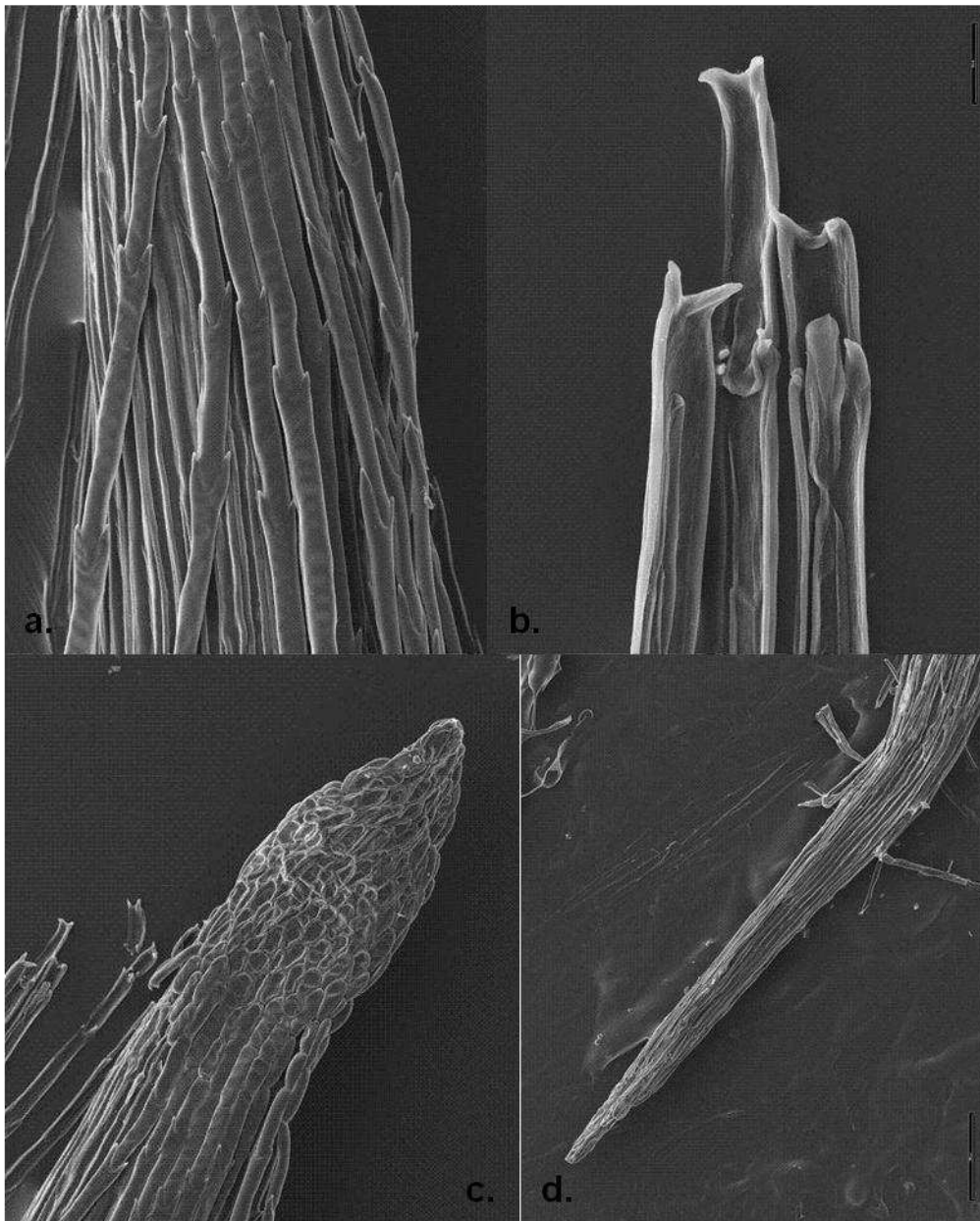


Figura 3.2. **a.** Foto tomada con MEB de la capa externa del tegumento externo, correspondiente al apéndice basal (AB), en la que se observan las hileras de “pelos” cuyas células poseen extremo distal ahorquillado. **b.** Foto tomada con MEB del extremo de los “pelos” del AB cuya estructura está posiblemente relacionada a favorecer la fijación de la semilla al sustrato. **c.** Foto del apéndice calazal (AC) tomada con MEB. **d.** Foto tomada con MEB del endostoma (E).

Estudios realizados en semillas de bromeliáceas indican que el embrión posee un rol importante en la taxonomía de la familia (Gross, 1988; Magalhães & Mariath, 2012). Incluso en varias especies de *Tillandsia* se ha detectado la presencia de poliembrionía (Suessenguth, 1921; Subils, 1973; Gross, 1985, 1988), especialmente como un rasgo característico y frecuente del subgénero *Diaphoranthema* (Gross, 1985, 1988), (fig. 3.1.b). Sin embargo, todavía no resulta claro el tipo de poliembrionía presente en la familia Bromeliaceae así como tampoco el origen de los embriones accesorios en especies de *Tillandsia* (Gross, 1985).

Generalmente, el embrión de las bromeliáceas ocupa un tercio a un cuarto del volumen seminal (Smith & Downs, 1974; Gross, 1985; Magalhães & Mariath, 2012). En el caso de las Tillandsioideas, el embrión ocupa normalmente un cuarto de la semilla llegando a ser bastante grande en *Tillandsia* donde a veces puede ocupar más de la mitad del interior de la semilla (Szidat, 1922; Gross, 1988; Magalhães & Mariath, 2012). Los embriones de *Diaphoranthema* llenan casi por completo la semilla a excepción de la micrópila y solo dejan lugar a un pequeño residuo de endosperma en la región calazal ubicada en el ápice de la semilla que incluso en ciertas especies puede llegar a ser consumido por completo (Gross, 1985) (fig. 1a).

La zona micropilar de las semillas es de fundamental importancia para la germinación y en *Diaphoranthema* está caracterizada por una delgada prolongación hueca en su interior, en forma de un largo tubo, que porta en su extremo un engrosamiento “verrugoso”. La función de este canal micropilar o endostoma y su estructura es favorecer la absorción, transporte y retención de agua, constituyéndose así en un verdadero dispositivo (u órgano) capilar que procura las condiciones necesarias para la germinación incluso en ambientes extremadamente áridos (Szidat, 1922; Gross, 1985), (figs. 3.1.a y 3.2.d).

Gross (1988) clasifica a las semillas de *Tillandsia* en 10 tipos sobre la base de las diferencias encontradas fundamentalmente en la estructura del endostoma (aquí denominado E, figs. 3.1.a y 3.2.d), entre otras características analizadas como ser el mechón calazal (aquí denominado AC, figs. 3.1.a y 3.2.c), los pelos del apéndice plumoso (aquí denominado AB) y sus células terminales (figs. 3.1.a y 3.2.a,b), el exostoma y el embrión (aquí denominado EM, fig. 3.1.a,b). Las semillas de especies de *Diaphoranthema* están

comprendidas bajo 2 de los 10 tipos morfológicos de endostoma propuestos por Gross (1988): el *tipo cotagaitensis* y el *tipo bryoides*, considerados como los tipos más derivados de su clasificación (tabla 3.1). El *tipo cotagaitensis* (o también llamado *tipo m*) es un endostoma largamente cilíndrico, con región apical escalonada cuyas células no están colapsadas y el exotegumento está en parte desprendido, mientras que el endostoma de *tipo bryoides* (o también llamado *tipo n*) es similar al anterior con la diferencia de que su región apical no está definida, es muy delgada y no escalonada. Según la autora, el endostoma en *Tillandsia* ha evolucionado hacia el *tipo bryoides*.

Tabla 3.1. Resumen de las especies de *Diaphoranthema* con endostoma de tipo *cotagaitensis* (tipo *m*) o tipo *bryoides* (tipo *n*) según Gross (1988).

Especie	Endostoma	
	Tipo <i>cotagaitensis</i> Tipo <i>m</i>	Tipo <i>bryoides</i> Tipo <i>n</i>
<i>T. aizoides</i>	*	
<i>T. andicola</i>	*	
<i>T. angulosa</i>		*
<i>T. brealitoensis</i>	*	
<i>T. caliginosa</i>	*	
<i>T. capillaris</i>	*	
<i>T. castellanii</i>		*
<i>T. cotagaitensis</i>	*	
<i>T. erecta</i>	*	
<i>T. gilliesii</i> subsp. <i>gilliesii</i>	*	
<i>T. gilliesii</i> subsp. <i>polysticha</i>	*	
<i>T. hirta</i>	*	
<i>T. loliacea</i>		*
<i>T. minutiflora</i>		*
<i>T. myosura</i>	*	
<i>T. pedicellata</i>		*
<i>T. rectangula</i>	*	
<i>T. recurvata</i>		*
<i>T. spiralipetala</i>		*
<i>T. tricholepis</i>		*
<i>T. usneoides</i>	*	
<i>T. virescens</i>	*	

3.2. Materiales y métodos

Los caracteres morfológicos se estudiaron a partir de los mismos materiales de herbario, fijados en FAA y ejemplares en cultivo mencionados en el capítulo 2 (apéndice 1). La exomorfología se estudió con una lupa estereoscópica binocular Nikon SMZ2800 y con un microscopio Zeiss Standart 28 del Laboratorio de Anatomía y Desarrollo del IBODA (CONICET). Para la observación de algunos caracteres seminales se diafanizaron las semillas con ácido láctico y alcohol polivinílico (Ruzin, 1999). Las semillas diafanizadas se montaron en preparaciones semipermanentes con un medio basado en alcohol polivinílico y se observaron con microscopía de luz blanca. La presencia de cristales en las estructuras florales se observaron a la lupa durante la disección de las flores y su identificación se realizó con observación microscópica entre polarizadores cruzados.

3.2.1. Ensayos de autogamia y cleistogamia

Para determinar la presencia de autogamia y cleistogamia en las especies de *Tillandsia*, se realizaron ensayos de embolsado de las plantas sobre el material cultivado. Previo a su floración, las plantas fueron embolsadas con tul para evitar la visita de posibles polinizadores durante la antesis (Jones & Little, 1983). Estos ensayos garantizan que aquellas especies capaces de fructificar y generar semillas fértiles en esas condiciones, son autógamas (al menos facultativamente).

La información sobre las especies autogámicas se tomó de la bibliografía (Billings, 1904; Birge, 1911; Garth, 1964; Gilmartin & Brown, 1985; Gouda, 1988; Mc Williams, 1974; Till, 1989a; 1992b) y de las observaciones realizadas a partir de los ensayos con el material vivo en cultivo.

3.2.2. Poliembrionía

La identificación de embriones supernumerarios se realizó a partir de la observación de semillas de material de herbario a 63X bajo microscopio óptico. La poliembrionía se observó también por disección de semillas bajo lupa (Subils, 1973). Se consideraron como especies poliembriónicas (estado 1) a aquellas especies en las que al menos una de las semillas analizadas contaba con embriones accesorios. Se tuvieron en consideración también las especies reportadas como poliembriónicas en la bibliografía (Subils, 1973; Gross, 1985, 1988).

3.2.3. Selección de los caracteres

En cuanto a la selección de los caracteres exomorfológicos se confeccionó una lista preliminar de caracteres cualitativos vegetativos y reproductivos de interés a partir de la revisión la bibliografía taxonómica (Gouda, 1986; 1988; Hromadnik L. & Till, 1991; Castellanos, 1945; Smith & Downs, 1977; Till, 1989a,b; 1991a,b; 1992a; 1995; Till & Hromadnik H., 1983, Till & Hromadnik L., 1984). Además, el estudio de material de herbario, fijado y cultivado permitió la identificación de nuevos caracteres morfológicos, como así también precisar la interpretación de estructuras utilizadas en la taxonomía de las especies de este grupo.

Como dato adicional se realizó una investigación bibliográfica sobre el número cromosómico de las especies de *Diaphoranthema* para agregar este dato al análisis filogenético. Los datos sobre el nivel de ploidía fueron tomados de la literatura (Brown & Gilmartin, 1986; 1989b; Till, 1992b).

3.3. Resultados

A partir del estudio detallado de la bibliografía y los materiales se seleccionaron 87 caracteres cualitativos, 23 vegetativos y 63 reproductivos, a los que se suma el carácter sobre el nivel de ploidía tomado de la literatura.

La tabla 3.2 indica el número de caracteres seleccionados para cada estructura vegetativa y reproductiva.

Tabla 3.2. Cantidad de caracteres vegetativos y reproductivos seleccionados para la confección de la matriz de datos usada en el análisis filogenético morfológico.

Caracteres (Cantidad total)	Caracteres relacionados con	Cantidad de caracteres seleccionados	Caracteres N°
VEGETATIVOS (23)	Hábito	1	0
	Sustrato	1	1
	Raíz	1	2
	Tallo	3	3 - 5
	Hojas	17	6 - 22
REPRODUCTIVOS (63)	Inflorescencia	21	23 - 43
	Bráctea floral	11	44 - 54
	Sépalos	11	55 - 65
	Pétalos	6	66 - 71
	Androceo	3	72 - 74
	Gineceo	3	75 - 76 + 85
	Fruto	2	77 - 78
	Semilla	5	79 - 83
	Autogamia	1	84
PLOIDÍA (1)	Nivel	1	86

A continuación se expone la lista de caracteres y su codificación, así como también observaciones adicionales sobre algunos de ellos.

Lista de caracteres morfológicos y su codificación

Vegetativos

Carácter 0: Plantas (hábito, formas de crecimiento)

0. erectas, no ramificadas o con escasas ramificaciones de posición basal, acaulescentes con tallos muy breves de entrenudos muy cortos, arrosietadas, de porte mediano a grande
1. erectas, no ramificadas o con escasas ramificaciones de posición basal, caulescentes con tallos de entrenudos visibles, de porte mediano
2. plantas que forman “conglomerados” muy ramificadas en la base y moderadamente ramificadas en la porción media y apical de los tallos, con tallos largos de entrenudos visibles y porte mediano a grande
3. plantas que forman “bolas” u “ovillos”, muy ramificadas en la base y moderadamente ramificadas en la porción media y apical de los tallos, con tallos cortos de entrenudos visibles o no y porte mediano a pequeño
4. plantas que forman “cortinas” o “barbas”, con ramificaciones casi exclusivamente apicales, con tallos filiformes, péndulos, de entrenudos visibles y porte pequeño

Carácter 1: Plantas

0. plantas terrestres
1. plantas epífitas
2. plantas saxícolas

Dato tomado de etiquetas y material de herbario, de observaciones hechas en el campo y/o de la bibliografía.

Carácter 2: Sistema radicular

0. basal (raíces solo en la base del tallo)
1. extendido (raíces a lo largo del tallo)

Tallos

Carácter 3: Desarrollo

0. acaulescentes
1. caulescentes

Carácter 4: Longitud

0. cortos (< 3 cm)
1. medianos (> 3 cm; < 15 cm)
2. largos (> 15 cm)

Carácter 5: Grado de ramificación

0. poco o nada ramificados
1. muy ramificados

Hojas

Carácter 6: Filotaxis de la planta adulta

0. espiralada (más de 2 ortósticos)
1. dística

Carácter 7: Disposición u orientación de la lámina respecto del tallo

0. adpresa recta (erecta)
1. patente extendida, arqueada o recurvada (en un sentido) o en forma de "S"
2. patente enroscada en forma de espiral (circinada)

Carácter 8: Indumento de la lámina

0. inconspicuo, tricomas diminutos (a ojo desnudo aparenta ser glabro) y esparcidos (no contiguos, separados entre sí)
1. conspicuo, denso, tricomas de mayor tamaño (lepidoto a simple vista, muchas veces de aspecto grisáceo) y contiguos, imbricados o solapados

Carácter 9: Forma de la lámina (contorno)

- 0. linear
- 1. triangular

Carácter 10: Ápice foliar

- 0. punzante al tacto
- 1. no punzante

Carácter 11: Quilla apical

- 0. presente
- 1. ausente

Carácter 12: Sección transversal de la zona media de la lámina

- 0. plana
- 1. canaliculada
- 2. circular (lámina terete)

Carácter 13: Codo en la lámina

- 0. ausente
- 1. presente

Carácter 14: Carena foliar (cara abaxial de la lámina)

- 0. ausente
- 1. presente

Carácter 15: Longitud de la lámina

- 0. > a 2cm
- 1. \leq a 2cm

Carácter discretizado a priori según la clave de Smith & Downs (1977).

Carácter 16: Ancho de la lámina en su zona media

- 0. > 2mm
- 1. \leq 2mm

Carácter discretizado a priori según la clave de Smith & Downs (1977) y medido en el material deshidratado (material de herbario).

Carácter 17: Aspecto externo de la vaina (vista sobre el tallo)

0. siguiendo gradualmente la línea de la lámina
1. notoria unión entre vaina y lámina

Carácter 18: Porción cerrada de la vaina

0. ausente, vainas abiertas
1. presente, vainas cerradas

Carácter 19: Margen de la vaina (indumento)

0. glabra
1. con tricomas de igual morfología a los de la lámina
2. ciliados o pestañosos, con tricomas diferenciados respecto a los de la lámina

Carácter 20: Cara abaxial de la vaina (indumento)

0. glabra
1. lepidota

Carácter 21: Nº de nervios de la vaina

0. más de 25
1. entre 16 y 25
2. entre 12 y 16
3. entre 8 y 11
4. entre 5 y 7
5. 3 nervios

Carácter 22: Distribución de los nervios

0. en el centro de la vaina
1. todo a lo ancho de la vaina

Reproductivos

Inflorescencias

Carácter 23: Desarrollo del escapo fructífero

0. ausente o si presente, escapo muy corto no visible, inserto, oculto entre las hojas
1. presente, escapo excerto, bien visible

Carácter 24: Longitud del escapo florífero

0. igual a la longitud del escapo fructífero
1. menor a la longitud del escapo fructífero

Carácter 25: Entrenudo/s del escapo (indumento)

0. glabro/s en toda su extensión
1. lepidoto/s en toda su extensión
2. glabro en la base y lepidoto en ápice

Carácter 26: Densidad del indumento del escapo

0. algunos tricomas, pocos y esparcidos
1. muchos tricomas, contiguos

Carácter 27: N° de brácteas del escapo (N° de entrenudos del escapo -1)

0. 0
1. 1
2. 2
3. 3
4. 4
5. 5
6. 6
7. 7
8. 8
9. 9

Carácter 28: Aspecto de las brácteas del escapo (eje principal de la inflorescencia)

0. brácteas con aspecto de hojas
1. brácteas con aspecto de hojas que progresivamente toman aspecto de bráctea a lo largo del escapo
2. brácteas netamente diferenciadas

Carácter 29: Desarrollo del escapo

0. presencia de varios entrenudos igualmente desarrollados, de similar longitud, brácteas esparcidas a lo largo del eje principal de la inflorescencia
1. presencia de 2 o más entrenudos desigualmente desarrollados, brácteas basales y/o apicales y/o intermedias
2. presencia de un único entrenudo, ausencia de brácteas en el eje principal de la inflorescencia

Carácter 30: Nº de nervios en la bráctea del escapo más distal (la bráctea del escapo situada por debajo de la bráctea floral)

0. más de 19
1. 19
2. 13 o 15
3. 11
4. 9
5. 7
6. 5
7. 1 o 3

Carácter 31: Cara abaxial de las brácteas del escapo (indumento)

0. todas las brácteas son glabras
1. todas las brácteas son lepidotas
2. las brácteas basales son lepidotas, las brácteas apicales glabras

Carácter 32: Distribución del indumento en las brácteas del escapo (cara abaxial)

0. uniforme a lo largo de toda la bráctea
1. solo en el ápice

Carácter 33: Cantidad de tricomas en las brácteas del escapo (cara abaxial)

0. pocos, algunos
1. muchos

Carácter 34: Disposición de tricomas en las brácteas del escapo (cara abaxial)

0. esparcidos, separados entre sí, no contiguos
1. contiguos, imbricados o solapados entre sí

Carácter 35: Cara adaxial de las brácteas del escapo (indumento)

0. glabras
1. lepidotas

Carácter 36: Ápice foliáceo en las brácteas del escapo

0. ausente
1. presente

Carácter 37: Paracladios largos

0. ausentes
1. presentes

Carácter 38: Nº de flores

0. más de 15 (inflorescencia multiflora)
1. 1 (inflorescencia 1-flora)
2. 2 (inflorescencia 2-flora)
3. 3 (inflorescencia 3-flora)
4. 4 (inflorescencia 4-flora)
5. 5 (inflorescencia 5-flora)

6. entre 6 y 12 flores

Carácter 39: Filotaxis del eje principal de la inflorescencia

0. espiralada
1. dística

Carácter 40: Tipo de ramificación del eje principal de la inflorescencia

0. racemosa
1. cimosa

Carácter 41: Raquis (eje principal de la inflorescencia)

0. recto
1. flexuoso

Carácter 42: Raquis (indumento)

0. glabro
1. lepidoto

Carácter 43: Densidad del indumento del raquis

0. algunos tricomas, pocos y esparcidos
1. muchos tricomas, contiguos

Flores

Brácteas florales:

Carácter 44: Quilla

0. presente
1. ausente

Carácter 45: Apariencia de los nervios

0. nervios prominentes, sobresalidos
1. nervios no prominentes, no sobresalidos

Carácter 46: N° de nervios (en la bráctea floral de la flor más basal de la inflorescencia)

- 0. 25 o más
- 1. 1
- 2. 3
- 3. 5
- 4. 7
- 5. 9
- 6. 11
- 7. 13
- 8. 15
- 9. 19 o 21

Carácter 47: Cara abaxial (indumento)

- 0. glabra
- 1. lepidota

Carácter 48: Distribución del indumento (cara abaxial)

- 0. uniforme a lo largo de toda la bráctea
- 1. en el ápice
- 2. en la zona media, sobre los nervios medios (en sentido longitudinal)

Carácter 49: Cantidad de tricomas (cara abaxial)

- 0. pocos
- 1. muchos

Carácter 50: Disposición de tricomas (cara abaxial)

- 0. esparcidos, separados entre sí, no contiguos
- 1. contiguos, imbricados o solapados entre sí

Carácter 51: Cara adaxial (Indumento)

- 0. glabra
- 1. lepidota

Carácter 52: Ápice foliáceo

- 0. ausente
- 1. presente

Carácter 53: Longitud

- 0. Brácteas florales más largas que el entrenudo del raquis
- 1. Brácteas florales iguales al entrenudo del raquis

Carácter 54: Tamaño en relación al tamaño de los sépalos

- 0. Brácteas florales acortándose hacia el ápice de la inflorescencia, brácteas cada vez más cortas en relación a los sépalos hacia las flores apicales
- 1. Brácteas florales de tamaño constante en relación a los sépalos a lo largo de toda la inflorescencia

Sépalos:

Carácter 55: Nº de nervios en los sépalos de la flor más basal de la inflorescencia

- 0. 15 o más
- 1. 1
- 2. 2
- 3. 3
- 4. 4
- 5. 5
- 6. 6
- 7. 7
- 8. 8
- 9. 9
- 10. 11

Carácter 56: Cara abaxial (indumento)

- 0. glabra
- 1. lepidota

Carácter 57: Distribución del indumento (cara abaxial)

- 0. uniforme a lo largo de todo el sépalo (tricomas en la mitad superior del sépalo o más)
- 1. en ápice (tricomas en el tercio apical del sépalo)
- 2. en ápice y en la zona media, sobre los nervios medios (en sentido longitudinal)

Carácter 58: Cantidad de tricomas (cara abaxial)

- 0. pocos
- 1. muchos

Carácter 59: Disposición de tricomas (cara abaxial)

- 0. esparcidos, separados entre sí, no contiguos
- 1. contiguos, imbricados o solapados entre sí

Carácter 60: Cara adaxial (indumento)

- 0. glabra
- 1. lepidota

Carácter 61: Grado de fusión

- 0. sépalos libres o igualmente connados en la base
- 1. sépalos posteriores (adaxiales) connados en un 50% o más de su longitud, sépalo anterior libre o connado por la base a los sépalos posteriores

Carácter 62: Quilla en los sépalos posteriores (adaxiales)

- 0. presente
- 1. ausente

Carácter 63: Quilla en el sépalo anterior (abaxial)

- 0. presente
- 1. ausente

Carácter 64: Apariencia de los nervios

- 0. nervios prominentes, sobresalidos
- 1. nervios no prominentes, no sobresalidos

Carácter 65: Ráfides

- 0. ausentes
- 1. presentes

Pétalos:

Carácter 66: Escamas en la parte interna de la uña

- 0. presente
- 1. ausente

Carácter 67: Color

- 0. blanco
- 1. amarillo claro o “pajizo”
- 2. amarillo fuerte
- 3. ocre
- 4. marrón
- 5. verdoso
- 6. violeta pálido (lila)
- 7. violeta oscuro
- 8. azul
- 9. rosado
- 10. negro
- 11. naranja

Carácter 68: Forma

0. angostamente elípticos o lingüiformes
1. suborbiculares

Carácter 69: Disposición durante la antesis

0. pétalos erectos
1. pétalos extendidos y recurvados hacia atrás
2. pétalos extendidos y recurvados en espiral

Carácter 70: Disposición luego de la antesis

0. los pétalos permanecen de igual manera que durante la antesis
1. los pétalos se cierran mediante una constricción de la corola justo por encima del cáliz
2. los pétalos se cierran y recurvan entre sí espiraladamente en sentido longitudinal
3. los pétalos se recurvan aún más hacia atrás “rolled over”

Carácter 71: Ráfides

0. ausentes
1. presentes

Androceo:

Carácter 72: Longitud de los estambres respecto a la longitud de los pétalos

0. estambres exsertos, excediendo a los pétalos
1. estambres incluidos, no exceden a los pétalos

Carácter 73: Filamentos de los estambres

0. rectos
1. plegados

Carácter 74: Posición de las anteras respecto del pistilo

0. anteras por encima del estigma
1. anteras superpuestas con el estigma
2. anteras justo por debajo del estigma

Gineceo:

Carácter 75: Longitud del estilo en relación a la longitud del ovario

0. estilo de mayor longitud que el ovario
1. estilo de igual longitud que el ovario
2. estilo de menor longitud que el ovario

Carácter 76: Protuberancias en la parte superior del ovario

0. ausentes
1. presentes

Frutos

Carácter 77: Unión entre valvas externas e internas del fruto a la madurez (cápsulas abiertas)

0. presente, valvas externas e internas unidas entre sí
1. ausente, valvas separadas entre sí

Carácter 78: Máximo grado de curvatura de las valvas del fruto a la madurez (cápsulas abiertas)

0. valvas curvadas
1. valvas retorcidas

Semillas

Todos los caracteres de semillas (excepto el tipo de endostoma) se han analizado a 63X bajo microscopio óptico.

Carácter 79: Uniones celulares ahorquilladas en el mechón calazal (AC)

- 0. ausentes
- 1. presentes

Carácter 80: Endosperma

- 0. ausente
- 1. presente

Carácter 81: Poliembrionía

- 0. ausente
- 1. presente

Carácter 82: Engrosamiento “verrugoso” en la zona micropilar

- 0. ausente
- 1. presente

Carácter 83: Tipo de endostoma (canal micropilar)

- 0. *tipo incarnata* (tipo h)
- 1. *tipo cotagaitensis* (tipo m)
- 2. *tipo bryoides* (tipo n)

Los datos para este carácter fueron tomados de la literatura (Gross, 1988).

Otros

Carácter 84: Autogamia

- 0. ausente
- 1. presente

Carácter 85: Tipo de estigma

0. conduplicado-espiral (cs: "conduplicate-spiral")
1. simple-erecto (se: "simple-erect")

Lo datos para este carácter fueron tomados de la literatura (Brown & Gilmartin, 1989a). Se codificaron 2 de las 5 categorías morfológicas de estigmas que representan la variación encontrada en más 400 taxones de Bromeliaceae analizadas por Brown & Gilmartin (1989a). Las otras 3 categorías morfológicas descritas para Bromeliaceae son convoluto-laminar (cb: "convolute-blade"), cupulado (cup: "cupulate"), coraliforme (cor: "coralliform") y no están representadas en el muestreo de este estudio.

Carácter 86: Nivel de Ploidía

0. Diploide
1. Tetraploide

Lo datos para este carácter fueron tomados de la literatura (Brown & Gilmartin, 1986; 1989b; Till, 1992).

CAPITULO 4

Filogenia morfológica

4.1. Introducción

Los trabajos realizados hasta el momento en *Diaphoranthema*, son en su mayoría florísticos (Castellanos, 1945), monográficos (ej. Smith & Downs, 1977), y taxonómicos (ej. Till, 1989a,b; 1991a; 1992a,b), y no existe hasta el momento un estudio morfológico ni molecular que incluya a la totalidad de las especies del subgénero en un contexto filogenético. Únicamente Gilmartin & Brown (1986) han sugerido la monofilia de *Diaphoranthema*, pero sin embargo solo han incluido a 2 especies del subgénero en sus análisis. Al no disponer de una hipótesis filogenética robusta para *Diaphoranthema*, la monofilia del subgénero es incierta.

En cuanto a la clasificación de las especies del subgénero, los 6 agregados morfológicos de *Diaphoranthema* propuestos por Till (1992b) sobre la base de la morfología floral y ciertos aspectos vegetativos tienen límites poco precisos y en algunos casos se superponen. Dado que esta clasificación es artificial, es necesario conocer si los agregados morfológicos conforman grupos naturales y si los caracteres utilizados son sinapomórficos, tanto como su importancia en la evolución de las especies del subgénero. Por ejemplo, el color de la corola es uno de los caracteres diagnósticos de los subgrupos del subgénero *Diaphoranthema* (Till, 1992b), pero su valor para establecer relaciones entre las especies podría ser cuestionado en el caso de las especies autóгамas o con flores cleistógamas, donde algunos caracteres florales no afectarían el éxito reproductivo de los individuos.

La influencia de los procesos neoténicos en la evolución de las especies de *Diaphoranthema*, y otros aspectos particulares del comportamiento reproductivo, no han sido estudiados desde el punto de vista evolutivo. Así resulta interesante contar con hipótesis sobre la aparición y evolución de la autogamia y la cleistogamia dentro de este grupo (Till, 1992b) y de la poliembrionía (Gross, 1988) en el subgénero.

Por lo antepuesto, se realizará un estudio exhaustivo y detallado de la morfología en la totalidad de las especies de *Diaphoranthema* con el objetivo de generar una hipótesis filogenética robusta que permita establecer el marco

necesario para discutir fehacientemente sobre la evolución de los caracteres morfológicos en este grupo, contrastar hipótesis y clasificaciones previas.

4.2. Materiales y métodos

En este capítulo se expone la filogenia morfológica de *Diaphoranthema* sobre la base de los caracteres exomorfológicos vegetativos y reproductivos, y anatómicos de la semilla tratados en el capítulo previo.

Los materiales de herbario utilizados en la toma de los datos para la confección de la matriz morfológica fueron los mismos usados para el estudio de la morfología y la elección de los caracteres de interés para el grupo en estudio detallado en el capítulo 2 y citados en el apéndice 1.

Para la toma de datos se seleccionaron como representantes de cada especie y de acuerdo a su disponibilidad, entre 1 y 5 ejemplares de herbario de la lista de materiales (apéndice 1), considerando, dentro de lo posible, que los ejemplares representaran a su vez el rango de la distribución geográfica de cada especie.

4.2.1. Confección de la matriz de datos morfológicos

La matriz de datos morfológicos posee 37 taxones terminales y 87 caracteres cualitativos. De los 37 taxones terminales, 31 pertenecen al grupo interno y 6 al grupo externo. El grupo interno está constituido por la totalidad de especies de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* (28 especies), incluyendo las 2 subespecies descritas por Till & Hromadnik L. (1984) para *T. gilliesii* (*T. gilliesii* subsp. *gilliesii* y *T. gilliesii* subsp. *polysticha*) y las 2 subespecies de *T. landbeckii* (*T. landbeckii* subsp. *landbeckii* y *T. landbeckii* subsp. *andina*) y las dos variedades de *T. landbeckii* subsp. *andina* (variedades *andina* y *rigidior*), (Till, 1991b). El grupo externo está representado por 3 especies de *Tillandsia* subgen. *Phytarrhiza* (*T. crocata*, *T. mandonii* y *T. porongoensis*), por 1 especie del subgénero *Anoplophytum* (*T. aëranthos*), 1 especie del subgénero *Allardtia* (*T. australis*) y 1 especie del género *Vriesea* (*V. friburgensis* var. *tucumanensis*), esta última tomada como raíz para los análisis filogenéticos.

4.2.2. Análisis de la matriz de datos morfológicos

Una vez confeccionada la matriz de datos, se procedió a la realización del análisis filogenético, en el cual se excluyeron aquellos caracteres que resultaron no informativos. La matriz morfológica se analizó bajo el criterio de máxima parsimonia (Farris, 1983) utilizando el programa TNT (Goloboff et al., 2008) para la obtención de los árboles filogenéticos. Las búsquedas heurísticas bajo pesos iguales de los árboles más parsimoniosos se realizaron partiendo de 1000 RAS (random addition sequences) y TBR (Tree bisection-reconnection) guardando 10 árboles por réplica y luego repitiendo TBR a partir de los árboles guardados en la memoria RAM. Para calcular el apoyo de los clados se utilizó como índice de soporte el remuestreo por bootstrap (Felsenstein, 1985) realizando 1000 réplicas y partiendo de 4 RAS + TBR y guardando 3 árboles por cada RAS.

4.3. Resultados

4.3.1. Confección de la matriz de datos morfológicos

De los 87 caracteres evaluados, 8 resultaron no informativos y 79 informativos (tabla 4.1) para la matriz compuesta por las especies de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema*, *T.* subgen. *Phytarrhiza*, y *T.* subgen. *Anoplophytum*, *T.* subgen. *Allardtia*, y *Vriesea friburgensis* var. *tucumanensis*.

Tabla 4.1. Matriz de datos morfológicos de 37 taxones terminales y 87 caracteres totales. Los 8 caracteres no informativos se encuentran marcados con (*).

	0	1	2*	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
V. friburgensis	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
T. aëranthos	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
T. aizoides	3	1	0	1	1	1	0	[01]	1	1	0	1	1	0	0	1
T. andicola	2	1	0	1	[12]	1	1	1	1	0	1	1	2	0	0	0
T. angulosa	3	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1
T. australis	0	[12]	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
T. brealitoensis	1	1	0	1	1	?	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1
T. caliginosa	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0
T. capillaris	3	[12]	0	1	[01]	1	1	[01]	1	0	[01]	1	2	0	0	1
T. castellanii	2	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	2	0	0	0
T. copynii	3	1	0	1	1	?	0	1	1	1	1	1	1	0	0	[01]
T. cotagaitensis	1	1	0	1	1	?	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
T. crocata	1	2	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0
T. erecta	3	[12]	0	1	1	1	0	[01]	1	1	0	1	1	0	1	0
T. funebris	2	[12]	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0
T. gilliesii_gilliesii	3	1	0	1	[01]	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0
T. gilliesii_polysticha	3	1	0	1	1	1	[01]	1	1	1	0	1	1	0	0	0
T. hirta	2	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	0	0	0
T. kuehhasii	2	2	0	1	2	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0
T. landbeckii_landbeckii	2	[01]	0	1	[12]	1	[01]	1	1	0	1	1	1	1	0	0
T. landbeckii_andina_andina	2	[12]	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0
T. landbeckii_andina_rigidior	2	[12]	?	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0
T. loliacea	3	[12]	0	1	1	0	0	[01]	1	1	1	1	1	0	0	0
T. mandonii	1	[12]	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0
T. minutiflora	3	[12]	[01]	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1
T. mollis	2	2	1	1	2	1	1	1	1	0	1	1	2	0	0	0
T. myosura	2	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
T. pedicellata	3	1	[01]	1	[01]	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1
T. porongoensis	1	2	0	1	1	0	0	[12]	1	1	0	1	1	0	0	0
T. rectangula	2	1	0	1	[01]	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1
T. recurvata	3	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0
T. retorta	2	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	2	0	0	0
T. spiralipetala	3	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
T. tenebra	2	2	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	2	0	0	0
T. tricholepis	3	[12]	0	1	1	1	0	[01]	1	1	1	1	2	0	0	1
T. usneoides	4	1	0	1	2	1	1	1	1	0	1	1	2	0	0	[01]
T. virescens	3	[12]	[01]	1	[01]	1	1	[01]	1	0	1	1	2	0	0	[01]

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
V. friburgensis	0	0	0	?	?	0	1	1	0	0	—	9	0	0	0
T. aëranthos	0	0	0	2	1	1	1	1	0	0	—	[34]	1	0	1
T. aizoides	1	0	0	0	0	4	0	1	0	0	—	3	2	1	[46]
T. andicola	1	0	1	2	1	3	1	1	0	1	1	[01]	2	1	4
T. angulosa	0	0	0	2	1	2	1	0	0	0	—	1	2	1	4
T. australis	0	0	0	?	?	0	1	1	0	0	—	?	0	0	0
T. brealitoensis	1	0	0	1	1	3	0	1	?	2	[01]	1	2	1	6
T. caliginosa	0	1	1	0	0	2	0	1	0	1	1	[01]	2	1	1
T. capillaris	1	0	1	2	1	4	0	1	1	0	—	0	—	2	—
T. castellanii	0	0	1	2	1	2	1	1	0	0	—	[01]	2	1	4
T. copynii	1	0	0	1	1	3	0	1	0	0	—	[4567]	2	0	[56]
T. cotagaitensis	0	0	0	2	1	4	0	1	?	1	1	[012]	1	1	5
T. crocata	0	0	1	2	1	2	1	1	0	1	1	[01]	2	1	3
T. erecta	0	0	0	0	0	3	0	1	0	0	—	[12]	2	1	6
T. funebris	0	0	0	0	0	3	0	1	0	0	—	[23]	2	1	[34]
T. gilliesii_gilliesii	0	0	1	2	1	2	0	[01]	0	1	1	[01]	2	1	[35]
T. gilliesii_polysticha	0	0	1	2	1	1	1	1	0	1	1	[01]	2	1	[35]
T. hirta	0	0	0	2	1	2	1	1	0	[12]	[01]	1	2	1	4
T. kuehhasii	1	0	1	2	1	4	0	1	1	2	0	1	2	1	?
T. landbeckii_landbeckii	1	1	1	2	1	?	?	1	0	1	1	[234]	1	1	[345]
T. landbeckii_andina_andina	1	1	1	2	1	?	0	1	0	1	1	[123]	1	1	[23]
T. landbeckii_andina_rigidior	1	1	1	2	1	3	0	1	0	1	1	[23]	1	1	[23]
T. loliacea	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	[456789]	2	0	3
T. mandonii	0	0	?	2	1	2	?	1	0	1	1	[01]	2	1	?
T. minutiflora	1	0	0	0	0	5	0	0	0	0	—	2	2	0	7
T. mollis	1	1	1	2	1	3	1	0	0	1	1	1	2	1	3
T. myosura	0	0	1	2	[01]	2	1	1	0	[12]	1	[01]	2	1	5
T. pedicellata	1	0	0	0	0	5	0	[01]	[01]	0	—	2	1	[01]	7
T. porongoensis	0	0	0	2	1	1	0	1	?	2	1	3	2	0	4
T. rectangula	1	0	0	0	0	4	0	1	0	0	—	[234]	2	1	[56]
T. recurvata	1	1	0	2	1	4	1	1	0	1	0	1	2	1	6
T. retorta	1	0	1	2	0	3	1	[01]	0	1	1	0	—	2	—
T. spiralipetala	1	0	0	1	1	2	1	1	0	1	[01]	[234]	2	0	4
T. tenebra	0	0	1	2	1	2	0	1	0	[12]	1	[12]	2	1	[45]
T. tricholepis	1	0	0	0	0	4	0	1	0	0	—	[23456]	2	0	6
T. usneoides	1	0	1	1	1	5	1	0	0	0	—	0	—	2	—
T. virescens	1	0	1	2	[01]	4	0	[01]	[01]	2	1	0	—	2	—

	31*	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45*
V. friburgensis	1	0	1	0	1	—	1	0	0	0	0	0	—	0	0
T. aëranthos	1	1	1	1	1	1	0	6	0	0	0	0	—	1	0
T. aizoides	0	—	—	—	0	[01]	0	1	—	1	—	—	—	1	[01]
T. andicola	1	0	1	1	0	1	0	[123]	1	[01]	0	1	1	1	0
T. angulosa	1	0	1	1	0	1	0	1	—	1	—	—	—	1	0
T. australis	1	0	1	0	1	—	1	0	0	0	0	0	—	[01]	0
T. brealitoensis	1	0	1	1	0	[01]	0	[12]	1	1	0	0	—	1	0
T. caliginosa	1	0	1	1	0	1	0	[2345]	1	[01]	[01]	1	1	1	0
T. capillaris	—	—	—	—	—	—	0	1	—	1	—	—	—	1	0
T. castellanii	1	1	[01]	[01]	0	1	0	[12]	—	1	—	—	—	1	0
T. copynii	1	0	[01]	[01]	0	1	0	[23456]	1	[01]	0	[01]	0	1	0
T. cotagaitensis	1	0	1	1	0	1	0	[1234]	1	[01]	0	1	1	1	0
T. crocata	1	0	1	1	0	1	0	[23456]	1	[01]	0	1	1	1	0
T. erecta	1	1	0	1	[01]	[01]	0	1	—	1	—	—	—	0	0
T. funebris	2	[01]	[01]	1	0	[01]	0	[12]	1	1	—	0	—	1	1
T. gilliesii_gilliesii	1	0	1	1	0	[01]	0	[123]	1	[01]	0	1	1	[01]	0
T. gilliesii_polysticha	1	0	1	1	0	[01]	0	[1234]	1	[01]	0	1	1	1	0
T. hirta	1	0	1	1	0	1	0	[123]	1	[01]	0	1	1	1	0
T. kuehhasii	1	0	1	1	0	0	0	1	—	1	—	—	—	0	0
T. landbeckii_landbeckii	1	0	1	1	0	1	0	[12]	—	1	0	1	1	1	0
T. landbeckii_andina_andina	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	—	—	[01]	0
T. landbeckii_andina_rigidior	1	0	1	1	0	1	0	[12]	1	1	0	1	1	[01]	0
T. loliacea	1	0	1	1	0	[01]	0	[23456]	1	[01]	1	1	1	1	0
T. mandonii	1	0	1	1	0	1	0	[123]	1	[01]	0	1	1	1	0
T. minutiflora	1	1	0	[01]	0	0	0	1	—	1	—	—	—	1	0
T. mollis	1	0	1	1	0	1	0	1	—	1	—	—	—	1	0
T. myosura	1	0	1	1	0	1	0	[123456]	1	[01]	[01]	1	1	1	0
T. pedicellata	1	1	1	1	0	1	0	1	—	1	—	—	—	1	0
T. porongoensis	1	0	1	1	0	[01]	0	6	1	0	1	0	—	1	0
T. rectangula	[12]	[01]	0	[01]	0	[01]	0	[12]	1	1	—	0	—	0	[01]
T. recurvata	1	0	1	1	0	1	0	[12]	1	1	—	1	0	0	0
T. retorta	—	—	—	—	—	—	0	[12]	1	1	—	1	1	1	0
T. spiralipetala	1	0	1	1	0	[01]	0	[123]	1	[01]	0	1	[01]	1	0
T. tenebra	1	0	1	1	0	1	0	[123]	1	[01]	0	1	1	1	0
T. tricholepis	1	0	1	1	0	[01]	0	[12345]	1	[01]	0	0	—	1	0
T. usneoides	—	—	—	—	—	—	0	1	—	1	—	—	—	1	0
T. virescens	—	—	—	—	—	—	0	1	—	1	—	—	—	1	0

	46	47	48	49	50	51	52	53*	54	55	56	57	58	59	60
V. friburgensis	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	—	—	—	1
T. aëranthos	[89]	1	1	1	1	1	1	0	0	[59]	0	—	—	—	0
T. aizoides	[45]	0	—	—	—	0	0	—	—	[57]	0	—	—	—	0
T. andicola	7	1	0	1	1	0	1	0	0	7	1	[02]	1	1	0
T. angulosa	5	1	0	1	1	0	1	—	—	7	1	2	1	[01]	0
T. australis	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	—	—	—	1
T. brealitoensis	[56]	1	0	1	1	0	0	0	0	[678]	1	0	1	1	0
T. caliginosa	7	1	0	1	1	0	[01]	[01]	0	[79]	1	[02]	1	1	0
T. capillaris	[34]	0	—	—	—	0	1	—	—	5	0	—	—	—	0
T. castellanii	[67]	0	—	—	—	0	[01]	0	0	7	0	—	—	—	0
T. copynii	[45]	1	0	1	1	0	0	0	0	[678]	1	1	0	0	0
T. cotagaitensis	6	1	0	1	1	0	[01]	0	0	[57]	1	1	0	0	0
T. crocata	7	1	0	1	1	0	1	0	0	7	1	[02]	1	1	0
T. erecta	5	1	1	0	1	0	0	—	—	[579]	0	—	—	—	0
T. funebris	[56]	0	—	—	—	0	0	0	0	[57]	0	—	—	—	0
T. gilliesii_gilliesii	[5678]	1	0	1	1	0	[01]	0	0	[79]	1	0	1	1	0
T. gilliesii_polysticha	[5678]	1	0	1	1	0	[01]	[01]	0	[789]	1	0	1	1	0
T. hirta	[467]	1	0	1	1	0	[01]	0	0	7	1	0	1	1	0
T. kuehhasii	4	1	0	1	1	0	1	—	—	5	1	0	0	0	0
T. landbeckii_landbeckii	[45]	1	0	1	1	0	[01]	0	0	[79]	0	—	—	—	0
T. landbeckii_andina_andina	[67]	1	0	1	1	0	[01]	—	—	[710]	0	—	—	—	0
T. landbeckii_andina_rigidior	[56]	1	0	1	1	0	1	0	0	7	[01]	0	0	0	0
T. loliacea	7	1	0	1	1	0	0	0	0	[78]	1	1	0	0	0
T. mandonii	7	1	0	1	1	0	1	0	0	7	[01]	[01]	[01]	1	0
T. minutiflora	1	[01]	1	0	0	0	0	—	—	[457]	1	0	1	1	0
T. mollis	?	1	0	1	1	0	1	—	—	[345]	1	0	1	1	0
T. myosura	[79]	1	0	1	1	0	0	0	0	9	[01]	2	0	0	0
T. pedicellata	[12]	1	1	0	1	0	1	—	—	[123]	0	—	—	—	0
T. porongoensis	6	1	0	1	1	0	0	0	0	9	1	0	1	1	0
T. rectangula	[345]	[01]	2	0	0	0	0	0	0	[579]	[01]	1	0	0	0
T. recurvata	[345]	1	0	1	1	0	1	0	0	5	[01]	1	0	0	0
T. retorta	[456]	1	0	1	1	0	[01]	0	0	[57]	[01]	2	[01]	1	0
T. spiralipetala	6	1	0	1	1	0	0	0	0	7	1	2	1	1	0
T. tenebra	[67]	1	0	1	1	0	0	0	0	[789]	1	0	[01]	[01]	0
T. tricholepis	4	1	0	1	[01]	0	0	0	0	[57]	1	1	[01]	0	0
T. usneoides	[34]	1	0	1	1	0	1	—	—	[35]	[01]	2	0	0	0
T. virescens	3	1	[01]	[01]	1	0	1	—	—	3	[01]	[02]	1	1	0

	61	62	63	64	65	66*	67	68	69	70	71	72*	73*	74	75
<i>V. friburgensis</i>	0	0	0	0	?	0	2	?	1	?	?	0	0	2	?
<i>T. aëranthos</i>	1	0	1	0	1	1	[78]	0	1	0	1	1	1	1	0
<i>T. aizoides</i>	0	1	1	[01]	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	2
<i>T. andicola</i>	1	1	1	0	?	1	?	0	1	?	?	1	?	0	?
<i>T. angulosa</i>	0	1	1	0	?	1	3	0	0	0	?	1	?	?	?
<i>T. australis</i>	0	1	1	0	1	1	7	0	0	1	1	1	0	2	0
<i>T. brealitoensis</i>	0	1	1	0	?	1	[67]	0	1	?	?	1	?	0	2
<i>T. caliginosa</i>	1	0	1	0	?	1	4	0	1	[02]	0	1	?	0	1
<i>T. capillaris</i>	1	1	1	0	?	1	[02]	0	1	0	?	1	?	0	2
<i>T. castellanii</i>	0	1	1	0	0	1	0	0	—	—	1	1	0	1	2
<i>T. copynii</i>	1	?	?	0	?	1	3	0	1	?	?	1	0	0	2
<i>T. cotagaitensis</i>	1	?	?	0	?	1	7	0	1	?	?	1	?	0	2
<i>T. crocata</i>	0	0	1	0	?	1	[211]	1	1	?	0	1	?	?	?
<i>T. erecta</i>	0	[01]	[01]	0	?	1	1	0	1	?	1	1	?	0	2
<i>T. funebris</i>	0	1	1	1	?	1	3	0	[12]	2	0	1	?	0	2
<i>T. gilliesii_gilliesii</i>	0	[01]	1	0	?	1	2	0	0	0	1	1	?	0	2
<i>T. gilliesii_polysticha</i>	0	0	1	0	?	1	7	0	0	?	?	1	?	0	2
<i>T. hirta</i>	0	?	?	0	?	1	1	0	0	?	?	1	?	0	2
<i>T. kuehhasii</i>	1	0	1	0	?	1	2	0	1	3	?	1	?	?	?
<i>T. landbeckii_landbeckii</i>	0	0	?	0	?	1	1	0	1	?	?	1	0	?	?
<i>T. landbeckii_andina_andina</i>	[01]	1	1	0	?	1	[34]	0	1	?	?	1	?	0	?
<i>T. landbeckii_andina_rigidior</i>	0	1	1	0	?	1	?	0	?	?	?	1	0	?	?
<i>T. loliacea</i>	0	1	1	0	?	1	1	0	1	0	1	1	?	0	2
<i>T. mandonii</i>	0	1	1	0	?	1	?	?	?	?	1	1	?	?	?
<i>T. minutiflora</i>	0	0	1	0	0	1	2	0	1	?	1	1	0	0	1
<i>T. mollis</i>	0	1	1	0	?	1	[13]	0	1	?	1	1	0	0	0
<i>T. myosura</i>	0	1	1	0	0	1	[12]	0	0	0	1	1	0	0	1
<i>T. pedicellata</i>	[01]	0	1	0	0	1	7	0	1	0	1	1	0	0	2
<i>T. porongoensis</i>	0	0	0	0	?	1	[138]	1	1	?	1	1	0	2	?
<i>T. rectangula</i>	0	1	1	1	0	1	3	0	1	2	[01]	1	0	0	2
<i>T. recurvata</i>	0	1	1	0	1	1	[06]	0	1	1	1	1	0	0	2
<i>T. retorta</i>	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	2
<i>T. spiralipetala</i>	0	0	1	0	?	1	[34]	0	2	0	1	1	0	0	1
<i>T. tenebra</i>	[01]	?	?	0	?	1	[710]	0	1	?	?	1	?	0	2
<i>T. tricholepis</i>	0	1	1	0	1	1	2	0	[01]	0	1	1	0	0	2
<i>T. usneoides</i>	0	1	1	0	1	1	[15]	0	1	0	1	1	0	2	[01]
<i>T. virescens</i>	1	1	1	0	0	1	[27]	0	[01]	0	1	1	0	0	2

	76*	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86
V. friburgensis	0	0	1	0	1	0	0	?	0	?	0
T. aëranthos	0	0	0	0	1	0	[01]	1	0	?	0
T. aizoides	0	0	1	0	1	1	1	1	1	?	0
T. andicola	0	1	0	1	0	1	1	1	0	?	1
T. angulosa	0	1	0	0	1	1	1	2	1	?	1
T. australis	0	0	0	0	?	0	0	0	0	0	?
T. brealitoensis	0	1	0	0	1	1	1	1	?	?	?
T. caliginosa	0	1	0	0	0	1	1	1	?	?	0
T. capillaris	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
T. castellanii	0	1	0	0	?	1	1	2	1	1	1
T. copynii	0	0	0	0	?	?	0	?	0	?	?
T. cotagaitensis	0	?	?	?	?	1	?	1	?	?	?
T. crocata	0	1	0	0	?	0	1	2	?	0	?
T. erecta	0	0	0	0	1	1	1	1	?	?	1
T. funebris	0	0	0	0	1	0	1	?	?	?	0
T. gilliesii_gilliesii	0	1	0	0	0	1	1	1	1	?	?
T. gilliesii_polysticha	0	1	0	1	0	0	1	1	?	?	1
T. hirta	0	1	0	0	0	1	0	1	?	?	1
T. kuehhasii	0	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
T. landbeckii_landbeckii	0	1	0	0	1	0	1	?	1	?	?
T. landbeckii_andina_andina	0	1	0	?	?	?	?	?	?	?	?
T. landbeckii_andina_rigidior	0	1	0	0	1	0	1	?	?	?	?
T. loliacea	[01]	0	0	0	1	0	0	2	?	1	[01]
T. mandonii	0	1	0	0	1	1	1	?	?	?	?
T. minutiflora	[01]	0	0	0	1	1	0	2	1	?	1
T. mollis	0	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
T. myosura	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	?
T. pedicellata	0	0	0	0	1	1	1	2	1	?	?
T. porongoensis	0	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
T. rectangula	0	0	0	0	1	0	1	1	1	?	0
T. recurvata	0	1	1	1	0	0	1	2	1	1	0
T. retorta	0	1	0	1	0	1	1	?	1	?	1
T. spiralipetala	?	0	0	0	1	0	0	2	?	?	0
T. tenebra	0	1	0	0	0	0	1	?	?	?	?
T. tricholepis	[01]	0	0	0	1	0	0	2	1	1	1
T. usneoides	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0
T. virescens	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1

4.3.2. Análisis filogenético de los datos morfológicos

Como resultado de la búsqueda heurística bajo pesos iguales se obtuvieron 24 árboles igualmente parsimoniosos de 338 pasos. En la figura 4.1 se muestra el consenso estricto de los árboles más parsimoniosos con los valores de soporte de bootstrap absoluto sobre sus ramas.

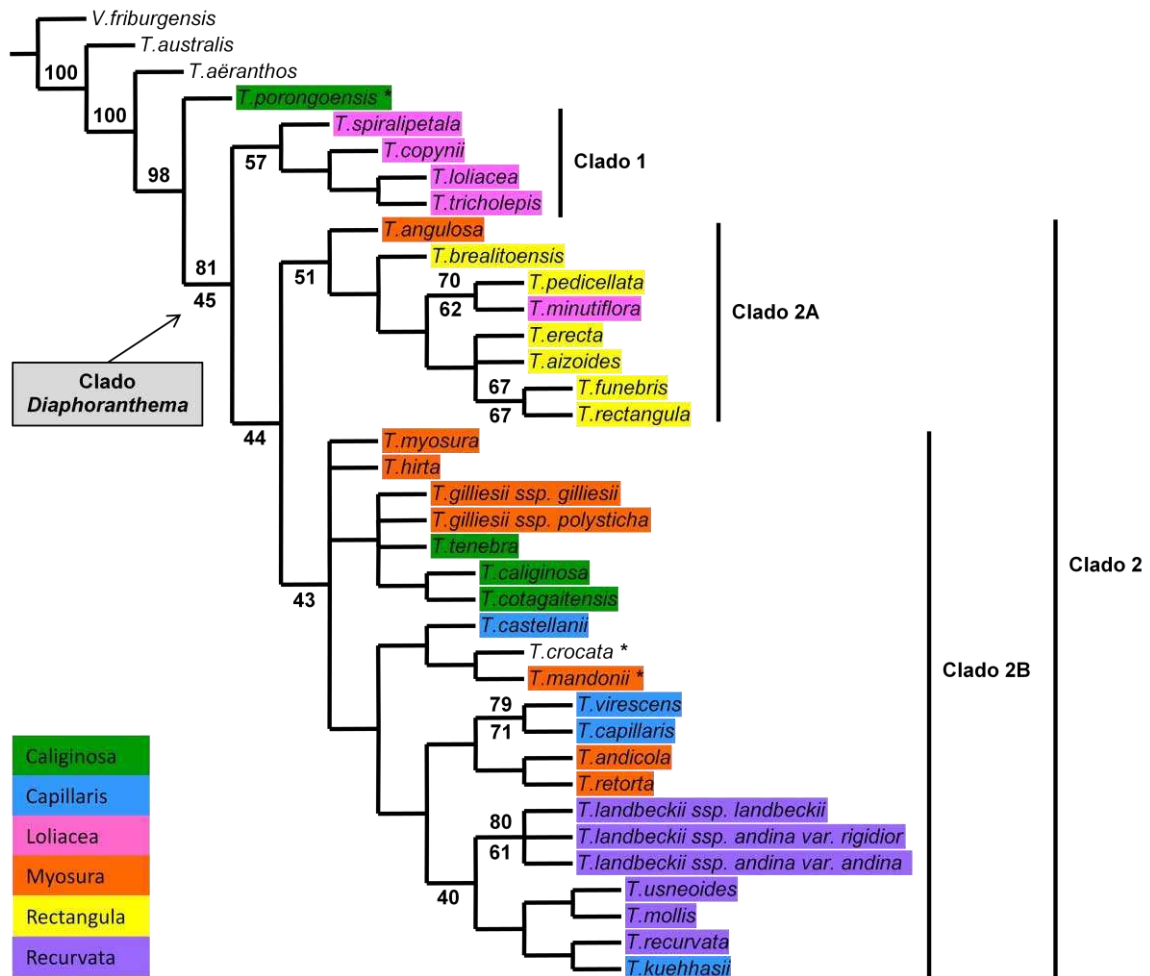


Figura 4.1. Consenso estricto calculado a partir de los 24 árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis de la matriz de datos morfológicos informativos. Sobre las ramas figuran los valores de soporte de bootstrap absoluto. Por debajo de las ramas el número de nodos que se discuten en el texto. Las especies resaltadas con color corresponden a los agregados propuestos por Till (1992b) para *Diaphoranthema*: Grupo Caliginosa (verde), Grupo Myosura (anaranjado), Grupo Loliacea (rosado), Grupo Rectangula (amarillo), Grupo Capillaris (celeste) y Grupo Recurvata (violeta). Las especies de *Phytarrhiza* se encuentran marcadas con (*).

El árbol de consenso estricto muestra a las especies de *Diaphoranthema* como un grupo parafilético dada la inclusión de dos especies del subgénero *Phytarrhiza* (*T. crocata* y *T. mandonii*) en un clado fuertemente soportado con un valor de bootstrap absoluto (BS) de 81 (nodo 45, fig. 4.1) y caracterizado por cambios en el hábito, número de flores, número de nervios en los sépalos, y posición de las anteras respecto del estigma. Estos cambios indican el pasaje de plantas de hábito erecto, medianas, poco ramificadas, a un hábito en el que las plantas son medianas a pequeñas, muy ramificadas en la base que dan a la planta aspecto de “bola” u ovillo. A este cambio en el hábito se suman la reducción en número de flores pasando de inflorescencias de entre 6 a 12 flores a inflorescencias bifloras, una reducción en el número de nervios en los sépalos que va de 9 a 7 nervios y anteras que cambian su posición respecto al estigma, pasando de estar ubicadas por debajo a estar ubicadas por encima del estigma (caracteres número: 0, 38, 55 y 74); véase tabla 4.2 (nodo 45) y lista de caracteres capítulo 3.

Este clado principal se divide en dos agrupamientos no soportados por análisis de remuestreo pero apoyados por cambios de estado de algunos caracteres:

- El clado 1 (nodo 57, fig. 4.1), formado exclusivamente por especies de *Diaphoranthema* del agregado Loliacea (*T. copynii*, *T. loliacea*, *T. spiralipetala* y *T. tricholepis*), se destaca por láminas de un ancho menor o igual a 2mm, con vainas de márgenes con tricomas de igual morfología a los de la lámina, y endostoma de tipo *bryooides* (tipo n) (caracteres número: 16, 19 y 83); véase tabla 4.2 (nodo 57) y lista de caracteres capítulo 3.

- El clado 2 (nodo 44, fig. 4.1), reúne al resto de las especies del grupo interno y a 2 especies de *Phytarrhiza* (*T. crocata* y *T. mandonii*) y está caracterizado por tallos muy ramificados, escapos con entrenudos desigualmente desarrollados y presencia de brácteas basales, apicales y/o intermedias, ausencia de ráfides en los sépalos, valvas externas e internas del fruto separadas entre sí y semillas poliembriónicas cuya zona micropilar presenta un engrosamiento “verrugoso” distinguible en su extremo (caracteres número: 5, 29, 65, 77, 81 y 82); véase tabla 4.2 (nodo 44) y lista de caracteres capítulo 3.

El clado 2 se divide a su vez en:

- El clado 2A (nodo 51, fig. 4.1) reúne a las 6 especies de *Diaphoranthema* que conforman el agregado Rectangula (*T. aizoides*, *T. brealitoensis*, *T. erecta*, *T. funebris*, *T. pedicellata* y *T. rectangula*) más *T. angulosa* y *T. minutiflora*, representantes del agregado Myosura y Loliacea (Till, 1992b) respectivamente. El clado 2A se caracteriza por láminas menores o iguales a 2 cm de longitud con ápices foliares punzantes e inflorescencias 1-floras (caracteres número: 15, 10 y 38); véase tabla 4.2 (nodo 51) y lista de caracteres capítulo 3.

- El clado 2B (nodo 43, fig. 3.1) está formado por las restantes 16 especies de *Diaphoranthema* pertenecientes a los agregados Caliginosa, Capillaris, Myosura y Recurvata (Till, 1992b) al que se suman 2 especies de *Phytarrhiza*. En el clado 2B, las especies se encuentran reunidas sobre la base del hábito en forma de “conglomerados”, caracterizado por plantas de porte mediano a grande, muy ramificadas, con tallos largos, filotaxis dística, escapos de entrenudos lepidotos y pétalos de color amarillo claro o “pajizo” aunque este último carácter es homoplásico (caracteres número: 0, 6, 25 y 67); véase tabla 4.2 (nodo 43) y lista de caracteres capítulo 3.

Dentro del clado 2A se destacan dos agrupamientos de especies moderadamente soportados. *T. minutiflora* y *T. pedicellata* (BS=70, nodo 62, fig. 4.1) comparten como características comunes vainas 3-nervadas, brácteas del escapo 1 ó 3-nervadas, brácteas florales 1-nervadas, sépalos posteriores aquillados, y endostoma de tipo *bryoides* (tipo n) (caracteres número: 21, 30, 46, 62 y 83); véase tabla 4.2 (nodo 62) y lista de caracteres capítulo 3. *T. funebris* y *T. rectangula* se agrupan (BS=67, nodo 67, fig. 3.1) en base al hábito en forma de conglomerados, ápices foliares no punzantes, corola de color amarillo claro o “pajizo”, pétalos que luego de la antesis se cierran y se recurvan longitudinalmente en espiral y ausencia de poliembrionía (caracteres número: 0, 10, 67, 70 y 81); véase tabla 4.2 (nodo 67) y lista de caracteres capítulo 3.

Los únicos agrupamientos menores soportados dentro del clado 2B están dados por la asociación de *T. capillaris* y *T. virescens* (BS=79, nodo 71, fig. 4.1) y las subespecies y variedades de *T. landbeckii* (BS=80, nodo 61, fig. 3.1). El primero de estos agrupamientos se destaca por el hábito en forma de “bolas” u

ovillos, vainas de 5 a 7 nervios ubicados en el centro de la misma, flores amarillas y valvas del fruto retorcidas a la madurez (caracteres número: 0, 21, 22, 67 y 78); véase tabla 4.2 (nodo 71) y lista de caracteres capítulo 3. El clado que agrupa a las subespecies y variedades de *T. landbeckii* se caracteriza por la presencia de láminas acodadas, escapo con 2 o 3 brácteas que toman progresivamente aspecto de bráctea y sépalos glabros (caracteres número: 13, 27, 28 y 56); véase tabla 4.2 (nodo 61) y lista de caracteres capítulo 3. El clado de *T. landbeckii* forma parte de un agrupamiento en el que están incluidas las restantes especies del agregado *Recurvata* (Till, 1992b): *T. mollis*, *T. recurvata* y *T. usneoides*, y 1 especie integrante del agregado *Capillaris* (*T. kuehhasii*). Este clado (nodo 40, fig. 3.1), aunque no soportado, se caracteriza por 4 cambios dados por la presencia de 11 nervios en las brácteas del escapo floral, sépalos con pocos tricomas esparcidos y ausencia de poliembrionía (caracteres número: 30, 58, 59 y 81); véase tabla 4.2 (nodo 40) y lista de caracteres capítulo 3.

Tabla 4.2. Listado de los nodos descritos en el capítulo 3, número de los caracteres que presentan cambios de estado para cada nodo y sentido del cambio de estado para cada carácter. Entre paréntesis se indica el número de pasos obtenidos para la optimización de los caracteres en uno de los árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis filogenético sobre la base de caracteres morfológicos.

Nº de nodo (Clado)	Nº de carácter	Cambio de estado	Nº de pasos de optimización
45 (Diaphoranthema)	0	1 → 3	11
	38	6 → 2	4
	55	9 → 7	7
	74	2 → 0	4
57 (Clado 1)	16	0 → 1	6
	19	2 → 1	6
	83	1 → 2	6
44 (Clado 2)	5	0 → 1	4
	29	0 → 1	5
	65	1 → 0	2
	77	0 → 1	2
	81	0 → 1	6
	82	0 → 1	3
51 (Clado 2A)	10	1 → 0	6
	15	0 → 1	5
	38	2 → 1	4
43 (Clado 2B)	0	3 → 2	11
	6	0 → 1	1
	25	0 → 1	10
	67	3 → 1	17

62	21	3 → 5	15
(<i>T. minutiflora</i>	30	6 → 7	12
+ <i>T. pedicellata</i>)	46	5 → 1	12
	62	1 → 0	9
	83	1 → 2	6
67	0	3 → 2	11
(<i>T. rectangula</i>	10	0 → 1	6
+ <i>T. funebris</i>)	67	1 → 3	17
	70	0 → 2	5
	81	1 → 0	6
71	0	2 → 3	11
(<i>T. capillaris</i>	21	3 → 4	15
+ <i>T. virescens</i>)	22	1 → 0	8
	67	1 → 2	17
	78	0 → 1	4
61	13	0 → 1	2
(<i>T. landbeckii</i>)	27	1 → [23]	8
	28	2 → 1	5
	56	1 → 0	6
40	30	4 → 3	12
(Agregado <i>Recurvata</i>	58	1 → 0	6
+ <i>T. landbeckii</i>)	59	1 → 0	6
	81	1 → 0	6

4.4. Conclusiones y discusión a partir de la evidencia morfológica

Como conclusiones salientes del análisis morfológico se destaca la parafilia de *Diaphoranthema*. *Diaphoranthema* no se resuelve como un grupo monofilético porque incluye al menos dos especies del subgénero *Phytarrhiza*.

En cuanto a la clasificación del subgénero propuesta por Till (1992b), y a pesar de los bajos soportes de bootstrap, la hipótesis filogenética obtenida indica que ninguno de los 6 agregados morfológicos se resuelve como grupos monofiléticos sobre la base de los caracteres morfológicos analizados. Los agregados Caliginosa, Loliacea y Myosura serían polifiléticos mientras que Rectangula y Recurvata serían parafiléticos dada la inclusión de una especie perteneciente a otro agregado, en cada uno de los casos (inclusión de *T. minutiflora* y *T. kuehhasii*, respectivamente).

Aunque los agrupamientos obtenidos no presentaron alto soporte en general, los caracteres morfológicos evaluados en esta tesis son suficientemente informativos y congruentes para generar una hipótesis filogenética morfológica de buena resolución en cuanto a las relaciones infrasubgenéricas y hacer inferencias en cuanto a los cambios morfológicos y su sentido en la evolución del grupo.

Para salvar el inconveniente y limitaciones del bajo soporte obtenido en este análisis y lograr una hipótesis filogenética más robusta de *Diaphoranthema*, sobre la cual poder discutir la evolución de los caracteres morfológicos de manera más confiable, es necesario incrementar la información mediante la inclusión de un mayor número de caracteres que permitan sustentar los resultados obtenidos; es por eso que se incorporaron caracteres moleculares y los resultados serán presentados en los capítulos siguientes.

CAPITULO 5

Filogenia molecular

5.1. Introducción

La mayoría de los estudios moleculares de Bromeliaceae se han centrado hasta el momento en el análisis de las relaciones filogenéticas a nivel inter e intra familiar (Barfuss et al., 2005; Givnish et al., 2007; 2011; Horres et al., 2000; Terry et al., 1997). Se reconocen hasta el momento 8 subfamilias de Bromeliaceae: Brochinioideae, Lindmanioideae Givnish, Tillandsioideae Burnett, Hechtioideae Givnish, Navioideae Harms, Pitcairnioideae Harms, Puyoideae Givnish y Bromelioideae Burnett que se caracterizan principalmente por la morfología de las flores, frutos y semillas y recientemente también por datos moleculares (Givnish et al., 2007; Givnish et al., 2011). Estos trabajos moleculares ofrecen una nueva herramienta para resolver la historia evolutiva dentro de la familia.

Actualmente, existe un consenso sobre la monofilia de la subfamilia Tillandsioideae (Barfuss et al., 2005; Givnish et al., 2007; Givnish et al., 2011; Horres et al., 2000; Schulte et al., 2005; 2009). Tillandsioideae se clasifica en cuatro tribus sobre la base de marcadores moleculares plastidiales codificantes y no codificantes: Catopsidaeae, Glomeropitcarnieae, Vrieseae, y Tillandsieae (Barfuss et al., 2005).

Para Tillandsioideae se ha encontrado por lo general muy baja variabilidad en prácticamente todos los marcadores moleculares utilizados (codificantes y no codificantes del cloroplasto). Esto se traduce en árboles filogenéticos con relativamente baja resolución en el que se distinguen ciertos agrupamientos mayores con soporte, pero poco puede inferirse en cuanto a las relaciones genéricas o infragenéricas. Estos resultados contrastan fuertemente con la gran variabilidad morfológica encontrada a nivel genérico y específico (Horres et al., 2000). Dicha discrepancia entre la variabilidad molecular y morfológica está especialmente ilustrada por el grupo de Tillandsioideas denominado “core group” o “core tillandsioids” que incluye a los géneros *Alcantarea*, *Guzmania*, *Mezobromelia*, *Racinaea*, *Vriesea*, *Viridantha*, *Werauhia*, y *Tillandsia*, (Horres et al., 2000; Barfuss et al., 2005).

A pesar de que el estudio filogenético de Barfuss et al. (2005) es robusto y congruente con estudios previos morfológicos (Gilmartin, 1983; Gilmartin & Brown, 1986; Gross, 1988; Böme, 1988; Brown & Gilmartin, 1984, 1989a; Halbritter, 1992; Grant, 1993) y moleculares (Terry et al., 1997; Horres et al., 2000; Barfuss et al., 2004), ninguna hipótesis taxonómica o filogenética pudo ser generada por debajo del nivel de tribu debido al insuficiente muestreo de los géneros que conforman el “Tillandsioids core”.

Recientes estudios en *Tillandsia* subgen. *Tillandsia* sugiere que los marcadores nucleares (ITS y ETS) ofrecen una importante fuente de variación nucleotídica para la reconstrucción de las relaciones filogenéticas entre especies de *Tillandsia* (Chew et al., 2010). Estos autores incluyeron en su análisis 31 especies representantes de *Tillandsia* que equivale a aproximadamente un 6% de la totalidad de especies del género.

Los resultados preliminares de los datos morfológicos (capítulo 4) sugieren, por un lado la confluencia de especies de los subgéneros *Phytarrhiza* y *Diaphoranthema* en un mismo clado fuertemente soportado, y por el otro el bajo soporte en los agrupamientos internos de *Diaphoranthema*. De esta manera, se propone aquí un estudio filogenético molecular del subgénero *Diaphoranthema* con un exhaustivo muestreo de especies xéricas de *Phytarrhiza*. Asimismo se propone explorar y utilizar nuevos marcadores moleculares con el fin de obtener resultados filogenéticos más robustos y mejor soportados que puedan ser comparados con la hipótesis morfológica expuesta en el capítulo 4 y que permitan dilucidar el origen de ambos géneros, *Diaphoranthema* y *Phytarrhiza*, y las relaciones filogenéticas entre las especies de *Diaphoranthema*. Los datos moleculares serán utilizados más adelante en la obtención de una hipótesis filogenética sobre la base de la evidencia total, combinando los resultados moleculares de este capítulo con los morfológicos expuestos en el capítulo 4.

5.2. Materiales y métodos

5.2.1. Materiales

Los materiales utilizados en el estudio molecular fueron hojas secadas y conservadas en sílica gel provenientes de campañas de colección y de plantas

cultivadas tanto del cultivo personal de la autora de este trabajo como del cultivo de la familia Hromadnik en Viena, y enviadas muy cordialmente por los Doctores Till y Barfuss desde la Universidad de Viena al Laboratorio de Sistemática Molecular del “Canadian Museum of Nature” en donde se realizó la investigación molecular de este trabajo de doctorado. Siempre que fue posible se incluyeron varios ejemplares por especie. La lista de materiales utilizados se muestra en la tabla 5.1.

El grupo interno está compuesto por 27 especies de *Diaphoranthema* representadas por 36 ejemplares, mientras que el grupo externo está dado por una especie de *Vriesea* usada como raíz para los análisis filogenéticos y 15 especies (29 ejemplares) de *Tillandsia*: de las cuales 12 especies (25 ejemplares) pertenecen al subgénero *Phytarrhiza*, 2 especies (3 ejemplares) a *Anoplophytum* y 1 especie a *Allardtia* (tabla 5.1).

En el estudio molecular el grupo interno cuenta con 27 de las 28 especies totales que conforman el subgénero *Diaphoranthema* debido a que no fue posible contar con material fresco de *T. copynii*. Esta es una especie que crece naturalmente en Brasil y de la cual es de conocimiento la existencia de un único ejemplar en cultivo en los Países Bajos, en el cultivo personal del Dr. Gouda, descubridor y autor de esta especie. Al intentar conseguir material de cultivo, me ha sido informado que la planta es muy pequeña y no se encuentra en condiciones saludables para la extracción de sus hojas al momento de esta investigación. Ante esto se ha extraído ADN de material de herbario de esta especie (Copijn s.n., depositado en WU) sin éxito alguno en cuanto a la amplificación de los marcadores moleculares analizados en esta tesis.

Especímenes	Colector y N° de colección	Herbario	Procedencia	N° Extracción	ETS	matK-trnK	ETS + matrK-trnK
<i>Tillandsia</i> subg. <i>Diaphoranthema</i>							
<i>Tillandsia aizoides</i>	Donadío 2	SI	Cult. Donadío	STA_2150	*	*	*
<i>Tillandsia aizoides</i>	Donadío 171	SI	Cult. Donadío	STA_2188	*	*	*
<i>Tillandsia aizoides</i>	Panizza s.n.	SI	Cult. Donadío	STA_2189	*	*	*
<i>Tillandsia andicola</i>	Donadío 169	SI	Cult. Donadío	STA_2158	*	*	*
<i>Tillandsia andicola</i>	Hromadnik 7231	WU	Cult. Viena	STA_2282	*	*	*
<i>Tillandsia angulosa</i>	Hromadnik 7263	WU	Cult. Viena	STA_2283	*	*	*
<i>Tillandsia brealitoensis</i>	Hromadnik 7152	WU	Cult. Viena	STA_2287		*	*
<i>Tillandsia caliginosa</i>	Hromadnik 5251	WU	Cult. Viena	STA_2289	*	*	*
<i>Tillandsia caliginosa</i>	Hromadnik 9071	WU	Cult. Viena	STA_2290	*	*	*
<i>Tillandsia capillaris</i>	Donadío 168	SI	Camp. Donadío	STA_2176	*	*	*
<i>Tillandsia capillaris</i>	Donadío 206	SI	Camp. Donadío	STA_2179	*	*	*
<i>Tillandsia castellanii</i>	Donadío 189	SI	Cult. Donadío	STA_2149	*	*	*
<i>Tillandsia copynii</i>	Copijn s.n.	WU	Herbario	STA_2256			
<i>Tillandsia cotagaitensis</i>	Hromadnik 5093	WU	Cult. Viena	STA_2293	*	*	*
<i>Tillandsia erecta</i>	Kiesling s.n.	SI	Cult. Donadío	STA_2195	*	*	*
<i>Tillandsia funebris</i>	Hromadnik 5038	WU	Cult. Viena	STA_2299	*	*	*
<i>Tillandsia gilliesii</i>	Hromadnik 7300a	WU	Cult. Viena	STA_2300		*	
<i>Tillandsia gilliesii</i>	Hromadnik 7261	WU	Cult. Viena	STA_2303	*	*	*
<i>Tillandsia gilliesii</i> ssp. <i>gilliesii</i>	Donadío 89	SI	Cult. Donadío	STA_2196	*	*	*
<i>Tillandsia gilliesii</i> ssp. <i>polysticha</i>	Hromadnik 7136	WU	Cult. Viena	STA_2301		*	
<i>Tillandsia gilliesii</i> ssp. <i>polysticha</i>	Hromadnik 7224	WU	Cult. Viena	STA_2302	*	*	*
<i>Tillandsia hirta</i>	Hromadnik 24059	WU	Cult. Viena	STA_2329	*	*	*
<i>Tillandsia hirta</i>	Hromadnik 24046	WU	Cult. Viena	STA_2331	*	*	*
<i>Tillandsia kuehhasii</i>	Hromadnik (238), Willinger s.n.	WU	Cult. Viena	STA_2332	*	*	*
<i>Tillandsia landbeckii</i>	Hromadnik 11008	WU	Cult. Viena	STA_2464	*		*
<i>Tillandsia landbeckii</i> ssp. <i>andina</i>	Hromadnik 23136	WU	Cult. Viena	STA_2463	*	*	*
<i>Tillandsia loliacea</i>	Hromadnik 5039	WU	Cult. Viena	STA_2336	*	*	*
<i>Tillandsia minutiflora</i>	Donadío s.n.	SI	Cult. Donadío	STA_2198	*	*	*
<i>Tillandsia mollis</i>	Hromadnik (232b), Alber 47	WU	Cult. Viena	STA_2339	*	*	*
<i>Tillandsia mollis</i>	Hromadnik (232a), R. Ehlers s.n.	WU	Cult. Viena	STA_2340	*	*	*
<i>Tillandsia mollis</i>	Hromadnik 9088	WU	Cult. Viena	STA_2341	*	*	*
<i>Tillandsia myosura</i>	Donadío 1	SI	Cult. Donadío	STA_2148	*		
<i>Tillandsia myosura</i>	Donadío 188	SI	Cult. Donadío	STA_2199	*	*	*
<i>Tillandsia myosura</i>	Morrone s.n.	SI	Cult. Donadío	STA_2270	*	*	*
<i>Tillandsia myosura</i>	Donadío s.n.	SI	Cult. Donadío	STA_2271	*		
<i>Tillandsia myosura</i>	Hromadnik 7276	WU	Cult. Viena	STA_2342	*	*	*

Especie	Colector y N° de colección	Herbario	Procedencia	N° Extracción	ETS	matK-trnK	ETS + matrK-trnK
<i>Tillandsia subg. Diaphoranthema</i>							
<i>Tillandsia myosura</i>	Hromadnik 7345	WU	Cult. Viena	STA_2343	*	*	*
<i>Tillandsia pedicellata</i>	Donadío 52	SI	Cult. Donadío	STA_2156		*	
<i>Tillandsia pedicellata</i>	Donadío 79	SI	Cult. Donadío	STA_2200	*	*	*
<i>Tillandsia rectangula</i>	Donadío 174	SI	Cult. Donadío	STA_2160		*	
<i>Tillandsia rectangula</i>	Morrone s.n.	SI	Cult. Donadío	STA_2201	*	*	*
<i>Tillandsia recurvata</i>	Donadío s.n.	SI	Cult. Donadío	STA_2185	*	*	*
<i>Tillandsia recurvata</i>	Morrone s.n.	SI	Cult. Donadío	STA_2186	*	*	*
<i>Tillandsia retorta</i>	Donadío 107	SI	Cult. Donadío	STA_2161		*	
<i>Tillandsia retorta</i>	Donadío 205	SI	Cult. Donadío	STA_2202	*	*	*
<i>Tillandsia retorta</i>	Pozner s.n.	SI	Cult. Donadío	STA_2203	*	*	*
<i>Tillandsia retorta</i>	Hromadnik 7304	WU	Cult. Viena	STA_2345		*	
<i>Tillandsia spirapetala</i>	Hromadnik 18013	WU	Cult. Viena	STA_2346	*	*	*
<i>Tillandsia tenebra</i>	Hromadnik 7322	WU	Cult. Viena	STA_2347	*	*	*
<i>Tillandsia tricholepis</i>	Donadío s.n.	SI	Cult. Donadío	STA_2157	*	*	*
<i>Tillandsia tricholepis</i>	Zuloaga 10475	SI	Cult. Donadío	STA_2204	*	*	*
<i>Tillandsia tricholepis</i>	Zuloaga s.n.	SI	Cult. Donadío	STA_2205	*	*	*
<i>Tillandsia usneoides</i>	Donadío s.n.	SI	Cult. Donadío	STA_2162	*	*	*
<i>Tillandsia virescens</i>	Donadío 167	SI	Camp. Donadío	STA_2209	*	*	*
<i>Tillandsia virescens</i>	Donadío 200	SI	Camp. Donadío	STA_2182	*	*	*
<i>Tillandsia virescens</i>	Zuloaga 10496	SI	Camp. Donadío	STA_2183	*	*	*
<i>Tillandsia subg. Phytarrhiza</i>							
<i>Tillandsia arhiza</i>	Hromadnik 300	WU	Cult. Viena	STA_2284		*	*
<i>Tillandsia bandensis</i>	Donadío 193	SI	Cult. Donadío	STA_2153	*	*	*
<i>Tillandsia bandensis</i>	Zuloaga s.n.	SI	Cult. Donadío	STA_2190	*	*	*
<i>Tillandsia bandensis</i>	Zuloaga s.n.	SI	Cult. Donadío	STA_2191	*	*	*
<i>Tillandsia bandensis</i>	Hromadnik 9130	WU	Cult. Viena	STA_2285	*	*	*
<i>Tillandsia bandensis</i>	BGB 216-36-94-23	WU	Cult. Viena	STA_2286	*		
<i>Tillandsia cf. bandensis</i>	Hromadnik 3076	WU	Cult. Viena	STA_2291	*	*	*
<i>Tillandsia cf. bandensis</i>	Hromadnik 7074	WU	Cult. Viena	STA_2292	*	*	*
<i>Tillandsia caerulea</i>	Hromadnik 4079	WU	Cult. Viena	STA_2288	*		
<i>Tillandsia crocata</i>	Hromadnik 537	WU	Cult. Viena	STA_2294		*	
<i>Tillandsia crocata</i>	Hromadnik 533	WU	Cult. Viena	STA_2295	*	*	*
<i>Tillandsia duratii</i>	Hromadnik 5031	WU	Cult. Viena	STA_2297		*	
<i>Tillandsia duratii</i>	Hromadnik 5271	WU	Cult. Viena	STA_2298		*	*
<i>Tillandsia graomogulensis</i>	Hromadnik 6071	WU	Cult. Viena	STA_2296	*	*	*

<i>Especie</i>	<i>Colector y N° de colección</i>	<i>Herbario</i>	<i>Procedencia</i>	<i>N° Extracción</i>	<i>ETS</i>	<i>matK-trnK</i>	<i>ETS + matrK-trnK</i>
<i>Tillandsia subg. Phytarrhiza</i>							
<i>Tillandsia kurt-horstii</i>	Hromadnik 6089	WU	Cult. Viena	STA_2333	*	*	*
<i>Tillandsia mandonii</i>	Hromadnik 5177	WU	Cult. Viena	STA_2337	*	*	*
<i>Tillandsia mandonii</i>	Hromadnik 7082	WU	Cult. Viena	STA_2338	*	*	*
<i>Tillandsia paleacea</i>	Hromadnik (132), Haugg 6147	WU	Cult. Viena	STA_2310	*	*	*
<i>Tillandsia paleacea</i>	Hromadnik 23165	WU	Cult. Viena	STA_2312	*	*	*
<i>Tillandsia paleacea</i>	Hromadnik 3169	WU	Cult. Viena	STA_2313	*		
<i>Tillandsia paleacea ssp. apurimacensis</i>	Hromadnik (s.n.), WT 182	WU	Cult. Viena	STA_2317	*	*	*
<i>Tillandsia peiranoi</i>	Hromadnik 7168	WU	Cult. Viena	STA_2344	*	*	*
<i>Tillandsia porongoensis</i>	Hromadnik 7321	WU	Cult. Viena	STA_2327	*	*	*
<i>Tillandsia porongoensis</i>	Hromadnik 7331a	WU	Cult. Viena	STA_2328	*	*	*
<i>Tillandsia streptocarpa</i>	Hromadnik 2132	WU	Cult. Viena	STA_2321	*	*	*
<i>Tillandsia aff. streptocarpa</i>	Hromadnik 20056	WU	Cult. Viena	STA_2306	*		
<i>Tillandsia aff. streptocarpa</i>	Hromadnik 20075	WU	Cult. Viena	STA_2307	*	*	*
<i>Tillandsia cf. streptocarpa</i>	Hromadnik 3178	WU	Cult. Viena	STA_2305	*	*	*
<i>Tillandsia subg. Anoplophytum</i>							
<i>Tillandsia aeranthos</i>	Donadío s.n.	SI	Cult. Donadío	STA_2175	*	*	*
<i>Tillandsia aeranthos</i>	Morrone s.n.	SI	Cult. Donadío	STA_2187	*	*	*
<i>Tillandsia tenuifolia</i>	Zuloaga 10594	SI	Cult. Donadío	STA_2276	*	*	*
<i>Tillandsia subg. Allardtia</i>							
<i>Tillandsia australis</i>	Donadío 238	SI	Cult. Donadío	STA_2147		*	*
<i>Vriesea</i>							
<i>Vriesea friburgensis</i>	Donadío s.n.	SI	Cult. Donadío	STA_2152	*	*	*

Tabla 5.1. Lista de materiales utilizados en el estudio molecular. Se indican los nombres de las especies, género y subgénero al que pertenecen, colector y número de colección, herbario en donde se encuentran depositados los ejemplares, números de extracción de ADN y procedencia del material. Marcados con (*) se indican los ejemplares usados en los análisis de cada marcador molecular y de la matriz combinada.

5.2.2. Selección de marcadores moleculares

Se seleccionaron para este estudio dos marcadores moleculares a ser amplificados y secuenciados para la obtención de las matrices moleculares a partir de las cuales se realizaron los análisis filogenéticos. Uno de los marcadores seleccionados es un fragmento no codificante de múltiples copias, el ETS (“external transcribed spacer”), espaciador externo entre las regiones 18S-26S del ADN nuclear ribosomal (Baldwin & Markos, 1998) y el otro marcador es el correspondiente a la región plastidial no codificante *matK-trnK intron* que incluye íntegramente al *matK* y parcialmente al *trnK* del cual solo se utiliza el intrón del *trnK* adyacente al *matK* (Hausner et al., 2006). Para mayor simplicidad a partir de este punto se llamará a esta última región *matK-trnK*.

La elección de estos marcadores se decidió a partir de los antecedentes de estudios moleculares publicados en el género *Tillandsia* y en la subfamilia Tillandsioideae respectivamente. El marcador ETS ha sido reportado como una valiosa fuente de variación dentro del género *Tillandsia* por Chew et al. (2010) mientras que el *matK-trnK* usado por Barfuss et al. (2005), fue el marcador plastidial que más variación mostró en la filogenia de la subfamilia.

5.2.3. Obtención de las secuencias moleculares

Se realizaron extracciones de ADN genómico total utilizando el protocolo de “Homemade Kit” (Alexander et al., 2007) a partir de hojas frescas secadas y conservadas en sílica gel del material citado en tabla 5.1.

Una vez realizadas las extracciones del ADN, se procedió a la amplificación por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de los marcadores moleculares ETS y *matK-trnK* a partir de cebadores específicos (tabla 5.2).

Tabla 5.2. Lista de cebadores específicos utilizados para la amplificación y/o secuenciación de los marcadores moleculares. Se indican los marcadores moleculares, los nombres de los cebadores, su sentido de amplificación, su uso en la amplificación (Amp) y/o secuenciación del marcador (Sec) y las referencias bibliográficas para cada cebador. Los cebadores marcados con (*) han sido diseñados especialmente para este trabajo y aún no han sido publicados.

Marcador Molecular	Cebador	Sentido de amplificación	Uso	Referencias bibliográficas
ETS (Nuclear, no codificante)	Till-2	“Forward”	Amp / Sec	Chew et al., 2010
	18S-IGS	“Reverse”	Amp / Sec	Baldwin & Markos, 1998
<i>matK-trnK</i> (plastidial, no codificante)	-19F	“Forward”	Amp / Sec	Molvray et al., 2000
	390F	“Forward”	Sec	Cuénod et al., 2002
	809R*	“Reverse”	Sec	Donadío & Starr, 2012
	1224F*	“Forward”	Amp / Sec	Donadío & Starr, 2012
	1326R	“Reverse”	Amp / Sec	Cuénod et al., 2002
	1710R	“Reverse”	Amp / Sec	Barfuss et al., 2005

El ETS se amplificó en un solo fragmento utilizando los cebadores específicos Till2 y 18S-IGS (Tabla 5.2). Para la amplificación del ETS se realizaron reacciones de 15ul conteniendo 6,35 µl de agua, 1,5 µl de 10X HS PCR Buffer, 0,9 µl de MgCl₂ 25 mM (concentración final en la reacción: 1,5 mM), 0,3 µl de 10 mM dNTPs, 0,375 µl de cada cebador específico, 3 µl de 5M Betaína como aditivo de PCR (concentración final en la reacción: 1M), 0,12 µl de 5 U/µl de HS o NEB Taq polimerasa (resultando esta última ser más eficiente), y 3 µl de ADN como templado. La adición de betaína a la reacción de PCR fue esencial para facilitar la separación de las hebras de ADN dada la fuerte estructura secundaria presente.

La amplificación por PCR del ETS consistió en una etapa inicial de 5 minutos a 96 °C seguida de 35 ciclos de desnaturalización de 1½ minutos a

96°C, “annealing” de 1½ minutos a 50°C y extensión de 2½ minutos a 72°C y una etapa final de 5 minutos a 72°C siguiendo las condiciones usadas por Chew et al. (2010). Para los casos en que no se lograban obtener productos de PCR suficientemente buenos como para que la secuenciación resultara exitosa, se comprobó mediante pruebas de gradiente de temperatura, que la temperatura de “annealing” óptima era de 60°C por lo que a partir de ese momento el programa de amplificación fue modificado cambiando la temperatura de “annealing” de 50°C a 60°C. La alta temperatura de “annealing” necesaria para lograr la amplificación exitosa del ETS, se debe al alto contenido de GC en la secuencia de este marcador molecular en las especies estudiadas. Las uniones GC generan un fuerte lazo entre las hebras del ADN que requiere de estas altas temperaturas para lograr la separación de las mismas y permitir el “annealing” de los cebadores específicos.

El *matK-trnK* se amplificó en dos fragmentos utilizando los cebadores específicos de la siguiente manera -19F-1326R y 1224F-1710R respectivamente (Tabla 5.2). El cebador 1710R está ubicado en la región 3' del intrón del *trnK* y es a partir del cual se logra amplificar dicho intrón cuya posición en el genoma es contigua al marcador *matK*. Para la amplificación del *matK-trnK* se realizaron reacciones de 15ul conteniendo 1,5 µl de 10X HS PCR Buffer, 1,2 ó 0,9 µl de MgCl₂ 25 mM (concentración final en la reacción: 2 ó 1,5 mM) respectivamente según el fragmento a amplificar, 0,3 µl de 10 mM dNTPs, 0,375 µl de cada cebador específico, 0,6 µl de BSA como aditivo de PCR, 0,06 ó 0,12 µl de 5 U/µl HS Taq polimerasa según se amplificara el primer o segundo fragmento respectivamente, 3 µl de ADN como templado y agua de acuerdo a un volumen de 15ul por reacción.

La amplificación por PCR del primer fragmento de *matK-trnK* (-19F-1326R) consistió en una etapa inicial de 3 minutos a 94°C seguida de 40 ciclos de desnaturalización de 1 minuto a 94°C, “annealing” de 1 minuto a 48°C y extensión de 2 minutos a 72°C y una etapa final de 5 minutos a 72°C siguiendo las condiciones usadas por Barfuss et al. (2005). Para los pocos casos en que no se logró obtener productos de PCR suficientemente buenos como para que la secuenciación resultara exitosa, se comprobó mediante pruebas de gradiente de temperatura, que la temperatura de “annealing” óptima era de

57°C por lo que algunas de las especies fueron amplificadas cambiando la temperatura de “annealing” de 48°C a 57°C. El segundo fragmento de *matK-trnK* (1224F-1710R) fue amplificado de la misma manera que el primer fragmento (-19F-1326R) pero siempre bajo una temperatura de “annealing” de 57°C ya que no se lograba obtener producto alguno mediante el programa de amplificación tradicional para este marcador obtenido de Barfuss et al. (2005).

Los productos de PCR de ambos marcadores moleculares fueron constatados mediante electroforesis en geles de agarosa con bromuro de etidio (BrEt), sustancia que se intercala entre las bases del ADN permitiendo la posterior visualización por fluorescencia del ADN bajo luz ultravioleta (UV). La visualización de los geles se realizó utilizando Kodak Gel Logic.

Posteriormente los productos de PCR confirmados como positivos fueron purificados mediante el protocolo de purificación ExoSAP-IT (GE Healthcare, Uppsala, Sweden) para mantener únicamente el ADN doble cadena producto de la PCR, removiendo el exceso de cebadores y dNTPs, evitando así que estos puedan llegar a interferir luego en la reacción de secuenciación. Este protocolo de purificación es mucho más rápido y sencillo que los métodos de precipitación tradicionales con isopropanol y consiste en el agregado de exonucleasa I (Exo) y fosfatasa alcalina (Shrimp Alkaline Phosphatase: SAP) a los productos de PCR seguido de dos ciclos en termociclador, el primero por 30 minutos a 37°C y el segundo por 10 minutos a 90°C.

Luego se procedió a la realización de las reacciones de secuenciación. Aunque similares a las reacciones de amplificación por PCR, en las reacciones de secuenciación la replicación del ADN se ve interrumpida por la incorporación de dideoxynucleótidos (ddNTPs) que al unirse a la cadena de ADN durante la polimerización evitan cualquier posterior adición de deoxynucleótidos (dNTPs). La incorporación de los ddNTPs ocurre a cualquier largo del fragmento de ADN amplificado por lo que, luego de varios ciclos de amplificación, la reacción produce muchos fragmentos de ADN y de todas las longitudes. Los ddNTPs están marcados con fluorescencia y cada tipo de nucleótido (A, C, G y T) brilla con un color diferente. Cuando los fragmentos de ADN de distintos largos producidos durante la reacción de secuenciación migran a través de los capilares del secuenciador automático, pasan por un sensor laser que hace

brillar los ddNTPs terminales de los fragmentos de ADN. Así, la fluorescencia es detectada por una cámara y leída por el secuenciador. Las reacciones de secuenciación fueron preparadas con producto de PCR, buffer para la Taq, un cebador específico, agua y una premezcla de reacción llamada “ABI BigDye Ready Reaction Mix” que incluye dNTPs, ddNTPs marcados y Taq polimerasa. El programa de amplificación para llevar a cabo las reacciones consistió en una temperatura inicial de 95 °C por 3 minutos seguida de 25 ciclos de amplificación de 30 segundos a 96 °C, 20 segundos a 50 °C y 4 minutos a 60 °C.

Posteriormente, las reacciones de secuenciación fueron purificadas esta vez para remover el exceso de ddNTPs marcados del producto obtenido. La purificación consistió en la precipitación del producto de las reacciones de secuenciación a través de la adición de etanol, EDTA y acetato de sodio, seguida de centrifugación, lavado y re-suspensión del ADN en formamida de uso molecular.

Una vez purificado el producto de las reacciones de secuenciación, se procedió a la secuenciación del ADN en secuenciador automático ABI 3130xl.

5.2.4. Procesamiento de las secuencias

Las secuencias obtenidas fueron limpiadas y ensambladas utilizando el programa Sequencher versión 5.0 (sequence analysis software, GeneCodes Corporation, Ann Arbor, MI USA, <http://www.genecodes.com>). Para la confección de las matrices moleculares, las secuencias de ADN se alinearon mediante ClustalW (Thompson & al., 1994) seguido de ajustes manuales usando BioEdit versión 7.0.9.0 (Hall, 1999) disponible en <http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>.

5.2.5. Análisis de los datos

Para la obtención de los árboles filogenéticos, las matrices de datos moleculares confeccionadas fueron analizadas bajo el criterio de máxima parsimonia (Farris, 1983) utilizando el programa TNT (Goloboff et al., 2008). Para los análisis filogenéticos se excluyeron los caracteres no informativos y se realizaron búsquedas heurísticas bajo pesos iguales considerando a los “gaps” como datos faltantes y tomando como raíz a *Vriesea friburgensis* Mez. Para las búsquedas se usaron 1000 RAS (random addition sequences) y TBR

(tree bisection-reconnection) guardando 10 árboles por réplica y luego repitiendo TBR a partir de los árboles guardados en la memoria RAM. Para calcular el apoyo o soporte de los clados se utilizó el método de remuestreo de bootstrap (Felsenstein, 1985), usando 1000 réplicas y partiendo de 4 RAS + TBR y guardando 3 árboles por cada RAS.

5.3. Resultados

5.3.1. Secuencias, alineamientos y confección de las matrices de datos moleculares

El largo de las secuencias obtenidas resultó muy poco variable para ambos marcadores moleculares. Las secuencias obtenidas para ETS poseen un largo de entre 411 y 412 pb, la secuencia más larga fue de 419 pb obtenida para *Tillandsia landbeckii* subsp. *andina*, mientras que el largo de la secuencia más corta fue de 400 pb, para *T. spiralipetala*. Las secuencias obtenidas para *matK-trnK* poseen un largo de 1775 pb, con excepción de la secuencia de *T. virescens* (STA2209) que resultó más larga con 1781 pb debido a la presencia de una inserción de 6 pb para dicho taxón, mientras que las únicas más corta fueron de 1774 pb, dada por *Vriesea friburgensis* y uno de los ejemplares de *Tillandsia bandensis* (STA2291).

Para la mayoría de las especies y para ambos marcadores moleculares analizados, siempre que fue posible se incluyeron varios ejemplares por especie (tabla 5.1).

El alineamiento de las secuencias de ETS contiene 76 secuencias y resultó en 435 caracteres totales. Las 76 secuencias representan a un total de 39 especies analizadas de las cuales 26 corresponden al grupo interno y 13 al grupo externo. Este último está representado por 10 especies de *Tillandsia* subgénero *Phytarrhiza* y 2 especies del subgénero *Anoplophytum* y por 1 especie del género *Vriesea* (tabla 5.1). De los 435 caracteres de este alineamiento, 103 resultaron informativos (tabla 5.3).

El alineamiento de las secuencias de *matK-trnK* contiene 81 secuencias y 1787 caracteres. Las 81 secuencias representan a un total de 42 especies analizadas de las cuales 27 corresponden al grupo interno y 15 al grupo

externo. Este último está representado en este caso por 11 especies de *Tillandsia* subgen. *Phytarrhiza*, 2 especies del subgénero *Anoplophytum* y 1 especie del subgénero *Allardtia* y por 1 especie del género *Vriesea* (tabla 5.1). De los 1787 caracteres de este alineamiento, 77 resultaron informativos (tabla 5.4).

Tabla 5.3. Matriz de datos moleculares aportados por el marcador ETS. Esta matriz posee 76 especímenes y 103 caracteres informativos.

V.friburgensis_STA2152	NNNNNNNNCCCTCCCCACAGCGCGCCCGCACGCGCCGTGCCCGGCCCGCCCGGACCGGCTCGGCCGCACGGCCCGCGCGCTCTCCGGGCGCCCC
T.aëranthos_STA2175	GGCGCTTCCCTTCCCACAGCTTGCGCGCACGCGCCGCTCCCCAACCTCCTCGTACATCGGCTCGTCCGCATGGGCTCGCGCTTCCGCTCGGGCCGCTCCC
T.aëranthos_STA2187	GGCGCTTCCCTTCCCACAGCTTGCGCGCACGCGCCGCTCCCCAACCTCCTCGTACATCGGCTCGTCCGCATGGGCTCGCGCTTCCGCTCGGGCCGCTCCC
T.aff.streptocarpa_STA2306	NNNNNNNNNNNNCTCACAGCTTTCGCGCTCGCGCCGTTCCCCAGCCCCCGCCACACCGGGTCCGCGCACGGCCCGCGTGCTTCCGCTGGGCGCCCN
T.aff.streptocarpa_STA2307	NNNNNNNNNNCCCTCCACAGCTTTCGCGCTCGCGCCGTTCCCCAGCCCCCGTCCACACCGGGTCCGCGCACGGCCCGCGTGCTTCCCTTGGGCGNNNNNN
T.aizoides_STA2150	GGCGTTTCTCCTTTTTCACAGCTTGCCCTCACGCGCCGTTCTCTAGCCCCCGCCACACTGGCTCTTCCGCACAATCCGCGTGCTTTTGCCAGGCGCTCTCA
T.aizoides_STA2188	GGCGTTTCTCCTTTTTCACAGCTTGCCCTCACGCGCCGTTCTCTAGCCCCCGCCACACTGGCTCTTCCGCACAATCCGCGTGCTTTGCGCCAGGCGCCCTCC
T.aizoides_STA2189	NNNNNNNTCCTTTTTCACAGCTTGCCCTCACGCGCCGTTCTCTAGCCCCCGCCACACTGGCTCTTCCGCACAATCCGCGTGCTTTTGCCAGGCGCTCTCA
T.andicola_STA2158	NNNNNNNNNNTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGTCTCCCCGCCACACCAGCTCGTCTGTACGGCTCGCGCGATCTCGCTCGGGCCGCCCC
T.andicola_STA2282	GGC?CGTCTCTTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGTCTCCCCGCCACACCAGCTCGTCTGTACGGCTCGCGCGATCTCGCTCGGGCCGCCCC
T.angulosa_STA2283	GGT?CGTCTCTTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCTTCCCCGCCACACCAGCTCGTCCGCACGGCTCGCGTGATCCCGCCCGGGCCGCCCC
T.bandensis_STA2153	GGC?CGTTCCTTTTTCACAATCTGCCACATGCGCCGTTCCCCAGCTCTCTGCCACACCAGGCTCGTCCGCACGGCCCGCGGATTCGCGCCGCTTCTCCCC
T.bandensis_STA2190	GGC?CGTTCCTTTTTCACAGTCTGCCACATGCGCCGTTCCCCAGCTCTCTGCCACACCAGGCTCGTCCGCACGGCCCGCGGATTCGCGCCGCTTCTCCCC
T.bandensis_STA2191	NNNNNTTCCCTTTTTCACAGTCTGCCACATGCGCCGTTCCCCAGCTCTCTGCCACACCAGGCTCGTCCGCACGGCCCGCGGATTCGCGCCGCTTCTCCCC
T.bandensis_STA2285	GGC?CGTCCCCTTTTCACAGTCTGCCACATGGCGGTTCCCCAGCTCTCTGCCACACCAGGCTCGTCCGCACGGCCCGCGGATTCGCGCCGCTTCTCCCC
T.bandensis_STA2286	GGC?CGTCCCCTTTTCACAGTCTGCCACATGCGCCGTTCCCCAGCTCTCTGCCACACCAGGCTCGTCCGCACGGCCCGCGGATTCGCGCCGCTTCTCCCC
T.caerulea_STA2288	NNNNNNNNCTTTCACAGCTTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCTCCCCCGCCGACCGGCTCGTCCGCACGGCTCGTCCGCTTTCGCGCCGGCCGCCCC
T.caliginosa_STA2289	GGC?CGTCTCTTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGTCTCCCCGCCACACCAGCTCGTCTGTACGGCTCGCGCGATCTCGCTCGGGCCGCCCC
T.caliginosa_STA2290	GGC?CGTCTCTTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGTCTCCCCGCCACACCAGCTCGTCTGTACGGCTCGCGCGATCTCGCTCGGGCCGCCCC
T.capillaris_STA2179	GGC?CGTCCCCTTTTCACAGTCTGCCTGCACGCGCCGTTCCCCAGCTCCCCGCCACACCAGGCTCGTCCGTACGGCTCGCGCGATCCCGCTTGGGCTGCCCCC
T.capillaris_STA2176	GGC?CGTCCCCTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCTCCCCGCCACACCAGGCTTGTCCGTACGGCTCGCGCGATCCCGCTCGGGCTGCCCCC
T.castellanii_STA2149	GGC?CGTCCCCTTTTCATAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCTCCCCGTCCACACCAGCTCGTCTGTACGGCTCGGGCGATCTCGCTCGGGCCGNNNNN
T.cf.bandensis_STA2291	GGC?CGTCCCCTTTTCACAGTCTGCCACATGCGCCGTTCCCCAGCTCTCTGCCACACCAGGCTCGTCCGCACGGCCCGCGGATTCGCGCCGCTTCTCCCC
T.cf.bandensis_STA2292	GGC?CGTCCCCTTTTCACAGTCTGCCACATGCGCCGTTCCCCAGCTCTCTGCCACACCAGGCTCGTCCGCACGGCCCGCGGATTCGCGCCGCTTCTCCCC
T.cf.streptocarpa_STA2305	GGCGCTTCCCTCCTCACATCTTCCCGCTCGCGCCATCCCCAGCTCCCCCGCCACACCAGGCTCGCCCGCACGGCCCGCACGCTTCCGCCCCGGGCGCCCC
T.cotagaitensis_STA2293	GGC?CGTCTCTTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGTCTCCCCGTCCACACCAGCTCGTCTGTACGGCTCGGGCGATCTCGCTCGGGCCGNNNNN
T.crocata_STA2295	NNNNNTCCTCTTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGTCTCCCCGTCCACACCAGCTCGTCCGTACGGCTCGTCCGATCTCGTTCGGGCGCTCCCN
T.erecta_STA2195	GGCGCTTCTCCTTTTTCACAGTCTGCCCTCACGCGCCGTTCTCTAGCCCCCGCCACACCAGGCTCTTCCGCACGGTCCGCGCGCTTTCGCGCCGGGCGCCTCC
T.funbris_STA2299	GGCGTTTCTCCTTTTTCACAGCTTGCCCTCACGCGCCGTTCTCTAGCCCCCGCCACACCAGGCTCTTCCGCACAGTCCGCGCGCTTTCGCTCCGGCCGCTTC
T.gilliesii_gilliesii_STA2196	GGC?CGTCTCTTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCTCCCCGCCACACCAGGCTCGTCCGCACGGCTCGTCCGATCCCGCTCGGGCCGCCCC
T.gilliesii_STA2303	NNNNNTCCTCTTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCTCCCCGTCCACACCAGGCTCGTCCGCACGGCTCGTCCGATCCCGCTCGGGCCGCCCC
T.gilliesii_polysticha_STA2302	GGC?CGTCTCTTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCTCCCCGCCACACCAGGCTCGTCCGCACGGCTCGTCCGATCCCGCTCGGGCCGCCCC
T.graomogulensis_STA2296	GGCGCTTCCCTCCTCACAGCTTTCGCGCTCGCGCTGTTCCCCAGGACCCCGCCACACCAGGCTCGCCCGCACGGCCCGCGGCTTCCGCCCCGGGCGCCCC
T.hirta_STA2329	GGC?CGTCCCCTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCTCCCCGCCACACCAGGCTCGTCCGTTCGGCTCGCGCGATCCCGCTCGGGCCGCCCC
T.hirta_STA2331	GGC?CGTCCCCTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCTCCCCGCCACACCAGGCTCGTCCGTTCGGCTCGCGCGATCCCGCTCGGGCCGCCCC
T.kuehhasii_STA2332	NNNNNNNNCCCTTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCTCTGCCTCCCCGCCACACCAGGCTCGTCCGCACGGCTCGCGCGATCCCGCTCGGGCCGCCCC
T.kurtz_horstii_STA2333	GGCGCTTCCCTCCTCACAGCTTTCGCGCTACGCGTCTCCCCAGGACCCCGCCACACCAGGCTCGTCCGCACGGCTCGCGCGATCCCGCTCGGGCCGCCCC
T.landbeckii_andina_STA2463	NNNNNNNNNNNNACAGCTTCCCGTACTCGCGTTCCCCCAGCTCCCCGCCACACCAGGCTCGTCCGCACGGCCCGCGTGCTTCCGCCCCGGGCGCCCC
T.landbeckii_STA2464	NNNNNNNNNNNTTTCACAGTCTCCCCGTACTCGCGTTCCCCCAGCTCCCCGCCACACCAGGCTCGTCCGCACGGCCCGCGTGCTTCCGCCCCGGGCGCCCC
T.loliacea_STA2336	GGCGCTCCTTATTTTCAGCTTGCTGCACGCGCCGTTCCCCAGCTCCCCGCCACACTGTCTCGTTCGCACGGCTTGTGCGCTTCCGCTCGGGCTCTCT

T.mandonii_STA2337
T.mandonii_STA2338
T.minutiflora_STA2198
T.mollis_STA2339
T.mollis_STA2340
T.mollis_STA2341
T.myosura_STA2148
T.myosura_STA2199
T.myosura_STA2270
T.myosura_STA2271
T.myosura_STA2342
T.myosura_STA2343
T.paleacea_STA2310
T.paleacea_STA2312
T.paleacea_STA2313
T.paleacea_STA2317
T.pedicellata_STA2200
T.peiranoi_STA2344
T.porongoensis_STA2327
T.porongoensis_STA2328
T.rectangula_STA2201
T.recurvata_STA2185
T.recurvata_STA2186
T.retorta_STA2202
T.retorta_STA2203
T.spiralipetala_STA2346
T.streptocarpa_STA2321
T.tenebra_STA2347
T.tenuifolia_STA2276
T.tricholepis_STA2157
T.tricholepis_STA2204
T.tricholepis_STA2205
T.usneoides_STA2162
T.virescens_STA2209
T.virescens_STA2182
T.virescens_STA2183

NNNNNNNNNNNNNNNNNNACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCCTTCCCTCCACATCGGCTCGTTCGCACGGCTCGCGCATNNNNNNNNNNNNNNNNNN
GGT?CGTCCTCTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCCTTCCCTCCACATTGGCTCGTTCGCACGGCTCGCGCGATCCCGCCCGGGCCGTCCTCC
GGCGCTTCTCCATCTCGCAGCTCGTCCGCACGAGCCGCTCTCCAGCCCCACCGCTACACCGTCTTGTTCACACAGCTCGTGCACCTCAGCTCGGGCCGCCCC
GGCCCTCCCTTTCTTAGAGCTTCCCGCAGTCCGCGTTCGCCAGCCCCCGCCACGCGCGCTCGTCCGCACGGCCCGCGCTTCCCGCCGGGCGCCCC
GGCCCTCCCTTTCTTAGAGCTTCCCGCAGTCCGCGTTCGCCAGCCCCCGCCACGCGCGCTCGTCCGCACGGCCCGCGCTTCCCGCCGGGCGCCCC
NNNNNNNNNNNTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCCTTCCCGCCACACCGGCAAGTTCGCACGGCTCGCGCATCTCGCCCGGGCCGCCNN
NNNNNNNNNTCTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCCTTCCCGCCACACCGGCAAGTTCGCACGGCTCGCGTGATCCCGCCGGGCGCCCC
GGC?CGTCCTCTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGTCTCCCGCCACACCGCTCGTCTGTACGGCTCGCGCATCTCGCTCGGGCCGCCCC
CGC?CGTCCTCTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGTCTCCCGCCACACCGCTCGTCTGTACGGCTCGCGCATCTCGCTCGGGCCGCCCC
GGC?CGTCCTCTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCCTTCCCGCCACACCGGCAAGTTCGCACGGCTCGCGCATCCCGCTCGGGCCGCCCC
CGC?CGTCCTCTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGTCTCCCGCCACACCGCTCGTCTGTACGGCTCGCGCATCTCGCTCGGGCCGCCCC
GGCGCTTCCCTCTCCTCACTTCTTTCCCGCTCGCGCATCCCCAGCCTTCCCGCCACACCGGCTCCCGCCACGCGCCGCGCATCTCGCCCGGGCCGCCCC
NNNNNNNNNNNNNNNNNNCATCTTTCCCGCTCGCGCATCCCCAGCCCCCGCCACACTGGGTCGCCCCGACGGCCGCGCTTCCCGCCGGGCGCCCC
NNNNNNNNNNNNNNNNNNCTTCTTTCCCGCTCGCGCATCCCCAGCCTTCCCGCCACACCGGCTCCCGCCACGCGCCGCGCATCTCGCCCGNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNCATCTTTCCCGCTCGCGCATCCCCAGCCCCCGCCACACCGGCTCGCCCCGACGGCCGCGCATCTCCCCCGGGTNNNNNNNN
GGCGCTTCCCTCTTTCACAGTCTGCCCGCATGCCCGCTTCCCCAGCCTTCCCGCCACACCGGCTCGTCCGCACGGCCCGCGCTTCCCGCCGGGCGCCCC
GGCGCTTCCCTCTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCGGCCCCCGCCACACCGGCTCGTCCGCACGGCCCGCGCTTTCGCCCCGGGCGCCCC
GGC?CGTCCTCTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCCTTCCCGCCACACCGGCTCGTCCGCACGGCTCGCTCGATCCCGCTCGGGCCGCCCC
GTC?CGTCCTCTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCCTTCCCGCCACACCGGCTCGTCCGCACGGCTCGCTCGATCCCGCTCGGGCCGCCCC
GGCGTTTCTCCTTTTCACAGTCTGCCCTCACGCGCCGTTCTCTAGCCCCCGCCACACCGGCTCTTCCGCACAGTCCCGCGCTTTCGTCGGGCGCCCTC
GGC?CGTCCTCTTTTCACAGTCTGCCCGCATGCGCCGTTCCCGGCTTCCCGCCACACCGGCTCGTCCGCACGGCCCGCGCATCTCGCCCGGGTTCGCCCC
GGC?CGTCCCTTTTCACAGTCTGCCCGCATGCGCCGTTCCCCAGCCTTCCCGCCACACCGGCTCGTCCGCACGGCTGCGCATTCGCCCCGGTTCGCCCC
GGC?CGTCCTCTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGTCTCCCGCCACACCGCTCGTCTGTACGGCTCGCGCATCTCGCTCGGGCCGCCCC
GGC?CGTCCCTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGTCTCCCGCCACACCGGCTCGTCTGTACGGCTCGCGCATCTCGCTCGGGCCGCCCC
NNNNNNNNCCCATCTCGCAGCTTGCCCGCACGCGTCTGCCAGCCCCCGCCACACCGTCTCGTTCACA??CTCGCGCTTCCGTTGGGCGCCCCN
GTCGCTTCCCTTCTCATCTTACCCTGCGCCATTCCCCAGCCCCCTCGCCACACCGGTTGCCCGCACGGCCCGCACGCTTCCCGCCGGGCGCCCC
GGC?CGTCCTCTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCCTTCCCGCCACACCGGCTCGTCCGCACGGCTCGCTCGATCCCGCTCGGGCCGCCCC
GGCGCTTCCCTTCCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTCCCCAGCCTTCCCGCCACACCGGCTCGTCCGCATGGCCCGCGCTTCCCGCCGGGCGCCCCN
GGCGCTTCCCATCTCGCAGCTCGTCCGCACGAGCCGCTCTCCAGCCCCACCGCCACACCGTCTTGTTCACACAGCTCGTGCACCTCAGCTCGGGCCGCCCC
GGCGCTTCCCATCTCGCAGCTCGTCCGCACGAGCCGCTCTCCAGCCCCACCGCCACACCGTCTTGTTCACACAGCTCGTGCACCTCAGCTCGGGCCGCCCC
GGCGCTCCCTTTCTTAGAGTCTCCCGCAGTCCGCGTTCGCCAGCCCCCGCCACGCGCGCTCGTCCGCACGGCCCGCGCTTCCCGCCGGGCGCCCCN
GGC?CGTCCCTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCTTCCCTCAGCCTTCCCGCCACACCGGCTTGTCCGCACGGCTCGCGCATCCCGCTCGGGTTCGCCCC
GGC?CGTCCCTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTTCTCAGCCTTCCCGCCACACCGGCTCGTCCGCACGGCTCGCGCATCCCGCTCGGGCCGCCCC
NNNNNNNNNGCCTTTTCACAGTCTGCCCGCACGCGCCGTTTCTCAGCCTTCCCGCCACACCGGCTCGTCCGCACGGCTCGCGCATCCCGCTCGGGCCGCCCC

Tabla 5.4. Matriz de datos moleculares aportados por el marcador *matK-trnK*. Esta matriz posee 81 especímenes y 77 caracteres informativos.

V.friburgensis_STA2152	CCCACGCACGAGGGCACGAGCGTCCAACGACTGAAAACCCCTCTGCCACCGTGAAAAGTAGGTGTCCACGCTCATTC
T.aëranthos_STA2175	CCCACGCGCAAGGGCACGAGCGTCCAACGACGGGAAAACCCCTATGCCACCGTGAAAAGCAGGTGTCCCACAGAGTCCG
T.aëranthos_STA2187	CCCACGCGCAAGGGCACGAGCGTCCAACGACGGGAAAACCCCTATGCCACCGTGAAAAGCAGGTGTCCCACAGAGTCCG
T.aff.streptocarpa_STA2307	CCTACGTGCAAGGGCACGAGCGTCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACTGTGGAAAAGCAGGTGTCCCCGCTAATCG
T.aizoides_STA2150	TCCACGCACAAGGGCAATAGTGTCCAACGGCTGGAAAACCTCTATGCCTCCGCGAAAAGCAGGTGTCCCCGCTAATCG
T.aizoides_STA2188	TCCACGCACAAGGGCAATAGTGTCCAACGGCTGGAAAACCTCTATGCCTCCGCGAAAAGCAGGTGTCCCCGCTAATCG
T.aizoides_STA2189	TCCACGCACAAGGGCAATAGTGTCCAACGGCTGGAAAACCTCTATGCCTCCGCGAAAAGCAGGTGTCCCCGCTAATCG
T.andicola_STA2158	CCCACACGCAAGGGCTCGCGCGTCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCATCGTGAAAAGCAGGTGTCCCTCGAGAATCG
T.andicola_STA2282	CCCACACGCAAGGGCTCGCGCGTCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACCGTGAAAAGCAGGTGTCCCTCGAGAATCG
T.angulosa_STA2283	CCCACGCGCAAGGGCTCGAGCGTCCAACGACTGGAGACCCCTATGCCACCGTGAAAAGCAGGTGTCCCTCGCTAATCG
T.arhiza_STA2284	CCCACGTGCAAGGGCACGAGCGCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACTGTGGAAAAGCAGGTGTCCACCGCTAATTC
T.australis_STA2147	CCCACGGGCAAGGGCACGAGCGTCCAACGACTGAAAACCCCTCTGCCACCGTGAAAAGTAGGTGTCCCCGCTCATTC
T.bandensis_STA2153	CCCACGCGCAAGGGCACGAGCGTCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACCATGAAAAGCAGGTGTCCCTCGCTAATCG
T.bandensis_STA2190	CCCACGCGCAAGGGCACGAGCGTCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACCATGAAAAGCAGGTGTCCCTCGCTAATCG
T.bandensis_STA2191	CCCACGCGCAAGGGCACGAGCGTCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACCATGAAAAGCAGGTGTCCCTCGCTAATCG
T.bandensis_STA2285	CCCACGCGCAAGGGCACGAGCGTCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACCATGAAAAGCAGGTGTCCCTCGCTAATCG
T.brealitoensis_STA2287	CCCCCGCGCAAGGGCAAGAGTGTCCAACGACTGAAAACCCCTATGCCTCCGTGAAAAGCAGGTGGCCCGCTAATTC
T.caliginosa_STA2289	CCCACACGCAAGGGCTCGCGCGTCCAACGACTGGAAAACCTCTATGCTACCGTGAAAAGCAGGTGTCTTAGATAATCG
T.caliginosa_STA2290	CCCACACGCAAGGGCTCGCGCGTCCAACGACTGGAAAACCTCTATGCTACCGTGAAAAGCAGGTGTCTTAGATAATCG
T.capillaris_STA2179	CTCACGCGCAAGGGCTCGAGCGTCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACCGTGAAAAGCAGGTGTCCCTCGCTAATTC
T.capillaris_STA2176	CTCACGCGCAAGGGCTCGAGCGTCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACCGTGAAAAGCAGGTGTCCCTCGCTAATTC
T.castellanii_STA2149	CCCACGCGCAAGGGATCGAGCATCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACCGTGAAAAGCAGGTGTCCCTCGAGAATTC
T.cf.bandensis_STA2291	CCCACGCGCAAGGGCACGAGCGTCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACCATGAAAAGCAGGTGTCCCTCGCTAATTC
T.cf.bandensis_STA2292	CCCACGCGCAAGGGCACGAGCGTCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACCATGAAAAGCAGGTGTCCCTCGCTAATTC
T.cf.streptocarpa_STA2305	CCCACGCGCAAGGGCACGAGCGTCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACTGTGGAAAAGCAGGTGTCCACCGCTAATTC
T.cotagaitensis_STA2293	CCCACACGCAAGGGCTCGCGCGTCCAACGACTGGAAAACCTCTATGCTACCGTGAAAAGCAGGTGTCCCTCGATAATTC
T.crocata_STA2294	CCCATGCGCAAGGGCTCGCGCGTCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACCGTGAAAAGCAGGTGTCCCTCGATAATTC
T.crocata_STA2295	NNCATGCGCAAGGGCTCGCGCGTCCAACGATGGAAAACCCCTATGCCACCGTGAAAAGCAGGTGTCCCTCGATAATTC
T.duratii_STA2297	CCCACGTGCAAGGGCACGAGCGCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACTGTGGAAAAGCAGGTGTCCACCGCTAATTC
T.duratii_STA2298	CCCACGTGCAAGGGCACGAGCGCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACTGTGGAAAAGCAGGTGTCCACCGCTAATTC
T.erecta_STA2195	CCCACGCGCAAGGGCAATAGTGTCCAACGGCTGGAAAACCCCTATGCCTCCGTGAAAAGCAGATGTCCCCGCTAATCA
T.funebriis_STA2299	TCCACGCACAAGGGCAATAGTGTCCAACGGCTGGAAAACCTCTATGCCTCCGCGAAAAGCAGGTGTCCCCGCTAATTC
T.gilliesii_gilliesii_STA2196	CCCACGCGCAAGAGCTCGAGCGTCCAACGACTGGAGACCCCTATGCCACCGTGAAAAGCAGGTGTCCCTCGCTAATTC
T.gilliesii_STA2303	CCCACGCGCAAGAGCTCGAGCGTCCAACGACTGGAGACCCCTATGCCACCGTGAAAAGCAGGTGTCCCTCGCTAATTC
T.gilliesii_polysticha_STA2301	CCCACGCGCAAGAGCTCGAGCGTCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACCGTGAAAAGCAGGTGTCCCTCGCTAATTC
T.gilliesii_polysticha_STA2302	CCCACGCGCAAGAGCTCGAGCGTCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACCGTGAAAAGCAGGTGTCCCTCGCTAATTC
T.gilliesii_STA2300	CCCACGCGCAAGAGCTCGAGCGTCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACCGTGAAAAGCAGGTGTCCCTCGCTAATTC
T.graomogulensis_STA2296	CCTACGTGCAAGGGATCGAGCGTCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACTGTGGAAAAGCAGGTGTCCCCGCTAATTC
T.hirta_STA2329	CCCACGCGCAAGGGATCGAGCATCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACCGTGAAAAGCAGGTGTCCCTCGAGAATTC
T.hirta_STA2331	CCCACGCGCAAGGGATCGAGCATCCAACGACTGGAAAACCCCTATGCCACCGTGAAAAGCAGGTGTCCCTCGAGAATTC

A partir de la información aportada por el ETS y el *matK-trnK*, se generó una única matriz molecular combinando los caracteres informativos de ambos marcadores moleculares. Esta matriz combinada (ETS + *matK-trnK*) posee 42 especies representadas por 74 ejemplares y 175 caracteres informativos (tabla 5.5). De la totalidad de especies, 27 corresponden al grupo interno y 15 al grupo externo. Este último, al igual que en el análisis del *matK-trnK*, está representado por 11 especies de *Tillandsia* subgen. *Phytarrhiza*, 2 especies del subgénero *Anoplophytum* y 1 especie del subgénero *Allardtia* y por 1 especie del género *Vriesea* (tabla 5.1).

Para la confección de la matriz combinada sólo se han tomado en cuenta a los ejemplares para los cuales se cuenta con la información completa aportada por ambos marcadores moleculares, no se han tenido en cuenta los ejemplares para los cuales no se ha podido amplificar y/o secuenciar exitosamente alguno de los dos marcadores, siempre y cuando existiera algún otro ejemplar en representación de la especie (tabla 5.1). Se ha tomado esta determinación para disminuir el efecto de los datos faltantes en los análisis.

Las características de las matrices de datos moleculares se resumen en la tabla 5.6.

Tabla 5.6. Dimensión y características de las matrices de datos moleculares utilizadas en los análisis filogenéticos. GI y GE corresponden a grupo interno y grupo externo, respectivamente.

Matriz Molecular	Nº de secuencias (filas)	Nº de especies (GI + GE)	Nº de caracteres (columnas)	Nº y % de caracteres informativos
ETS	76	39 (26 + 13)	435	103 (23,68%)
<i>matK-trnK</i>	81	42 (27 + 15)	1787	77 (4,31%)
ETS + <i>matK-trnK</i>	74	42 (27 + 15)	2222	175 (7,88%)

5.3.2. Análisis filogenéticos de marcadores moleculares individuales

5.3.2.a. Marcador nuclear: ETS

Partiendo de la matriz de caracteres informativos aportados por las secuencias del marcador molecular nuclear ETS (tabla 5.3), se realizó la búsqueda heurística bajo pesos iguales, considerando a los “gaps” como datos faltantes. Como resultado se obtuvieron 240 árboles igualmente parsimoniosos de 208 pasos cada uno. En la figura 5.1 se muestra el consenso estricto de los árboles más parsimoniosos con los valores de soporte de bootstrap absoluto sobre sus ramas.

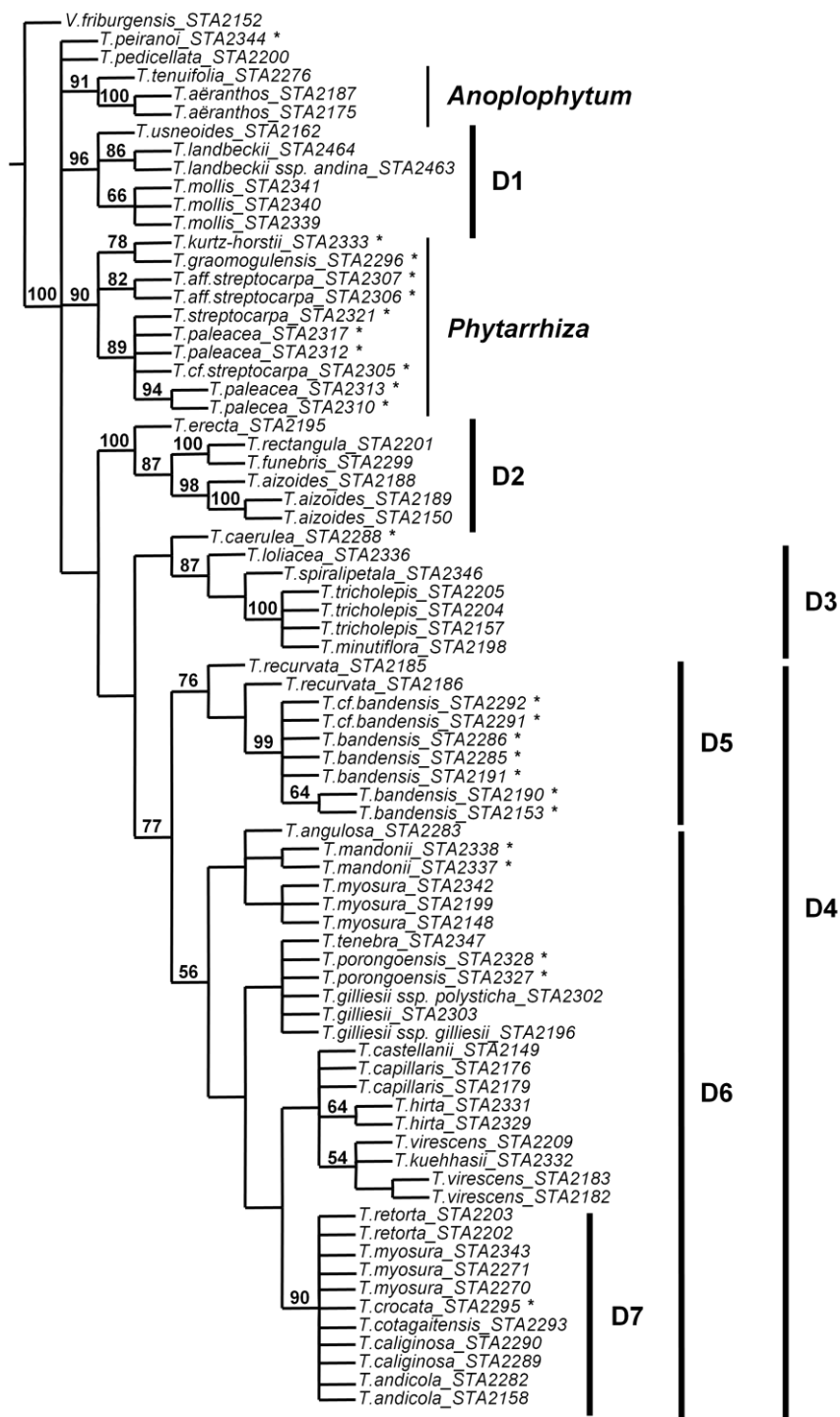


Figura 5.1. Consenso estricto de los 240 árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis de la matriz molecular de los datos informativos aportados por las secuencias de ETS. Sobre las ramas figuran los valores de soporte de bootstrap absoluto. Las especies de *Phytarrhiza* se encuentran marcadas con (*).

El consenso estricto a partir de los árboles más parsimoniosos obtenidos para ETS muestra una politomía basal que incluye a todas las especies analizadas de *Tillandsia* (Fig. 5.1).

De los 3 subgéneros de *Tillandsia*, el único que se resuelve como monofilético sobre la base de los caracteres informativos aportados por el ETS es *Anoplophytum*, mientras que *Diaphoranthema* y *Phytarrhiza* no se resuelven como grupos monofiléticos.

Formando parte de la politomía basal, se distinguen 4 agrupamientos principales, tres de ellos reúnen pocas especies y se encuentran fuertemente soportados y el cuarto contiene la mayor cantidad de especies aunque sin soporte alguno. De los tres agrupamientos basales soportados, uno de ellos (D1) agrupa a tres especies de *Diaphoranthema* (*T. landbeckii*, *T. mollis* y *T. usneoides*) con un soporte de bootstrap (BS) de 96, mientras que los otros dos están formados exclusivamente por especies pertenecientes al grupo externo: el clado *Anoplophytum* reúne a las dos únicas especies del subgénero que da nombre a este clado (*T. aëranthos* y *T. tenuifolia*) con BS=91, y el clado *Phytarrhiza* agrupa a 4 especies de dicho subgénero (*T. graomogulensis*, *T. kurtz-horstii*, *T. paleacea* y *T. streptocarpa*) con un BS=90. El resto de las especies de *Phytarrhiza* analizadas (*T. bandensis*, *T. caerulea*, *T. crocata*, *T. mandonii*, *T. peiranoi* y *T. porongoensis*) forman parte de otros agrupamientos en el árbol por lo que este subgénero se resuelve como polifilético.

El cuarto clado (clado D2+D3+D4) que forma parte de la politomía basal en el árbol consenso no se encuentra soportado pero posee una fuerte y soportada estructura interna, subdivida en 3 agrupamientos con altos valores de soporte. El clado denominado D2 formado por *T. erecta*, *T. rectangula*, *T. funebris* y *T. aizoides* soportado por un valor de BS=100, el clado D3 que reúne a *T. loliacea*, *T. spiralipetala*, *T. tricholepis* y *T. minutiflora* con BS=87 y el clado D4 con un soporte BS=77 que a su vez se divide en dos agrupamientos, uno de ellos es el clado D5 formado por *T. recurvata* y *T. bandensis* con un soporte moderado de BS=76 y el otro el clado D6 con bajo soporte (BS=56) que contiene a su vez a 4 agrupamientos menores de los cuales solo uno, el clado D7, está fuertemente soportado con BS=90 y reúne a *T. retorta*, *T. crocata*, *T. cotagaitensis*, *T. caliginosa*, *T. andicola* y a algunos ejemplares de *T. myosura*.

5.3.2.b. Marcador plastidial: *matK-trnK*

Partiendo de la matriz de caracteres informativos aportados por las secuencias del marcador molecular plastidial *matK-trnK* (tabla 5.4), se realizó la búsqueda heurística bajo pesos iguales y considerando a los “gaps” como datos faltantes. Como resultado se obtuvieron sólo 4 árboles igualmente parsimoniosos de 113 pasos. En la figura 5.2 se muestra el consenso estricto de los árboles más parsimoniosos con los valores de soporte de bootstrap absoluto sobre sus ramas.

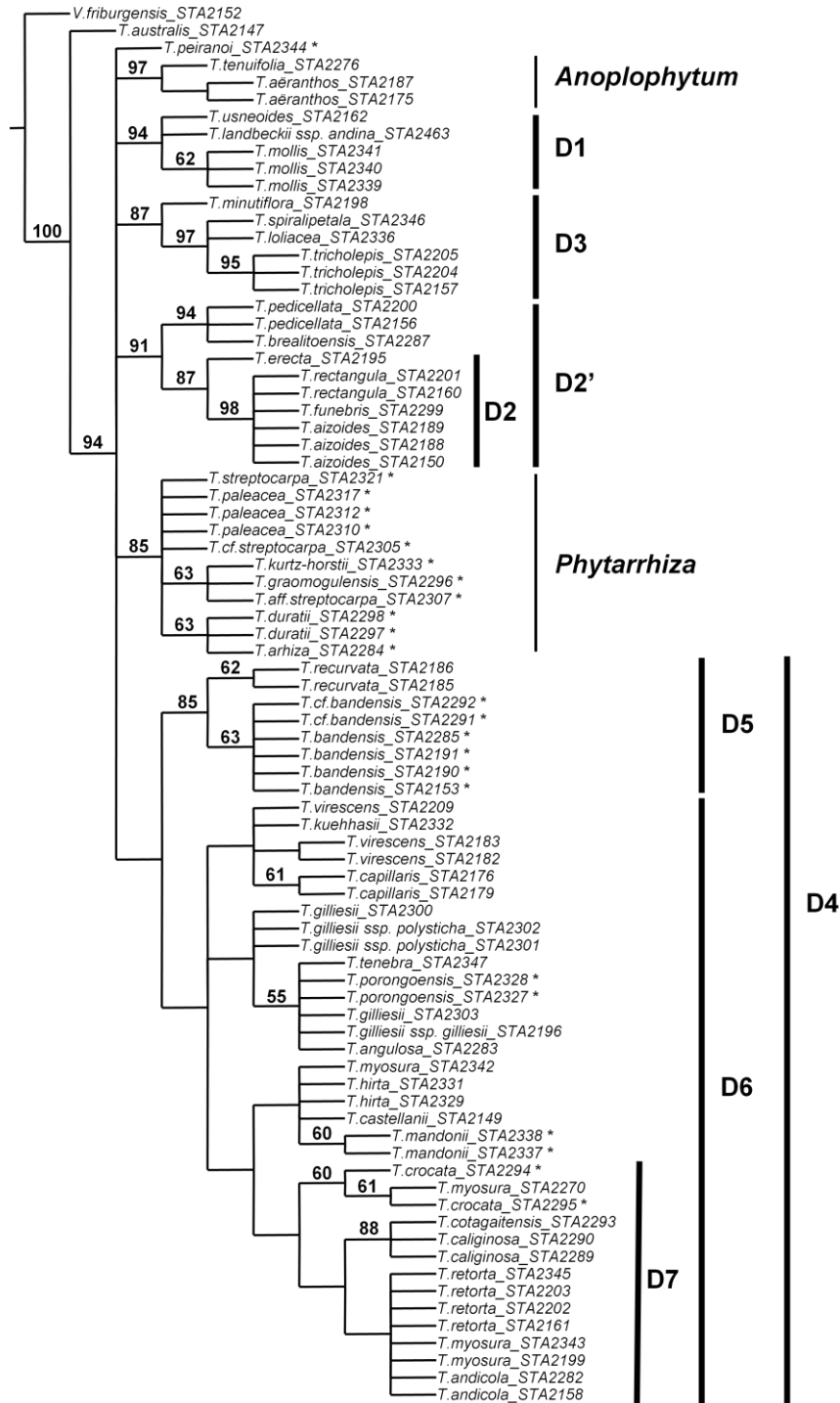


Figura 5.2. Consenso estricto de los 4 árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis de la matriz molecular de los datos informativos aportados por las secuencias de *matK-trnK*. Sobre las ramas figuran los valores de soporte de bootstrap absoluto. Las especies de *Phytarrhiza* se encuentran marcadas con (*).

El consenso estricto a partir de los árboles más parsimoniosos obtenidos para el marcador plastidial *matK-trnK* muestra un resultado congruente y similar en topología, agrupamientos y valores de soporte al obtenido a partir del marcador nuclear, ETS (fig. 5.2).

Sobre la base de los caracteres informativos aportados por el *matK-trnK*, las especies analizadas de *Tillandsia* de los subgéneros *Anoplophytum*, *Diaphoranthema* y *Phytarrhiza* forman un grupo monofilético de alto soporte, dentro del cual solo *Anoplophytum* se resuelve como monofilético.

Tillandsia australis, representante del subgénero *Allardtia*, es hermana del clado fuertemente soportado (BS=94) que incluye a todos los ejemplares analizados de los subgéneros *Anoplophytum*, *Diaphoranthema* y *Phytarrhiza*. Este clado, politómico en su base, está formado por 6 agrupamientos: el clado *Anoplophytum* (BS=97), los clados D1 y D3 tal cual han sido arriba descritos para el análisis del ETS (BS=94 y 87, respectivamente), un clado D2' (BS=91) que contiene al clado D2 (BS=87) y a un clado menor, fuertemente soportado, formado por *T. brealitoensis* y *T. pedicellata* (BS=94), el clado *Phytarrhiza* (BS=85) al que en este caso se suman las especies *T. arhiza* y *T. duratii* que no han sido incluidas en el análisis de ETS ya que no han podido ser amplificadas con éxito para ese marcador, y por último el clado D4 sin soporte que reúne al clado D5 (BS=86) y D6 (sin soporte) a su vez formado por tres agrupamientos menores no soportados, uno de ellos correspondiente al clado D7 descrito para el análisis de ETS.

5.3.2.c. Análisis combinado de ambas matrices moleculares

(ETS + *matK-trnK*)

Dada la congruencia entre las matrices de datos moleculares individuales correspondientes a los marcadores ETS y *matK-trnK*, se procedió al análisis de la evidencia total molecular partiendo de la matriz combinada de los caracteres informativos aportados por ambos marcadores moleculares (tabla 5.5).

No se realizaron pruebas de congruencia entre las matrices de datos ya que existen fuertes evidencias y estudios de modelado que han indicado que la prueba de ILD (Incongruence Length Difference; Farris et al., 1995) no siempre es un buen indicador de la combinabilidad de las particiones de datos (Cunningham, 1997; Barker & Lutzoni, 2002).

La búsqueda heurística bajo pesos iguales y considerando a los “gaps” como datos faltantes dio como resultado 12 árboles igualmente parsimoniosos de 324 pasos. En la figura 5.3 se muestra el consenso estricto de los árboles más parsimoniosos con los valores de soporte de bootstrap absoluto sobre sus ramas.

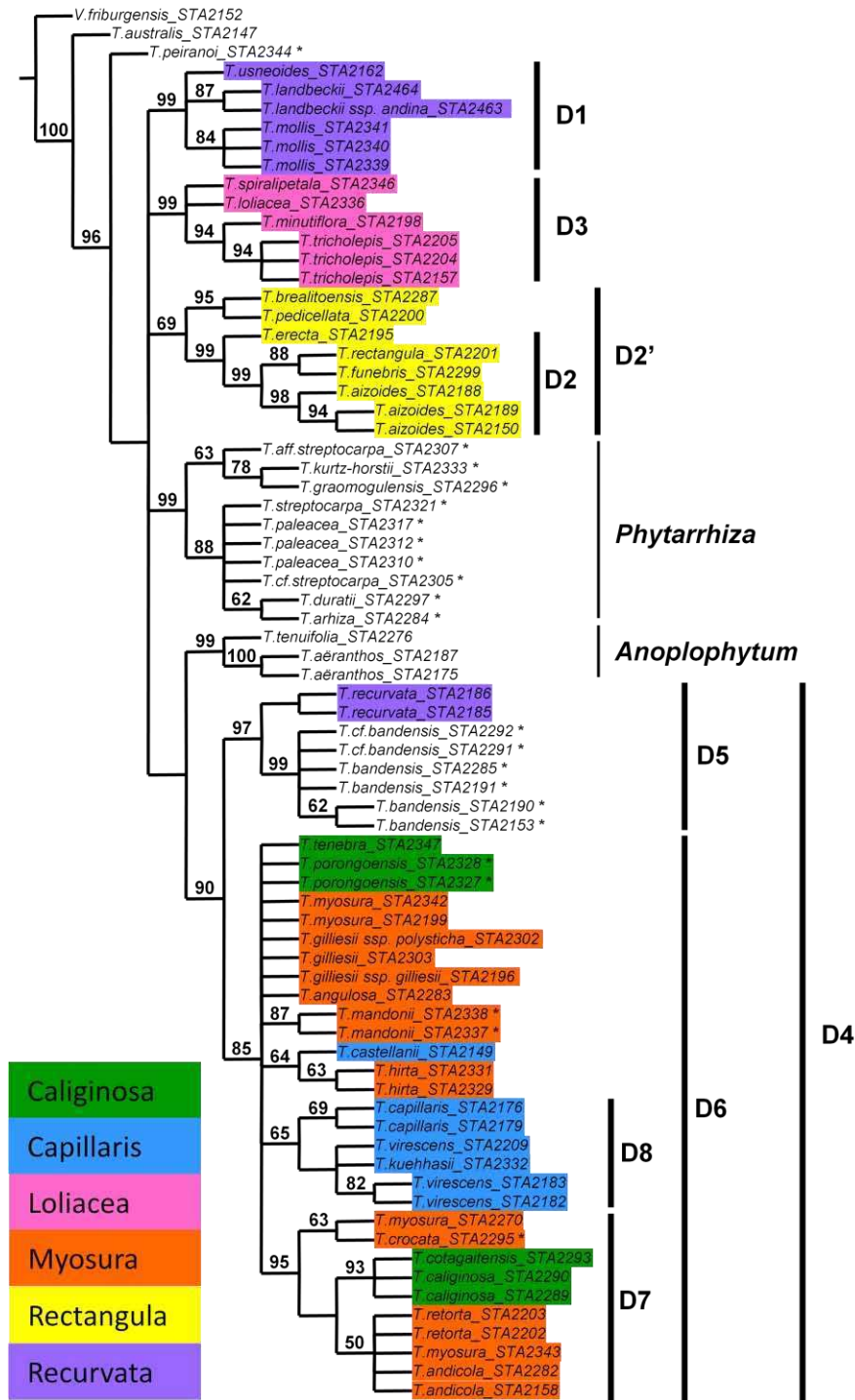


Figura 5.3. Consenso estricto de los 12 árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis de la matriz molecular combinada de los datos informativos aportados por las secuencias de ETS y *matK-trnK*. Sobre las ramas figuran los valores de soporte de bootstrap absoluto. Las especies resaltadas con color corresponden a los agregados propuestos por Till para *Diaphoranthema*. Las especies de *Phytarrhiza* se encuentran marcadas con (*).

El consenso estricto a partir de los árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis de la matriz combinada (ETS + *matK-trnK*) es congruente con los resultados obtenidos en los análisis de los marcadores por separado.

La topología indica nuevamente la existencia de un agrupamiento monofilético fuertemente soportado (BS=96) que reúne a las especies analizadas de los subgéneros *Anoplophytum*, *Diaphoranthema* y *Phytarrhiza*. Dentro de este clado vuelven a evidenciarse los siguientes agrupamientos descritos para los análisis de los marcadores individuales: D1 (BS=99), D2' (BS=69), D3 (BS=99), *Phytarrhiza* (BS=99), *Anoplophytum* (BS=99) que se ubica aunque sin soporte como grupo hermano de D4 (BS=90), dentro del cual a su vez se ubican los clados D5 (BS=97) y D6 (BS=85). Formando parte del clado D6, se encuentran dos clados menores: D7 (BS=95) previamente descrito y D8 que agrupa con soporte moderado (BS=65) a *T. capillaris*, *T. kuehhasii* y *T. virescens*.

En el árbol consenso estricto, el clado D6 posee moderada resolución y las especies que no forman parte de los clados D7 y D8, se ubican en una politomía. Sin embargo, el consenso de mayoría resuelve que en el 83% de los árboles más parsimoniosos el clado D6 está dividido en dos agrupamientos, uno de ellos el clado D8 y el otro agrupamiento politómico que contiene al resto de las especies de D6 divididas a su vez en dos grupos: un clado politómico formado por *T. porongoensis*, *T. tenebra* y los ejemplares de ambas subespecies de *T. gilliesii* y otro clado que contiene al clado D7 y a otro clado que reúne al grupo formado por *T. castellanii* y *T. hirta* con otro grupo menor en el que se asocian *T. mandonii* y los dos ejemplares de *T. myosura* que aparecen en la politomía de D6 en el árbol consenso estricto de la figura 5.3 (figura no mostrada).

En cuanto a la clasificación morfológica propuesta por Till (1992) para *Diaphoranthema*, los clados D2' y D3 corresponden a los agregados morfológicos Rectangula y Loliacea respectivamente y se resuelven como grupos monofiléticos sobre la base de los caracteres moleculares estudiados. Los 4 agregados restantes de la clasificación morfológica propuesta por dicho autor, se resuelven como polifiléticos. Sin embargo, los clados D1 y D8 están formados íntegramente por especies del agregado Recurvata y Capillaris

respectivamente, solo una especie de cada uno de estos agregados se ubica por fuera de estos clados. Todos los representantes de los agregados Caliginosa, Capillaris y Myosura forman el clado D6.

5.4. Conclusiones y discusión a partir de la evidencia molecular

Los marcadores moleculares del núcleo y cloroplasto seleccionados resultan una valiosa fuente de información para los análisis filogenéticos del grupo en estudio ya que ambos aportan un considerable número de caracteres informativos. La variación interespecífica para el marcador nuclear ETS es relativamente mayor a la aportada por el marcador plastidial *matK-trnK*. Los datos moleculares informativos provenientes de los marcadores ETS y *matK-trnK* resultaron a su vez altamente congruentes en la resolución de un clado fuertemente soportado que incluye a la totalidad de las especies de *Diaphoranthema* así como también a las especies representantes de otros 2 subgéneros de Tillandsia: *Phytarrhiza* y *Anoplophytum*. *Diaphoranthema* no forma un grupo natural así como tampoco *Phytarrhiza*, a diferencia de *Anoplophytum* que sí forma un grupo monofilético.

A pesar de que la resolución en la base de los árboles filogenéticos obtenidos no es óptima, la evidencia aportada por ambas particiones de datos moleculares analizados es también congruente en cuanto a la detección de varios clados internos de alto soporte. Dos de ellos, D2' y D3 corresponden a 2 de los agregados morfológicos propuestos por Till (1992b), agregados Rectangula y Loliacea respectivamente que se resuelven como grupos monofiléticos. Los 4 agregados restantes de la clasificación morfológica propuesta por dicho autor, se resuelven como polifiléticos. Sin embargo, los clados D1 y D8 están formados íntegramente por especies del agregado Recurvata y Capillaris respectivamente, solo una especie de cada uno de estos agregados se ubica por fuera de estos clados. Todos los representantes de los agregados Caliginosa, Capillaris y Myosura forman el clado D6.

Los resultados moleculares obtenidos son congruentes con estudios moleculares previos (Barfuss, et al., 2004; 2005) y también con la hipótesis obtenida sobre la base de los caracteres morfológicos expuesta en el capítulo 4.

CAPITULO 6

Filogenia a partir de la evidencia total y evolución de los caracteres morfológicos

6.1. Introducción

Con el fin de obtener una hipótesis filogenética robusta de *Diaphoranthema* sobre la base de la evidencia total de los caracteres estudiados, en este capítulo se combinan los datos morfológicos y moleculares analizados por separado en los capítulos 4 y 5, respectivamente.

Nuevamente, y tal cual fue expuesto en capítulos previos, contar con este marco filogenético es fundamental no solo para poner a prueba la monofilia de *Diaphoranthema* y de los agregados morfológicos en los que el subgénero ha sido clasificado por Till (1992b), sino también para evaluar la evolución de los caracteres morfológicos y de aspectos reproductivos de interés particular en *Diaphoranthema* como son la autogamia, la poliembrionía y contrastar las evidencias de los procesos neoténicos previamente planteados (Gilmartin & Brown, 1985; Gross, 1988, Till 1992b).

Se reiteran aquí las hipótesis de esta tesis, expuestas previamente en el capítulo 1. Estas hipótesis serán contrastadas con la filogenia obtenida a partir de la información combinada de los resultados morfológicos y moleculares:

- 1- El subgénero *Diaphoranthema* es monofilético.
- 2- Ningún agregado morfológico propuesto por Till es monofilético.
- 3- La autogamia y la poliembrionía son caracteres homoplásicos; han aparecido independientemente más de una vez en el subgénero.
- 4- Las sinapomorfías morfológicas de los grandes clados de *Diaphoranthema* están dadas mayormente por caracteres vegetativos.
- 5- Los caracteres florales relacionados con la polinización aportan poca información filogenética ya que no afectan el éxito reproductivo.
- 6- Las modificaciones vegetativas y reproductivas de las especies de este subgénero no siempre pueden explicarse por modificaciones neoténicas del desarrollo, ni están asociadas a un acortamiento temporal del ciclo de vida.

6.2. Materiales y métodos

En primer lugar se compararon a ojo los resultados filogenéticos morfológicos con los moleculares obtenidos en los capítulos 4 y 5 respectivamente para evaluar las posibles incongruencias en la topología de los árboles.

Posteriormente, se combinó la información aportada por los caracteres morfológicos y moleculares correspondientes a las matrices de datos utilizadas en los capítulos 4 y 5 (tablas 4.1 y 5.5). Se denominó a esta matriz con el nombre de MCT (Matriz Combinada Total), la que cuenta con 76 terminales y 257 caracteres informativos (tabla 6.2). Para la confección de esta matriz de datos combinados, en los casos en que la partición de datos moleculares contenía varios especímenes para una especie dada, se completó la partición morfológica para esos especímenes duplicando la información. Dado que la matriz morfológica no contiene información para algunas especies de *Phytarrhiza* y *Anoplophytum* que sí fueron incluidas en el análisis molecular, se completó la partición molecular con datos faltantes para esas especies. De igual manera, la partición molecular se completó con datos faltantes para los taxones de *Diaphoranthema* que forman parte de la partición de datos morfológicos pero que no pudieron ser incluidos en los análisis moleculares: *T. copynii* y *T. landbeckii* subsp. *andina* var. *rigidior*.

Luego se procedió a confeccionar dos variantes de la MCT a fin de eliminar el efecto de los datos faltantes en los análisis. Una de esas variantes reducidas de la matriz de datos morfológicos y moleculares combinados fue llamada MCR1 (Matriz Combinada Reducida 1) consistió en una matriz sin los taxones terminales que contuvieran datos faltantes para la partición morfológica. Para esta variante se eliminaron de la MCT 18 taxones terminales, 17 correspondientes a especies del subgénero *Phytarrhiza* (*T. arhiza*, *T. bandensis*, *T. duratii*, *T. graomogulensis*, *T. kurtz-horstii*, *T. paleacea*, *T. peiranoi*, *T. streptocarpa*) y 1 correspondiente al subgénero *Anoplophytum* (*T. tenuifolia*). La matriz MCR1 cuenta con 58 terminales y 230 caracteres informativos (tabla 6.2).

La segunda matriz variante de la MCT, fue denominada MCR2 (Matriz Combinada Reducida 2) y consistió en una matriz con solo un espécimen por especie. La MCR2 se construyó a partir de la MRC1. Para ello se

seleccionaron, como representante de cada especie, los especímenes cuyas secuencias moleculares resultaron de mejor calidad y/o menor cantidad de datos faltantes. En los casos en que los especímenes de la misma especie resultaron poseedores de secuencias moleculares de similar calidad y siempre que fue posible, prevalecieron como integrantes de la MCR2 los especímenes coleccionados y/o identificados por la autora de esta tesis. La matriz MCR2 cuenta con 37 terminales y 191 caracteres informativos (tabla 6.2).

Las búsquedas heurísticas de los árboles más parsimoniosos a partir de las 3 matrices (MCT, MCR1 y MCR2) se realizaron de la misma manera que en los capítulos 4 y 5, bajo pesos iguales, excluyendo los caracteres no informativos y utilizando los mismos criterios, parámetros de búsqueda y de remuestreo para la obtención de los soportes.

Para el estudio de la evolución de los caracteres morfológicos, se procedió a su optimización sobre uno de los árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis filogenético de la matriz MCR2 utilizando el programa TNT (Goloboff et al., 2008).

6.3. Resultados

6.3.1. Filogenia

Los resultados filogenéticos morfológicos y moleculares tratados en los capítulos 4 y 5 son comparables y congruentes en cuanto a los agrupamientos dados. A partir de la comparación de los árboles de consenso estricto (figs. 4.1 y 5.3) se logran establecer equivalencias en cuanto a los clados descritos para la filogenia morfológica y la molecular combinada (tabla 6.1). Las únicas incongruencias topológicas están dadas por la posición de las especies de grupo externo: *T. aëranthos* y *T. tenuifolia* (*Tillandsia* subgen. *Anoplophytum*), y *T. porongoensis* (subgénero *Phytarrhiza*) y la posición filogenética de 2 especies del subgénero *Diaphoranthema*: *T. angulosa* y *T. minutiflora* (véanse tabla 6.1, figs. 4.1 y 5.3).

Tabla 6.1. Tabla comparativa y de equivalencia entre los clados descritos en la filogenia morfológica y la filogenia molecular combinada (ETS + *matK-trnK*).

Filogenia Morfológica (fig. 4.1)	Filogenia Molecular combinada (ETS + <i>matK-trnK</i>) (fig. 5.3)
Clado <i>Diaphoranthema</i> Incluye a especies de <i>Phytarrhiza</i>	Clado <i>Diaphoranthema</i> Incluye a especies de <i>Phytarrhiza</i> y <i>Anoplophytum</i>
Clado 1 No incluye a <i>T. minutiflora</i>	Clado D3 Incluye a <i>T. minutiflora</i>
Clado 2	No resuelve
Clado 2A Incluye a <i>T. minutiflora</i> y <i>T. angulosa</i>	Clado D2' No incluye a <i>T. minutiflora</i> ni a <i>T. angulosa</i>
Clado 2B No incluye a <i>T. porongoensis</i> ni a <i>T. angulosa</i>	Clado D4 + Clado D1 Incluye a <i>T. porongoensis</i> ni a <i>T. angulosa</i>

Análisis de la evidencia total de los caracteres analizados

El resultado del tratamiento y de los análisis filogenéticos de las 3 matrices conteniendo la información morfológica y molecular (MCT, MCR1 y MCR2) se expone en la tabla 6.2.

Tabla 6.2. Dimensión y características de las matrices de datos utilizadas en los análisis filogenéticos de la evidencia total de los datos (matrices combinadas de datos morfológicos y moleculares). Los caracteres morfológicos que resultan no informativos en cada análisis corresponden a la numeración de los caracteres según la lista de caracteres del capítulo 3.

Matriz Molecular	N° de taxones x N° caracteres	N° de caracteres no informativos (morfol. + molec.)	Caracteres morfológicos no informativos (N°)	N° de caracteres informativos (morfol. + molec.)	N° de árboles más parsimoniosos	N° de pasos
MCT	76 x 262	5 (5 + 0)	45, 53, 66, 72, 76	257 (82 + 175)	74	718
MCR1	58 x 262	32 (5 + 27)	45, 53, 66, 72, 76	230 (82 + 148)	12	651
MCR2	37 x 262	71 (8 + 63)	2, 31, 45, 53, 66, 72, 73, 76	191 (79 + 112)	6	567

El consenso estricto a partir de los 12 árboles más parsimoniosos obtenidos al analizar la matriz de caracteres informativos de la matriz MCR1 (fig. 6.1) es similar en topología y valores de soporte a los resultados obtenidos a partir del análisis de la matriz MCT (fig. no mostrada) y de la matriz molecular combinando la información aportada por ETS y *matK-trnK* (fig. 5.3, capítulo 5). En cuanto a los agrupamientos dados, este análisis también es congruente a la filogenia morfológica (fig. 4.1, capítulo 4), con excepción de la posición filogenética adoptada por unos pocos taxones (tabla 6.1).

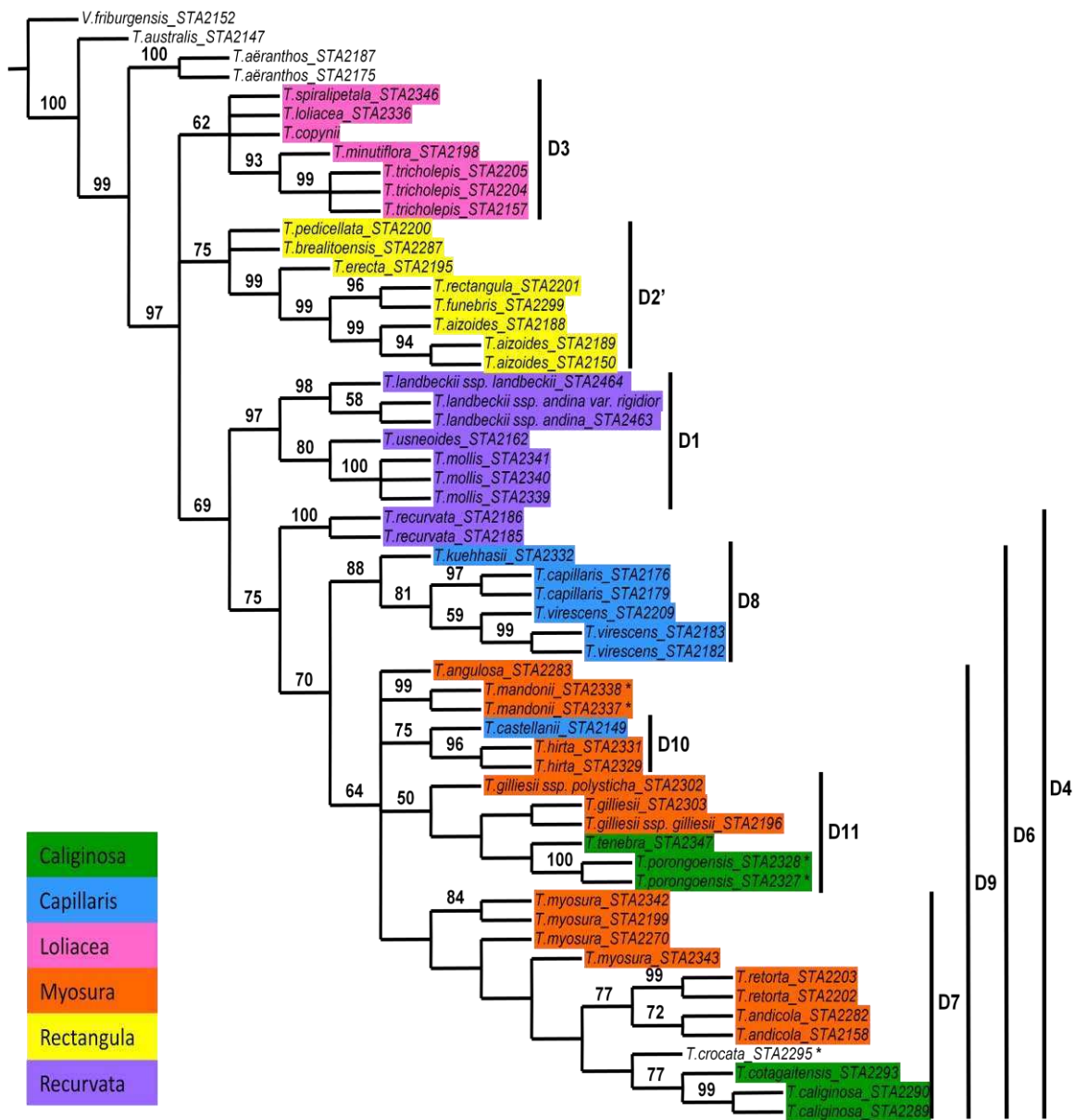


Figura 6.1. Consenso estricto de los 12 árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis de la matriz combinada de los datos informativos aportados por los datos morfológicos y las secuencias de ETS y *matK-trnK* (MCR1). Sobre las ramas figuran los valores de soporte de bootstrap absoluto. Las especies resaltadas con color corresponden a los agregados propuestos por Till para *Diaphoranthema*. Las especies de *Phytarrhiza* se encuentran marcadas con (*).

El árbol de consenso estricto obtenido a partir del análisis de la matriz de caracteres informativos de la matriz MCR1 (fig. 6.1) muestra un agrupamiento monofilético, fuertemente soportado por un valor de bootstrap absoluto (BS) de 97, que reúne a las especies de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* y a algunas especies del subgénero *Phytarrhiza*. Como grupo hermano a este clado se ubica con BS=99 la especie *T. aëranthos*, representante del subgénero *Anoplophytum*. Este clado está formado por una politomía basal dada por 3 clados de alta resolución: el clado D3 (BS=62), el clado D2' (BS=75), y un clado D1+D4 (BS=69) que como su nombre lo indica, agrupa a los clados D1 (BS=97) y D4 (BS=75). Los nombres de los agrupamientos corresponden a los descritos en el capítulo 5 con la única diferencia que los clados D3 y D1 incluyen en este análisis a *T. copynii* y *T. landbeckii* subsp. *andina* var. *rigidior*, respectivamente (taxones que no han sido incluidos en los análisis moleculares) y que D4 no incluye a *T. bandensis* (taxón no analizado en el estudio morfológico). El clado D4 está formado por *T. recurvata* y D6 (BS=70) que se divide a su vez en D8 (BS=88) y en un clado politómico de bajo soporte (BS=64) al que llamaremos D9, en el que se distinguen en clado D7 (sin soporte) y dos agrupamientos, uno de ellos reúne a *T. castellanii* y *T. hirta* (BS=75) = D10, y el otro a *T. gilliesii*, *T. porongoensis* y *T. tenebra* (BS=50) equivalente a D11.

El resultado aquí presentado (fig. 6.1), proveniente del análisis de la matriz MCR1 de datos morfológicos y moleculares), aporta una mayor resolución filogenética respecto a la filogenia basada en el análisis combinado de los marcadores moleculares ETS y *matK-trnK* (fig. 5.3, capítulo 5); esto está dado principalmente por la asociación de los clados D1 y D4 y por una mayor resolución de las relaciones entre las especies que conforman el clado D6.

Al comparar estos resultados con los de la filogenia morfológica (fig. 4.1, capítulo 4), se evidencia como similitud que la asociación entre los clados D1 y D4 en la fig. 6.1 corresponde al clado 2B de la filogenia morfológica (a excepción de unos pocos taxones tal cual se cita en la tabla 6.1). Las principales diferencias entre estos análisis están dadas por la presencia de ramas casi en su totalidad

soportadas en el análisis de la evidencia total de los caracteres (fig. 6.1) respecto al bajo número de ramas soportadas en el análisis filogenético morfológico. Sin embargo, el clado 2 obtenido en la filogenia morfológica (fig. 4.1, capítulo 4) no se resuelve en el análisis de la evidencia total.

En cuanto a la clasificación morfológica propuesta por Till (1992b) para *Diaphoranthema*, nuevamente y al igual que en la filogenia molecular, los clados D2' y D3, correspondientes a los agregados morfológicos Rectangula y Loliacea respectivamente, se resuelven como grupos monofiléticos sobre la base de la evidencia total de los caracteres estudiados. El agregado Rectangula (clado D2') está apoyado por 8 caracteres, 5 de ellos morfológicos (caracteres 10, 15, 22, 46 y 81) que indican que este agregado se caracteriza por láminas de ápices foliares punzantes al tacto, con carena foliar en su cara abaxial, nervios de la vaina foliar concentrados en el centro de la vaina, brácteas florales 9-nervadas y presencia de poliembriones en sus semillas. El agregado Loliacea (clado D3) por su parte se ve soportado por 14 caracteres, en su mayoría moleculares, siendo los únicos 2 caracteres morfológicos que apoyan este agrupamiento: el color de los pétalos y el endostoma que corresponde al *tipo bryoides* (caracteres 67 y 83).

Los 4 agregados restantes de la clasificación morfológica propuesta por Till (1992b), no constituyen grupos monofiléticos. Sin embargo, los clados D1 y D8 están formados íntegramente y con alto soporte por especies del agregado Recurvata y Capillaris respectivamente, sólo una especie de cada uno de estos agregados se ubica por fuera de estos clados, por lo que los agregados Recurvata y Capillaris podrían ser considerados monofiléticos si Capillaris no incluyera a *T. castellanii* (que se ubica en el clado D9) y Recurvata no incluyera justamente a *T. recurvata*, la especie del cual recibe su nombre y que en esta filogenia se encuentra ubicada en la base del clado D4, como hermana del clado D6. El clado D1 está soportado por 9 caracteres, entre ellos 7 moleculares y 2 morfológicos (caracteres 0 y 30) que indican como característica de este agrupamiento el hábito en forma de “conglomerados” (véase el estado 2 del carácter 0 en la lista de caracteres) y las brácteas del escapo 11-nervadas. El clado D8 se encuentra

apoyado por 7 caracteres de los cuales 5 son morfológicos (caracteres 22, 24, 25, 61 y 67) indicando que las especies de este agrupamiento se caracterizan porque los nervios de las vainas foliares se encuentran concentrados en el centro de la vaina, los escapos florales se elongan durante la fructificación (escapos florales menores a los escapos fructíferos), los entrenudos del escapo son glabros en su porción basal tornándose lepidotos en su porción más apical, los sépalos posteriores (adaxiales) se encuentran connados en el 50% o más de su longitud y las flores son amarillas (aunque este último carácter es muy variable).

Por otro lado, el clado D9 reúne a todos los representantes de los agregados Caliginosa y Myosura y a una especie del agregado Capillaris (*T. castellanii*) sobre la base de 4 caracteres morfológicos (no hay caracteres moleculares apoyando este agrupamiento). Estos caracteres indican un incremento en el ancho de la lámina y en el número de nervios en las vainas foliares y en las brácteas florales (caracteres 16, 21 y 46) para este clado, también caracterizado por una disposición erecta de los pétalos en las flores en antesis, aunque este último carácter ha resultado muy homoplásico (carácter 69). Dada la resolución alcanzada por este análisis, los agregados Caliginosa y Myosura se resuelven como parafiléticos, sin embargo, dado el bajo soporte obtenido en general para los agrupamientos que se distinguen dentro del clado D9, no se descarta la posibilidad de que el agregado Caliginosa pueda llegar a formar un grupo natural en futuros análisis.

6.3.2. Optimización de los caracteres morfológicos

Para evaluar la evolución de los caracteres morfológicos en la filogenia obtenida a partir de la evidencia total de los caracteres morfológicos y moleculares, se utilizaron los árboles producto del análisis de la matriz de caracteres informativos proporcionados por la matriz MCR2. La matriz MCR2 es la versión más reducida de las 3 matrices de datos generadas para este capítulo (MCT, MCR1 y MCR2) dado que incluye solo un espécimen por especie. Las 3 matrices contienen toda la información dada por los caracteres morfológicos y

moleculares estudiados en esta tesis, variando solo en el número de especímenes terminales que representan a cada especie. Dada la congruencia entre los análisis de las 3 matrices de datos, se decidió utilizar para esta sección del análisis, los árboles filogenéticos generados a partir de la matriz MCR2 a fin de facilitar la visualización de los resultados.

El consenso estricto a partir de los 6 árboles más parsimoniosos obtenidos al analizar la matriz de caracteres informativos de la matriz MCR2 es un árbol totalmente resuelto a excepción de la politomía basal en el clado *Diaphoranthema* y las politomías en los clados D2' y D3 (no mostrado). Los agrupamientos son los mismos descritos para el árbol de la figura 6.1 y los valores de soporte obtenidos son similares. Este análisis, a diferencia del análisis de MRC1 (fig. 6.1) muestra al clado D9 totalmente resuelto aunque sin soporte en varias de sus ramas.

Entre los 6 árboles más parsimoniosos se eligió el más congruente con la filogenia morfológica obtenida en capítulo 4 (fig. 6.2). Sobre este árbol se procedió a optimizar los caracteres morfológicos.

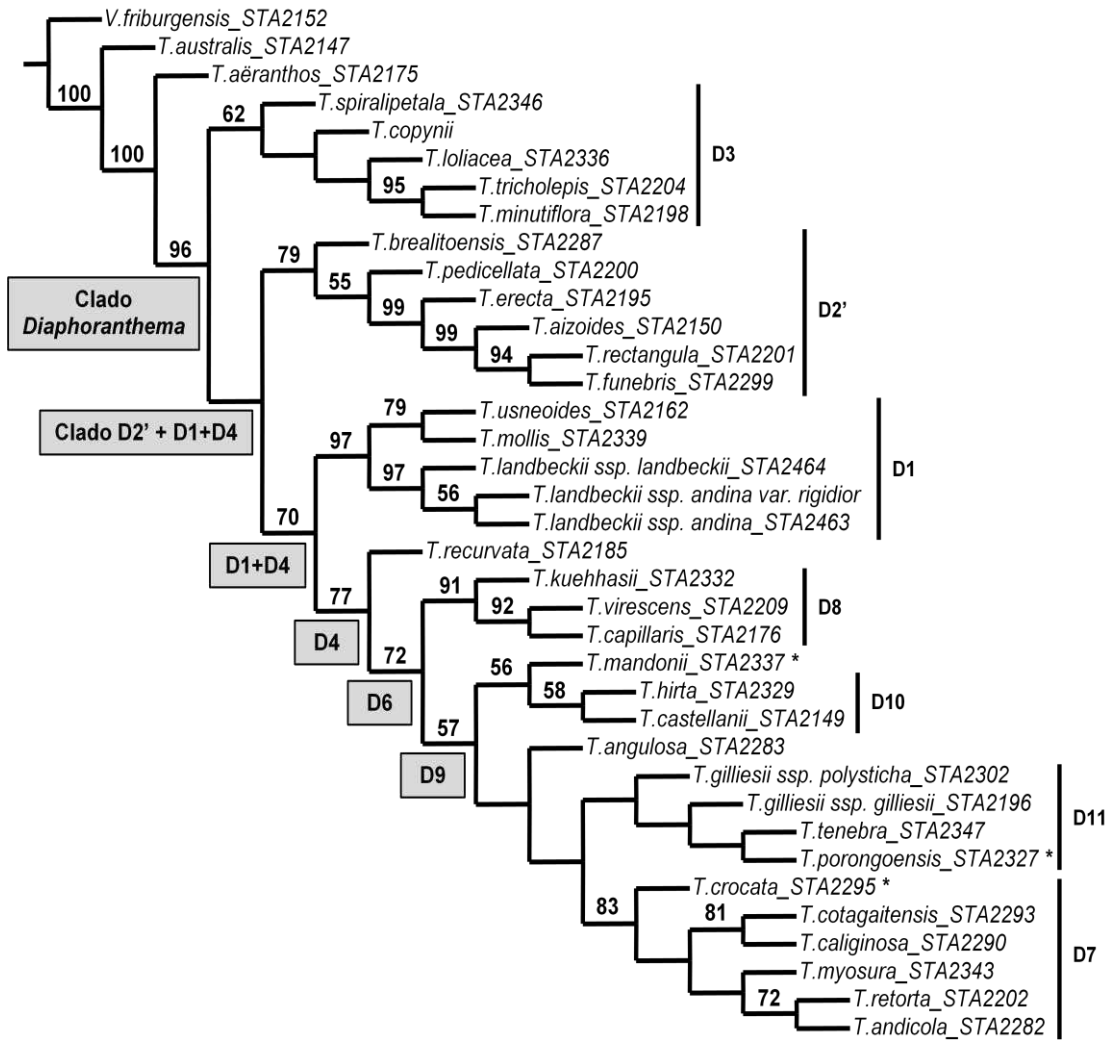


Figura 6.2. Uno de los 6 árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis de la matriz combinada de los datos informativos aportados por los datos morfológicos y las secuencias de ETS y *matK-trnK* (MCR2). Sobre las ramas figuran los valores de soporte de bootstrap absoluto. Los recuadros por debajo de las ramas se indican los nombres de los clados al igual que las barras verticales situadas a la derecha del árbol. Las especies de *Phytarrhiza* se encuentran marcadas con (*).

6.3.2.1. Optimización de caracteres vegetativos

Como resultado de la optimización de los caracteres vegetativos (caracteres 0 a 22, lista de caracteres morfológicos, capítulo 3), se destacan como sinapomorfías para el agrupamiento dado por *T. aëranthos* y el clado *Diaphoranthema*, el carácter caulescente de las plantas, la presencia de un indumento foliar denso y ápices foliares no aquillados (caracteres 3, 8 y 11).

Los caracteres vegetativos de mayor interés en la evolución de *Diaphoranthema* están dados por la filotaxis, la forma y sección transversal de la lámina, su longitud y su ancho, la presencia de carena foliar, la pilosidad de la vaina en su cara abaxial y margen y la distribución de los nervios en la vaina foliar (caracteres 6, 9, 12, 15, 16, 14, 20, 19 y 22, respectivamente). Si bien estos caracteres resultan homoplásicos en menor o mayor medida, los mismos brindan información filogenética valiosa acerca del sentido en que los caracteres evolucionan dentro del grupo e incluso varios de ellos se comportan como sinapomorfías homoplásicas, en las que el mismo estado del carácter es compartido por 2 o más agrupamientos de manera independiente, apoyando los clados resultantes.

Entre los caracteres vegetativos citados en el párrafo anterior, los menos homoplásicos son la filotaxis y la carena foliar (caracteres 6 y 14). La filotaxis de la planta adulta puede ser espiralada o dística en *Diaphoranthema* (fig. 6.3.a). La optimización de este carácter en el árbol indica que el estado espiralado es plesiomórfico y el estado dístico es derivado en la evolución del grupo, surgiendo en el nodo que da lugar al clado (D1+D4). Este carácter optimiza en 3 pasos y revierte al estado plesiomórfico en dos especies: *T. angulosa* y *T. porongoensis* (fig. 6.3.a). La presencia de carena foliar caracteriza a parte del clado D2' (*T. pedicellata*, *T. erecta*, *T. rectangula* y *T. funebris*) y optimiza en 2 pasos dada la reversión al estado de ausencia de carena foliar en *T. aizoides* (fig. no mostrada).

En cuanto a los caracteres de la vaina foliar (caracteres 19, 20 y 22), la ausencia de tricomas en la cara abaxial de la vaina es un estado derivado compartido por subclados de D3 y D2' y también aparece como una autoapomorfía en 2 especies del clado D7 (*T. caliginosa* y *T. retorta*) como indica

la optimización de este carácter (carácter 20), (fig. 6.3.b). La optimización del carácter: pilosidad del margen de la vaina (carácter 19), es similar al de pilosidad de la cara abaxial de la vaina (carácter 20), con márgenes glabros para los mismos grupos y especies a excepción de *T. retorta* (fig. no mostrada). Las especies hermanas de los subclados caracterizados por el estado glabro (*T. spiralipetala*, *T. copynii* y *T. brealitoensis*) y *T. usneoides* poseen tricomas de igual morfología a los de la lámina (estado 1) mientras que el clado (D1+D4) a excepción de *T. usneoides* y *T. caliginosa*, está caracterizado por la presencia de tricomas ciliados en el margen de la vaina foliar (estado 2). Por último, la distribución de los nervios en la vaina foliar (carácter 22) es un carácter que optimiza en 6 pasos en el árbol filogenético (fig. 6.3.c). La concentración de los nervios en la zona central de la vaina (estado 0) es el estado derivado del carácter y es compartido por los clados D2', D8, y subclados de D1, D3, D7, D11 como indica la figura 6.3.c.

Los caracteres foliares de mayor interés durante la optimización de los caracteres vegetativos resultaron ser la forma de la lámina, su longitud, su ancho y su sección transversal (caracteres 9, 15, 16 y 12 respectivamente). La forma de la lámina es linear en las especies del grupo externo, el estado triangular surge como estado derivado en el nodo basal que une a *T. aëranthos* al clado que incluye a las especies de *Diaphoranthema* y *Phytarrhiza* (fig. 6.3.d). El estado del carácter revierte al estado linear en la base del clado D1+D4 y luego el estado triangular vuelve a ocurrir aunque con ciertas reversiones en un subclado de D9 (fig. 6.3.d). Hay clados caracterizados por completo por láminas lineares (D1 y D8) y clados enteramente formados por especies de láminas triangulares (D2', D3 Y D11), sin embargo este carácter es homoplásico, su optimización en el árbol filogenético indica 7 pasos evolutivos que evidencian que la transición entre láminas lineares y triangulares no ha ocurrido una única vez en el grupo. En cuanto al carácter dado por la longitud de la lámina (carácter 15), láminas menores a 2 cm son características de un subclado de D3 (*T. minutiflora* y *T. tricholepis*), del subclado de D8 (*T. capillaris* y *T. virescens*), de *T. angulosa* y del clado D2' (a excepción de *T. erecta* y *T. funebris* que presentan láminas de mayor largo). La optimización de

este carácter en el árbol filogenético, indica que el acortamiento de las láminas ocurre 4 veces independientemente en *Diaphoranthema* (fig. no mostrada). Según la optimización del carácter 16, una reducción en el ancho de la lámina caracteriza a la base del clado *Diaphoranthema* y a la mayor cantidad de sus especies. Este carácter revierte a láminas más anchas, mayores a 2mm, en el clado D9 (a excepción de *T. andicola* y *T. retorta*) y en unas pocas especies de los clados D2' y D3 (fig. 6.3.e). Por último, la optimización del carácter sección transversal de la lámina (carácter 12) indica una tendencia evolutiva que va desde láminas de sección plana hacia láminas de sección terete pasando por un estado intermedio de láminas con sección canaliculada característica de las especies de los subgéneros *Anoplophytum*, *Diaphoranthema* y *Phytarrhiza*. La aparición de láminas de sección circular ocurre varias veces independientemente en la evolución de *Diaphoranthema* (fig. 6.3.f).

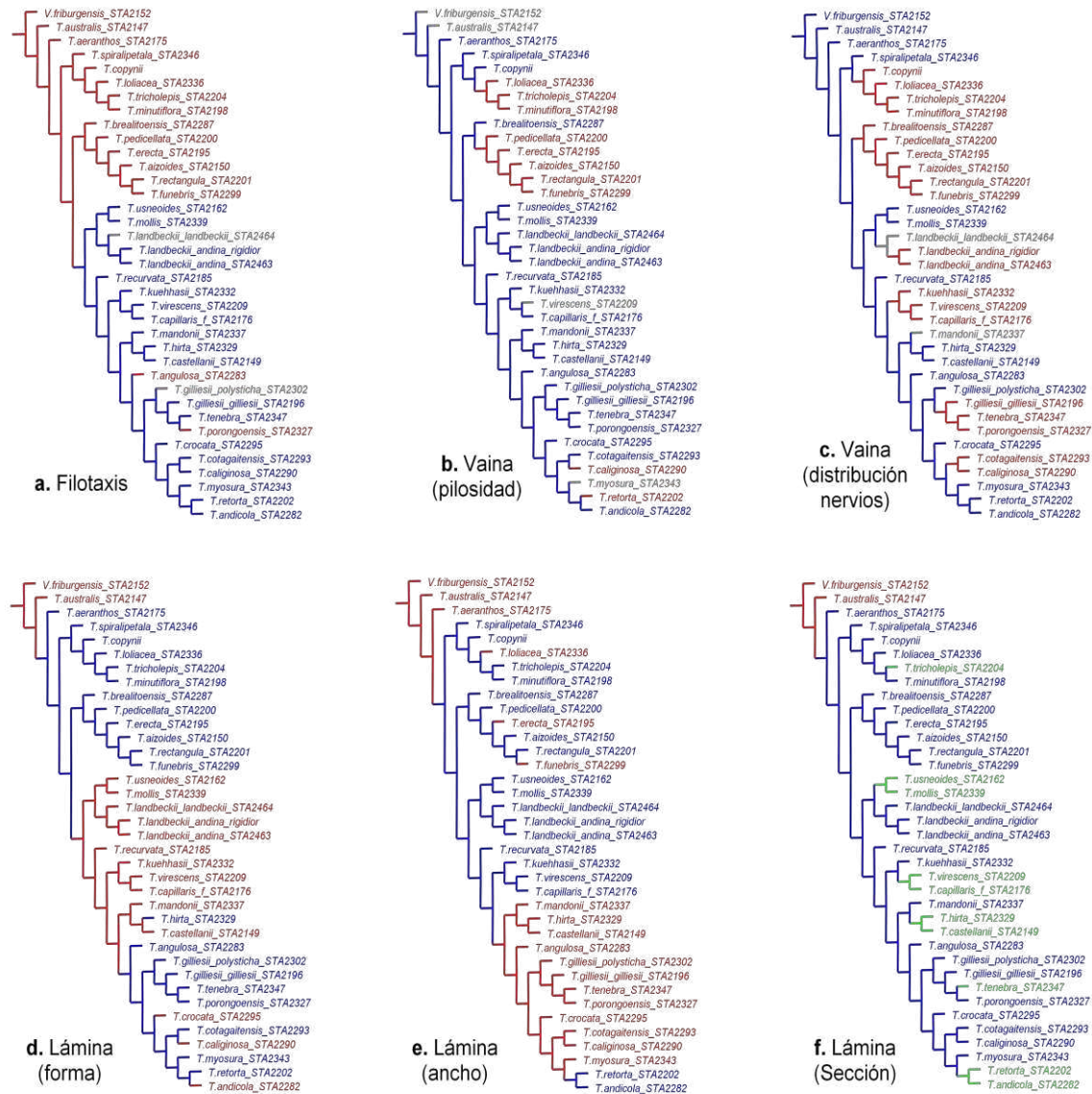


Figura 6.3. Optimización de algunos caracteres vegetativos en uno de los árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis de la evidencia total de los datos morfológicos y moleculares. **a.** Filotaxis de la planta adulta (carácter 6), el color rojo indica el estado 0 del carácter (filotaxis espiralada) mientras que el azul indica el estado 1 (filotaxis dística). **b.** Pilosidad en la cara abaxial de la vaina foliar (carácter 20), el estado 0 (vaina glabra) se indica en rojo y el estado 1 (vaina lepidota) en azul. **c.** Distribución de los nervios en la vaina foliar (carácter 22), los colores rojo y azul indican la distribución central y en todo el ancho de la vaina respectivamente. **d.** Forma de la lámina (carácter 9), los colores rojo y azul indican el contorno lineal y triangular de la lámina respectivamente. **e.** Ancho de la lámina (carácter 16), los colores rojo y azul indican láminas mayores y menores o iguales a 2mm de ancho respectivamente. **f.** Sección transversal de la lámina (carácter 12), en rojo se indica la sección plana, en azul la sección canaliculada y en verde la sección circular.

6.3.2.2. Optimización de caracteres reproductivos

La optimización de los caracteres reproductivos destacó como sinapomorfías para el agrupamiento dado por *T. aëranthos* y el clado *Diaphoranthema*, la ausencia de paracladios largos en las inflorescencias (carácter 37) y la presencia de tricomas imbricados en la cara abaxial de las brácteas del eje de la inflorescencia (carácter 34). Las sinapomorfías del clado *Diaphoranthema* están dadas por la filotaxis dística del eje principal de la inflorescencia (carácter 39) y la ausencia de tricomas en la cara adaxial tanto de las brácteas del escapo (carácter 35), como de las brácteas florales (carácter 51) y los sépalos (carácter 60).

6.3.2.2.a. Caracteres de la inflorescencia y florales

En orden de aparición se enumeran y discuten brevemente los caracteres de inflorescencias y florales que han resultado menos homoplásicos, o bien que resultan de particular interés en cuanto a las hipótesis planteadas en este trabajo:

- El carácter 24 constituye una sinapomorfía para el clado 8. Las especies de este clado poseen como característica común que el escapo florífero es menor al fructífero (fig. no mostrada). Esto estaría indicando que para estas especies el rasgo adaptativo durante la etapa reproductiva estaría dado por una mayor la exposición de sus frutos y semillas en relación a la menor exposición de sus flores.
- La optimización del carácter 29 dada en 5 pasos evolutivos, indica una tendencia de las inflorescencias a reducir el número de entrenudos y de brácteas (figura 6.4.a). El estado plesiomórfico de este carácter está dado por inflorescencias cuyos escapos poseen varios entrenudos igualmente desarrollados con brácteas todo a lo largo del eje de la inflorescencia. Este estado es característico tanto de las especies del grupo externo como de aquellas que conforman el clado basal de *Diaphoranthema* (clado D3). Durante la evolución del subgénero, la reducción en el número de entrenudos de las inflorescencias ocurre en el ancestro común que da lugar a los clados D2' y D1+D4. Las especies de estos clados poseen inflorescencias con pocos entrenudos desigualmente desarrollados que

determina la presencia de un menor número de brácteas que adoptan posiciones basales, intermedias y/o apicales a lo largo del eje de la inflorescencia. A su vez, a partir de dicho estado, ha ocurrido 3 veces independientemente dentro del clado D1+D4 la reducción máxima para este carácter dada por inflorescencias con un único entrenudo en su eje principal y la carencia de brácteas en el mismo como ocurre en *T. usneoides*, el clado *T. capillaris* + *T. virescens* y *T. retorta*. Estas inflorescencias solo poseen brácteas florales.

- Los caracteres 32 y 33, relacionados a la distribución y cantidad de tricomas en las brácteas del escapo, brindan información filogenética similar en la que se destaca una tendencia hacia una reducción del número de tricomas concentrados en el ápice de la cara abaxial de la bráctea. Esta combinación de caracteres ocurre independientemente en el clado D2' (a excepción de la especie basal del clado: *T. brealitoensis*) y en *T. minutiflora* (fig. no mostrada).
- El número de flores (carácter 38) optimiza en 6 pasos evolutivos. La presencia de inflorescencias de hasta 6 flores es característica del clado D3. El estado 1-floral optimiza en el nodo que reúne a los clados D2' y D1+D4. Sin embargo, en el clado D7+D11 vuelven a surgir inflorescencias con 1-4 flores, y hasta 6 flores en algunas especies (fig. no mostrada).
- El carácter 42, sobre pilosidad del raquis, optimiza en 4 pasos y si bien la evolución del carácter resulta ambigua en las ramas basales de *Diaphoranthema* y el clado D3, el clado D2' se define por raquis glabros mientras que el clado D1+D4 posee raquis lepidoto (fig. no mostrada).
- El carácter 47, sobre la pilosidad de la cara abaxial de las brácteas florales, optimiza en 3 pasos y su evolución se da a partir de brácteas florales lepidotas a brácteas florales glabras. La pérdida de tricomas en las brácteas florales surge independientemente en las ramas terminales del clado D2' (*T. aizoides*, *T. funebris* y *T. rectangula*) y en *T. capillaris* y *T. castellanii* (fig. no mostrada).

- El carácter 49, sobre la cantidad de tricomas en la cara abaxial de la bráctea floral, optimiza en 3 pasos en el árbol filogenético y su resultado es el mismo al del carácter análogo en brácteas del escapo (carácter 33) en cuanto a la reducción de la cantidad de tricomas en el clado D2' (a excepción de la especie más basal del clado: *T. brealitoensis*) y en *T. minutiflora* (fig. no mostrada).
- La optimización del carácter 52 se da en 5 pasos. El estado plesiomórfico es la ausencia de ápice foliáceo en la bráctea floral. Su presencia aparece como estado derivado independientemente en *T. aëranthos*, *T. pedicellata* y en el clado D1+D4. En este último ocurren reversiones en *T. myosura* y en parte del clado D11 (*T. tenebra* + *T. porongoensis*) aunque ante la ambigüedad dada en las ramas de ese clado, no se descarta que la reversión pueda llegar a ser una característica del clado 11 en su totalidad (fig. 6.4.b).
- La pilosidad en la cara abaxial de los sépalos, carácter 56, optimiza en 5 pasos. El estado derivado está dado por la presencia de tricomas y surge en la rama basal que da lugar al clado *Diaphoranthema*. El carácter revierte al estado glabro en el clado D2' (a excepción de su especie basal: *T. brealitoensis*) y en *T. landbeckii*, *T. capillaris* y *T. castellanii* (fig. 6.4.c).
- La optimización del grado de fusión de los sépalos, carácter 61, ocurre en 5 pasos e indica que la fusión diferencial de los sépalos posteriores (adaxiales) es el estado derivado y se ha alcanzado al menos 3 veces independientemente en *Diaphoranthema*: en *T. copynii*, en el clado 8 y en parte del clado 7 (fig. 6.4.d).
- La presencia de ráfides en los sépalos (carácter 65) se evidencia como el estado plesiomórfico del carácter evolucionando hacia la ausencia de ráfides independientemente en *T. minutiflora* y en los clados D2' (a excepción de *T. brealitoensis*) y D6.
- El color de los pétalos (carácter 67), es un carácter que ha resultado altamente homoplásico. Su optimización en el árbol filogenético tiene 16 pasos y existen 180 posibles reconstrucciones para explicar la evolución

de este carácter sobre el árbol filogenético. Este es un carácter multiestado que presenta mucha variación intraespecífica. Un claro ejemplo se da en *T. virescens*, especie que puede presentar flores amarillas, amarillas con pintas marrones o violetas.

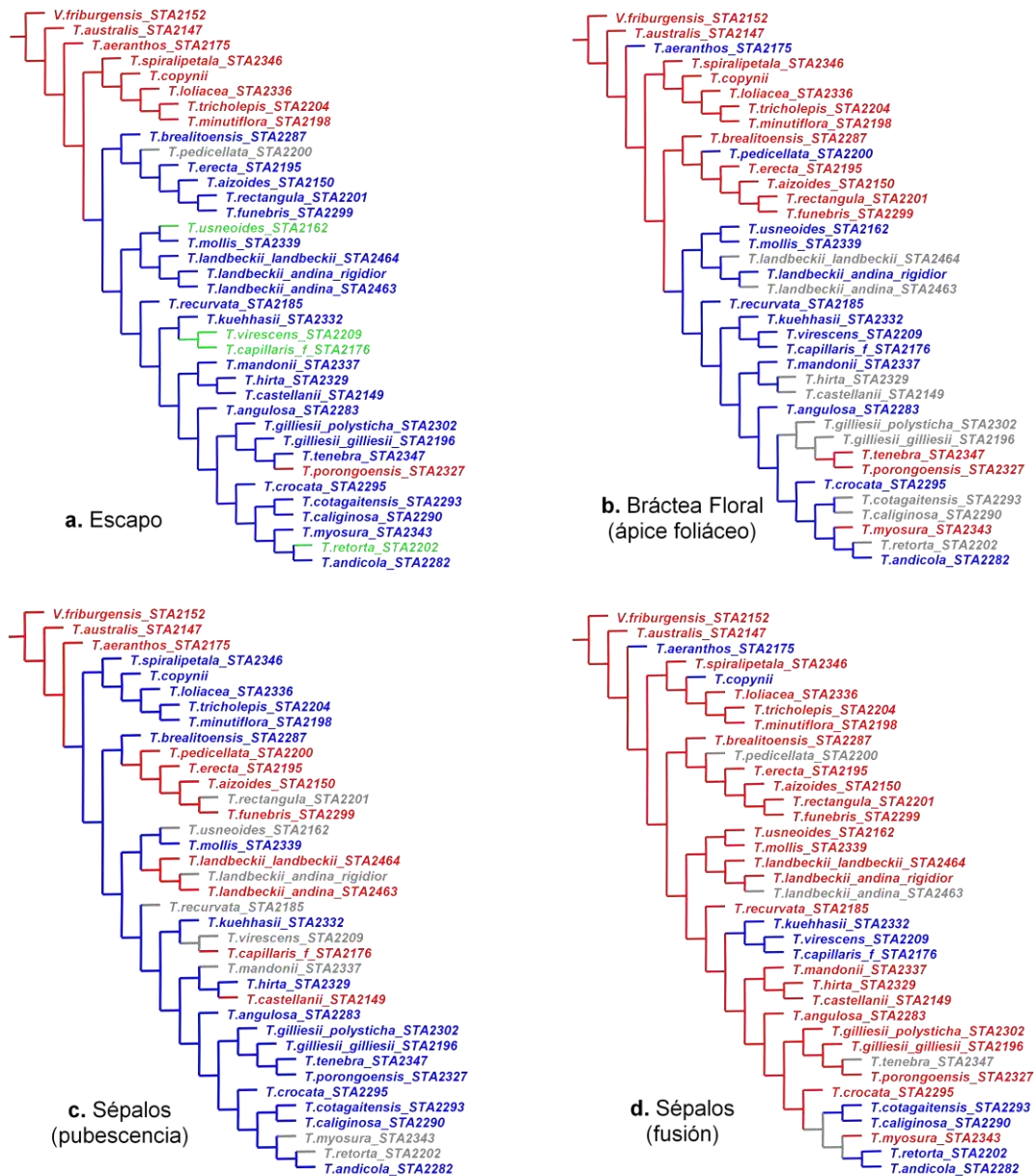


Figura .6.4. Optimización de algunos caracteres reproductivos de inflorescencias y flores en uno de los árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis de la evidencia total de los datos morfológicos y moleculares. **a.** Desarrollo de entrenudos y disposición de brácteas en el eje de la inflorescencia (carácter 29), el color rojo indica el estado 0, el azul indica el estado 1 y el color verde, el estado 2 del carácter tal cual se expone en el texto. **b.** Ápice foliáceo en las brácteas florales (carácter 52), su ausencia y presencia se indican en rojo y azul respectivamente. **c.** Pilosidad en la cara abaxial de los sépalos (carácter 56), el estado glabro se indica en rojo y el estado lepidote en azul. **d.** Grado de fusión de los sépalos (carácter 61), en rojo se indica la ausencia de fusión diferencial entre los sépalos y en azul la presencia de un mayor grado de fusión en los sépalos posteriores (adaxiales).

6.3.2.2.b. Caracteres del fruto y la semilla

A partir de la optimización de los caracteres del fruto y semilla se destacan varios caracteres de interés y valor evolutivo:

- En los frutos, la presencia de valvas externas e internas separadas entre sí aparece como un estado derivado que aparece 1 o 2 veces en la evolución de *Diaphoranthema* caracterizando al clado D1+D4 (fig. 6.5.a). Una de las posibles reconstrucciones para explicar la evolución de este carácter (carácter 77) está dada por el surgimiento de este estado (valvas separadas) en el ancestro común de los clados D2' y D1+D4 presentando una reversión al estado plesiomórfico (valvas unidas) en el subclado de D2' tal cual puede verse en la figura 6.5.a. La segunda posible reconstrucción es la aparición independiente del estado derivado en el nodo que da lugar a D1+D4 y en *T. brealitoensis*.
- La optimización del carácter de presencia o ausencia de endosperma en las semillas maduras (carácter 80) indica una tendencia evolutiva hacia la consumición completa del tejido de reserva al momento de la dispersión de las semillas. La ausencia de endosperma en semillas maduras surge independientemente 3 veces y es un estado compartido por especies del clado D4 y en especial característico del clado D7+D11 (fig. 6.5.b).
- La presencia de un engrosamiento “verrugoso” en el extremo de la zona micropilar de las semillas, caracterizado por parénquima engrosado con alto número de plasmodesmos en el canal micropilar, es el estado derivado del carácter 82, que surge en el nodo que une a los clados D2' y D1+D4, presentando una posible reversión en una de las especies (*T. hirta*) en donde no se ha observado esta diferenciación en la estructura de la zona micropilar (fig. 6.5.c).
- La optimización del carácter dado por el tipo de endostoma (carácter 83) indica que el *tipo bryoides* es el estado derivado del carácter y surge 6 veces independientemente en la evolución de *Diaphoranthema*, constituyéndose en el estado característico del clado D3 y de varias especies, encontrándose todo a lo largo del árbol filogenético (fig. 6.5.d). Los datos sobre el tipo de endostoma han sido tomados de la literatura (Gross, 1988). Este carácter ha sido utilizado

por dicha autora como una de las características principales en su clasificación de las semillas de las especies de Bromeliaceae. La optimización del tipo de endostoma sobre la hipótesis filogenética obtenida en esta tesis indica que este carácter no es útil para delimitar grupos naturales dentro de *Diaphoranthema*.

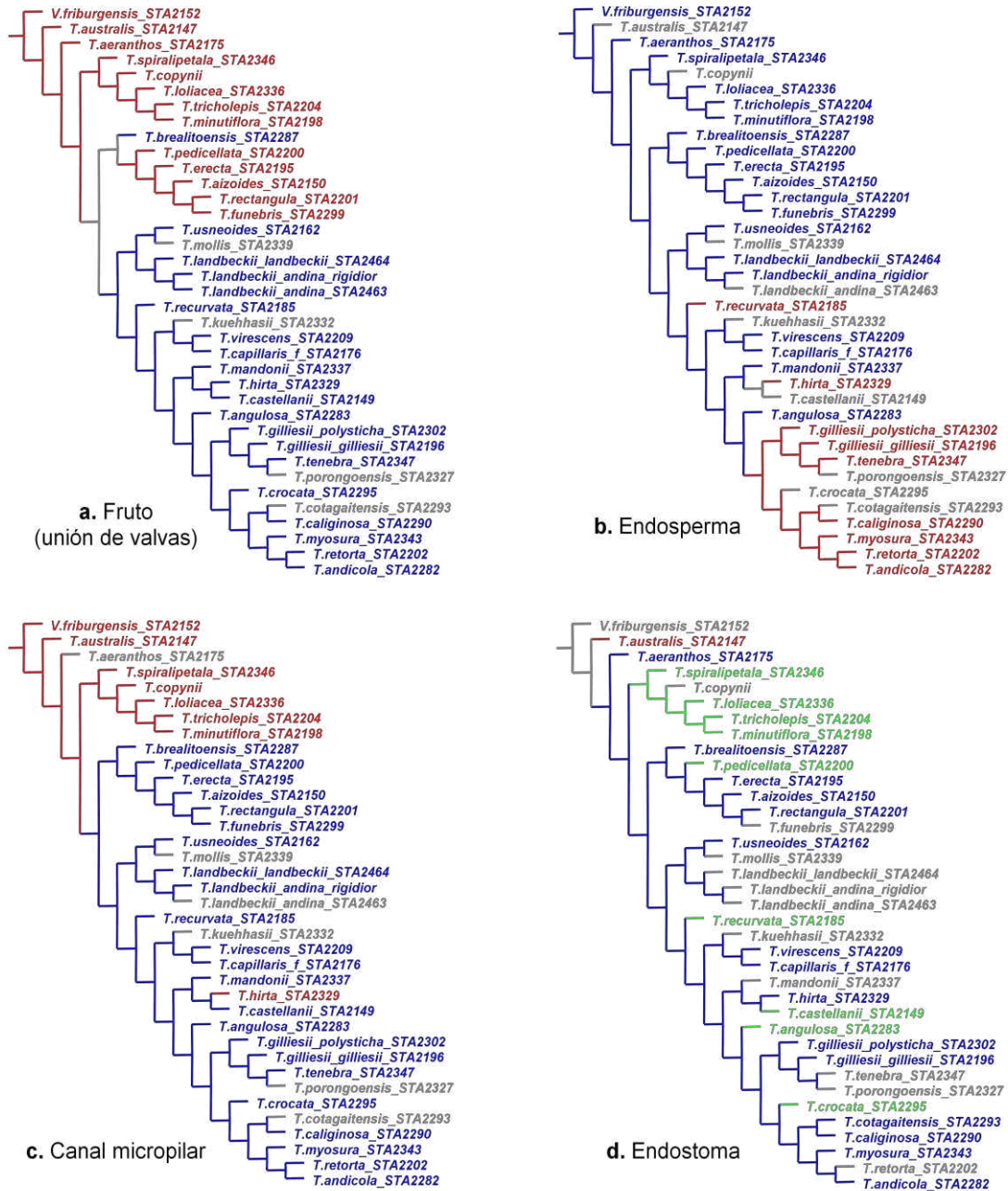


Figura 6.5. Optimización de los caracteres del fruto y la semilla en uno de los árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis de la evidencia total de los datos morfológicos y moleculares. **a.** Valvas internas y externas del fruto (carácter 77), el color rojo indica el estado 0 (valvas unidas) mientras que el azul indica el estado 1 (valvas separadas). **b.** Endosperma (carácter 80), ausencia endosperma se indica en rojo y presencia de endosperma en azul. **c.** Engrosamiento “verrugoso” en el extremo de la zona micropilar (carácter 82), los colores rojo y azul indican ausencia y presencia respectivamente. **d.** Tipo de endostoma según Gross (1988) (carácter 83), el color rojo representa el *tipo incarnata*, el azul el *tipo cotagaitensis* y el verde el *tipo bryoides*.

Dentro de los caracteres seminales, el de especial interés para esta tesis es la poliembrionía (carácter 81) presente en las semillas de *Diaphoranthema* y señalado por Gross (1988) como característica de las especies del subgénero. La optimización de la poliembrionía en el árbol filogenético se muestra en la figura 6.6.

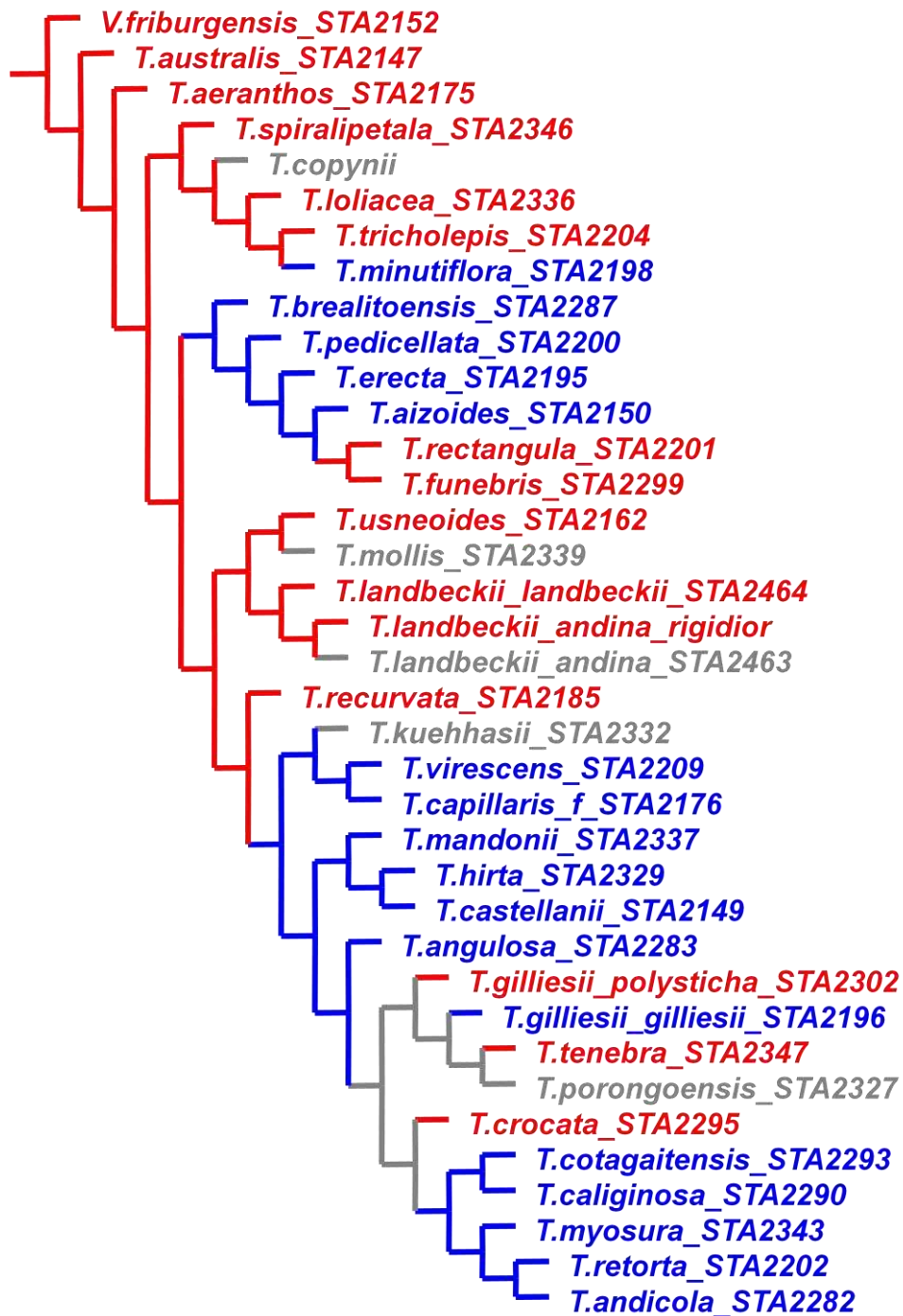


Figura 6.6. Optimización de la poliembriónía (carácter 81) en uno de los árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis de la evidencia total de los datos morfológicos y moleculares. La ausencia de poliembriónía en las semillas se indica en rojo y la presencia de poliembriónía en color azul.

La presencia de poliembriones en las semillas maduras ocurre al menos 3 veces independientemente en *Diaphoranthema*. En el contexto de la filogenia obtenida a partir de los caracteres morfológicos y moleculares estudiados en esta tesis, la poliembrionía se comporta como un carácter homoplásico cuya optimización en el árbol se da en 7 pasos evolutivos. Se obtienen 4 posibles reconstrucciones de este carácter en el árbol filogenético. Una de ellas resuelve que la presencia de semillas poliembriónicas es compartida por una especie del clado 3 (*T. minutiflora*), por el clado D2' revirtiendo al carácter plesiomórfico en las especies terminales de ese agrupamiento (*T. rectangula* y *T. funebris*) y por el clado D6 con posibles reversiones hacia la ausencia poliembriones en las semillas de las especies *T. crocata*, *T. gilliesii* subsp. *polysticha* y *T. tenebra*.

6.3.2.2.c. Autogamia y nivel de ploidía

Diaphoranthema ha sido propuesto como un subgénero con tendencia a la autogamia. Es por ello que este carácter es de particular interés para este trabajo. La optimización de este carácter en la filogenia se muestra en la figura 6.7.

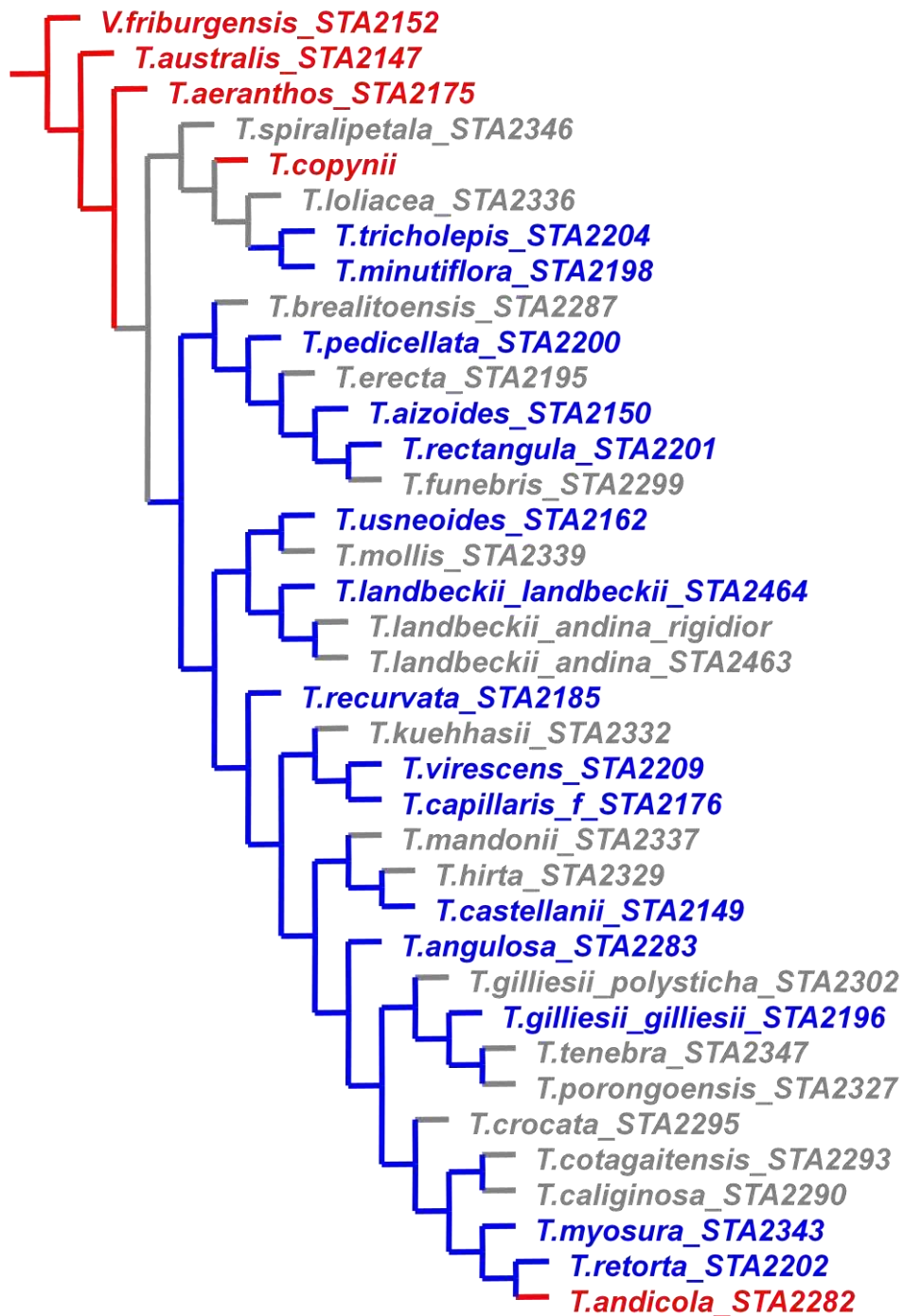


Figura 6.7. Optimización de la autogamia (carácter 84) en uno de los árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis de la evidencia total de los datos morfológicos y moleculares. La ausencia y presencia de autogamia se indica en color rojo y azul respectivamente.

Hay especies comprobadamente autógamas como representantes de todos los agrupamientos principales en el árbol. La mayor parte de las especies de *Diaphoranthema* son autógamas, sin embargo, este carácter resulta homoplásico y su optimización es ambigua en la base del clado que reúne a las especies del subgénero. Una de las posibles reconstrucciones de la evolución de este carácter indica la ocurrencia de mecanismos de autopolinización en *Diaphoranthema* con ciertas posibles reversiones al estado plesiomórfico del carácter en *T. andicola* y *T. copynii*.

La optimización de los niveles de ploidía de las especies en el árbol filogenético según los datos bibliográficos disponibles, ha resultado en 4 pasos evolutivos para la evolución del carácter (figura 6.8).

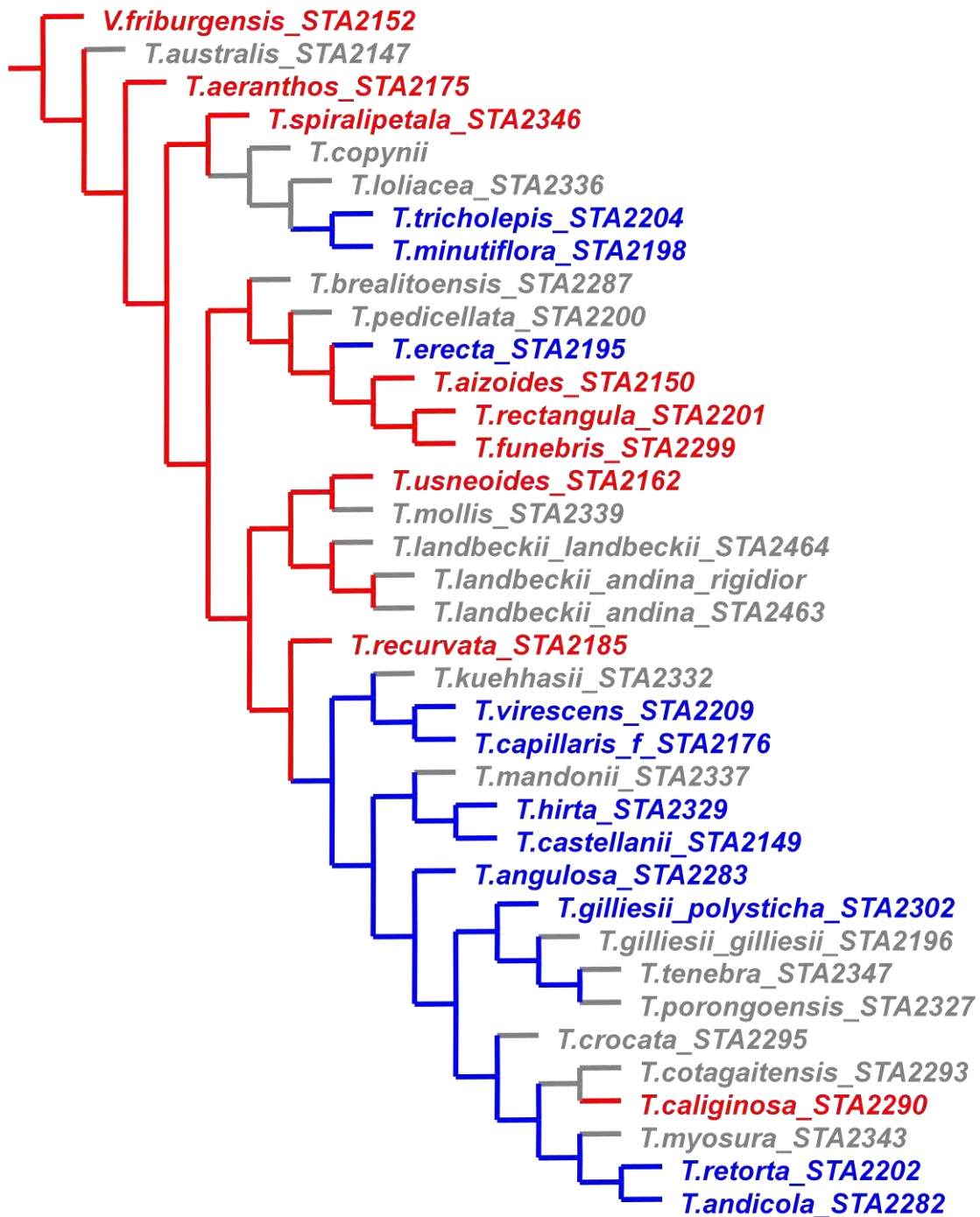


Figura 6.8. Optimización de la ploidía (carácter 86) en uno de los árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis de la evidencia total de los datos morfológicos y moleculares. El estado diploide se indica en color rojo y el estado tetraploide en color azul.

Las especies comprobadamente tetraploides (Brown & Gilmartin, 1986; 1989b; Till, 1992b) se encuentran en su mayoría formando parte del clado D6. La tetraploidía también se evidencia en especies terminales del clado D3 (*T. minutiflora* y *T. tricholepis*) y en al menos una especie del clado D2' (*T. erecta*).

A pesar de carecer de recuentos cromosómicos para algunas especies, estos resultados estarían indicando que *Diaphoranthema* ha evolucionado a partir del estado diploide hacia el estado tetraploide al menos 3 veces independientemente en la evolución del grupo.

6.4. Conclusiones y discusión

A partir del estudio filogenético de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* tratado en los capítulos 4, 5 y 6 de esta tesis se han puesto a prueba las hipótesis mencionadas en la introducción general (capítulo 1) y reiteradas en la introducción de este capítulo.

Monofilia de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema*, origen filogenético del subgénero y su relación con las especies xéricas de *Phytarrhiza*

En primer lugar se rechaza aquí la hipótesis sobre la monofilia de *Diaphoranthema*. A diferencia de lo sugerido por Gilmartin & Brown (1986), el subgénero no constituye un grupo monofilético sino parafilético dada la inclusión de especies xéricas de *Tillandsia* subgen. *Phytarrhiza*.

El estudio filogenético llevado a cabo en esta tesis, que incluye la totalidad de las especies de *Diaphoranthema* (28) y 12 de las 18 especies xéricas de *Phytarrhiza*, confirma la fuerte relación entre estas especies ya que todas ellas se encuentran reunidas en un clado de alto soporte. A partir del esfuerzo de muestreo realizado, este trabajo fortalece la hipótesis de la parafilia de *Phytarrhiza* de Gilmartin & Brown (1986) pero rechaza la monofilia de *Diaphoranthema* sugerida por estos autores. Los resultados obtenidos concuerdan con Till (1992b) en cuanto a que las especies de *Diaphoranthema* y las especies xéricas de *Phytarrhiza* no deberían ser segregadas en diferentes subgéneros. Más aún, la hipótesis filogenética que se desprende de esta tesis, es lo suficientemente robusta para reafirmar la necesidad de replantear la

clasificación subgenérica de *Tillandsia* ya sugerida por Gilmartin & Brown (1986), Till (1992b) y Benzing (2000).

Tanto los análisis filogenéticos morfológicos como los moleculares producto de este trabajo de tesis, han dado como resultado árboles que sugieren que el origen filogenético de *Diaphoranthema* podría estar dado a partir de especies xéricas de *Phytarrhiza* tal cual ha sugerido Till (1992b) y que a su vez concuerdan en parte con la hipótesis filogenética de Gilmartin & Brown (1986).

Monofilia de los agregados morfológicos de *Diaphoranthema* y discusión acerca de los caracteres usados en la clasificación de Till (1992b)

De acuerdo a los resultados obtenidos, se rechaza la hipótesis sobre la no monofilia de los agregados morfológicos en los que Till (1992b) ha clasificado a las especies de *Diaphoranthema*, ya que dos de los 6 agregados resultaron monofiléticos en el análisis de la evidencia total de los datos: Loliacea y Rectangula, los que corresponden a los clados D3 y D2', respectivamente. Por otro lado los agregados Capillaris y Recurvata son polifiléticos mientras que los agregados Caliginosa y Myosura resultaron parafiléticos.

En base a estos resultados, y dado el alto soporte obtenido para los clados D8 y D1, se sugiere que los agregados Capillaris y Recurvata podrían llegar a definirse como grupos naturales si se replanteara la clasificación propuesta por Till. Para ello sería necesario excluir del agregado Capillaris a la especie *T. castellanii* y a su vez excluir del agregado Recurvata a la especie que da nombre a este agregado (*T. recurvata*). En este caso el agregado Capillaris debería incluir solo a las especies *T. capillaris*, *T. kuehhasii* y *T. virescens* y el agregado Recurvata debería ser renombrado e incluir únicamente a *T. mollis*, *T. landbeckii* y *T. usneoides*.

Por otro lado, dado el bajo soporte obtenido en general para los agrupamientos que se distinguen dentro del clado D9 (especies de los agregados Caliginosa y Myosura y a una especie del agregado Capillaris), no se descarta la posibilidad de que el agregado Caliginosa pueda llegar a formar un grupo natural en futuros análisis.

Los caracteres usados por Till para la clasificación de *Diaphoranthema* son la filotaxis, la pubescencia de las brácteas florales y el color de la flor. El hecho de que los límites de esta clasificación sean poco precisos reside en que los caracteres utilizados son en menor o mayor medida homoplásicos. Entre ellos, el color de la flor ha resultado altamente homoplásico y sin valor filogenético para establecer relaciones entre las especies del subgénero, mientras que la filotaxis y la pilosidad de las brácteas florales son caracteres menos homoplásicos. Sin embargo, entre estos últimos, la filotaxis es el único carácter que resalta en cuanto a su importancia filogenética en la historia evolutiva de *Diaphoranthema*.

A pesar de esto, resulta llamativo y notorio que la hipótesis filogenética sobre la base de evidencia morfológica y molecular de esta tesis es congruente en gran parte, en cuanto a la resolución de los agregados en los que Till ha dividido a *Diaphoranthema*, sobre la base de unos pocos caracteres morfológicos.

El estudio de los caracteres en el contexto filogenético aportan posibles caracteres morfológicos sobre los cuales definir y o replantear los agregados postulados por Till (1992b), en especial para los agregados Capillaris, Loliacea, Rectangula y Recurvata.

Evolución de los caracteres en *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema*

Sobre la base de la evidencia filogenética combinada de los caracteres morfológicos y moleculares estudiados, se ha generado una filogenia robusta de *Diaphoranthema* que resuelve al subgénero dividido en 3 clados mayores aquí llamados D3, D2' y D1+D4. Los dos primeros corresponden a los agregados Loliacea y Rectangula de la clasificación de Till (1992b) y están soportados por caracteres morfológicos y moleculares mientras que el clado D1+D4 se resuelve solo a partir de datos aportados por la morfología.

A partir de optimización de los caracteres morfológicos sobre la filogenia se exponen y discuten aquí las conclusiones más importantes que tienen que ver con las hipótesis que se plantean en esta tesis.

a. Autogamia y Poliembrionía

En cuanto a ciertos aspectos del comportamiento reproductivo de especial interés para esta tesis, se acepta aquí la hipótesis acerca de que la poliembrionía ha surgido independientemente más de una vez en la historia evolutiva del subgénero *Diaphoranthema*.

Gross (1988) ha señalado la presencia de semillas con poliembriones como una característica *Diaphoranthema*, sin embargo este carácter se descarta aquí como una posible sinapomorfía para el subgénero. No obstante, este carácter es de importancia filogenética para definir ciertos agrupamientos de especies en esta filogenia.

Si bien las consideraciones geográficas al respecto exceden los objetivos de esta tesis, estudios preliminares en cuanto a la distribución de las especies del subgénero y su frecuencia en las distintas provincias fitogeográficas argentinas (Cabrera, 1971; 1973; 1976), han demostrado que las únicas especies de *Tillandsia* capaces de habitar ambientes tan extremos como la "Puna" son algunas especies pertenecientes a *Diaphoranthema* que presentan poliembrionía en sus semillas. Por lo que no se descarta que el surgimiento independiente de la poliembrionía en especies de este subgénero esté relacionado con la adaptación de estas especies a ambientes extremos. En estos ambientes, las plantas con semillas poliembriónicas tendrían una alternativa de germinación en el caso que el embrión cigótico no resultara viable. Más aún, en ese caso, el embrión accesorio llevaría como ventaja para su germinación, desarrollo y supervivencia en ambientes extremos, el hecho de ser genotípicamente idéntico a su planta madre, demostradamente exitosa.

Por otro lado, se rechaza aquí la hipótesis acerca de que la autogamia ha surgido independientemente más de una vez en la historia evolutiva del subgénero *Diaphoranthema*. Los resultados de la optimización de este carácter en la filogenia, muestran ambigüedad en cuanto al origen de estos procesos durante evolución de *Diaphoranthema*. Más aún, la información disponible sobre autogamia y cleistogamia en el subgénero continúa siendo parcial y fragmentaria debido no solo a la ausencia de datos para muchas de las especies sino al desconocimiento de los tipos y mecanismos de autogamia

existentes incluso en aquellas especies que se saben poseedoras en principio de la capacidad de ser autógamas facultativas. Para ello es necesario que la investigación a futuro de estos procesos sea realizado a campo, ya que es fundamental el estudio de la biología floral y los polinizadores en el ambiente natural en el que crecen estas especies.

b. Caracteres vegetativos contra caracteres reproductivos

Los caracteres morfológicos que han resultado más informativos en cuanto a la división del subgénero en estos 3 agrupamientos principales están dados fundamentalmente por caracteres vegetativos entre los cuales se destacan aquellos relativos a las hojas (filotaxis y caracteres de la vaina y lámina). Entre los caracteres reproductivos que contribuyen a los clados principales de *Diaphoranthema*, se destacan solo unos pocos relacionados en particular con el eje principal de la inflorescencia (pubescencia), las brácteas florales (ápice folioso) y la semilla (poliembrionía y tipo de endostoma). Estos resultados permiten aceptar aquí, aunque en parte, la hipótesis 4 en cuanto a que las sinapomorfías morfológicas de los grandes clados de *Diaphoranthema* están dadas mayormente por caracteres vegetativos. Esta hipótesis, tal cual ha sido formulada, solo puede ser aceptada en parte ya que prácticamente la totalidad de los caracteres estudiados en esta tesis han resultado ser homoplásicos en menor o mayor medida. Es por ello que para poder aceptar esta hipótesis, no deberíamos hablar sobre sinapomorfías sino sobre caracteres filogenéticamente informativos que si bien son en este caso homoplásicos, de todas formas han permitido obtener una filogenia robusta y bien resuelta sobre la cual han podido estudiarse las tendencias evolutivas y las relaciones entre especies del subgénero *Diaphoranthema*.

Contar con esta filogenia robusta como contexto sobre la cual estudiar el comportamiento de los caracteres morfológicos ha evidenciado por ejemplo que los caracteres florales relacionados con la polinización (caracteres 67 a 70, 72 y 74) no aportan información filogenética. Estos resultados, sumados a las consideraciones expuestas previamente sobre el comportamiento reproductivo y las tendencias de las especies de *Diaphoranthema* hacia la autogamia y cleistogamia, permiten aceptar la hipótesis 5 de esta tesis al inferir que es

justamente por no afectar el éxito reproductivo que estos caracteres resultan en homoplasias poco informativas en cuanto a la evolución del subgénero.

c. Neotenia

La evaluación del comportamiento de los caracteres vegetativos y reproductivos relacionados a la neotenia y al acortamiento del ciclo de vida postulados para *Diaphoranthema* según Till (1992b), (caracteres 0, 6, 27, 29, y 38), ha evidenciado que la evolución de estos caracteres dentro del grupo no siempre refleja una tendencia hacia una morfología asociada a posibles procesos neoténicos. Por lo que, sobre la base de los resultados obtenidos, se considera la aceptación de la hipótesis última de este trabajo que establece que las modificaciones vegetativas y reproductivas de las especies de este subgénero no siempre están asociadas a cambios neoténicos del desarrollo, ni a un supuesto acortamiento del ciclo de vida.

A su vez, si bien existen evidencias de cambios heterocrónicos, el patrón de evolución de las estructuras relacionadas a estos cambios en esta filogenia, demuestra que existe una contra tendencia a la neotenia en especies terminales del subgénero, dada por un mayor tamaño de las plantas, un mayor número de flores por inflorescencia e incluso semillas que al momento de su dispersión han consumido por completo sus tejidos de reserva.

Conclusiones generales

- La revisión de la nomenclatura y la taxonomía de las especies del subgénero *Diaphoranthema* ha permitido resolver la identidad de *T. bryoïdes* y publicar una nueva especie para la ciencia: *Tillandsia minutiflora*.
- Se ha generado una hipótesis filogenética robusta de *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* sobre la base de caracteres morfológicos y moleculares.
- *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* es parafilético dado que incluye a especies xéricas de *Tillandsia* subgen. *Phytarrhiza*. No se descarta la posible inclusión de especies del subgénero *Anoplophytum*.
- Respecto a la subdivisión del subgénero *Diaphoranthema* propuesta por Till: 1) los agregados Loliacea y Rectangula son monofiléticos; 2) los agregados Caliginosa y Myosura son parafiléticos; 3) los agregados Capillaris y Recurvata son polifiléticos pero podrían llegar a definirse como grupos naturales si se reevaluaran sus límites.
- *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* se divide en 3 clados principales, 2 de ellos corresponden a los agregados Loliacea y Rectangula y el tercero agrupa al resto de las especies del subgénero. Estos 3 clados principales están apoyados fundamentalmente por caracteres vegetativos y seminales: filotaxis, forma de la hoja, carena foliar, distribución de los nervios en la vaina foliar, ápice foliáceo en la bráctea floral, tipo de endostoma y poliembrionía.
- La poliembrionía ha surgido varias veces independientemente en la evolución del subgénero *Diaphoranthema*.

- La fuerte tendencia a la autogamia en *Tillandsia* subgen. *Diaphoranthema* es evidente, sin embargo, su origen evolutivo no es claro. Se destaca la necesidad de ahondar el estudio de la autogamia y cleistogamia en *Tillandsia*.
- El hecho de que los caracteres florales relacionados con la polinización no resulten filogenéticamente informativos, se interpreta como otra evidencia que apoya a la tendencia evolutiva del subgénero hacia el desarrollo de estrategias de autopolinización.
- El subgénero *Diaphoranthema* muestra modificaciones en estructuras vegetativas y reproductivas que evidencian la ocurrencia de procesos heterocrónicos en el desarrollo de las especies pero que no necesariamente implican un acortamiento en el ciclo de vida y se requieren estudios futuros respecto a la naturaleza de estos procesos y su contribución adaptativa.
- Los resultados filogenéticos obtenidos en esta tesis a partir de datos morfológicos y moleculares son lo suficientemente robustos para confirmar, concordando con autores como Gilmartin & Brown (1986), Till (1992b) y Benzing (2000), la necesidad del replanteo de la clasificación subgenérica de *Tillandsia*.
- También se proponen en este trabajo, modificaciones a la clasificación infrasubgenérica de *Diaphoranthema* propuesta por Till (1992b).
- Los caracteres morfológicos estudiados para esta tesis y la interpretación de su evolución pueden ser de gran utilidad para estos fines en un futuro como así también para la confección de claves actualizadas.
- Se destaca la importancia de los caracteres vegetativos y seminales, así como aquellos reproductivos de particular interés en la evolución de *Tillandsia* como son la autogamia y la poliembrionía en relación a la adaptación de las especies a ambientes extremos y se propone a

Diaphoranthema como un excelente modelo para el estudio de estos aspectos y de los procesos heterocrónicos que sin dudas promete interesantes vistas a futuro en la investigación del género *Tillandsia*.

Bibliografía

- Alexander, P. J., Rajanikanth, G., Bacon, C. D. & C. D. Bailey. 2007. Recovery of plant DNA using a reciprocating saw and silica-based columns. *Molecular Ecology Notes* 7(1): 5–9.
- Baker, J. G. 1878. A synopsis of the species of *Diaphoranthema*. *Journal of Botany* 16: 236-241.
- Baldwin, B. G. & S. Markos. 1998. Phylogenetic utility of the External Transcribed Spacers (ETS) of 18S-26S rDNA: Congruence of ETS and ITS trees of *Calycadenia* (Compositae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 10: 449-463.
- Barker, F.K. & Lutzoni, F., The utility of the incongruence length difference test., *Systematic Biology*, vol. 51 (2002), pp. 625-637
- Barfuss, M., Samuel, M. R. & W. Till. 2004. Molecular phylogeny in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on six cpDNA markers: an update. *Journal Bromeliad Society* 54(1): 9-17.
- Barfuss, M., Samuel, M. R., Till, W. & T. F. Stuessy. 2005. Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on DNA sequence data from seven plastid regions. *American Journal of Botany* 92(2): 337-351.
- Benzing D. H. 2000. Bromeliaceae: Profile of an Adaptive Radiation. Cambridge University Press, Cambridge, U.K. 690 p.
- Billings, F. H. 1904. A study of *Tillandsia usneoides*. *Bot. Gaz.* 38: 99-121.
- Birge, W. I. 1911. The anatomy and some biological aspects of the „Ball Moss“, *Tillandsia recurvata* L.. *Bull. Univ. Texas* 20: 1-23.
- Böhme, S. 1988. Bromelienstudien III. Vergleichende Untersuchungen zu Bau, Lage und systematischer Verwertbarkeit der Septalnektarien von Bromeliaceen. *Trop. Subtrop. Pflanzenw.* 62: 86-89.
- Brown, G. K. & A. J. Gilmartin. 1984. Stigma structure and variation in Bromeliaceae – neglected taxonomic characters. *Brittonia* 36: 364-374.
- Brown, G. K. & A. J. Gilmartin. 1986. Chromosomes of the Bromeliaceae. *Selbyana* 9: 88-93.
- Brown, G. K. & A. J. Gilmartin. 1989a. Stigma types in Bromeliaceae. A systematic survey. *Syst. Bot.* 14: 110-132.

- Brown, G. K. & A. J. Gilmartin. 1989b. Chromosome numbers in Bromeliaceae. *Amer. J. Bot.* 76: 657-665.
- Cabrera A. L. 1971. Fitogeografía de la República Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* XIV (1-2):1-42.
- Cabrera A. L. 1973. *Biogeografía de América Latina*. E. V. Chesneau ed. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. pp. 1-120.
- Cabrera A. L. 1976. *Regiones Fitogeográficas Argentinas*. En Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. ACME S.A.C.I. Ed. 2ª Edición, Tomo II, pp. 1-85.
- Caldiz, D. O., Beltrano, J., Fernandez, L. V. & I. Andia. 1993. Survey of *Tillandsia recurvata* L.: Preference, abundance and its significance for natural forests. *For. Ecol. Manage.* 57(1-4): 161-168.
- Castellanos, A. 1945. Bromeliaceae, en H. R. Descole (ed.), *Genera et species plantarum argentinarum* 3: 105-378. Guillermo Kraft Ltda., Buenos Aires.
- Chew, T., De Luna, E. & D. González. 2010. Phylogenetic relationships of the Pseudobulbous *Tillandsia* species (Bromeliaceae) inferred from cladistic analyses of ITS 2, 5.8S ribosomal RNA gene, and ETS sequences. *Syst. Bot.* 35: 86-95.
- Cuénod, P., V. Savolainen, L. W. Chatrou, M. Powell, R. E. J. Grayer, M. W. Chase. 2002. Molecular phylogenetics of Caryophyllales based on nuclear 18s rDNA and plastid *rbcL*, *atpB*, and *matK* DNA sequences. *Amer. J. Bot.* 89: 132-144.
- Cunningham, C. W. 1997. Can three incongruence tests predict when data should be combined? *Mol. Biol. Evol.* 14:733-740.
- Donadío, S. 2011. A valid name for the taxa known as *Tillandsia bryoides* auct. (Bromeliaceae). *Darwiniana* 49(2): 131-138.
- Farris, J. S. 1983. The logical basis of phylogenetic analysis. En Platnick, N.I. & Funk, V.A. (editores), *Advances in Cladistics*, pp 277-302. New York: Columbia University Press.
- Farris, J. S., M. Källersjö, A. G. Kluge, & C. Bult. 1995. Constructing a significance test for incongruence. *Syst. Biol.* 44: 570–572.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.

- Garth, R. R. 1964. The ecology of Spanish moss (*Tillandsia usneoides*): its growth and distribution. *Ecology* 45: 470-481.
- Gilmartin, A. J. 1983. Evolution of mesic and xeric habits in *Tillandsia* and *Vriesea* (Bromeliaceae). *Syst. Bot.* 8(3): 233-242.
- Gilmartin, A. J. & G. K. Brown. 1985. Cleistogamy in *Tillandsia capillaris* (Bromeliaceae). *Biotropica* 17 (3): 256-259.
- Gilmartin, A. J. & G. K. Brown. 1986. Cladistic tests of hypotheses concerning evolution of xerophytes and mesophytes within *Tillandsia* subgenus *Phytarrhiza* (Bromeliaceae). *Amer. J. Bot.* 73: 387-397.
- Givnish, T. J., Milliam, K. C., Berry, P. E. & K. J. Sytsma. 2007. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. *Aliso* 23: 3-26.
- Givnish, T. J., Barfuss, M. H. J., Van Ee, B., Riina, R., Schulte, K., Horres, R., Gonsiska, P. A., Jabaily, R. S., Crayn, D. M., Smith, J. A. C., Winter, K., Brown, G. K., Evans, T. M., Holst, B. K., Luther, H., Till, W., Zizka, G., Berry, P.E. & K. J. Sytsma. 2011. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: insights from an eight-locus plastid phylogeny. *Am. J. Bot.* 98, 872–895.
- Goloboff, P. A., Farris, J. S. & K. Nixon. 2008. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics* 24: 774-786.
- Gortan, G. 1991. Narbenformen bei Bromeliaceen: Variationsmöglichkeiten und Überlegungen zu systematisch-taxonimischen Korrelationen. M.Sc. thesis, Universität Wien, Vienna, Austria.
- Gouda, E. J. 1986. *Tillandsia spiralipetala*, a new small species from Bolivia. *J. Bromeliad Soc.* 36 (4): 165-166, 177.
- Gouda, E. J. 1988. *Tillandsia copynii*, a new miniature from Brazil. *J. Bromeliad Soc.* 38 (2): 81-84.
- Grant, J. R. 1993. True tillandsias misplaced in *Vriesea*. *Phytologia* 75: 170-175.
- Grisebach, A. 1879. Symbolae ad Floram argentinam. *Gött. Abh.* 24: 334.
- Gross, E. 1985. Polyembryony in bromeliads: a provisional note. *Journ. Brom. Soc.* 35 (5): 202-205.

- Gross, E. 1988. Bromelienstudien IV. Zur Morphologie der Bromeliaceen-Samen unter Berücksichtigung systematisch-taxonomischer Aspekte. *Trop. Sutrop. Pflanzenw.* 64: 1-215.
- Halbritter, H. 1992. Morphologie und systematische Bedeutung des Polens der Bromeliaceae. *Grana* 31: 197-212.
- Hall, T. A. 1999. Bioedit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41: 95-98.
- Hausner, G., Olson, R., Simon, D., Johnson, I., Sanders, E. R., Karol, K. G., McCourt, R. M. & S, Zimmerly. 2006. Origin and Evolution of the Chloroplast *trnK (matK)* Intron: A Model for Evolution of Group II Intron RNA Structures. *Molecular Biology and Evolution.* 23 (2): 380-391.
- Horres, R., Zizka G., Kahl, G. & K. Weising. 2000. Molecular phylogenetics of Bromeliaceae: evidence from *trnL* (UAA) intron sequences of the chloroplast genome. *Plant Biol.* 2: 306-315.
- Hromadnik, L. & W. Till. 1991. *Tillandsia tenebra*, spec. nov.: eine neue Kleintillandsia aus der Untergattung *Diaphoranthema*. *Die Bromelie* 2/91: 32-34.
- Hunziker, A. T. 1960. Catálogo de los tipos "Grisebachianos" conservados en Córdoba. *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias* 41: 283-421.
- Jones, C. E. & R. J. Little. 1983. Handbook of experimental pollination biology. Scientific and Academic Editions, New York.
- Kromer, T., Kessler M. & S. K. Herzog. 2006. Distribution and Flowering Ecology of Bromeliads along Two Climatically Contrasting Elevational Transects in the Bolivian Andes. *Biotropica* 38(2): 183–195.
- Lord, E. M. 1981. Cleistogamy: a tool for the study of floral morphogenesis, function and evolution. *Bot. Rev.* 47: 421-449.
- Magalhães, R. I. & J. E. A. Mariath. 2012. Seed morphoanatomy and its systematic relevance to Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Plant Syst. Evol.* 298:1881–1895.
- McNeill, F. R. Barrie, H. M. Burdet, V. Demoulin, D. L. Hawksworth, K. Marhold, D. H. Nicolson, J. Prado, P. C. Silva, J. E. Skog, J. H. Wiersema, N. J. Turland . 2006. International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code) adopted by the Seventeenth International Botanical Congress,

- Vienna, Austria, July 2005. A. R. G. Gantner Verlag, Ruggell [Regnum Veg. 146].
- Mc Williams, E. L. 1974. Evolutionary ecology. In L. B. Smith & R. J. Downs (eds.). Bromeliaceae (Pitcairnioideae). Flora Neotropica Monograph No. 14. Hafner, New York, USA.
- Mez, C. 1896. Bromeliaceae, en A. et C. DE CANDOLLE, *Monographiae Phanerogamarum*, Suites au Prodrômus Systematis Naturalis, Regni Vegetabilis, vol. 9, pp 1-990. Paris: Masson & Cia.
- Molvray, M., P. J., Kores, M. W. Chase. 2000. Polyphyly of mycoheterotrophic orchids and functional influences on floral and molecular characters. In K. L. Wilson and D. A. Morrison [eds.], *Monocots: systematics and evolution*, 441–448. CSIRO Publishing, Melbourne, Australia.
- Müller, F. 1895. Die Keimung einiger Bromeliaceen. *Ber. D. bot. Gesellsch.* XIII: 175-182.
- Palací, C. A., Brown, G. K. & D. E. Tuthill. 2004. The seeds of *Catopsis* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). *Syst. Bot.* 29 (3): 518-527.
- Ruzin, S. E. 1999. *Plant Microtechnique and Microscopy*. Oxford University Press, New York.
- Schinini, A.; Wanderley, M. G. L., Strehl, T., Martins, Z. & B. Moreira. 2008. Bromeliaceae, en F. O. Zuloaga, O. Morrone & M. J. Belgrano, Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono sur (Argentina, sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 107: 245-291.
- Schulte, K., Horres, R. & G. Zizka. 2005. Molecular phylogeny of Bromelioideae and its implications on biogeography and the evolution of CAM in the family. *Senckenb. Biol.* 85: 113-125.
- Schulte, K., Barfuss, M. H. J. & G. Zizka. 2009. Phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) inferred from nuclear and plastid DNA loci reveals the evolution of the tank habit within the subfamily. *Mol. Phyl. Evol.* 51: 327-339
- Smith L. B. 1935. Studies in the Bromeliaceae VI. *Proc. Am. Acad. (Contr. Gray Herb. 106)* 70: 153-224.
- Smith, L. B. & R. J. Downs. 1974. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). Flora Neotropica 14 (1): 1-660. Hafner Press, New York.

- Smith, L. B. & R. J. Downs. 1977. Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica* 14 (2): 663 o 665-1068. Hafner Press, New York.
- Smith, L. B. & W. Till. 1998. Bromeliaceae. En *The Families and Genera of Vascular Plants. Volume IV: Flowering Plants, Monocotyledons: Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)*. Kubitzki K. et al. Eds. pp. 74-99.
- Subils, R. 1973. Poliembrionía en especies argentinas de *Tillandsia* (Bromeliaceae). *Kurtziana* 7: 266-267.
- Subils, R. 2009. Bromeliaceae, en R. B. Kiesling, *Flora de San Juan*, vol. 4, pp. 340-363. Mendoza: Universidad Nacional de San Juan.
- Suessenguth, K. 1921. Beiträge zur Frage des systematischen Anschlusses der Monocotylen. *Beihefte Botanischen Centralblatt* 38: 1-79.
- Szidat, L. 1922. Die Samen der Bromeliaceen in ihrer Anpassung an den Epiphytismus. *Bot. Archiv.* 1: 29-46.
- Terry, R. G., Brown, G. K. & R. G. Olmstead. 1997. Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) using *ndhF* sequences. *Syst. Bot.* 22(2): 333-345.
- Thiers, B. [permanentemente actualizado, consulta 2012] Index Herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium, <http://sweetgum.nybg.org/ih>.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G. & T. J. Gibson. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22: 4673–4680.
- Till, W. 1989a. Die Untergattung *Diaphoranthema* (Beer) C. Koch von *Tillandsia* Linnaeus. 1, Das *Tillandsia capillaris* Aggregat. *Die Bromelie* 2/89: 31-34.
- Till, W. 1989b. Die Untergattung *Diaphoranthema* (Beer) C. Koch von *Tillandsia* Linnaeus. 2, Das *Tillandsia loliacea* Aggregat. *Die Bromelie* 3/89: 55-59.
- Till, W. 1991a. Die Untergattung *Diaphoranthema* von *Tillandsia* Linnaeus. 3, Teil: Das *Tillandsia rectangula* Aggregat. *Die Bromelie* 1/92: 15-19.
- Till, W. 1991b. Eine neue Unterart von *Tillandsia landbeckii* Philippi. *Die Bromelie* 3/91: 71-73.
- Till, W. 1992a. Die Untergattung *Diaphoranthema* von *Tillandsia*. 4, Teil: Das *Tillandsia recurvata* Aggregat. *Die Bromelie* 1/92: 15-20.

- Till, W. 1992b. Systematics and evolution of the tropical-subtropical *Tillandsia* subgenus *Diaphoranthema* (Bromeliaceae). *Selbyana* 13: 88-94.
- Till, W. 1995. Eine neue *Tillandsia* aus den zentralbolivianischen Hochanden. *Die Bromelie* 2/95: 33-35.
- Till, W. & H. Hromadnik. 1983. *Tillandsia mollis* (Bromeliaceae): eine neue Art aus Sudbolivien. *Pl. Syst. Evol.* 142 (1-2): 123-128.
- Till, W. & L. Hromadnik. 1984. Neue taxa von *Tillandsia* subgenus *Diaphoranthema* (Bromeliaceae) aus Bolivien und Argentinien. *Pl. Syst. Evol.*, 147 (3-4): 279-288.

Apéndices

Apéndice 1. Material de herbario examinado. Herbarios: BHCB, CORD, CTES, LIL, LPB, MCNS, SGO, SI, WU.

Tillandsia aëranthos (Loisel.) L.B. Sm. var. *aëranthos*.

ARGENTINA. BUENOS AIRES. Isla Martín García, 06/10/2003, *Hurrell 5330* (SI); Isla Martín García, camino de los Álamos, 08/11/2006, *Hurrell 6467* (SI); Barrancas al Sud, /11/1902, *Venturi 237* (SI); Dpto. Punta Indio. Ruta Prov. 11, entre Punta Piedras y empalme a Ruta Prov. 36, 18/10/2010, *Zuloaga 12154* (SI); CHACO. Dpto. General Güemes. El Colchón, 19/07/2005, *Martínez, G. J. 379* (CORD); CORDOBA. Dpto. Río Segundo. Pilar, 26/10/1986, *Subils 3985* (CORD). BRASIL. SANTA CATARINA. Dpto. Laguna. 28/07/1909, *Dusén 8412* (US). URUGUAY. LAVALLEJA. Cerro Arequita, 03/10/1937, *Legrand 1137* (MVM); MALDONADO. Sierra Animas, /09/1929, *Herter 628 b* (SI); SAN JOSÉ. Ruta 23 km. 131, 02/12/2001, *Seijo 2665 b* (CTES).

Tillandsia aizoides Mez.

ARGENTINA. CORDOBA. Dpto. Calamuchita. Yacanto, /01/1922, *Vattuone s.n. SI 31918* (SI); Dpto. Ischilín. Unos 10 km. al E de Villa Quilino, rumbo a San Pedro Norte, 10/11/1972, *Hunziker 22025* (CORD); Dpto. Punilla. Sierra Grande (Falda E): Ruta Nacional N° 20: Cerro Blanco, 07/04/1973, *Subils 1677* (CORD); Dpto. San Alberto. Mina Clavero, 03/02/1948, *Meyer 13392* (LIL); LA RIOJA. Río Miranda, 26/02/1941, *Burkart 12281* (SI); Dpto. Chilecito. 15/02/1941, *Burkart 12274* (SI); Dpto. General San Martín. E Chepes, km. 7 de Ruta Nac. 141, NE Dv. Santa Cruz, 20/04/1986, *Leuenberger 3605* (SI, B); SAN JUAN. Dpto. Valle Fértil. Alrededores del dique del Valle Fértil, 21/04/1995, *Biurrun 4114 a* (SI); 21/04/1995 *Biurrun 4115* (SI); Sierra de Chávez, (40 km. al SO de la ciudad de V.Fértil) entre parajes Puesto de la Cumbre y La Rinconada, 30/06/1989, *Biurrun 2883* (SI, IZAC); Río Las Tumanas, 13/04/1989, *Guaglianone 2452* (SI); San Agustín de Valle Fértil, cerro al borde del lago, 14/12/1987, *Múlgura 698* (SI); SAN LUIS. Dpto. Belgrano. Sierra de las Quijadas, Potrero de la Aguada, 8 km. al O de Hualtarán, 06/09/1990,

Haene 1010 (SI); TUCUMÁN. Río Julipao cerca de Timoteo Díaz, 27/05/1949, *Morello 1029* (SI).

Tillandsia andicola Gillies ex Baker.

ARGENTINA. CATAMARCA. Cresta de La Chilca (Agua de La Chilca), 03/11/1930, *Schreiter 6415* (LIL); Dpto. Tinogasta. /08/1981, *Hromadnik, H. 7246* (WU); CORDOBA. Capilla del Monte - La Toma, /08/1981, *Hromadnik, H. 7346 (bis)* (WU); LA RIOJA. Dpto. Famatina. 20 km. NNW of Famatina along the Ruta Provincial N° 11 towards Angulos, 07/02/1990, *Till, W. 5100* (WU); MENDOZA. *Carette s.n. SI 31920* (SI); /01/1926, *Negrete s.n. SI 32184* (SI); Puntilla, 09/11/1913, *Sanzin 110* (SI); Dpto. Capital. Parque Aborigen, //1940, *Minoprio s.n. LIL 113865* (LIL); Dpto. Las Heras. 32 km. from Uspallata on new Ruta 7 along Río Mendoza towards Mendoza, 2 km. W (above) Guido, 08/01/1995, *Leuenberger 4444* (WU, B, CORD, ZSS); Quebrada de la mina Atala, 08/02/1937, *Ruiz Leal 4448* (LIL); 11/08/1937, *Ruiz Leal 4667* (LIL, CTES); Dpto. Tupungato. /10/1933, *Ragonese, A. E. 10042* (WU, MCNS, CTES).

Tillandsia angulosa Mez.

ARGENTINA. LA RIOJA. Dpto. Chilecito. //1981, *Hromadnik, H. 7263* (WU); A la salida de Chilecito (Ruta 40, hacia el N), apenas pasando el Río Los Sarmientos, 13/07/1974, *Hunziker 22575* (CORD); 2 km. E Sañogasta, 07/02/1990, *Till, W. 5077* (WU); Dpto. Famatina. Famatina, //1981, *Hromadnik, H. 7252* (WU).

Tillandsia australis Mez.

Venturi 784 (SI); ARGENTINA. BUENOS AIRES. Dpto. San Isidro. San Isidro, 04/10/2010, *Donadío 238* (SI); JUJUY. Dpto. Santa Bárbara. Sierra del Centinela, Ojo de Agua, Las Cuevas, 22/04/1975, *Cabrera 26286* (SI); SALTA. Dpto. Candelaria. Camino desde El Tala rumbo a Pampa Grande: a 1 km de Potrerillos, 13/11/1984, *Subils 3603* (CORD, SI); Dpto. Orán. Río Seco, cerca de Río Blanco, bajo de San Andrés, /09/1873, *Lorentz 287* (CORD 2231); Finca San Andrés, Río Seco, 30/10/1997, *Schinini 33091* (CTES); Dpto. Santa

Victoria. Parque Nacional Baritú, Lipeo, 04/10/1996, *Hilgert 1523* (MCNS, CORD).

Tillandsia bandensis Baker.

ARGENTINA. BUENOS AIRES. Delta, Primera Sección, 19/11/1945, *Baraño 2 (bis)* (SI); Delta: Paraná Miní, 04/12/1931, *Burkart 4057* (SI); 22/09/1956, *Burkart 20033* (SI); CHACO. *Meyer 3 a* (SI); JUJUY. Camino al Dique de la Ciénaga, 15/02/1940, *Burkart 11040* (SI); Dpto. Dr. Manuel Belgrano. Camino al Cucho: río Los Blancos, 19/03/1979, *Cabrera 30213 a* (SI); LA RIOJA. Dpto. General Belgrano. Sierra de los Quiroga: La Huerta, 30/11/1984, *Subils 4346* (CORD); SALTA. Dpto. La Viña. Ruta Nacional N° 68, km. 123: Coronel Moldes. Lomadas 1 km. al W del camino, 01/03/1989, *Novara 8641* (CORD, MCNS, SI); SANTIAGO DEL ESTERO. Dpto. Choya. Villa La Punta, falda oriental Sierra de Guasayán, 04/01/1979, *Ulibarri 960* (SI); Dpto. Guasayán. De Santa Catalina a Guampacha, 14/04/1979, *Rotman 208* (SI).

Tillandsia brealitoensis L. Hrom.

TIPO. *Hromadnik, H. 7152 b* (WU), ARGENTINA. SALTA. Dpto. Molinos. Valles Calchaquíes, via ad pagum Brealito, 21/07/1981.

Tillandsia caliginosa W. Till.

ARGENTINA. N-Argentinien, S-Bolivien, *Rausch 41* (WU); JUJUY. *Muhr s.n. HEID 30925* (HEID); Dpto. Tilcara. Huacalera, 05/02/1959, *Cabrera 13244* (US); Arroyo Queta Cara Chico, 11/03/1957, *Cristóbal 110* (LIL); Pucará, 09/04/1986, *Palací 538 b* (MCNS); Dpto. Tumbaya. Volcán, 1 km. N of Tumbaya along the Ruta 9 to Humahuaca, 08/02/1993, *Till, W. 10092* (LIL, WU); SALTA. Seclantás a Brealito, 20/07/1945, *Meyer 9154* (LIL); Dpto. Cafayate. Inter Cafayate et Tolambón, Km. 8, //1981, *Irnstorfer 122-124* (WU); TUCUMÁN. Dpto. Tafí. Quebrada de Amaicha, /12/1931, *Schreiter 7663* (NY, LIL); BOLIVIA. COCHABAMBA. Vinto, 11/06/1957, *Jiménez, A. 22* (US); Cochabamba, Plaza Colón, 07/07/1982, *Till, W. 1* (WU); POTOSÍ. 45 km. NE Cotagaita, 12/07/1982, *Till, W. 42 a* (WU); TARIJA. San Agustín, cerca de Tarija, 10/06/1873, *Lorentz 969* (GOET, NY, CORD); Cotagaita, Bresadolia, 14/05/1927, *Troll 3369* (B).

Tillandsia castellanii L.B. Sm.

ARGENTINA. CATAMARCA. Südlichster Teil der Provinz, 23 km. nach Casa de Piedra an der Strabe Recreo-Sierra Brava, 11/10/1987, *Till, H. 87* (WU); Dpto. Andalgalá. 14 km. NW of Andalgalá, 4 km. N of Choya along the road to Capillitas, 19/02/1993, *Till, W. 10305* (LIL, WU); LA RIOJA. Dpto. General Juan Facundo Quiroga. Northern foot of the Sierra de Porongo, 2 km. W of Malanzán, 13/02/1990 *Till, W. 5196* (SI, WU, MO); Along the street from Solca to Malanzán, near the cross to Casangate, 14/02/1990, *Till, W. 5203* (WU); SALTA. Dpto. Cafayate. Taking turnoff 5 km. S of Tolombón (plaza). 13 km. from Ruta 4 on the road Lara-Hualinchay, 01/12/2003, *Leuenberger 4893* (LIL, B, ZSS).

Tillandsia copynii E. Gouda.

TIPO. *Copijn s.n. WU 2796* (WU), BRASIL. MINAS GERAIS. 5 km. NE of Paracatú, 12/09/1981.

BRASIL. RIO DE JANEIRO. Dpto. Sao Fidelis. *Leme s.n. WU 1846* (WU); Prope Sao Fidalis, //1989, *Leme s.n. WU 1884* (WU).

Tillandsia cotagaitensis L. Hromadnik.

TIPO. *Hromadnik, H. 5093* (WU), BOLIVIA. POTOSÍ. Dpto. Nor Chichas. Berge bei Cotagaita, NE of Cotagaita, 20/07/1979.

PARATIPO. *Till, W. 42* (WU), BOLIVIA. POTOSÍ. Dpto. Nor Chichas. 45 km. NE Cotagaita and Strabe Camargo-Cotagaita, 12/07/1982.

Tillandsia crocata (E. Morren) N.E. Br.

ARGENTINA. SALTA. Cornissa, //1981, *Markus s.n. WU 3072* (WU); BOLIVIA. TARIJA. 14 km. E of Entre Ríos, 15/07/1982, *Till, W. 73* (WU); 27 km. Palos Blancos, 16/07/1982, *Till, W. 79 a* (WU); BRASIL. PARANÁ. Just east of the Parque estadual da Vilha Velha, 28/01/1985, *Lewis 1381* (CTES 158514); RIO GRANDE DO SUL. Dpto. São Leopoldo. 15/09/1935, *Rambo s.n. LIL 193425* (LIL); Dpto. Viamão. Morro da grotta, acesso pelo Leprosário, 10/06/1980, *Bueno 2614* (HAS, CTES).

Tillandsia erecta Gillies ex Baker.

ARGENTINA. LA RIOJA. Cuesta de Miranda, Villa Unión, //1981, *Hromadnik, H. 7260* (WU); Dpto. General Lavalle. 8 km. NE of Piedra Pintada along the street from the Cuesta de Miranda to Villa Unión, 08/02/1990, *Till, W. 5112* (SI, WU); MENDOZA. Mendoza, /02/1981, *Irnstorfer s.n. WU 876* (WU); Dpto. Las Heras. 32 km. from Uspallata on new Ruta 7 along Río Mendoza towards Mendoza, 2 km. W (above) Guido, 08/01/1995, *Leuenberger 4443* (WU); Quebrada de la Mina Atala, 11/08/1937, *Ruiz Leal 4665* (CTES); 08/02/1937, *Ruiz Leal 4449* (LIL); 01/11/1938, *Ruiz Leal 5337* (LIL); Dpto. Luján de Cuyo. Entre Cacheuta y Potrerillos, 19/11/1939, *Ruiz Leal 6435* (LIL).

Tillandsia funebris A. Cast.

ARGENTINA. CATAMARCA. Dpto. Capital. Alrededores de la ciudad de Catamarca: camino a la gruta de la Virgen del Valle, 04/10/1973, *Hunziker 22332* (CORD); SALTA. Dpto. Anta. A 65 km. de Las Lajitas, camino a Rivadavia, 22/08/1974, *Saravia Toledo 10367 c* (LIL); Dpto. Cafayate. Abra El Sunchal, Ruta de Cafayate a Salta, 28/07/1990, *Palací 1180* (WU); Dpto. Metán. Cabra Corral, Peñas Azules, 24/10/1986, *Palaú 796* (WU); Dpto. San Carlos. Abra el Sunchal, 08/04/1986, *Palací 548* (MCNS); SAN JUAN. Dpto. Rivadavia. Banda Sur. Cañada Honda, 28/03/1986, *Palací 584* (MCNS); TUCUMÁN. Dpto. Trancas. Vipos, 06/09/1923, *Schreiter 1689* (BA, LIL, B, GH); 30/07/1922, *Schreiter 2362* (WU); BOLIVIA. CHUQUISACA. Dpto. Oropeza. Sucre, Puente Arce, Río Grande, /07/1979, *Hromadnik, H. 5032* (WU); POTOSÍ. Dpto. Linares. 3 km. al N de Oron'kota, 22/05/1995, *Kessler 4710* (WU).

Tillandsia gilliesii Baker subsp. *gilliesii*.

ARGENTINA. LA PAMPA. Dpto. Lihuel Calel. Sierra de Lihuel Calel, cerro "de la Sociedad", 16/10/1979, *de Azkue 130* (SI, BAB); LA RIOJA. Río Miranda, 26/02/1941, *Burkart 12282* (SI); Dpto. Capital. Ruta Provincial N° 7: Aledaños del barrial de Arauco, 03/10/1995, *Biurrun 4177* (CORD); Ruta 60 (km. 1150-1151), unos 11 km. antes del cruce con la ruta a Pomán (yendo hacia el oeste), 24/01/1975, *Hunziker 22712* (CORD); MENDOZA. Dpto. Las Heras. En los cerros vecinos a La Ripiera, 22/09/1939, *Ruiz Leal 6256* (LIL); Dpto. San

Rafael. Ruta Prov. 179, entre Pto. Agua del Capataz y Punta de Agua, 13/12/2004, *Prina 2694* (CTES); SALTA. Dpto. Cachi. Recta de Tin Tín, cerca del cruce a Tonco, 13/07/1987, *Palací 962* (MCNS); Dpto. Rosario de Lerma. Santa Rosa de Tastil, borde Ruta Nacional 51, km. 100, a 40 m. del cementerio, 27/12/1991, *Tolaba 305* (MCNS); SAN JUAN. Dpto. Valle Fértil. Alrededores del dique de Valle Fértil, 21/04/1995, *Biurrun 4119* (SI); San Agustín de Valle Fértil, 23/11/1986, *Haene 467* (SI); SAN LUIS. Dpto. Belgrano. Sierra de las Quijadas, Potrero de la Aguada, 8 km. al O de Hualtarán, 06/09/1990, *Haene 999* (SI).

Tillandsia gilliesii Baker subsp. *polysticha* W. Till & L. Hrom.

TIPO. *Hromadnik, H. 7113* (WU), ARGENTINA. JUJUY. Dpto. Humahuaca. Quebrada de Humahuaca, /08/1981.

ARGENTINA. CATAMARCA. Campo del Arenal, /03/1916, *Jørgensen 1772* (SI); Dpto. Andalgalá. Choya, 10 km. de Andalgalá, /08/1981, *Hromadnik, H. 7224* (WU); JUJUY. Dpto. Humahuaca. Purmamarca, 10/04/1986, *Palací 539* (MCNS); Dpto. Tilcara. Tilcara, //1981, *Hromadnik, H. 7097* (WU); 10/03/1935, *Schreiter 10049* (LIL, GH); LA RIOJA. Dpto. Chilecito. Chilecito, //1981, *Hromadnik, H. 7265* (WU); SALTA. Dpto. Cachi. Recta de Tintín, 05/04/1987, *Palací 924* (MCNS); Dpto. Cafayate. Valle de Lerma, Cuesta de Cafayate, Obelisk, 24/09/1988, *Till, H. 88* (WU); Dpto. Molinos. Tacuil, 02/03/1988, *Palací 1065* (MCNS); TUCUMÁN. Dpto. Tafí. Amaicha a Tiopunco, /12/1931, *Schreiter 7340* (LIL, GH).

Tillandsia hirta W. Till & L. Hrom.

TIPO. *Hromadnik, H. 5001* (WU), BOLIVIA. COCHABAMBA. Dpto. Punata. Punata near Cochabamba, /08/1979.

ARGENTINA. SALTA. Dpto. Cachi. Recta de Tintín, 05/04/1987, *Palací 923* (WU); BOLIVIA. COCHABAMBA. Dpto. Arani. Above of Arani, 14/03/1999, *Ehlers 991403* (WU); POTOSÍ. Felsen linter Otavi, 02/02/1995, *Hromadnik, L. 19013* (WU); Above of Río Vitichi, 02/02/1995, *Hromadnik, L. 19015 b* (WU).

Tillandsia kuehhasii W. Till.

BOLIVIA. Sucre, in via Sucre-Ravelo, prope montem "Cerro Chatajilla", 01/06/1995, *Ehlers 950601* (WU); Chuquisaca/Potosí, in via Sucre-Ravelo, prope montem "Cerro Chatajilla", //1986, *Kühhas s.n. WU 6472* (WU).

Tillandsia landbeckii Philippi subsp. *andina* W. Till var. *andina*.

TIPO. *Till, W. 169* (WU), PERÚ. AYACUCHO. Dpto. Lucanas. Tal des Rio San José, 8 km. westl. von Lucanas, 10/08/1982.

PERÚ. ANCASH. Dpto. Huaraz. An der Strabe von Huaraz nach Casma, S von Chuchujirca, 26/07/1982, *Vitek 19-4(2)* (WU); APURIMAC. Dpto. Aymaraes. An der Strabe Chalhuanca-Abancay, 20 km. NW von Chalhuanca, 12/08/1982, *Till, W. 176* (WU); CUZCO. Dpto. Calca. Pisac, /02/1949, *Marin 1334* (LIL); Dpto. Quispicanchi. Tal des Rio Vilcanota bei Huancarpay, 13 km. N von Andayhuaylillas, 17/08/1982, *Till, W. 200* (WU); LIMA. Dpto. Lima. Coastal desert between La Molina and Cieneguilla, /08/1978, *Hromadnik, H. 4249* (WU).

Tillandsia landbeckii Philippi subsp. *andina* W. Till var. *rigidior*.

TIPO. *Till, W. 200* (WU), PERÚ. CUZCO. Dpto. Quispicanchi. Tal des Rio Vilcanota bei Huancarpay, 13 km. N von Andayhuaylillas, 17/08/1982.

PARATIPO. *Ehlers s.n. WU 1966* (WU), PERÚ. LIMA. Dpto. Lima. Tal des Río Huaura, "Churin Tal", //1978.

Tillandsia landbeckii Phil. subsp. *landbeckii*.

CHILE. I REGIÓN DE TARAPACÁ. Alto Chipana (La Paiquina), 1º a 3º faldeo ladera SW, 31/01/1998, *Pinto s.n. SGO 143010* (SGO); Dpto. Iquique. Cerro Guanacos, 19/08/2001, *Pinto s.n. WU 10991* (WU); Cerros al SO, más o menos 20 km. al S de Alto Hospicio, 13/05/1995, *Teillier s.n. SGO 134650* (SGO); III REGIÓN DE ATACAMA. Dpto. Copiapó. Cumbre cuesta La Chicharra, a 25 km. de Copiapó, 23/09/1941, *Muñoz-Pizarro 2019* (SGO); Dpto. Huasco. Mpio. Vallenar, 31 km. SW of the Panamericana on the gravel road to Mina Algarrobo (= 2 km. below end of road at entrance to the mine), 07/12/1994, *Egglie 2589* (SGO, B, CONC, ZSS, WU); IV REGIÓN DE COQUIMBO. Ovalle, Las Cardas, 24/09/1950, *Jiles 1870* (LIL); Divide to immediate S of Las Cardas on La Serena. Ovalle road, steep hillside, 03/05/1985, *Wallace 347/85* (SGO); Dpto. Choapa. Illapel, *sin colector s.n. WU 1214* (WU); Dpto. Limarí. Ovalle, Las

Cardas, /08/1983, *Hromadnik, H. 11002* (WU); PERÚ. MOQUEGUA. Dpto. Mariscal Nieto. An der Panamericana (km. 1192) am SE-Rand des Höhenrückens "Cerro Chupallas" bei der Abzweigung nach Ilo, 22/08/1982, *Till, W. 224* (WU).

Tillandsia loliacea Mart. ex Schult. f.

ARGENTINA. CORRIENTES. Dpto. San Cosme. Paso de la Patria: Costa Toledo, 25/05/1945, *Meyer 8842* (LIL); FORMOSA. Guaycolec, /08/1919, *Jørgensen 3396 a* (SI); SALTA. Pque. Nac. El Rey. Selva de Mirtaceas, arroyo Los Nobles, 28/01/1981, *Chalukian 1810* (MCNS); Dpto. Anta. J.V. González, Campos del Norte Bañadero de San Francisco, 07/02/1987, *Palací 884* (MCNS); Salta Forestal, 12/08/1985, *Palací 258* (MCNS); A 65 km. de Las Lajitas, camino a Rivadavia, 22/08/1974, *Saravia Toledo 10369 c* (LIL); Dpto. Orán. 12/05/1942, *Hunziker 2021* (CORD); Ruta 34, km. 1290, 3 km. al S del arroyo de los Monos, 11/05/1989, *Novara 8892* (MCNS); Dpto. Rivadavia. Misión La Paz (sobre río Pilcomayo), 01/01/2003, *Scarpa 535* (SI); Dpto. Santa Victoria. Río Lipeo, Parque Nacional Baritú, 19/10/1980, *Zuloaga 1105* (SI); PARAGUAY. PARAGUARÍ. Cerro Santo Thomas, 02/04/1885, *Kurtz 163 a* (CORD); SAN PEDRO. Primavera, 21/07/1958, *Woolston 1007* (SI).

Tillandsia minutiflora Donadío.

TIPO: *Múlgura, M. E., C. Antuña & E. A. Ulibarri 704* (SI), ARGENTINA, SAN JUAN, Depto. Valle Fértil, San Agustín de Valle Fértil, ladera del cerro, frente camping ACA, 850 m s.m., sobre *Acacia*, 14/XII/1987.

ARGENTINA. BUENOS AIRES. Dpto. Tornquist. Sierra de la Ventana, *Hicken, s.n. SI 31944* (SI); CATAMARCA. Dpto. Ambato. Rodeo-Quebrada del Nogal Mercado, 15/02/1959, *Carenzo 896* (LIL); Dpto. Santa María. 8 km. from Santa María towards Tafí del Valle (Tucumán), 23/02/1994, *Leuenberger 4326* (CORD, B, ZSS); La Hoyada, 25/01/1908, *sin colector s.n. SI 31951* (SI); CHACO. Dpto. General Güemes. A 22 km. del cruce de la ruta Juana Azurduy en dirección N hacia Nueva Pompeya, 16/11/1990, *Fortunato 1368* (BAB, SI); CORDOBA. Cerro de Totoral, General Mitre, 26/02/1936, *Giardelli 285* (SI). *Kurtz 11990* (SI); Dpto. Calamuchita. Valle de los Reartes, *Castellanos 46* (SI); Dpto. Colón. Jesús María, eastern side of the Sierra Chica, 11 km. W of

Ascochinga along the street to La Cumbre, below Las Tres Cascadas, 04/02/1990, *Till, W. 5014* (SI); Dpto. Ischilín. Unos 10 km. al E de Villa Quilino, rumbo a San Pedro Norte, 10/11/1972, *Hunziker 22017* (CORD); Los Tártagos, 31/03/1944, *O'Donell 667* (LIL); Dpto. Punilla. Cerca de la orilla del Lago San Roque, 09/09/1945, *Hunziker 6079* (CORD); Sierra Chica (Falda O): Cavalango, 25/06/1950, *Hunziker 8410* (CORD); En quebrada vecina al Lago San Roque, 02/09/1945, *Hunziker 6065* (CORD, LIL); Dpto. San Alberto. Villa Cura Brochero, along the street from Mina Clavero to the Cumbre de Achala, 13 km. above Niña Paula towards Piedra La Tortuga, 4 km. before Pje. Río los Sauces, 16/02/1990, *Till, W. 5220* (SI); Dpto. San Javier, Yacanto, 1925, *Vattuone 1* (SI); LA RIOJA. Dpto. General Juan Facundo Quiroga. Malanzán, subiendo al cerro que se ubica al E del cerro "El Elefante", 12/01/2009, *Donadío 185* (SI); Dpto. San Blas de los Sauces. Quebrada de los Sauces, frente de la casa Ochoa-Huasi, /09/1931, *Hicken s.n. SI 31958* (SI); SALTA. Dpto. Anta. J.V. González. Campos del Norte, 07/02/1987, *Palací 882* (MCNS); Dpto. Cafayate. Cerro Amarillo, en granito al E de Cafayate, 02/06/1987, *Palací 954* (MCNS); Depto. Capital, Parque San Martín, 28/11/1985, *Palací 256* (MCNS); Dpto. Rivadavia. Rivadavia banda sur. Cañada Honda, 28/03/1986, *Palací 551* (MCNS); Misión La Paz (sobre Río Pilcomayo), 01/01/2003, *Scarpa 536* (SI); SAN JUAN. Dpto. Valle Fértil. Alrededores del dique del Valle Fértil, 21/04/1995, *Biurrun 4114* (SI); San Agustín de Valle Fértil, 23/11/1986, *Haene 468* (SI); 20/01/1989, *Haene 788* (SI); SANTIAGO DEL ESTERO. Dpto. Guasayán. De Santa Catalina a Guampacha, 14/04/1979, *Rotman 207* (SI); TUCUMAN. Dpto. Tafí del Valle. Rincón de Quilmes (Valle Calchaquies), 17/02/1996, *Isasmendi s.n. LIL 600299* (LIL); Dpto. Trancas. Vipos, 08/12/1921, *Schreiter 2029* (LIL); 03/12/1922, *Venturi 1978* (SI); BOLIVIA. CHUQUISACA. Entre Sucre y La Palma, /02/1979, *Ceballos 352* (SI); TARIJA. Cercado. Barrancas, 09/11/1977, *Coro 258/77* (LIL); PARAGUAY. ALTO PARAGUAY. Dpto. Mayor Pedro Lagerenza, Mayor Pedro Lagerenza, 10/04/1978, *Schinini 15008* (CTES, SI).

Tillandsia mollis H. Hromadnik & W. Till.

TIPO. *Hromadnik*, *H.* 9088 (WU, B, NY, W), BOLIVIA. TARIJA. Near the pass "Cumbre del Cóndor", between Tarija and Narvaez, ca. 25 km. W of Narvaez, 15/07/1982.

BOLIVIA. TARIJA. Cumbre del Cóndor, *Till*, *W.* 62 (WU).

Tillandsia myosura Griseb. ex Baker.

ARGENTINA. BUENOS AIRES. Delta, Paraná de las Palmas, isla Pflüger, 14/08/1949, *Burkart 17887* (SI); CATAMARCA. Dpto. Andalgalá. Near Villa Vil, 20/02/1993, *Till*, *W.* 10324 (LIL); CORDOBA. Sierra Chica, Agua de Oro, 03/02/1955, *Castellanos 3100* (LIL); Valle de Reartes, 08/02/1919, *Castellanos 105* (SI); Dpto. Capital. Alrededores de la Ciudad de CORDOBA: Hacia el E, camino a Santa Fe, frente a Chacra de la Merced, 29/04/1972, *Hunziker 21988* (CORD); Dpto. Colón. Sierra Chica (falda E): El Diquecito, Piedras Blancas, 09/10/1983, *Di Fulvio 750* (CORD); Dpto. Ischilín. Unos 10 km. al E de Villa Quilino, rumbo a San Pedro Norte, 10/11/1972, *Hunziker 22022* (CORD); Dpto. Punilla. Sierra Grande, faldeos orientales: Cuesta blanca, hacia el oeste, 10/07/1966, *Hunziker 18847* (CORD); LA RIOJA. Dpto. Famatina. Guanchín, 24/12/1928, *Venturi 8096* (SI); SALTA. Dpto. Caldera. Cuesta del Gallinato, 16 km. N de Salta, 20/03/1977, *Krapovickas 30301* (SI); Dpto. Guachipas. La Viña, Ruta 68, km. 103, 20/09/1985, *Palací 246* (MCNS); SAN JUAN. Dpto. Valle Fértil. Alrededores del dique de Valle Fértil, 21/04/1995, *Biurrun 4117* (SI); SAN LUIS. San Luis a cañada El Balde, 01/10/1968, *Burkart 27142* (SI); TUCUMÁN. Dpto. Trancas. Vipos, 22/10/1921, *Venturi 1371* (SI); Sierra de la Candelaria, 06/08/1924, *Venturi 3520* (SI); Tapia, 22/11/1920, *Venturi 1178* (SI); De Ruta Nac. 9 a Ticucho, 2 km. de Ruta 9, 30/10/2008, *Zuloaga 10472* (SI).

Tillandsia pedicellata (Mez) A. Cast.

ARGENTINA. BUENOS AIRES. Depto. Tornquist, El Coral, 20-III-1948, *Fabris 27* (SI). CATAMARCA. Depto. Ambato, Ruta Prov. 1, de Buena Vista a Singuil, 02-XI-2008, *Zuloaga, 10580* (SI); Depto. Andalgalá, Cuesta de la Chilca, 10-XI-2008, *Slanis 49 11-2008* (SI); Depto. Tinogasta, La Mesada 73,5 km N of Fiambalá on Ruta Provincial 43, 14-XII-1998, *Leuenberger 4695* (CORD, B, ZSS). CORDOBA. II/1925, *Lossen 189* (SI); Achala, Sierra Grande, 28-I-1920, *Castellanos s.n. SI 31959* (SI); Depto. Punilla, San Esteban, 09-I-1938, *Nicora*

1697 (SI); Depto. San Alberto, Villa Cura Brochero, along the street from Mina Clavero to the Cumbre de Achala, 13 km above Niña Paula towards Piedra La Tortuga, 4 km before Pje. Río Los Sauces, 16-II-1990, *Till 5217* (SI); Depto. San Javier, Yacanto, 1925, *Vattuone 1a* (SI). JUJUY. El Volcán, 10-VII-1922, *Castellanos s.n. SI 31955* (SI); Depto. Humahuaca, N de Humahuaca, 03-I-1992, *Kiesling 8129* (SI); Depto. Tilcara, Maimará, Ruta 9, 30-III-1993, *Deginani 320* (SI); Pucará, 10-IV-1986, *Palací 545* (MCNS); Tilcara, 20-IX-1985, *Palací 188* (MCNS); Tilcara, Cerros a 1 km al W de la Ruta N° 9, 28-XII-1989, *Novara 9226* (MCNS); Depto. Tumbaya, Quebrada de Humahuaca, Laguna de Volcán, 07-XI-1974, *Subils 2030* (CORD). LA PAMPA. Depto. Lihuel Calel, Sierra de Lihuel Calel, Cerro "de la Sociedad", ladera N, 16-X-1979, *de Azkue s.n. BAB 91263* (SI). LA RIOJA. Pelagio B. Luna, Sierra Velazco, rancho La Esperanza., 15-IV-1951, *Sparre 8689* (LIL); Depto. Capital, Estribación oriental de la Sierra de Velasco, La Lancha, camino a El Cantadero, 04-III-1944, *A. T. Hunziker 5031* (CORD); Depto. Coronel Felipe Varela, Cuesta de Miranda, Ruta Nac. 40, de Villa Unión a Chilecito, 09-I-2009, *Donadío 79* (SI); Río Miranda, 26-II-1941, *Burkart 12278* (SI); Ruta Nacional 40, de Guandacol a Chilecito, Cuesta de Miranda, 12-II-2011, *Zuloaga 12817* (SI); Depto. General Belgrano, Cumbre de la Sierra de Olta, 08-II-1940, *Castellanos 33503* (LIL); Depto. General Juan Facundo Quiroga, Northern foot of the Sierra de Porongo, ca. 4 km E of Malanzán, 13-II-1990, *Till 5181* (SI); Ruta Prov. 28, desde El Portezuelo hacia Malanzán, 12-I-2009, *Donadío 176* (SI). MENDOZA. *Carette s.n. SI 31946* (SI); Depto. Luján de Cuyo, Crucecita, XII-1906, *Carette s.n. SI 31947* (SI); Lunlunta, 24-II-1936, *Ruiz Leal 3820* (LIL); Potrerillos, XI-1912, *Sanzin 30* (SI); Depto. San Rafael, 31 km W de 25 de Mayo, 03-III-1989, *Leuenberger 3958* (SI, B). RÍO NEGRO. Dpto. San Antonio, Sierra Grande about 100 km S of San Antonio, 20-XII-1938, *Eyerdam 23534* (SI). SALTA. Depto. Cachi, Recta de Tintín, 05-IV-1987, *Palací 925* (MCNS); Depto. Cafayate, Cerro Amarillo, al E de Cafayate, 02-IV-1987, *Palací 955* (MCNS); Depto. Capital, Quebrada de San Lorenzo, 20-IX-1972, *Subils 1450* (CORD); Depto. La Poma, Ruta Nac. 40, El Cajón, *Zuloaga 11243* (SI); Depto. Los Andes, San Antonio de los Cobres, 18-II-1986, *Palací 387* (MCNS); Depto. Molinos, Tacuil, 02-IV-1988, *Palací 1112* (MCNS); Tacuil, 02-IV-1988, *Palací 1113* (MCNS); Depto. Rosario de Lerma, a 3 km de el Gólgota, rumbo a Chorrillos, Quebrada del Toro, 11-III-1984, *Toledo*

947 (MCNS); Santa Rosa de Tastil, Quebrada del Toro, km 97, 04-I-1990, *Palací 1129* (MCNS). SAN JUAN. Depto. Angaco, Sierra de Pie de Palo, subiendo por el camino al Mogote Los Corralitos, en la Quebrada del Molle, 28-XI-1980, *A. T. Hunziker 23694* (CORD); Depto. Jáchal, La Ciénaga. Ruta Provincial 491, de Rodeo hacia Huaco, 06-I-2009, *Donadío 52* (SI); Depto. Valle Fértil, alrededores del dique del Valle Fértil, 21-IV-1995, *Biurrun 4114 b* (SI); Astica, 14-XI-1986, *Haene 175* (SI); Cerro Morado, 28-V-1959, *Cuezzo 2966* (LIL); Laderas de cerros Sa. de Elizondo, 16-XII-1987, *Múlgura 801* (SI); Depto. Zonda, El Palque, O de Pachaco, 14-I-987, *Kiesling 6767* (SI). BOLIVIA. LA PAZ. Murillo, Hacienda Huajchilla, 18 km SE of La Paz (La Florida), along the Río La Paz, 07-IX-1986, *Solomon 15577* (SI, MO).

Tillandsia porongoensis L. Hrom. & P. Schneid.

TIPO. *Hromadnik, H. 7321 a* (WU), ARGENTINA. LA RIOJA. Dpto. General Juan Facundo Quiroga. Sierra de Porongo prope Malanzán, 07/08/1981.

Tillandsia rectangula Baker.

Localidad dudosa, *Kurtz 11989* (SI); ARGENTINA. CATAMARCA. Dpto. Santa María. 8 km. from Santa María towards Tafí del Valle (Tucumán), 23/02/1994, *Leuenberger 4325* (CORD, B, ZSS, WU); CORDOBA. //1919, *Castellanos 634* (SI); /02/1925, *Lossen 190* (SI); Salinas Grandes, km. 907, 21/11/1944, *Soriano 758* (SI); Dpto. Pocho. Sierra de Pocho: En la base de la falda oeste, Ruta 20 (km. 881-882), 21/01/1974, *Hunziker 22491* (CORD); Dpto. Tulumba. Ruta Nacional N° 9: Entre San José de la Dormida y Rayo Cortado, 10/02/1955, *Hunziker 10659* (CORD); Cerro Colorado, 02/11/1977, *Subils 2389* (CORD); LA RIOJA. Dpto. General Belgrano. Ruta Nac. 38, entre Chamental y Chañar, campo experimental Las Vizcacheras, 05/01/1981, *Biurrun 1702* (SI); Dpto. General San Martín. E Chepes, km. 7 de Ruta Nac. 141, NE Dv. Santa Cruz, 20/04/1986, *Leuenberger 3607* (SI, B); 20/04/1986, *Leuenberger 3602* (SI, B); SALTA. Entre San Tadeo y V. del Norte, 29/08/1957, *Cuezzo 668* (LIL); Dpto. Anta, J. V. González, Campos del Norte, Bañadero de San Francisco, 07/02/1987, *Palací 883* (MCNS); SAN LUIS. Dpto. Belgrano. Sierra de las Quijadas, Potrero de la Aguada, 8 km. al Oeste de Hualtarán, 06/09/1990,

Haene 996 (SI); 06/09/1990, *Haene 998* (SI); Dpto. Junín. Bajo de Velis, 23/01/1895, *Kurtz 8472* (SI).

Tillandsia recurvata (L.) L.

ARGENTINA. BUENOS AIRES. Las Palmas, 02/09/1952, *Boelcke 6353* (SI); Delta, Paraná de las Palmas, isla Pflüger, 14/08/1949, *Burkart 17888* (SI); Delta. Río Barca Grande, /01/1931, *Burkart 3727* (SI); Paraná Miní, 11/08/1956, *Burkart 20064* (SI); Arroyo Paycarabí, entre Paraná de las Palmas y Durazno, Delta, 16/04/1954, *Calderón 465* (SI). Delta Paraná, /02/1936, *Troncoso 186* (SI); Dpto. San Isidro. San Isidro, 22/03/1940, *Cabrera 9780* (SI); Dpto. Tigre. Pueblo, 20/09/1931, *Burkart 3864* (SI); Dpto. Zárate. Puerto Terminal Las Palmas; Paraná de las Palmas km. 123, 13/09/2003, *Hurrell 5193* (SI); CHACO. *Asp 28* (SI); *Meyer 3* (SI); CORRIENTES. Dpto. Curuzú Cuatiá. Ruta 126, Río Mocoetá, monte marginal, 21/10/1971, *Burkart 28541* (SI); Dpto. Ituzaingó, Ruta 12, aprox. 45 km. E de Ituzaingó, Prefectura, 13/12/1976, *Giberti 6* (SI); Dpto. Mburucuyá. Estancia Santa Teresa, 24/07/1976, *Krapovickas 29589* (SI); Dpto. Monte Caseros. Estancia La Polota, cerca de la estación Libertad, orillas del Timboi, 01/09/1957, *Nicora 5916* (SI); FORMOSA. /08/1919, *Jørgensen 3395* (SI); Dpto. Guaycolec, /08/1919, *Jørgensen 3396 b* (SI); JUJUY. Dpto. Dr. Manuel Belgrano. Camino al Cucho: río Los Blancos, 19/03/1979, *Cabrera 30213* (SI); Dpto. Santa Bárbara. De Palma Sola a El Fuerte, ca. 5 km. de El Fuerte, 22/02/1985, *Kiesling 5534* (SI); SALTA. Dpto. Anta. Parque Nacional El Rey: Arroyo El Arenal, 17/09/1984, *Ezcurra 461* (SI); Dpto. La Caldera. Estancia La Despensa, a 25 km. de La Caldera, 16/04/1942, *Hunziker 1591* (SI); TUCUMÁN. Dpto. Capital. El Duraznito, 06/01/1924, *Venturi 2797* (SI); BOLIVIA. TARIJA. Dpto. Chaco, 2 km. W de Saladillo (cabeceras del río Carapari), 08/04/1977, *Krapovickas 31049* (SI); ESTADOS UNIDOS. TEXAS. Hays Co., junction of Hwys. 12 and 226, NW side of San Marcos, 09/10/1993, *Nee 44051 a* (SI).

Tillandsia retorta Griseb. ex Baker.

ARGENTINA. CORDOBA. *Castellanos 45* (SI 32121); Dpto. Calamuchita. Sierra de Los Cóndores, entre Embalse de Río Tercero y Berrotarán, 01/11/1981, *Hunziker 24107* (CORD); Yacanto, *Vattuone 75* (SI 32194); Dpto.

Colón. Lomas entre la Estancia La Paz y Ascochinga, a \pm 3 km. de Ascochinga, 25/10/1981, *Subils 2966* (CORD); Dpto. Punilla. Sierra Chica (Falda O): Cavalango, al sudeste de Tanti, 25/06/1950, *Hunziker 8406* (CORD); Dpto. Río Seco. Ruta Prov. N° 10: Eufrasio Loza, próximo a las vías del ferrocarril, 20/10/1984, *Subils 3319* (CORD); LA RIOJA. Dpto. General Belgrano. Sierra de los Quiroga: La Huerta, 30/11/1984, *Subils 4346 a* (CORD); Dpto. General Juan Facundo Quiroga. Northern foot of the Sierra de Porongo, c. 1 km. W of Loma Larga, 13/02/1990, *Till, W. 5187* (SI); Dpto. General Ortiz de Ocampo. Sierra de Abajo, paraje llamado "Río Grande", entre El Quemado y las cortaderas, 09/05/1995, *Biurrun 4128* (SI); SAN JUAN. Dpto. Valle Fértil. Sierra de Chávez, (40 km. al SO de la ciudad de V.Fértil) entre parajes "Puesto de la Cumbre" y "La Rinconada", sobre la quebrada que conduce al último, 30/06/1989, *Biurrun 2882* (SI); SAN LUIS. Dpto. Chacabuco. 7 km. al S de Tilisarao, 12/12/1987, *Múlgura 649* (SI); Dpto. Junín. Pie de la Sierra de Comechingones, al E de Carpintería, 18/12/2000, *Leuenberger 4765* (SI, B); TUCUMAN. Dpto. Trancas. Tapia, 12/10/1920, *Venturi 1029* (SI); Camino Nacional frente a Vipos, 20/08/1923, *Venturi 2492* (SI); Tapia, 22/11/1920, *Venturi 1178 a* (SI); Sierra de la Candelaria, 26/09/1924, *Venturi 3522* (SI).

Tillandsia spiralipetala E. Gouda.

BOLIVIA. CHUQUISACA. Dpto. Hernando Siles. 48 km. de Monteagudo a Padilla, 28/06/1995, *Kessler 4886* (WU); LA PAZ. Dpto. Bautista Saavedra. De Camata 3 km. hacia Charazani, 27/06/1997, *Kessler 10374* (WU); PERÚ. AMAZONAS. Tal des Río Utcubamba, /07/1976, *Hromadnik, H. 2141* (WU); JUNIN. Dpto. Tarma. San Ramón, /07/1976, *Hromadnik, H. 2046* (WU).

Tillandsia tenebra L. Hrom. & W. Till.

TIPO. *Hromadnik, H. 7275* (WU), ARGENTINA. LA RIOJA. Dpto. Chilecito. Ad pedem montium Sierras Pampeanas prope Chilecito, 28/07/1981.

ARGENTINA. CATAMARCA. Dpto. Belén. 6 km. from Belén on Ruta 40 towards Hualfin into the Quebrada de Belén, 21/02/1994, *Leuenberger 4304* (CORD, B, ZSS, WU); LA RIOJA. Sierra de Malanzán, Loma Larga, *Neuhuber 1-1117/4152* (WU); Dpto. Chilecito. Near Chilecito, 01/08/1981, *Hromadnik, H.*

7274 (WU); Dpto. Coronel Felipe Varela. East of Villa Unión, 31/07/1981, *Hromadnik, H. 7261* (WU).

Tillandsia tricholepis Baker

ARGENTINA. CATAMARCA. Dpto. Ancasti, Alrededores del dique de Ipizca, 17-XI-1984, *Subils 3682* (CORD); Dpto. Paclín, El Saltón, en el Arroyito de los Ovejeros, frente al Lago Sumampa (sobre el camino entre Ruta 67 y La Viña), 20-IX-1970, *A. T. Hunziker 20665* (CORD); 11 km from La Merced on road over the Cuesta del Totoral towards La Viña, on the La Viña side of pass, 24-II-1994, *Leuenberger 4341* (CORD). CHACO. *Meyer 2* (SI); Dpto. San Fernando, Isla Soto, 18-XII-1974, *Burkart 30778* (SI). CORDOBA. CORDOBA, 1919, *Castellanos 670* (SI); Dpto. Colón, Jesús María, en muros de la Iglesia Colonial, 21-VII-1942, *Burkart 12916* (SI); Jesús María, muro de la Iglesia San Isidro, II-1936, *Giardelli 284* (SI); La Calera, El Diquecito, 12-X-1960, *Ariza Espinar 981* (CORD);, Dpto. Río Primero, Laguna de los Ludueña, entre Río Primero y Santa Rosa, 20-IV-1985, *Subils 3806* (CORD); Dpto. Río Seco, Ruta Provincial 10, Sebastián Elcano, 20-X-1984, *Subils 3313* (CORD). CORRIENTES. Dpto. Capital, Corrientes, 11-XI-1934, *Burkart 6897* (SI), Dpto. Mburucuyá, Lomas de Vallejo, 06-X-1954, *Burkart 19312* (SI). FORMOSA. Formosa, XII-1918, *Jørgensen 2800* (SI). JUJUY. Dpto. Dr. Manuel Belgrano, Abra de Las Lajitas, 14-II-1995, *Deginani 811* (SI); Camino al Cucho, Río Los Blancos, 19-III-1979, *Cabrera 30212* (SI); Dpto. Ledesma, Camino de Fraile pintado a El Aibal, 12-XI-1992, *Kiesling 8178* (SI); Ledesma, 23-II-1940, *Burkart 11431* (SI); "Picada al Arroyo Negrito" Puesto, Parque Nacional Calilegua, 19-VIII-1985, *Iudica 36* (SI); Dpto. San Pedro, Moralito, 12-VII-1922, *Castellanos s.n. SI 32228* (SI); Ruta Prov. 56, 2 km de la Villa Turística de Palpalá camino a La Mendieta, 13-XII-1998, *Morrone 3318* (SI); Dpto. Santa Bárbara, Alrededores de Finca La Campana, 12-XII-1998, *Ahumada 8953* (SI); De Santa Clara a Abra de los Morteros, 21-XI-1980, *Cabrera 32194* (SI). MISIONES. Dpto. General Manuel Belgrano, Deseado, Chacra de Carlos Macoviak, antigua Ruta 19, ca. 2000 m de la Ruta 101, 16-XII-1997, *Múlgura de Romero 1917* (SI). SALTA. Mojotoro, 17-XI-1942, *Burkart 13012* (SI); Parque Nacional El Rey, 10-VII-1979, *Chalukian 871* (MCNS); Selva basal, 10-VI-1981, *Chalukian 1405* (MCNS); Embalse, 25-I-1979, *Rumiz*

489 b (MCNS); Depto. Anta, Coronel Olleros, 21-IX-1957, *Meyer 21177* (LIL); Ruta provincial nº 20: Parque Nacional El Rey, proximidades de Finca del Rey, 25-IX-1972, *Subils 1459* (CORD); Dpto. Capital. Ciudad de Salta, 18-V-2003, *Novara 11964* (MCNS); Depto. Guachipas, Alemania, camino a Cafayate, km 80, 07-I-1990, *Palací 1138* (MCNS); Depto. La Viña, Dique Puerta de Díaz, 5 km al oeste de Coronel Moldes, 04-XII-1983, *Novara 4149* (CORD); Depto. Orán, Orán viejo, 16-I-1957, *Burkart 20310* (SI); Pichanal, 14-XI-1913, *Rodriguez 1119* (SI); Ruta Prov. 132, 29 km de la Ruta Nac. 50 camino a Santa María, pasando 6 km la Finca Totó, 16-XII-1998, *Morrone 3435* (SI); Ruta 34, km 1290, 3 km. al S del arroyo de los Monos, 11-V-1989, *Novara 8893* (MCNS); Urundel, 13-II-1944, *Soriano 718* (SI); Depto. Rivadavia, Rivadavia banda sur, Cañada Honda, 28-III-1986, *Palací 550* (MCNS); Depto. Rosario de la Frontera, La Hollada, 06-XI-1985, *Palací 201* (MCNS); Termas VI-1931, *Hicken s.n. SI 32243* (SI). SAN JUAN. Depto. Capital, Capital, III-1931, *Correa s.n. SI 32240* (SI). SANTA FE. Depto. Castellanos, Colonia Margarita, I-1905, *Wolfhügel s.n. SI 32230* (SI). SANTIAGO DEL ESTERO. Depto. Choya, Sierra de Guasayán, Quebrada de Moquijata, 12-X-1989, *Ulibarri 1690* (SI); Depto. Guasayán, De Santa Catalina a Guampacha, 14-IV-1979, *Rotman, 207 a* (SI); Sierra de Guasayán, Quebrada de Conzo, 21-III-1989, *Ulibarri 1648* (SI); TUCUMAN. Depto. Capital, El Duraznito, 06-I-1924, *Venturi 2799* (SI); Depto. Leales, Chañar Pozo, XII-1919, *Venturi 738* (SI); Depto. Lules, 15-VII-1911, *Lizer 20* (SI); Depto. Trancas, De Ruta Nac. 9 a Ticucho, 2 km de Ruta 9, 30-X-2008, *Zuloaga 10475* (SI). BOLIVIA. SANTA CRUZ. Florida, easternmost rocky foothills of the Andes, above narrowest point at La Angostura on highway from Santa Cruz to Samaipata, 9-I-1998, *Nee 47868-a* (SI); Vallegrande, Vallegrande, Estrada Mataral-Vallegrande, 6 km S de Mataral, 10-XII-2002, *Forzza 2319* (SI, RB, CTES, LPB, MBM); TARIJA. Gran Chaco, 30 km N de Yacuiba, Campo de la Tapia, cerca de Caiza, 2 km E de la ruta a Villa Montes, 7-IV-1977, *Krapovickas 30975* (SI). BRASIL. *s.c. s.n. SI 32224* (SI); MATTO GROSSO, Corumbá, 18-III-1906, *Etchichury 52* (SI).

Tillandsia usneoides (L.) L.

ARGENTINA. BUENOS AIRES. Delta del Paraná: Puerto de las Palmas y Carabelas, /03/1941, *Repetto s.n. SI 63051* (SI); CORDOBA. Pampa de

Achala, 02/04/1944, *Rentzell 15190* (SI); JUJUY. Dpto. Valle Grande. Camino a Alto Calilegua, 03/01/1978, *Kiesling 1533* (SI); SALTA. Dpto. Santa Victoria. Margen derecha del Río Lipeo, camino a Campo Grande, 30/09/1998, *Ahumada 8322* (SI); TUCUMÁN. *Lorentz s.n. SI 32248* (SI); Dpto. Tafí. Quebrada de Lules, /05/1920, *Venturi 858* (SI); Dpto. Tafí del Valle. El Churqui, /12/1914, *Castillón 3712* (LIL); /12/1914, *Castillón s.n. LIL 36864* (LIL); BRASIL. RIO GRANDE DO SUL. Dpto. São Francisco de Paula. Brasília, Tainhas, 08/01/1951, *Rambo 9727* (SI, PACA); CHILE. V REGIÓN DE VALPARAÍSO. Dpto. Petorca. Zapallar, Higuera, 25/03/1917, *Behn s.n. SI 32271* (SI); COLOMBIA. BOYACA. Chuquinquirá, /07/1909, *Apollinaire 68* (SI); ESTADOS UNIDOS. ARKANSAS. Portland, Ashley County, 16/10/1937, *Palmer 44272* (SI); FLORIDA. Near Jacksonville, *Curtiss 2850* (SI); Duval Co., 24/05/1902, *Fredholm 5231* (SI); Altamonte Springs, 18/03/1959, *Schaller 1818* (SI); TEXAS. Hays Co., junction of Hwys. 12 and 226, NW side of San Marcos, 09/10/1993, *Nee 44051* (SI); MEXICO. VERACRUZ. Mun. Ozuluama, along hwy. Mex. 180, 5 km. (by air) NE of Ozuluama, 18/08/1986, *Nee 32763* (SI, NY).

Vriesea friburgensis Mez var. *tucumanensis* (Mez) L.B. Sm.

ARGENTINA. MISIONES. Dpto. Guaraní. Orillas del Arroyo Yabotí, ca. puente, ruta proyectada 102, 08/05/1999, *Deginani 1200* (SI); Dpto. Iguazú. Parque Nacional Iguazú, sector Cataratas, pasarela superior, 08/04/2008, *Múlgura 4425* (SI), Dpto. San Pedro. Cruzando 2 km. el puente sobre el Arroyo Yabotí hacia los obrajes, ruta proyectada 102, 10/05/1999, *Deginani 1233* (SI); SALTA. Dpto. Orán. Ruta Prov. 18, 55 km. del desvío de la Ruta Nac. 50 camino a San Andrés, Sierra Baja de Orán, Río Maroma, 15/12/1998, *Morrone 3419* (SI); Cortaderia, a 15 km. del desvío de la Ruta Prov. 18 camino a Isla de Cañas, 22/11/2001, *Morrone 3949* (SI); Finca San Andrés, Casavindo, Río San Andrés, 29/10/1997, *Schinini 32959* (CTES); Dpto. Santa Victoria. Camino de Los Toldos a Lipeo, desvío hacia aguas termales, 29/09/1998, *Ahumada 8225* (SI); Margen derecha del Río Lipeo, camino a Campo Grande, 30/09/1998, *Ahumada 8295* (SI); TUCUMÁN. Dpto. Monteros. Quebrada de Los Sosa, camino a Tafí del Valle, Ruta Provincial 307, 02/02/2005, *Zuloaga 8427* (SI);

Dpto. Yerba Buena. Horco Molle, Ciudad Universitaria, Parque Sierra de San Javier, 27/02/2008, *Pensiero 7590* (SF, SI).