



ANÁLISIS TAXONÓMICO MOLECULAR DE INDIVIDUOS DEL GÉNERO *LATHYRUS* HALLADOS EN EL EXTREMO NORTE DE CHILE, MEDIANTE DNA BARCODING

MOLECULAR TAXONOMIC ANALYSIS OF INDIVIDUALS OF THE GENUS *LATHYRUS* FOUND IN THE NORTHERN EXTREME OF CHILE, USING DNA BARCODING

Mariana Arias Aburto¹, Delia Ramírez Medina¹ y Roberto Contreras Díaz^{1,2*} 

1. Centro Regional de Investigación y Desarrollo Sustentable de Atacama (CRIDESAT), Universidad de Atacama, Copayapu 485, Copiapó, Chile.

2. Departamento de Educación, Facultad de Humanidades y Educación, Universidad de Atacama, Copayapu 485, Copiapó, Chile.

*roberto.contreras@uda.cl

Citar este artículo

ARIAS ABURTO, M., D. RAMÍREZ MEDINA y R. CONTRERAS DÍAZ. 2020. Análisis taxonómico molecular de individuos del género *Lathyrus* hallados en el extremo norte de Chile, mediante DNA barcoding. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 55: 479-492.

DOI: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v55.n3.28030>

Recibido: 28 Marzo 2020
Aceptado: 1 Septiembre 2020
Publicado: 30 Septiembre 2020
Editora: Viviana Solís Neffa 

ISSN versión impresa 0373-580X
ISSN versión on-line 1851-2372

SUMMARY

Background and aims: The present investigation corresponds to a molecular taxonomic analysis of floral samples of plants naturally established in a remote area of the Atacama Desert, Arica-Parinacota Region, Chile. In the first instance, the samples were morphologically attributed to the genus *Lathyrus*, however, according to current literature, no individuals of this genus have been registered in the region, given this, confusion has been generated in the identification of the collected samples. Therefore, the present research aims to genetically identify the presumably *Lathyrus* species, using DNA Barcoding.

M&M: In the present study we evaluated these individuals by a phylogenetic analysis to determine their taxonomic identity from ITS (nuclear) sequence and *psbA*, *matK* and *rpoC1* (plastidic) sequences.

Results: The results demonstrated that the individuals are related to the species *Lathyrus odoratus*.

Conclusions: The four DNA barcoding loci allowed the samples to be genetically identified as *L. odoratus*, which is found growing naturally in Chile.

KEY WORDS

DNA barcoding, ITS, *Lathyrus odoratus*, *matK*, *psbA-trnH*, *rpoC1*.

RESUMEN

Introducción y objetivos: La presente investigación corresponde a un análisis taxonómico molecular de muestras florales obtenidas de plantas establecidas naturalmente en una zona recóndita del Desierto de Atacama, Región de Arica-Parinacota, Chile. En primera instancia, las muestras morfológicamente se atribuyeron al género *Lathyrus*, sin embargo, conforme a la literatura actual, no se han registrado individuos de este género en la región, dado esto, se ha generado confusión en la identificación de las muestras colectadas. Por lo cual, la presente investigación tiene por objetivo identificar genéticamente las especies presuntamente de *Lathyrus*, mediante DNA Barcoding.

M&M: En el presente estudio se evaluaron estos individuos mediante un análisis filogenético para determinar su identidad taxonómica a partir de secuencias ITS (nuclear) y secuencias *psbA*, *matK* y *rpoC1* (plastídicas).

Resultados: Los resultados demostraron que los individuos están relacionados a la especie *Lathyrus odoratus*.

Conclusiones: Los cuatro loci de DNA barcoding, permitieron identificar genéticamente las muestras como *L. odoratus*, el cual se encuentra creciendo de manera natural en Chile.

PALABRAS CLAVE

DNA barcoding, ITS, *Lathyrus odoratus*, *matK*, *psbA-trnH*, *rpoC1*.

INTRODUCCIÓN

El desierto de Atacama se encuentra en la región Norte Grande de Chile y es considerado el desierto más antiguo y continuamente más seco de la Tierra, siendo árido desde el período Jurásico e hiperárido desde el Mioceno (Hartley *et al.*, 2005). La mayoría de los grupos

de plantas que se encuentran en el desierto de Atacama están representados por pocas especies, y solo unos pocos géneros son diversos (Heibl & Renner, 2012). La Región de Arica-Parinacota se encuentra dentro del Norte Grande de Chile, y posee una gran diversidad de flora vascular concentrada en mayor grado en la provincia de Parinacota (Luebert & Gajardo, 2005; Faúndez *et al.*, 2014). De acuerdo a Gatica-Castro *et al.* (2015), la flora de la Región de Arica-Parinacota está integrada por 596 especies, de ellas 98 son endémicas de Chile y 10 son endémicas de la región. En un recorrido realizado por esta región, específicamente en la Quebrada de Vitor, descubrimos algunos individuos de plantas florales (de color púrpura y crema) que de acuerdo a sus características morfológicas podrían pertenecer al género *Lathyrus* L. Sin embargo, hacia el norte de Chile, desde la Región de Arica-Parinacota hasta la Región de Tarapacá no se han registrado especies de este género (Rodríguez *et al.*, 2018).

El género *Lathyrus* es miembro de la tribu Vicieae (Familia Fabaceae) que comprende aproximadamente 160 especies (Simola, 1968; Kupicha, 1983; Skiba *et al.*, 2007). Principalmente se encuentran distribuidas en los climas templados del hemisferio norte, siendo el principal centro de diversidad del género la región Mediterránea Oriental; mientras que el oeste de los Estados Unidos y la región sur de Argentina y Chile, representan centros de diversidad secundarios (Burkart, 1935, 1942; Senn, 1938; Kenicer, 2008). Todas las especies de *Lathyrus* son herbáceas, con alrededor de 40 especies anuales y 120 perennes (Kenicer, 2008).

Desde un punto de vista morfológico, el género *Lathyrus* se caracteriza por presentar tallos angulosos, hojas pinnadas con un zarcillo terminal, flores solitarias que varían en color de azul, rojo y blanco, así como vainas que contienen de tres a cinco semillas (Skiba *et al.*, 2007). Todas las especies de *Lathyrus* de Sudamérica poseen hojas con un par de folíolos, excepto *L. macropus* Gill y *L. multiceps* Clos, en cambio las especies de *Lathyrus* de Norteamérica poseen hojas con dos o más pares de folíolos, excepto *L. pusillus* Ell. (Burkart, 1942). Los datos de ADN sugieren que las especies sudamericanas están más estrechamente relacionadas con las especies

del oeste de Eurasia (Kenicer, 2008). La mayoría de las especies del género *Lathyrus* son diploides ($2n=14$) (Naravan & Durrant 1983; Yamamoto *et al.*, 1984; Chalup & Seijo, 2007).

En Chile, se ha registrado el género *Lathyrus* creciendo de manera natural desde la Región de Antofagasta hasta la Región de Magallanes, habiendo específicamente tres especies endémicas: *L. berteroanus* Colla ex Savi, *L. lomanus* I.M. Johnst., *L. subandinus* Phil.; trece especies nativas: *L. cabrerianus* Burkart, *L. campestris* Phil., *L. crassipes* Gillies ex Hook. & Arn., *L. hookeri* G. Don, *L. macropus* Gillies ex Hook. & Arn., *L. magellanicus* Lam. var. *glaucescens* Speg., *L. magellanicus* Lam. var. *longipes* (Phil.) Burkart, *L. magellanicus* Lam. var. *magellanicus*, *L. magellanicus* Lam. var. *tucumanensis* Burkart, *L. multiceps* Clos, *L. nervosus* Lam., *L. pubescens* Hook. & Arn., *L. pusillus* Elliott; y cuatro especies exóticas asilvestradas y naturalizadas: *L. cicera* L., *L. japonicus* Willd., *L. sativus* L. y *L. hirsutus* L. (Burkart, 1942; Calvo & Moreira-Muñoz, 2018; PNUD, 2017; Rodríguez *et al.*, 2018). Adicionalmente, se han ingresado semillas de *L. odoratus* L. a Chile, como parte de solicitud de importación comercial para su venta con fines ornamentales (SAG, 2020).

La diferenciación de las especies del género *Lathyrus* es dificultosa debido a su homoplasia morfológica, como la forma de la estipula, el número de folíolos y la presencia de zarcillos, siendo dicha homoplasia el principal desafío en su clasificación (Kupicha, 1983; Kenicer *et al.*, 2005). Esta preponderancia de caracteres compartidos ha llevado a la realización de estudios filogenéticos moleculares en *Lathyrus*, en los cuales se ha dividido a este género en 12 o 13 secciones (Czefranová, 1971; Kupicha, 1983; Asmussen & Liston, 1998; Kenicer *et al.*, 2005).

El “DNA Barcoding” (código de barras de ADN) es una técnica de diagnóstico para la identificación de especies, que utiliza una región de ADN corta y estandarizada (Lahaye *et al.*, 2008; Contreras *et al.*, 2020a). El código de barras del ADN en plantas implica la secuenciación de segmentos cortos del genoma de cloroplastos o nuclear para comparar los resultados con secuencias de referencia ortólogas disponibles en bases de datos públicas como BOLD (www.

boldsystem.org) y GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank) (Barcaccia *et al.*, 2016). Para la identificación de plantas, no ha habido consenso respecto del uso de una sola secuencia estandarizada, sin embargo, el Consorcio para el Código de Barras de la Vida CBOL (CBOL, 2009), ha propuesto varias combinaciones de loci de ADN plastidial, cuatro genes codificadores (*matK*, *rbcL*, *rpoB* y *rpoC1*) y espaciadores no codificantes (*atpF-atpH*, *trnH-psbA*, y *psbK-psbI*), siendo *rbcL* y *matK*, propuestos como un “código de barras central” para plantas (Hollingsworth *et al.*, 2011; Contreras *et al.*, 2020b). La región nuclear “internal transcribed spacer (ITS)” ha sido utilizada de manera eficiente para la clasificación seccional a nivel del género *Lathyrus* y para reconstruir filogenias (Kenicer *et al.*, 2005). Así también, regiones *rpoC* (*rpoC1*, intrón, *rpoC2* y espaciador intergénico) e *IR2* (*psbA*, *trnH-GUG*, parte de *ndhF* y espaciadores intergénicos) fueron analizadas en 42 especies de *Lathyrus*, confirmando la clasificación de 6 a 8 secciones (Asmussen & Liston, 1998), mientras que el gen *matK* se ha utilizado para la filogenia de especies de *Lathyrus* de Irán y de

otras regiones de Asia (Oskoueiyan *et al.*, 2014). Estos marcadores han logrado ser eficaces en la discriminación de especies de *Lathyrus*, por lo tanto, utilizaremos datos de secuencias de ITS, *rpoC1*, *psbA-trnH* y *matK* para clasificar algunos individuos colectados en la Región de Arica-Parinacota. La presente investigación tiene por objetivo identificar genéticamente individuos presuntamente de *Lathyrus* hallados en la Quebrada Vitor de la Región de Arica-Parinacota, mediante DNA Barcoding, con el fin de identificar especies no registradas a nivel regional y, además, explorar un método eficiente para un género donde la homoplasia de los caracteres morfológicos es alta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se colectaron muestras de plantas en la Quebrada de Vitor (también llamada Quebrada de Chaca, donde fluye de manera intermitente el río Codpa), ubicada en la Región de Arica y Parinacota, Chile, denominadas *Lathyrus* 829 (flor color

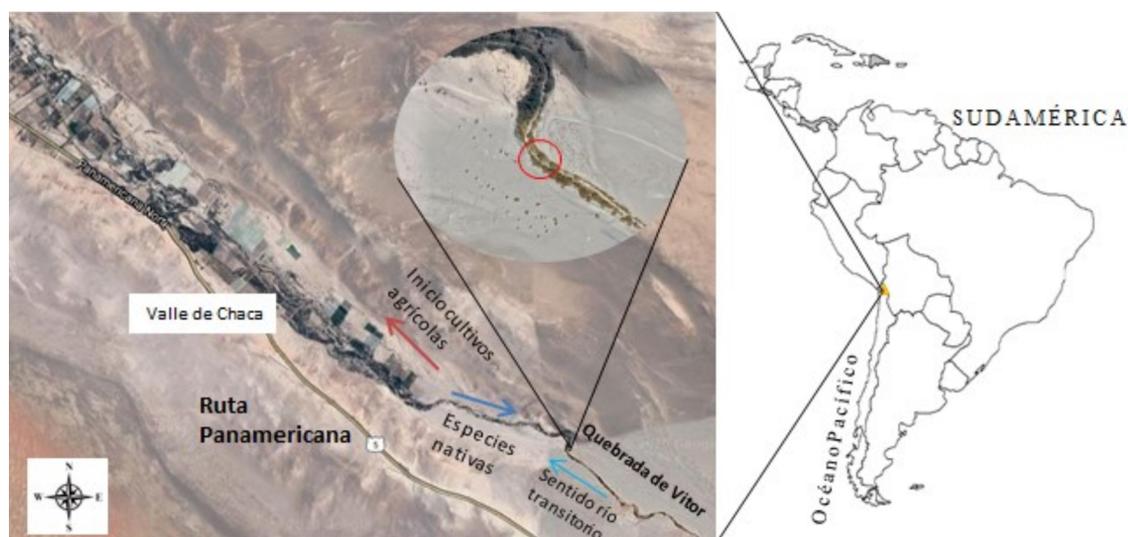


Fig. 1. Localización geográfica donde se colectaron las muestras *Lathyrus* 829 y 830. La flecha de color rojo indica la dirección y el sentido donde comienzan los cultivos agrícolas en la Quebrada de Vitor y la flecha de color azul indica la dirección y el sentido donde se posicionan las especies nativas en la misma quebrada (sin intervención humana). El círculo rojo señala la localización exacta donde fueron colectadas las muestras.

crema/fucsia) (18°50'23,22"S 70° 6'34,53"W, altitud 422 msnm) y *Lathyrus* 830 (flor color púrpura) (18°50'23,37"S 70° 6'34,64"W, altitud 422 msnm) (Fig. 1). En la Figura 1 se pueden observar la ubicación de los cultivos agrícolas y las especies nativas presentes en la Quebrada de Vitor. Las muestras colectadas se observaron creciendo naturalmente en la Quebrada de Vitor, asociada a las especies *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud., *Atriplex* sp. y *Tessaria absinthioides* (Hook. & Arn.) DC., entre otras (Fig. 2). Se hizo una revisión descriptiva de las muestras (*Lathyrus* 829 y 830) de acuerdo a las claves definidas por Luchetti (2008). Las muestras fueron depositadas en el Herbario del Departamento de Silvicultura y Conservación de la Naturaleza de la Universidad de Chile (EIF, Index Herbariorum Code), con el código EIF13778 (*Lathyrus* 829) y EIF13779 (*Lathyrus* 830).

Extracción de ADN y secuenciación de marcadores barcode

La extracción de ADN se realizó con el método CTAB/fenol-cloroformo-alcohol isoamílico/columna de sílice, descrito por Contreras *et al.* (2019). La amplificación del marcador nuclear ITS y marcadores plastídicos *rpoCl*, *psbA* y *matK* se realizaron en una reacción de PCR con las siguientes parejas de cebadores: *rpoCl* (1F 5'-GTGGATACACTTCTTGATAATGG-3'; 4R 5'-CCATAAGCATATCTTGAGTTGG-3') (Kress *et al.*, 2005); ITS1-ITS2 (P674 5'-CCTTATCATTTAGAGGAAGGAG-3'; ITS-4 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Stanford *et al.*, 2000; Kress *et al.*, 2005); *matK* (2.1f 5'-CCTATCCATCTGGAAATCTTAG-3'; 1326R 5'-TCTAGCACACGAAAGTCGAAGT-3') (Cuénoud *et al.*, 2002; Dong *et al.*, 2013); y *psbA-trnH* (*trnHf05* 5'-GTTATGCATGAACGTAATGCTC-3'; *psbA3f*



Fig. 2. A: Flor de *Lathyrus* 829 color blanco-fucsia y flor de *Lathyrus* 830 de color púrpura. B: *Lathyrus* 830; C: *Lathyrus* 829.

5'-CGCGCATGGTGGATTCAATCC-3') (CBOL, 2009). Las reacciones de PCR con cada pareja de cebador se preparó a un volumen total de 24 µL como se describe a continuación: 12 µL de Master Mix SapphireAmp Fast PCR 2X (Takara-Clontech, Kusatsu, Japón), 1,5 µL de cada cebador forward y reverse (5 µM), 3 µL de agua libre de nucleasas y 6 µL de ADN genómico (5 ng µL⁻¹). Las amplificaciones se realizaron en un termociclador MultiGene OptiMax (Labnet International, Edison, USA) con las siguientes condiciones: un paso inicial de 10 min a 95 °C, 35 ciclos de amplificación con 40 s a 95 °C, 40 s de temperatura de anillamiento según marcador (*matK* 55°C, ITS 56°C, *rpoCl* 53°C y *psbA-trnH* 58°C) y 40 s a 72 °C, seguido por un paso de extensión final de 7 min a 72 °C. Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa a 1,5%, en tampón TBE 0,5 X y teñido con GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain a 0,1 % (Biotium, California, USA). Luego se purificó el producto de PCR con el kit de purificación Kit Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, Wisconsin, USA) y finalmente se envió a secuenciar a la empresa Macrogen Inc. (Corea del Sur).

Análisis de datos

Se editaron las secuencias de ADN "Forward" y "Reverse" con el software Chromas Pro v1 (Technelysium Pty, Ltd) y se ensamblaron utilizando el programa DNA Baser Sequence Assembler (v4.10) donde se aplicaron ajustes y análisis automáticos predeterminados para la edición de "contig" (Biosoft, 2012). Para realizar los análisis se descargaron varias secuencias de especies del género *Lathyrus* que mostraron máximo puntaje de alineación con nuestro segmento consultado en "GenBank" (BLASTn), siendo en total 10 secuencias para el marcador ITS (JN115031, MN736435, DQ311968, AY839344, DQ311967, AY839383, AY839359, AY839405, AM401152, JQ309787), 13 secuencias *rpoCl* (KJ850238, KJ850235, KJ806193, KJ806196, KJ806195, KJ806199, KJ850236, KJ806202, KP126867, KJ806192, KJ806200, KJ806201, KJ850237), 7 secuencias *psbA-trnH* (KJ850237, JX505926, HE966680, JX505951, JX505952, KJ806192, KJ806193), 9 secuencias *matK* (KJ850237, JX505798, JX505815, AF522085,

KX676551, KM487289, KJ806201, KJ850238, KJ850236) y otras secuencias de *Lathyrus* (KJ806236, KJ806198) (Tabla S1). Para cada marcador se usaron dos secuencias de ADN del género *Vicia* L., como grupo externo, siendo estas *Vicia cracca* L. (JQ309787, JX505993), *Vicia sativa var angustifolia* (L.) ex Reichard (KJ787206), *Vicia pisiformis* L. (JX506029), *Vicia nigricans* Hook. & Arn. (AF522155), *Vicia crocea* (Desf.) B. Fedtsch (HM026406), *Vicia sepium* L. (MG682352) y *Vicia ramuliflora* L. (MN758738). Las secuencias de las muestras y las secuencias descargadas se alinearon usando el software MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013), para cada uno de los marcadores "barcode" usados.

Para evaluar la filogenia se utilizó el método de agrupamiento Neighbor Joining (NJ) e Inferencia Bayesiana (IB). El análisis NJ y las distancias genéticas por pares de especies fueron inferidos basados en el modelo Tamura-Nei (Tamura & Nei, 1993) utilizando el software MEGA6 (Tamura *et al.*, 2013) y para la confiabilidad del soporte de los análisis se utilizaron 1000 réplicas de bootstrap (BS). El análisis de IB se llevó a cabo con MrBayes 3.2 (Ronquist *et al.*, 2012). Se utilizó el programa MrModeltest 2.3 (Nylander, 2008) para explorar el mejor modelo de evolución que se ajusta a los datos de las secuencias de ADN, basado en "corrected Akaike Information Criterion (AICc)". Una prueba de razón de probabilidad jerárquica implementada con el programa MrModeltest y AICc sugirió que el modelo de evolución que mejor se ajusta es SYM+G para datos ITS, GTR+G para datos *matK*, GTR+I para datos *psbA-trnH*, GTR+I+G para datos *rpoCl* y para datos concatenados de marcadores de cloroplasto (*matK+psbA+rpoCl*). Se efectuaron dos análisis independientes de Cadenas de Monte Carlo Markov (CMCM) que consta cada una de 3.000.000 generaciones, obtenidos con una desviación promedio de frecuencias inferior a 0,006. Los árboles se muestrearon con una frecuencia cada 1000 generaciones, y el 25% de los primeros árboles se desecharon como "burn-in". Se utilizó el programa TRACER v. 1.5 (Rambaut & Drummond, 2007) para verificar la estabilidad de la probabilidad general y la convergencia entre generaciones de los análisis ejecutados con Mr Bayes. La fiabilidad de los clados en el análisis

bayesiano se evaluó por medio de la probabilidad *a posteriori* (PP). Los valores de PP bajo 0,80 se consideraron de bajo soporte; entre 0,80 y 0,89 se consideraron como moderado; y los valores de PP superiores a 0,90 como alto soporte. En el análisis, los valores de bootstrap (BS) para los nodos internos se estimaron con 100 réplicas, siendo confiables los valores mayores a 70. Se considera generalmente que un grupo está apoyado de forma concluyente cuando el valor de “bootstrap” es mayor a 70, lo que generalmente corresponden a una probabilidad del 95% de consistencia del agrupamiento (Hillis & Bull, 1993). Todos los dendrogramas fueron editados usando el programa FigTree 1.4.0 (Rambaut, 2012).

RESULTADOS

El árbol filogenético de las secuencias ITS, mediante el método NJ, presenta una separación basal de dos grupos monofiléticos y dos especies de *Vicia* (*V. cracca* y *V. sativa* var *angustifolia*) como grupo externo, por un lado, se encuentra el clado conformado por las especies *Lathyrus* 829, *Lathyrus* 830, *L. odoratus*, estas secuencias están relacionadas entre sí, correspondiendo al mismo taxón con un soporte de 96%, y en el mismo grupo

se encuentran las especies *L. cassius* Boiss., *L. sativus*, *L. annuus* L., y *L. laevigatus* (Waldst. & Kit.) Gren., por otro lado, se distingue el clado que agrupa monofiléticamente a las especies, *L. polyphyllus* Nutt., *L. holochlorus* (Piper) C. Hitchc, *L. vestitus* Nutt., *L. ledebourii* Trautv., *L. pannonicus* (Jackq.) Gracke (Fig. 3A). A su vez, el árbol filogenético obtenido mediante el método de IB, muestra que *Lathyrus* 829, *Lathyrus* 830, y *L. odoratus*, corresponden al mismo taxón (PP=1,00), además emparentado con *L. cassius* (Fig. 3B). Las distancias genéticas entre pares de especies de *Lathyrus* revelado por el marcador ITS se pueden observar en la Tabla S2.

El árbol que muestra las relaciones filogenéticas de *Lathyrus* con las secuencias *psbA-trnH*, con el método NJ, muestra dos grupos monofiléticos y dos especies de *Vicia* (*V. pisiformis* y *V. cracca*) del grupo externo, por una parte, se encuentra un grupo monofilético el cual contiene un clado con politomía en su base, conformado por las muestras de *Lathyrus* 829, *Lathyrus* 830 y *L. odoratus* las que corresponderían a un mismo taxón esto con un soporte de 88%, en este grupo monofilético también se encuentran las especies *L. hirsutus*, *L. latifolius* L., *L. roseus* Steven y *L. rotundifolius* Willd. Un segundo grupo monofilético está formado por *L. davidii* Hance y *L. graminifolius* (S. Watson) T. White (Fig. 4A).

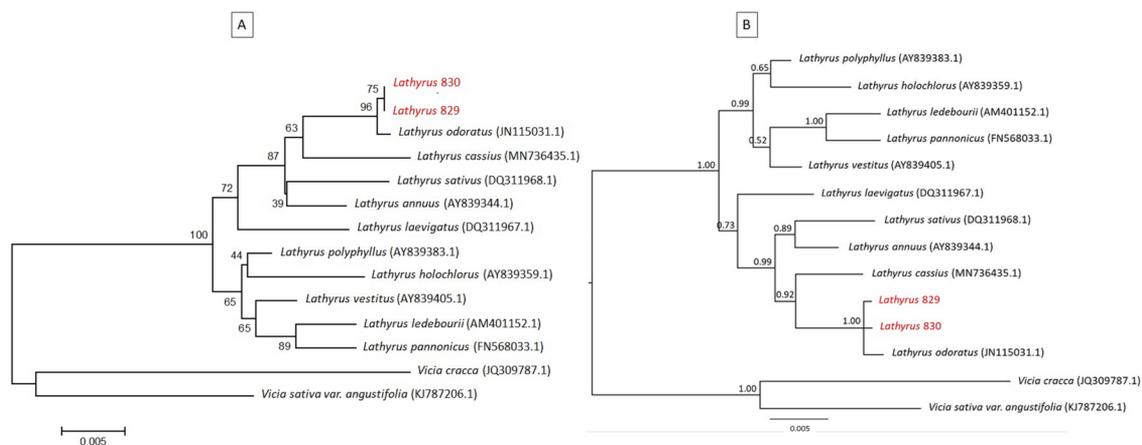


Fig. 3. Relaciones filogenéticas basadas en secuencias ITS de *Lathyrus* 829 y 830 y otras especies del género *Lathyrus*. **A:** Árbol filogenético realizado mediante método NJ, basado en el modelo modelo Tamura-Nei, los nodos presentan valores bootstrap. **B:** Árbol filogenético obtenido mediante IB (modelo de evolución SYM+G), cuyos nodos indican valores PP.

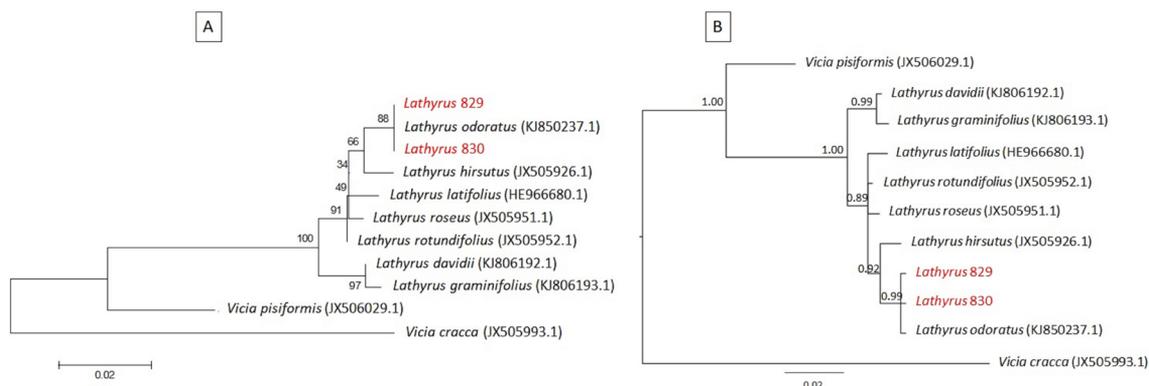


Fig. 4. Relaciones filogenéticas basadas en secuencias *psbA-trnH* de *Lathyrus* 829 y 830 y otras especies del género *Lathyrus*. **A:** Árbol filogenético realizado mediante método NJ, basado en el modelo modelo Tamura-Nei, los nodos presentan valores bootstrap. **B:** Árbol filogenético obtenido mediante IB (modelo de evolución GTR+I), cuyos nodos indican valores PP.

El árbol generado con el método de IB, muestra que las secuencias de *Lathyrus* 829, *Lathyrus* 830 y *L. odoratus* son similares (PP=1,00) y están emparentadas a *L. hirsutus* (Fig. 4B). Las distancias genéticas entre pares de especies de *Lathyrus* revelado por el marcador *psbA-trnH* se pueden observar en la Tabla S3.

El árbol con las secuencias *matK* en *Lathyrus*, dió como resultado dos grupos monofiléticos y dos especies de *Vicia* (*V. nigricans* Hook. & Arn.

y *V. crocea* (Desf.) Fritsch) del grupo externo, un clado constituido por *Lathyrus* 829, *L. odoratus* y *Lathyrus* 830, las cuales están relacionadas entre sí y se encuentran emparentadas a *L. hirsutus* con un soporte de 94%, además en este grupo se encuentran las especies *L. roseus*, *L. latifolius*, *L. sylvestris* L., *L. cicera* y *L. sativus*. Un segundo clado que incluye *L. tingitanus* L. y *L. inconspicuus* L. (Fig. 5A). Por el método IB, el árbol filogenético generado agrupa en un clado

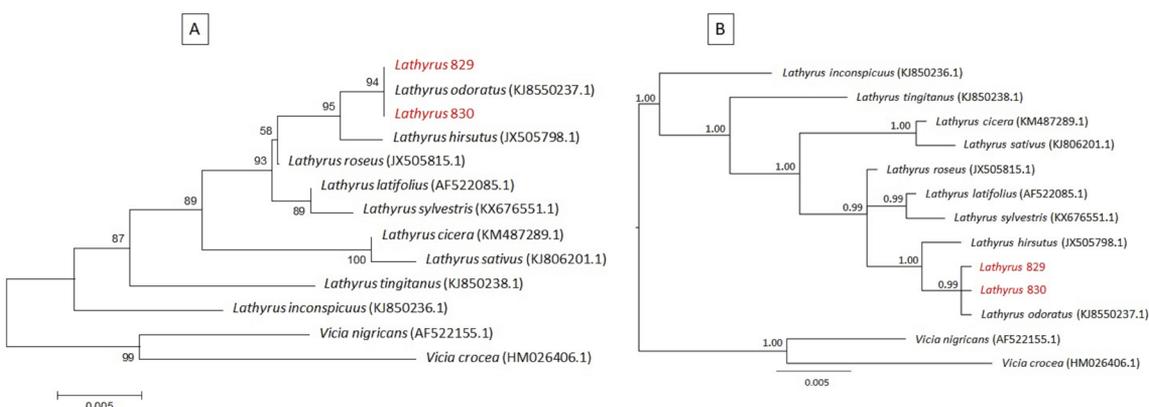


Fig. 5. Relaciones filogenéticas basadas en secuencias *matK* de *Lathyrus* 829 y 830 y otras especies del género *Lathyrus*. **A:** Árbol filogenético realizado mediante método NJ, basado en el modelo modelo Tamura-Nei, los nodos presentan valores bootstrap. **B:** Árbol filogenético obtenido mediante IB (modelo de evolución GTR+G), cuyos nodos indican valores PP.

a *Lathyrus* 829, *Lathyrus* 830 y *L. odoratus*, las cuales son secuencias idénticas (PP=1,00), además se encuentran emparentadas a *L. hirsutus*, con una probabilidad a posterior de 0,99 (Fig. 5B). Las distancias genéticas entre pares de especies de *Lathyrus* revelado por el marcador *matK* se pueden observar en la Tabla S4.

El árbol filogenético generado con las secuencias *rpoC1* en *Lathyrus* con el método NJ, indica la formación de dos grupos monofiléticos, un primer gran grupo conformado por *L. tinginatus*, *L. clymenum* L., *L. graminifolius*, *L. littoralis* (Nutt.) Endl., *L. japonicus*, *L. palustris* L. y *L. inconspicuus*, además dos especies de *Vicia* (*V. sepium* y *V. ramuliflora*). Un segundo grupo monofilético conformado por *L. venosus* Muhl. ex Willd., *L. decaphyllus* Pursh y *L. davidii*, además formando un clado las especies *L. pubescens* y *L. sativus* con *Lathyrus* 829, *Lathyrus* 830 y *L. odoratus* (Fig. 6A). Además, el árbol filogenético generado por el método IB indica que *Lathyrus* 829, *Lathyrus* 830 y *L. odoratus* se encuentran en una rama aparte (PP=1,00), formando un taxón (Fig. 6B). Las distancias genéticas entre pares de especies de *Lathyrus* revelado por el marcador *rpoC1* se pueden observar en la Tabla S5.

El árbol filogenético de secuencias

concatenadas (*psbA-trnH*, *matK* y *rpoC1*), mediante el método NJ, presenta una separación basal de dos grupos monofiléticos y una especie de *Vicia* (*V. ramuliflora*) del grupo externo, por un lado, se encuentra el clado conformado por las especies *Lathyrus* 829, *Lathyrus* 830, *L. odoratus*, relacionadas entre sí, como un mismo taxón con un soporte de 100%, y en el mismo grupo se encuentran las especies *L. sativus*, *L. pubescens* y *L. inconspicuus*. Por otro lado, se distingue un clado que agrupa monofiléticamente a las especies, *L. graminifolius*, *L. japonicus*, *L. davidii*, *L. venosus* y *L. ochroleucus* Hook. (Fig. 7A). A su vez, el árbol filogenético obtenido mediante el método de IB, muestra que *Lathyrus* 829, *Lathyrus* 830, y *L. odoratus*, corresponden al mismo taxón (PP=1,00), emparentado con *L. sativus* (Fig. 7B).

En cuanto a caracterización morfológica, las muestras *Lathyrus* 829 y *Lathyrus* 830 mostraron racimos de 1 hasta 4 flores, cada flor de aproximadamente 4 cm de longitud, de color púrpura o azul y blanco-fucsia, hojas levemente pubescentes y peciolo alado. Dado estos rasgos, las características morfológicas de *Lathyrus* 829 y *Lathyrus* 830 se acercarían a la descripción de *L. odoratus*, de acuerdo a las claves descritas por Luchetti (2008).

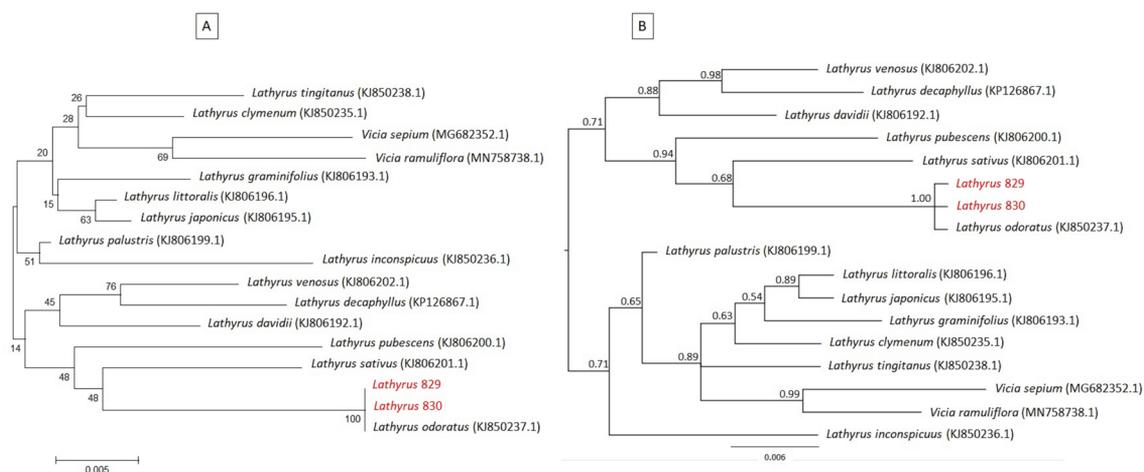


Fig. 6. Relaciones filogenéticas basadas en secuencias *rpoC1* de *Lathyrus* 829 y 830 y otras especies del género *Lathyrus*. **A:** Árbol filogenético realizado mediante método NJ, basado en el modelo modelo Tamura-Nei, los nodos presentan valores bootstrap. **B:** Árbol filogenético obtenido mediante IB (modelo de evolución GTR+I+G), cuyos nodos indican valores PP.

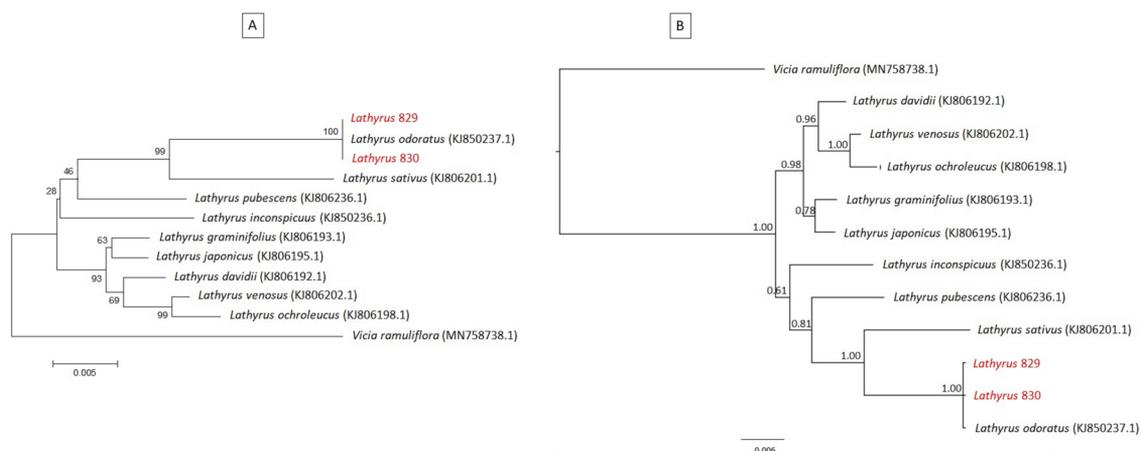


Fig. 7. Relaciones filogenéticas basadas en secuencias concatenadas (*psbA-trnH*, *matK* y *rpoC1*) de *Lathyrus* 829 y 830 y otras especies del género *Lathyrus*. **A:** Árbol filogenético realizado mediante método NJ, basado en el modelo modelo Tamura-Nei, los nodos presentan valores bootstrap. **B:** Árbol filogenético obtenido mediante IB (modelo de evolución GTR+I+G), cuyos nodos indican valores PP.

DISCUSIÓN

Los cuatro loci de DNA barcoding, como la secuencia de ADN nuclear ITS y las secuencias de ADN cloroplastídico *psbA-trnH*, *matK* y *rpoC1* permitieron identificar genéticamente las muestras identificadas como *Lathyrus* 829 y *Lathyrus* 830, recolectadas en Arica, Chile. Los resultados indican que estas muestras están relacionadas a *L. odoratus*, lo cual se encuentra fuertemente apoyado por los arboles de consenso generados a partir de los análisis filogenéticos NJ e IB, como monofilética y separado de otras especies. Consecuentemente los métodos moleculares juegan un papel importante en la estimación de la relación entre individuos al comparar los genotipos con una serie de loci informativos (Sunnucks, 2000).

El primer árbol filogenético generado a partir de la secuencia ITS del presente trabajo, indica que el primer clado monofilético que incluye *L. odoratus*, *L. cassius*, *L. sativus* y *L. annuus*, con un soporte bootstrap de 87%, corresponde a la sección *Lathyrus*. Los taxones *L. odoratus*, *L. sativus* y *L. annuus* se agrupan en la sección *Lathyrus* del árbol de consenso estricto de Asmussen & Liston (1998) basados en secuencias *rpoC* e *IR2*. Adicionalmente, estas tres especies están agrupadas en la sección *Lathyrus* del árbol resultante del

análisis combinado de secuencias ITS, *trnL-F* y *trnS-G* de acuerdo a Kenicer *et al.* (2005). La especie *L. cassius* se incluye en la sección *Lathyrus* a partir del árbol resultante del análisis de las secuencias *matK* según Oskoueiyani *et al.* (2014). Este primer clado también incluye a *L. laevigatus*, el cual corresponde a la sección *Orobos* (Kenicer *et al.*, 2005). El segundo clado monofilético incluye especies de la sección *Orobos* y *Lathyrstylis*. Las especies *L. polyphyllus*, *L. holochlorus*, *L. vestitus* pertenecen a la sección *Orobos* (Kenicer *et al.*, 2005). Por otro lado, las especies *L. ledebourii* y *L. pannonicus*, se incluyen en la sección *Lathyrstylis* (Kupicha, 1983). De acuerdo a lo señalado por Asmussen & Liston (1998), es muy importante la comparación de filogenias de *Lathyrus* con ADN de genes nucleares (como por ejemplo ITS), debido a que pueden existir discrepancias entre los “árboles de genes” de cloroplasto.

En el segundo árbol filogenético generado a partir de las secuencias *psbA-trnH*, la especie *L. odoratus* se agrupa junto a *L. hirsutus*, *L. latifolius*, *L. roseus* y *L. rotundifolius*, que corresponden a la sección *Lathyrus* (Asmussen & Liston, 1998; Kenicer *et al.*, 2005; Oskoueiyani *et al.*, 2014) y el segundo clado de este árbol, que involucra a *L. davidii* y *L. graminifolius* pertenece a la sección *Orobos* (Asmussen & Liston, 1998). El tercer

árbol generado a partir de las secuencias *matK* en *Lathyrus spp.*, indica que *L. odoratus* pertenece a la sección *Lathyrus*, junto con *L. hirsutus*, *L. roseus*, *L. latifolius*, *L. sylvestris*, *L. cicera* y *L. sativus* (Asmussen & Liston, 1998; Oskoueiyani *et al.*, 2014). Mientras que la especie *L. tinginatus* pertenece a la sección *Lathyrus* (Kupicha, 1983; Asmussen & Liston, 1998; Kenicer *et al.*, 2005; Oskoueiyani *et al.*, 2014). Por otro lado la especie *L. inconspicuus* pertenece a la sección *Linearicarpus* (Kupicha 1983). El último árbol filogenético generado a partir de las secuencias *rpoC1*, agrupa dos clados monofiléticos. El primer clado no tiene una topología definida resuelta, ya que es posible encontrar especies de distintas secciones como de *Orobus*, *Lathyrus*, *Clymenum*, *Linearicarpus* (Asmussen & Liston, 1998; Kenicer *et al.*, 2005; Oskoueiyani *et al.*, 2014) incluyendo especies de *Vicia* del grupo externo (*V. sepium* y *V. ramuliflora*). En el segundo clado es posible encontrar también especies de diferentes secciones como *Notolathyrus* y *Lathyrus* (Asmussen & Liston, 1998). Sin duda, este marcador *rpoC1* no es eficiente para discriminar secciones, incluso especies de *Vicia* se anidaron junto a especies de *Lathyrus*. Sin embargo, el estudio desarrollado por Asmussen & Liston (1998) con secuencias *rpoC* discriminó eficientemente las secciones, esto porque además de utilizar la región *rpoC1*, estudió también datos del intrón, parte de *rpoC2* y su espaciador intergénico, aportando más información al estudio.

En el árbol de secuencias concatenadas (*psbA-trnH*, *matK* y *rpoC1*), mostró un clado con especies de la sección *Lathyrus*, entre ellas *Lathyrus* 829 y 830, *L. odoratus* y *L. sativus*, y especies de otras secciones como *L. pubescens* de la sección *Notolathyrus* y *L. inconspicuus* perteneciente a *Linearicarpus* (Kupicha, 1983). Por lo tanto, no es recomendable realizar análisis filogenéticos con estas tres regiones de secuencias concatenadas. Es muy probable que la información de la región *rpoC1* haya disminuido la resolución de los análisis concatenados, ya que los análisis filogenéticos por separado de las secuencias *psbA-trnH* y *matK*, demostraron discriminar eficientemente especies y secciones.

El principal centro de distribución de la especie de *Lathyrus* es en la región Mediterránea oriental, con pequeños centros en el Norte y Sur América (Burkart, 1942). Sobre el origen de las especies

endémicas Sudamericanas de *Lathyrus*, Asmussen & Liston (1998) sustentan la hipótesis de que éstas derivan de linajes norteamericanos, consistente con la teoría de Kupicha (1983), quien planteó la hipótesis de que *Lathyrus* se originó en latitudes altas del Viejo Mundo, en el Cretácico o Terciario temprano, de aquí las especies originales de *Lathyrus* con características de la sección *Orobus* migraron a Norteamérica a través de Groenlandia o de Asia a través de Alaska y luego a Sudamérica donde la sección *Notolathyrus* evolucionó. Esta ruta de dispersión de la sección *Notolathyrus* de Norte a Sudamérica sigue la teoría del elemento de flora holártica sobre el origen de especies andinas, así como la hipótesis boreotropical biogeográfica (Cleef, 1979; Simpson & Todzia, 1990; Lavin & Luckow, 1993)

En este estudio, la utilidad de las secuencias de nucleótidos de ITS, *psbA-trnH* y *matK* son efectivas como código de barras de ADN para la identificación de especies *Lathyrus*. La especie *L. odoratus* se encuentra naturalizada y creciendo de manera abundante en la Quebrada de Vitor, en una ubicación inhóspita, al oeste de Codpa y este del Valle de Chaca. Sin embargo, de acuerdo al Catálogo de las Plantas Vasculares de Chile de Rodríguez *et al.* (2018), *L. odoratus* no se ha registrado creciendo de manera natural en Chile. En Sudamérica se ha registrado *L. odoratus* creciendo naturalmente en Perú de acuerdo al ILDIS (International Legume Database and Information Service) (Roskov *et al.*, 2020) y como cultivo en el sur de Córdoba (Argentina) (Bianco & Kraus, 1996). No obstante, esta especie es cultivada en Chile con fines ornamentales, importándose su material bajo estrictas normas fitosanitarias (SAG, 2020). Esta especie es endémica del centro y sur de Europa, sin embargo, como especie ornamental está distribuida y cultivada en todo el mundo (Bianco & Kraus, 1996). Por lo tanto, es posible que por ser una especie ornamental de amplio rango de cultivo, probablemente algún material de propagación de esta especie (en parcelas y jardines de agricultores ubicados a 2.000 m.s.n.m.) se diseminó producto de aluviones (producidos continuamente en la región cada año) y colonizó parte de la Quebrada de Vitor. Sin embargo, también es probable que esta especie haya sido introducida en la Quebrada de Vitor por colonos españoles.

Cabe mencionar que la Quebrada de Vitor,

es un área de interés para la conservación de la biodiversidad, allí se desarrollan especies nativas y además se han colectado varias especies vegetales de interés de conservación por su singularidad y escasa distribución en Chile, como es el caso de *Haplorhus peruviana* Engl. (especie rara) y *Solanum peruvianum* L, sin embargo, la actividad humana es evidente tanto por las parcelas, los cultivos y la introducción de numerosas malezas y especies forestales (Estades *et al.*, 2009). El hallazgo reciente de *L. odoratus* en la Quebrada de Vitor, podría ser un riesgo para la conservación de la biodiversidad. Considerando que *L. odoratus* es una especie de fácil propagación, la cual podría constituirse como maleza que afecte a las especies nativas del lugar. El consumo de esta planta podría afectar a la fauna endémica, roedores exclusivos de la zona (Acevedo & Olivares, 2012), ya que podría causar latirismo u osteolatrismo con consecuente deformidades esqueléticas, producto de la presencia de aminonitrilos neurotóxicos (McKay *et al.*, 1954; Stamler, 1955). Según Kumar & Duggal (2017), *L. odoratus* es una maleza nociva que afecta a los cultivos, cuyo hábito de enroscarse le permite una supervivencia mejor que otras malezas, lo cual le permite consumir grandes cantidades de recursos del hábitat y a su vez compite con especies nativas o cultivos. Sin duda este aspecto es importante de considerar si se piensa en mantener las condiciones actuales de esta zona geográfica. Considerando que para el Desierto de Atacama ya se han registrado 19 especies florales exóticas, como invasivas o con potencial invasivo, las cuales están afectando la biota nativa, estableciéndose en ecosistemas no intervenidos por el hombre, como orillas de esteros o en los sistemas costeros (Salinas, 2016). A todas luces esta especie podría tratarse de una especie introducida e invasora, que puede desequilibrar el ecosistema afectando la flora y fauna de la zona. Sin lugar a dudas, la conservación y protección de áreas de carácter único, que representan diversidad ecológica natural, asegura la continuidad de los procesos evolutivos, los patrones de flujo genético y la regulación del medio ambiente.

La presente investigación mediante relaciones filogenéticas con cuatro marcadores de código de barras de ADN (*matK*, ITS, *psbA-trnH* y *rpoC1*) evidenció el primer registro de individuos afines a *L. odoratus* creciendo de manera natural en Chile. Las secuencias ITS, *psbA-trnH* y *matK*

demonstraron ser eficientes en discriminar especies y secciones, sin embargo, la región *rpoC1* no se recomienda su uso para diferenciar secciones de *Lathyrus*.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

RC diseñó la investigación, coleccionó el material de campo y registró las muestras en herbario. MA y DR procesaron las muestras y realizaron los ensayos moleculares. MA y RC participaron en los análisis de datos y la escritura del manuscrito.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen los valiosos comentarios entregados por los árbitros anónimos. Esta investigación fue financiada por el Fondo Regional de Innovación para la Competitividad Regional (FIC Regional, 2018) del Gobierno Regional de Atacama, Código BIP 40013338-0. Agradecemos el apoyo entregado por los profesionales de la Secretaría Regional Ministerial de Medio Ambiente de la Región de Arica-Parinacota y datos de especies facilitados por la académica Eliana Belmonte Schwarzbaum de la Universidad de Tarapacá.

BIBLIOGRAFÍA

- ACEVEDO, C. & F. OLIVARES. 2012. *Guía Descriptiva "Flora y Fauna de la Región de Atacama"*. Tierra del Sol Consultores & CAP Minería, Minera Hierro Atacama. Vallenar, Chile.
- ASMUSSEN, C. B. & A. LISTON. 1998. Chloroplast DNA characters, phylogeny, and classification of *Lathyrus* (Fabaceae). *Am. J. Bot.* 85: 387-401. <http://doi.org/10.2307/2446332>
- BARCACCIA, G., M. LUCCHIN & M. CASSANDRO. 2016. DNA Barcoding as a molecular tool to track down mislabeling and food piracy. *Diversity* 8: 1424-2818. <http://doi.org/10.3390/d8010002>
- BIANCO, C. A. & T. A. KRAUS. 1996. Las especies de *Lathyrus* (Leguminosae) silvestres y cultivadas del sur de la Provincia de Córdoba, República Argentina. *Rev. Fac. Agronomía - UNLPam* 9: 33-48.

- BIOSOFT, H. 2012. DNA Baser Sequence Assembler, v4.10. Heracle BioSoft SRL., Romania. <http://www.dnabaser.com/download/download.html> [Acceso: 29 Agosto 2020]
- BURKART, A. 1935. Revisión de las especies de *Lathyrus* de la República Argentina. *Revista Fac. Agron. Veterin.* 8: 41-128.
- BURKART, A. 1942. Nuevas contribuciones a la sistemática de las especies sudamericanas de *Lathyrus*. *Darwiniana* 6: 9-30. <http://doi.org/10.2307/23211565>
- CALVO, J. & A. MOREIRA-MUÑOZ. 2018. Nuevas adiciones a la flora introducida de Chile. *Darwiniana* 6: 179-185. <http://doi.org/10.14522/darwiniana.2018.62.801>
- CBOL PLANT WORKING GROUP. 2009. A DNA barcode for land plants. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 12794-12797. <http://doi.org/10.1073/pnas.0905845106>
- CHALUP, L. & J. G. SEIJO. 2007. Caracterización de las especies sudamericanas de *Lathyrus* por FISH. XXVIII Jornadas Argentinas de Botánica. Disponible en: https://www.conicet.gov.ar/new_scp/detalle.php?keywords=&id=05434&inst=yes&congresos=yes&detalles=yes&congr_id=387906 [Acceso: 28 Julio 2020]
- CLEEF, A. M. 1979. The phytogeographical position of the neotropical vascular piramo flora with special reference to the Colombian Cordillera Oriental. In: K. LARSEN & L. B. HOLM-NIELSEN eds. *Tropical Botany*. Academic Press, London.
- CONTRERAS, R., V. PORCILE, D. GUGGIANA-NILO & F. AGUAYO. 2019. An efficient protocol to perform genetic traceability of tissue and foods from *Geoffroea decorticans*. *Chilean J. Agric. Anim. Sci.* 35: 224-237. <http://doi.org/10.4067/S0719-38902019005000402>
- CONTRERAS, R., L. VAN DEN BRINK, B. BURGOS, M. GONZÁLEZ, S. GACITÚA. 2020a. Genetic characterization of an endangered Chilean endemic species, *Prosopis burkartii* Muñoz, reveals its hybrids parentage. *Plants* 9: 744. <https://doi.org/10.3390/plants9060744>
- CONTRERAS, R., L. VAN DEN BRINK, B. SEPÚLVEDA, F. AGUAYO & V. PORCILE. 2020b. Phylogenetic relationships of plant species from the flowering desert of the Atacama Region. *Blacpma* 19: 300-313.
- CZEFRANOVA, Z. V. 1971. Review of the species of the genus *Lens* Mill. *Novosti Sist. Vyssh. Rast.* 8: 184-191.
- CUÉNOUD, P., V. SAVOLAINEN, L. W. CHATROU, M. POWELL, R. J. GRAYER & M. W. CHASE. 2002. Molecular phylogenetics of caryophyllales based on nuclear 18S rDNA and plastid *rbcl*, *atpB*, and *matK* DNA sequences. *Am. J. Bot.* 89: 132-144. <http://doi.org/10.3732/ajb.89.1.132>
- DONG, W., C. XU, T. CHENG, K. LIN & S. ZHOU. 2013. Sequencing angiosperm plastid genomes made easy: A complete set of universal primers and a case study on the phylogeny of Saxifragales. *Genome Biol. Evol.* 5: 989-997. <http://doi.org/10.1093/gbe/evt063>
- ESTADES, C. F., M. L. ANDRADE, V. LATORRE, M. A. VUKASOVIC & M. T. SERRA. 2009. *Elaboración de línea base, zonificación y guía de manejo de un predio fiscal, sitio prioritario para la conservación de la biodiversidad en la Quebrada de Chaca, Región de Arica y Parinacota*. Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA), Santiago, Chile.
- FAÚNDEZ, L., R. FLORES, A. FAÚNDEZ & M. TREUMÚN. 2014. Reino Plantae. In: J. HERNÁNDEZ, C. ESTADES, L. FAÚNDEZ & J. HERREROS DE LARTUNDO (eds.), *Biodiversidad Terrestre de la Región de Arica y Parinacota*, pp. 164-229. Ministerio del Medio Ambiente (MMA), Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- GATICA-CASTRO, A., A. MARTICORENA, G. ROJAS, G. ARANCIO & F. A. SQUEO. 2015. Estado de conservación de la flora nativa de las regiones de Arica-Parinacota y de Tarapacá, Chile. *Gayana Bot.* 72: 305-339. <http://doi.org/10.4067/S0717-66432015000200013>
- HARTLEY, A. J., G. CHONG, J. HOUSTON & A. MATHER. 2005. 150 million years of climatic stability: evidence from the Atacama Desert, Northern Chile. *J. Geol. Soc. London* 162: 421-24. <http://doi.org/10.1144/0016-764904-071>
- HEIBL, C. & S. RENNER. 2012. Distribution models and a dated phylogeny for Chilean *Oxalis* species reveal occupation of new habitats by different lineages, not rapid adaptive radiation. *Syst. Biol.* 61: 823-834. <http://doi.org/10.1093/sysbio/sys034>
- HILLIS, D. & J. BULL. 1993. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Syst. Biol.* 42: 182-192. <http://doi.org/10.1093/sysbio/42.2.182>
- HOLLINGSWORTH, P. 2011. Refining the DNA barcode for land plants. *PNAS USA* 108: 19451-19452. <http://doi.org/10.1073/pnas.1116812108>

M. Arias Aburto *et al.* - Análisis taxonómico molecular en *Lathyrus*

- KENICER, G. J., T. KAJITA, R. T. PENNINGTON & J. MURATA. 2005. Systematics and biogeography of *Lathyrus* (Leguminosae) based on internal transcribed spacer and cpDNA sequence data. *Am. J. Bot.* 92: 1199-1209.
<http://doi.org/10.3732/ajb.92.7.1199>
- KENICER, G. 2008. An introduction to the genus *Lathyrus* L. *Curtis's bot. mag.* 25: 286-295.
<http://doi.org/10.1111/j.1467-8748.2008.00632.x>
- KRESS, W. J., K. J. WURDACK, E. A. ZIMMER, L. A. WEIGT & D. H. JANZEN. 2005. Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *PNAS USA* 102: 8369-8374.
<http://doi.org/10.1073/pnas.0503123102>
- KUMAR, S. & S. DUGGAL. 2017. A Survey of weeds of wheat crop fields in Narwana region, India. *Int. J. Sci. Res.* 5: 6664-6669.
<http://doi.org/10.18535/ijstrm/v5i8.13>
- KUPICHA, F. K. 1983. The infrageneric structure of *Lathyrus*. *Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh* 41: 209-244.
- LAHAYE, R., M. BANK, D. BOGARIN, J. WARNER, F. PUPULIN, G. GIGOT, O. MAURIN, S. DUTHOIT, T.G BARRACLOUGH & V. SAVOLAINEN. 2008. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *PNAS USA* 105: 2923-292.
<http://doi.org/10.1073/pnas.0709936105>
- LAVIN, M., J. J. DOYLE & J. D. PALMER. 1990. Evolutionary significance of the loss of the chloroplast-DNA inverted repeat in the Leguminosae subfamily Papilionoideae. *Evolution* 44: 390-402.
<http://doi.org/10.2307/2409416>
- LUEBERT, F. & R. GAJARDO. 2005. Vegetación alto-andina de Parinacota (norte de Chile) y una sinopsis de la vegetación de la Puna meridional. *Phytocoenologia* 35: 79-128.
<http://doi.org/10.1127/0340-269X/2005/0035-0079>
- LUCHETTI, A. M. 2008. Claves para el Reconocimiento de las especies santafesinas de Leguminosae Papilionoideas. *Nat. Neotrop.* 1: 47-81.
<http://doi.org/10.14409/natura.v1i39.3868>
- MCKAY, G. F., J. J. LALICH, E. D. SCHILLING & F. M. STRONG. 1954. A crystalline "Lathyrus factor" from *Lathyrus odoratus*. *Arch Biochem Biophys* 52: 313-322.
[http://doi.org/10.1016/0003-9861\(54\)90129-0](http://doi.org/10.1016/0003-9861(54)90129-0)
- NARAVAN, R. K. J. & A. DURRANT. 1983. DNA distribution in chromosomes of *Lathyrus* species. *Genetica* 61: 47-53.
<http://doi.org/10.1007/BF00563231>
- NYLANDER, J. A. A. 2008. MrModeltest 2.3. Department of Systematic Zoology, Uppsala University, Uppsala, Suecia. Disponible en: <https://github.com/nylander/MrModeltest2> [Acceso: 29 Agosto 2020]
- OSKOU EIYAN, R., S. KAZEMPOUR & A. AMIRAHMADI. 2014. Molecular Phylogeny of the Genus *Lathyrus* (Fabaceae-Fabeae) Based on cpDNA *matK* Sequence in Iran. *Iran J. Biotechnol.* 12: 41-48.
<http://doi.org/10.5812/ijb.10315>
- PNUD (Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo). 2017. *Catálogo de las especies exóticas asilvestradas/naturalizadas en Chile. Laboratorio de Invasiones Biológicas (LIB) Universidad de Concepción, Proyecto GEF/MMA/PNUD.* Fortalecimiento de los Marcos Nacionales para la Gobernabilidad de las Especies Exóticas Invasoras: Proyecto Piloto en el Archipiélago de Juan Fernández. Santiago, Chile.
- RAMBAUT, A. & A. J. DRUMMOND. 2007. Tracer 1.5.0. University of Edinburgh, Edimburgo, Escocia. Disponible en: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
- RAMBAUT, A. 2012. FigTree (version 1.4.0). Disponible en: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree> [Acceso: 28 Julio 2020]
- RODRIGUEZ, R., C. MARTICORENA, D. ALARCÓN, C. BAEZA, L. CAVIERES, V. L. FINOT, N. FUENTES, A. KIESSLING, M. MIHOC, A. PAUCHARD, E. RUIZ, P. SANCHEZ & A. MARTICORENA. 2018. Catálogo de las plantas vasculares de Chile. *Gayana Bot.* 75: 1-430.
<http://doi.org/10.4067/S0717-66432018000100001>
- RONQUIST, F., M. TESLENKO, P. VAN DER MARK, D. L. AYRES, A. DARLING, S. HÖHNA, B. LARGET, L. LIU, M. A. SUCHARD & J. P. HUELSENBECK. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst. Biol.* 61: 539-542.
<http://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
- ROSKOV, Y., J. ZARUCCHI, M. NOVOSELOVA & F. BISBY (eds). 2020. ILDIS World Database of Legumes (version 12, May 2014). In: ROSKOV, Y., G. OWER, T. ORRELL, D. NICOLSON, N. BAILLY, P. M. KIRK, T. BOURGOIN, R. E. DEWALT, W. DECOCK, E. VAN NIEUKERKEN, J. ZARUCCHI & L. PENEV, EDS. *Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 2019 Annual Checklist*. Recurso digital en www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2019. Species 2000: Naturalis, Leiden, Holanda.
- SAG (Servicio Agrícola y Ganadero). 2020. Ministerio de Agricultura, Santiago, Chile. Disponible en:

- https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/resolucion_2020_2009.pdf [Acceso: 26 agosto 2020]
- SALINAS, P. R. 2016. *Diagnóstico, estado y tendencias de la biodiversidad: Región de Atacama*. Ministerio de medio ambiente, Santiago, Chile.
- SENN, H.A. 1938. Experimental data for a revision of the genus *Lathyrus*. *Am. J. B.* 25: 67-78.
<http://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1938.tb09188.x>
- SIMOLA, L. K. 1968. A serological comparison of the seed proteins of the genus *Lathyrus* and certain other genera of the Papilionaceae. *Flora* 158: 645-658.
[https://doi.org/10.1016/S0367-1801\(17\)30248-X](https://doi.org/10.1016/S0367-1801(17)30248-X)
- SIMPSON, B. B. & C. A. TODZIA. 1990. Patterns and processes in the development of the high Andean flora. *Am. J. Bot.* 77: 1419-1432.
<http://doi.org/10.2307/2444752>
- SKIBA, B., A. M. GURUNG & E. C. K. PANG. 2007. Genome Mapping and Molecular Breeding in *Lathyrus*. In: KOLE C. (eds) *Pulses, Sugar and Tuber Crops*. Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants, vol 3. Springer, Berlin, Alemania.
- STAMLER, F. W. 1955. Reproduction in Rats Fed *Lathyrus* Peas or Aminonitriles. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 90: 294-298.
<http://doi.org/10.3181/00379727-90-22013>
- STANFORD, A. M, R. HARDEN & C. R. PARKS. 2000. Phylogeny and biogeography of *Juglans* (Juglandaceae) based on *matK* and ITS sequence data. *Am. J. Bot.* 87: 872-882.
<http://doi.org/10.2307/2656895>
- SUNNUCKS, P. 2000. Efficient genetic markers for population biology. *Trends Ecol. Evol.* 15: 199-203.
[http://doi.org/10.1016/S0169-5347\(00\)01825-5](http://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)01825-5)
- TAMURA, K., & M. NEI. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.* 10: 512-526.
<http://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023>
- TAMURA, K., G. STECHER, D. PETERSON, A. FILIPSKI & S. KUMAR. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30: 2725-2729.
<http://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
- YAMAMOTO, K., T. FUJIWARA & I. D. BLUMENREICH, 1984. Karyotypes and morphological characteristics of some species in the genus *Lathyrus* L. *Jpn. J. Breed.* 34: 273-284.
<http://doi.org/10.1270/jsbbs1951.34.273>

M. Arias Aburto *et al.* - Análisis taxonómico molecular en *Lathyrus*

MATERIAL SUPLEMENTARIO

Tabla S1. Sección, nombre científico y accesión de especies de *Lathyrus*

Sección	Nombre científico	Accesión
Lathyrus	<i>L. cassius</i> Boiss	MN736435
Lathyrus	<i>L. sativus</i> L.	DQ311968, KJ806201
Lathyrus	<i>L. annuus</i> L.	AY839344
Lathyrus	<i>L. odoratus</i> L.	JN115031, KJ850237
Lathyrus	<i>L. hirsutus</i> L.	JX505926
Lathyrus	<i>L. latifolius</i> L.	HE966680
Lathyrus	<i>L. roseus</i> Steven	JX505951
Lathyrus	<i>L. rotundifolius</i> Willd	JX505952
Lathyrus	<i>L. sylvestris</i> L.	KX676551
Lathyrus	<i>L. cicera</i> L.	KM487289
Lathyrus	<i>L. tinginatus</i> L.	KJ850238
Orobus	<i>L. laevigatus</i> (Waldst. & Kit.) Gren.	DQ311967
Orobus	<i>L. polyphyllus</i> Nutt.	AY839383
Orobus	<i>L. holochlorus</i> (Piper) C. Hitchc	AY839359
Orobus	<i>L. vestitus</i> Nutt.	AY839405
Orobus	<i>L. davidii</i> Hance	KJ806192
Orobus	<i>L. graminifolius</i> (S. Watson) T. White	KJ806193
Orobus	<i>L. littoralis</i> (Nutt.) Endl.	KJ806196
Orobus	<i>L. palustris</i> L.	KJ806199
Orobus	<i>L. venosus</i> Muhl. ex Willd.	KJ806202
Orobus	<i>L. japonicus</i> Willd.	KJ806195
Lathyrostylis	<i>L. ledebourii</i> Trautv.	AY839405, AM401152
Lathyrostylis	<i>L. pannonicus</i> (Jackq.) Gracke	FN568033
Linearicarpus	<i>L. inconspicuus</i> L.	KJ850236
Clymenum	<i>L. clymenum</i> L.	KJ850235
-----	<i>L. decaphyllus</i> Pursh	KP126867
Notolathyrus	<i>L. pubescens</i> Hook. & Arn	KJ806200
-----	<i>L. ochroleucus</i> Hook.	KJ806198

Tabla S2. Distancia genética entre pares de especies de *Lathyrus* y de *Vicia* del grupo externo revelada por el marcador ITS

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<i>Lathyrus_829</i>														
<i>Lathyrus_830</i>	0,000													
JN115031.1_														
<i>Lathyrus_odoratus</i>	0,002	0,002												
AY839383.1_														
<i>Lathyrus_polyphyllus</i>	0,019	0,019	0,017											
DQ311968.1_														
<i>Lathyrus_sativus</i>	0,016	0,016	0,018	0,019										
AM401152.1_														
<i>Lathyrus_ledebourii</i>	0,024	0,024	0,026	0,011	0,024									
DQ311967.1_														
<i>Lathyrus_laevigatus</i>	0,021	0,021	0,019	0,014	0,021	0,023								
AY839359.1_														
<i>Lathyrus_holochlorus</i>	0,028	0,028	0,026	0,011	0,028	0,019	0,023							
AY839405.1_														
<i>Lathyrus_vestitus</i>	0,019	0,019	0,021	0,006	0,019	0,011	0,018	0,014						
FN568033.1_														
<i>Lathyrus_annonicus</i>	0,024	0,024	0,026	0,011	0,024	0,009	0,023	0,019	0,011					
MN736435.1_														
<i>Lathyrus_cassius</i>	0,014	0,014	0,016	0,021	0,018	0,026	0,022	0,029	0,021	0,026				
AY839344.1_														
<i>Lathyrus_annuus</i>	0,013	0,013	0,014	0,016	0,013	0,021	0,018	0,024	0,016	0,021	0,014			
JQ309787.1_														
<i>Vicia_cracca</i>	0,059	0,059	0,057	0,052	0,059	0,061	0,057	0,058	0,056	0,061	0,063	0,058		
KJ787206.1_														
<i>Vicia_sativa</i> var. <i>angustifolia</i>	0,049	0,049	0,051	0,042	0,049	0,043	0,047	0,045	0,041	0,043	0,051	0,044	0,047	

Tabla S3. Distancia genética entre pares de especies de *Lathyrus* y de *Vicia* del grupo externo revelada por el marcador *psbA-trnH*

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>Lathyrus_829</i>											
<i>Lathyrus_830</i>		0,000									
KJ850237.1_											
<i>Lathyrus_odoratus</i>	0,000	0,000									
KJ806192.1_											
<i>Lathyrus_davidii</i>	0,026	0,026	0,026								
KJ806193.1_											
<i>Lathyrus_graminifolius</i>	0,030	0,030	0,030	0,003							
HE966680.1_											
<i>Lathyrus_latifolius</i>	0,016	0,016	0,016	0,023	0,026						
JX505952.1_											
<i>Lathyrus_rotundifolius</i>	0,010	0,010	0,010	0,016	0,019	0,006					
JX505951.1_											
<i>Lathyrus_roseus</i>	0,013	0,013	0,013	0,019	0,023	0,010	0,003				
JX505926.1_											
<i>Lathyrus_hirsutus</i>	0,013	0,013	0,013	0,026	0,030	0,016	0,010	0,013			
JX505993.1_											
<i>Vicia_cracca</i>	0,164	0,164	0,164	0,159	0,164	0,164	0,154	0,159	0,164		
JX506029.1_											
<i>Vicia_pisiformis</i>	0,085	0,085	0,085	0,077	0,081	0,081	0,074	0,077	0,086	0,126	

M. Arias Aburto *et al.* - Análisis taxonómico molecular en *Lathyrus*

Tabla S4. Distancia genética entre pares de especies de *Lathyrus* y de *Vicia* del grupo externo revelada por el marcador *matK*

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<i>Lathyrus_829</i>													
<i>Lathyrus_830</i>	0,000												
KJ850237.1_ <i>Lathyrus_odoratus</i>	0,000	0,000											
JX505815.1_ <i>Lathyrus_roseus</i>	0,006	0,006	0,006										
AF522085.1_ <i>Lathyrus_latifolius</i>	0,009	0,009	0,009	0,003									
JX505798.1_ <i>Lathyrus_hirsutus</i>	0,005	0,005	0,005	0,006	0,009								
KM487289.1_ <i>Lathyrus_cicera</i>	0,021	0,021	0,021	0,014	0,017	0,021							
KJ806201.1_ <i>Lathyrus_sativus</i>	0,024	0,024	0,024	0,017	0,020	0,024	0,003						
KJ850238.1_ <i>Lathyrus_tingitanus</i>	0,026	0,026	0,026	0,020	0,022	0,026	0,024	0,026					
KJ850236.1_ <i>Lathyrus_</i> <i>inconspicuus</i>	0,026	0,026	0,026	0,022	0,022	0,026	0,029	0,032	0,024				
KX676551.1_ <i>Lathyrus_sylvestris</i>	0,012	0,012	0,012	0,005	0,003	0,012	0,018	0,021	0,025	0,025			
AF522155.1_ <i>Vicia_nigricans</i>	0,042	0,042	0,042	0,037	0,037	0,039	0,038	0,040	0,036	0,030	0,037		
HM026406.1_ <i>Vicia_crocea</i>	0,046	0,046	0,046	0,042	0,042	0,043	0,049	0,052	0,042	0,037	0,045	0,026	

Tabla S5. Distancia genética entre pares de especies de *Lathyrus* y de *Vicia* del grupo externo revelada por el marcador *rpoC1*

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
<i>Lathyrus_829</i>																	
<i>Lathyrus_830</i>	0,000																
KJ850237.1_ <i>Lathyrus_odoratus</i>	0,000	0,000															
KJ806199.1_ <i>Lathyrus_palustris</i>	0,026	0,026	0,026														
KJ806201.1_ <i>Lathyrus_sativus</i>	0,028	0,028	0,028	0,028													
KJ806196.1_ <i>Lathyrus_littoralis</i>	0,028	0,028	0,028	0,009	0,024												
KJ806200.1_ <i>Lathyrus_pubescens</i>	0,030	0,030	0,030	0,023	0,032	0,024											
KJ850238.1_ <i>Lathyrus_tingitanus</i>	0,032	0,032	0,032	0,014	0,030	0,015	0,035										
KJ850235.1_ <i>Lathyrus_clymenum</i>	0,032	0,032	0,032	0,012	0,028	0,010	0,032	0,015									
KJ806195.1_ <i>Lathyrus_japonicus</i>	0,032	0,032	0,032	0,009	0,028	0,003	0,028	0,015	0,010								
KJ806202.1_ <i>Lathyrus_venosus</i>	0,033	0,033	0,033	0,017	0,026	0,017	0,030	0,030	0,028	0,021							
KJ806193.1_ <i>Lathyrus_graminifolius</i>	0,033	0,033	0,033	0,014	0,026	0,012	0,030	0,021	0,015	0,012	0,024						
KJ806192.1_ <i>Lathyrus_davidii</i>	0,035	0,035	0,035	0,012	0,028	0,014	0,028	0,026	0,024	0,017	0,019	0,023					
KP126867.1_ <i>Lathyrus_decaphyllus</i>	0,037	0,037	0,037	0,021	0,035	0,017	0,032	0,033	0,028	0,021	0,017	0,023	0,023				
KJ850236.1_ <i>Lathyrus_inconspicuus</i>	0,041	0,041	0,041	0,017	0,035	0,026	0,033	0,032	0,030	0,026	0,028	0,028	0,030	0,035			
MG682352.1_ <i>Vicia_sepium</i>	0,035	0,035	0,035	0,023	0,032	0,028	0,033	0,030	0,028	0,028	0,033	0,026	0,028	0,037	0,037		
MN758738.1_ <i>Vicia_ramuliflora</i>	0,041	0,041	0,041	0,021	0,037	0,023	0,043	0,024	0,019	0,023	0,037	0,028	0,033	0,041	0,039	0,023	