



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
INGENIERÍA EN CONSERVACIÓN DE RECURSOS NATURALES

COMPARACIÓN DE Q_{ST} - F_{ST} PARA IDENTIFICAR RASGOS
MORFOLÓGICOS DE *Araucaria araucana* POTENCIALMENTE
ADAPTATIVOS

Proyecto de Título presentado a la Facultad de Ciencias Forestales de la
Universidad de Concepción para optar al título profesional de
Ingeniera en Conservación de Recursos Naturales

POR: Nelly Alejandra Gutiérrez Poblete

Profesores Guía: Dra. Marcela A. Bustamante Sánchez
Dr. Rodrigo Hasbún Zaror

Concepción, Chile 2021

© 2021

Nelly Alejandra Gutiérrez Poblete

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

COMPARACIÓN DE QST-FST PARA IDENTIFICAR RASGOS MORFOLÓGICOS
DE *Araucaria araucana* POTENCIALMENTE ADAPTATIVOS



Profesora Guía

Marcela A. Bustamante-Sánchez
Profesora Asistente
Bióloga Ambiental, Dra.



Profesor Guía

Rodrigo Hasbún Zaror
Profesor Asociado
Ingeniero Forestal, Dr.

Calificación del Proyecto de Título:

Marcela Bustamante S.: 6,3 (Seis coma tres)

Rodrigo Hasbún. Z: 6,3 (Seis coma tres)

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi madre por siempre estar a mi lado, por cada uno de sus consejos y enseñanzas. A mi padre que fue un pilar fundamental le agradezco su apoyo incondicional en cada una de mis decisiones.

Agradezco a mi profesora jefe del colegio por siempre confiar en mis capacidades y entregarme todos sus conocimientos. A todos los profesores, profesoras que me educaron durante los años de carrera universitaria y que pese a las dificultades siempre me brindaron su apoyo.

Finalmente, agradezco a mis compañeras y compañeros por todos los momentos, los terrenos y tardes de estudio que siempre quedaran en mi memoria.

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|---|----|
| RESUMEN..... | 5 |
| ABSTRACT..... | 6 |
| III. INTRODUCCIÓN..... | 7 |
| IV. METODOLOGÍA..... | 12 |
| 4.1 Sitios de estudio..... | 12 |
| 4.2 Recolección de semillas y crecimiento de plántulas..... | 13 |
| 4.3 Análisis de rasgos..... | 13 |
| 4.5 Análisis de base de datos..... | 15 |
| 4.6 Comparación de Q_{ST} - F_{ST} | 15 |
| V. RESULTADOS..... | 16 |
| 5.1 Diferenciación fenotípica en rasgos morfológicos entre poblaciones ubicadas a lo largo del rango de distribución de la especie..... | 16 |
| 5.2 Comparación de Q_{ST} y F_{ST} | 19 |
| 5.3 Cambios en rasgos fenotípicos con el clima de origen de las poblaciones..... | 21 |
| VI. DISCUSIÓN..... | 23 |
| 6.1 Variación de los rasgos Cuantitativos..... | 23 |
| 6.2 Rasgos Cuantitativos Vs Marcadores genéticos..... | 25 |
| 6.3 Implicancias para la Restauración de <i>Araucaria araucana</i> | 29 |
| VII. CONCLUSIONES..... | 32 |
| VIII. BIBLIOGRAFÍA..... | 33 |
| IX. APENDICE..... | 39 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Los sitios de recolección que cubren el rango de <i>Araucaria araucana</i> en Chile varían en altitud y variables climáticas. | 12 |
| Tabla 2. Rasgos medidos en plántulas de <i>Araucaria araucana</i> en estudio de jardín común. Descripción de la medición del rasgo con su respectiva unidad de medida. | 14 |
| Tabla 3. Coeficientes de correlación con el R^2 ajustado, entre los rasgos cuantitativos, las variables climáticas y geográficas. Basados en la media de los 12 sitios donde se distribuye <i>Araucaria araucana</i> | 22 |

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

| | |
|---|----|
| Figura 1. Valor promedio de los rasgos (a) biomasa sobre el suelo, (b) biomasa subterránea, (c) número de verticilos, (d) número de ramas, (e) longitud del tallo, (f) diametro basal, (g) largo de la hoja, (h) ancho de la hoja, (i) largo/ancho de la hoja, (j) porcentaje sobrevivencia, (k) porcentaje germinación entre los 12 sitios ubicados a lo largo del rango de distribución natural de <i>Araucaria araucana</i> . Con su respectivo error estándar. Las categoría de color corresponden a la región (Verde =Costa y Azul = Andes). Los códigos para cada población se encuentran en (Tabla 1)..... | 18 |
| Figura 2. Q_{ST} estimado con su intervalo de confianza del 95%. Índice Q_{ST} (en azul) con su respectivo intervalo de confianza (en negro) para cada uno de los 11 rasgos fenotípicos de las plántulas de <i>Araucaria araucana</i> que fueron cultivadas en un experimento de jardín común. El F_{ST} medio esta representado por la línea gris discontinua y horizontal presente en la figura. * representa los rasgos significativamente diferentes ($P < 0,05$)..... | 20 |

RESUMEN

La adaptación local, hace que poblaciones de especies vegetales o animales sean más aptas en su propio hábitat local que en hábitats de otras poblaciones. La comparación Q_{ST} - F_{ST} permite identificar rasgos morfológicos potencialmente bajo adaptación local y si esta divergencia genética cuantitativa entre poblaciones de *Araucaria araucana* es producto de una selección: diversificadora ($Q_{ST} > F_{ST}$), estabilizadora ($Q_{ST} < F_{ST}$) o deriva genética ($Q_{ST} \approx F_{ST}$). Lo anterior toma tal relevancia en proyectos de restauración, donde directrices claras de acción minimizan riesgo de mala adaptación. En este trabajo, se investigaron rasgos que posiblemente desempeñan un papel en la adaptación local de poblaciones del pehuén mediante el uso de comparaciones Q_{ST} - F_{ST} estimadas en un experimento de jardín común.

Se seleccionaron 12 sitios, midieron 11 rasgos y compararon los índices Q_{ST} - F_{ST} . Por cada rasgo se analizó si el ambiente y geografía de origen podrían ser factores de cambio, correlacionándolos con cuatro variables ambientales y dos geográficas. Los resultados mostraron una clara diferenciación entre poblaciones de Cordillera de la Costa versus Andes para cuatro rasgos morfológicos: número de verticilos, número de ramas, largo de la hoja y ancho de la hoja. Estos mismos presentaron valores de $Q_{ST} > F_{ST}$, es decir, si estarían bajo adaptación local. Entre las variables analizadas, solo el rango de temperatura anual ($^{\circ}\text{C}$) podría estar determinando en mayor parte la diferenciación de los rasgos.

En consecuencia, aproximación permite identificar fenotipos adaptados localmente, distinguir poblaciones de especial interés para la conservación y designar zonas de transferencia de semillas apropiadas para proyectos de restauración ecológica.

Palabras clave: adaptación local, variables ambientales, restauración ecológica, selección natural, rango de temperatura anual ($^{\circ}\text{C}$)

ABSTRACT

Local adaptation, making populations of both plant and animal species more suitable in their local habitat than in habitats of other populations. The Q_{ST} - F_{ST} comparison makes it possible to identify morphological traits potentially under local adaptation and if this quantitative genetic divergence between *Araucaria araucana* populations is the product of a diversifying selection ($Q_{ST} > F_{ST}$), a stabilizing selection ($Q_{ST} < F_{ST}$) or genetic drift ($Q_{ST} \approx F_{ST}$). The foregoing is relevant in restoration projects, where clear guidelines for action minimize the risk of maladaptation. In this work, traits that possibly play a role in local adaptation of pehuén populations were investigated using comparisons of Q_{ST} - F_{ST} estimated in a common garden experiment.

Twelve sites were selected, 11 traits measured, and the Q_{ST} - F_{ST} indices were compared. For Each trait, it was analyzed whether the environment and geographical origin could be factors of change, correlating them with four environmental variables and two geographical variables.

The results show a clear differentiation between of the Cordillera the coastal versus Andes populations for four morphological traits: number of whorls, number of branches, leaf length, and leaf width. These same four traits present values of $Q_{ST} > F_{ST}$, that is, if they would be under local adaptation. Among the variables analyzed, only the annual temperature range (°C) could determine the differentiation of the traits between these regions.

Consequently, approach the approach allows identify locally adapted phenotypes, distinguish populations populations of special interest for conservation and designating appropriate seed transfer zones for ecological restoration projects.

Keywords: local adaptation, environmental variables, ecological restoration, natural selection, anual temperatura range (°C).

III. INTRODUCCIÓN

La selección natural, deriva genética, migración y mutación permiten que las especies puedan diferenciarse tanto genéticamente como fenotípicamente a lo largo del tiempo y el espacio (Leinonen *et al.* 2013). El efecto del flujo genético y la selección uniforme suelen producir homogeneidad genética entre poblaciones (Slatkin 1987, Chan y Arcese 2003). Si bien es fundamental detectar y registrar la diferenciación genética que existe dentro y entre poblaciones, también es importante determinar si la causa de ella son procesos selectivos de “adaptación” o procesos neutrales “estocásticos” (Leinonen *et al.* 2013).

La adaptación local es también conocida como una respuesta evolutiva a la selección, la cual hace que las poblaciones, tanto de especies vegetales como animales sean más aptas en su propio hábitat local que en el hábitat de otras poblaciones (Leinonen *et al.* 2013, Marín *et al.* 2020). Cuando hay adaptación local suele verificarse divergencia en rasgos adaptativos, la cual muchas veces es confundida con la plasticidad fenotípica (Gianoli 2004). Un enfoque indirecto para investigar si realmente la adaptación local puede estar implicada en la divergencia fenotípica de las poblaciones es la comparación entre la variación en rasgos cuantitativos (Q_{ST}), con la variación genética neutral (F_{ST}) (Spitze 1993, Merilä y Crnokrad 2001, McKay y Latta 2002, Marín *et al.* 2020)

El índice F_{ST} es utilizado para caracterizar el grado de la estructura genética entre y dentro de las poblaciones a nivel de loci específicos al medir la proporción alélica total (Wright 1951, Holsinger y Weir 2009, Viveros *et al.* 2014), mientras que el Q_{ST} permite estimar la diferenciación de los rasgos cuantitativos para lo cual se debe definir un número apropiado de familias idealmente de múltiples poblaciones, de réplicas para que la evaluación de los rasgos sea lo más precisa posible (Spitze 1993, Merilä y Crnokrad 2001, McKay y Latta 2002). La magnitud de las diferencias entre estos dos estimadores permite inferir el grado de adaptación local de las poblaciones (McKay y Latta 2002) al mostrar el papel que cumple la selección en la divergencia de las poblaciones, con respecto al efecto

ocasionado por la deriva genética (Spitze 1993, Merilä y Crnokrad 2001, Viveros *et al.* 2014)

La comparación F_{ST} - Q_{ST} puede ser utilizada para identificar que rasgos posiblemente desempeñan un papel en la adaptación local (Whitlock 2008, Marín *et al.* 2020). A pesar del potencial sesgo en la selección de las poblaciones (O'Hara y Merilä 2005) en muchos estudios para las comparaciones Q_{ST} - F_{ST} , se reconoce su utilidad como herramienta exploratoria para detectar rasgos que están bajo selección, pero para los cuales no hay gran información asociada. En esta misma línea, dichas comparaciones pueden ser una aproximación para identificar rasgos adaptativos evitando buscar señales de selección directamente en el genoma mediante análisis con marcadores moleculares y ambiente; así solo mediante experimentos de jardín común o trasplantes recíprocos poder decidir si las poblaciones en estudio deben considerarse unidades de gestión o conservación separadas.

Autores como Reed y Frankham (2001) muestra una débil asociación entre ambas técnicas al momento de evaluar la variación genética, concluyendo que la diferenciación que revelan los marcadores moleculares puede predecir la diferenciación en los rasgos cuantitativos. Análogamente autores como McKay *et al.* (2002) sugieren que Q_{ST} suele ser mayor que F_{ST} y suele estar poco correlacionado con este, también indican que los marcadores y los rasgos cuantitativos pueden comportarse de diferente manera con respecto a la divergencia adaptativa de las poblaciones por lo cual es necesario ser minucioso al momento de pretender extrapolar información de un rasgo a otro (Viveros *et al.* 2014).

Utilizar la comparación Q_{ST} - F_{ST} permite estimar si la diferenciación genética cuantitativa de los rasgos entre las poblaciones puede ser producto de : En primer lugar, si $Q_{ST} > F_{ST}$ significa que en el grado de diferenciación de los rasgos cuantitativos debe haber intervenido la selección natural diversificadora que favorece distintos fenotipos en las poblaciones. En segundo lugar, si $Q_{ST} < F_{ST}$ el grado de diferenciación observado es

producto de la acción de la selección natural estabilizadora que favorece el mismo fenotipo promedio en cada población. Finalmente en tercer lugar, si $Q_{ST} \approx F_{ST}$ el grado de diferenciación observado en los rasgos cuantitativos podría haberse obtenido solo por deriva genética, es decir actuaría la divergencia neutra. Sin embargo, esto no prueba que el grado de diferenciación fuera causado por deriva sino solo que los efectos de la deriva y selección no pueden distinguirse. (Spitze 1993, Merilä y Crnokrad 2001, McKay *et al.* 2002, O'Hara y Merilä 2005, Whitlock 2008, Leinonen *et al.* 2013, Viveros *et al.* 2014)

En este trabajo, se investigó los rasgos que posiblemente desempeñan un papel en la adaptación local de poblaciones de una especie icónica de Chile mediante el uso de comparaciones indirectas de Q_{ST} - F_{ST} estimadas en un experimento de jardín común. La especie en estudio *Araucaria araucana* (Molina) comúnmente conocida como pewen o Araucaria, árbol endémico de Chile central (37° 31' a 39° 30') y Argentina (37° 45' a 40° 20') (Aagesen 1998), tiene un excepcional valor cultural-espiritual y económico para el pueblo Mapuche Pewenche (Herrmann 2005). Esta conífera puede alcanzar hasta 50 m de altura; 2,5 m de circunferencia y edades de al menos 1300 años (Montaldo 1974), crece en suelos volcánicos o rocosos presentando una serie de adaptaciones tal como corteza gruesa y brotes epicórmicos que le permiten sobrevivir a disturbios o perturbaciones como los incendios forestales (Veblen 1982, Burns 1993). Es polinizada por el viento, presenta un lento crecimiento y su regeneración es generalmente deficiente por su baja tasa de dispersión (Aagesen 1998). Desde 1976 se encuentra protegida en Chile bajo la condición de Monumento Nacional y también internacionalmente en virtud de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna Y Flora Silvestres (CITES) (Rafii y Dodd 1998), No obstante su conservación es motivo de preocupación debido a la extensa tala histórica y presiones antrópicas por ejemplo, el establecimiento humano, aumento en la intensidad de los incendios, depredación de semillas por parte de fauna exótica o ganado doméstico, establecimiento de especies exóticas invasoras, entre otras. (Gallo *et al.* 2004, Martín *et al.* 2014).

La distribución geográfica del Pewen abarca un fuerte gradiente ecológico, dividiéndose en zonas bien delimitadas entre un área principal a ambos lados de la Cordillera de los Andes entre Chile y Argentina, más dos poblaciones disjuntas en la Cordillera de la Costa de Chile (Bekessy *et al.* 2002). Debido a esta distribución, cabe esperar cierto grado de diferenciación genética entre las poblaciones, lo que ha sido evaluado por diferentes estudios (Bekessy *et al.* 2003, Ruiz *et al.* 2007, Martín *et al.* 2014, McItoosh *et al.* 2021)

Investigadores como Delmastro y Donoso (1980) especularon sobre la existencia de esta divergencia entre poblaciones de la Costa y de los Andes solo observando diferencias en la forma de las plantas. Esto fue el comienzo de iniciativas para estudiar el nivel y distribución de la variabilidad genética entre las poblaciones de *A. araucana*, con el fin de identificar poblaciones de especial interés para la conservación e incluso designar zonas apropiadas de transferencia de semillas. Rafii y Dodd (1998) investigaron la proporción de los alcanos de la cera epicuticular foliar encontrando mayores diferencias dentro las poblaciones ubicadas en la Cordillera de los Andes, que entre poblaciones Andinas y Costeras, lo que permitió inferir una cierta adaptación genética a condiciones más áridas del lado oriental de los Andes. Luego se comenzó a utilizar marcadores moleculares a pesar que los resultados han mostrado contradicciones sobre la distribución de los recursos genéticos dentro de la especie con esta aproximación (Bekessy *et al.* 2002, Ruiz *et al.* 2007, Marchelli *et al.* 2010). Bekessy *et al.* (2003) demostró que los marcadores neutrales no sirven para detectar la divergencia genética en rasgos de importancia ecológica de la especie como es la tolerancia a la sequía y Martín *et al.* (2014) utilizando ocho marcadores micro satelitales identifico cinco grupos genéticos diferentes.

Debido a todas las amenazas que afectan a *A. araucana* su actual estado de conservación es preocupante. Según la IUCN y el Ministerio del Medio Ambiente, las poblaciones de la Cordillera de Costa están en Peligro de extinción y las poblaciones de la Cordillera de los Andes están Vulnerables (Sepúlveda *et al.* 2020). Un estudio de la divergencia en rasgos morfológicos permite conocer que tan adaptadas están las poblaciones a su distribución natural y si se diferencian significativamente entre regiones. Por otra parte,

se logra identificar variables climáticas que puedan estar siendo un factor de cambio de estos rasgos y que tipo de fuerza de selección podría estar actuando en primera instancia. Dicho conocimiento permite realizar una mejor gestión en la conservación de la especie, conociendo que poblaciones son prioritarias e identificar zonas de transferencias de semillas apropiadas para una restauración ecológica más segura.

El objetivo general de este estudio es comparar los índices Q_{ST} - F_{ST} para determinar indirectamente rasgos morfológicos que pueden estar bajo adaptación local.

Objetivos específicos :

- (a) Determinar si existe diferenciación fenotípica en 11 rasgos morfológicos en plántulas de *A. araucana* provenientes de poblaciones distribuidas a lo largo del rango de distribución de la especie.
- (b) Evaluar si los rasgos que difieren entre poblaciones están potencialmente involucrados con la adaptación local a través de la comparación de los índices de Q_{ST} - F_{ST} .
- (c) Identificar si la diferenciación fenotípica de los rasgos está asociada con el clima de origen de las poblaciones.

IV. METODOLOGÍA

4.1 Sitios de estudio

Se seleccionaron 12 sitios a lo largo de toda la distribución de *A. araucana* en la Cordillera de la Costa y los Andes, abarcando gradientes de elevación (664-1227 m), precipitaciones (desde 1100 hasta 2219 mm) y temperaturas (entre los 6.1 a 9.6 °C) (Tabla 1). Los sitios se ubicaron dentro de los cinco grupos genéticos (dos costeros y tres andinos) identificados previamente en un enfoque de genética de paisaje realizado por Martín *et al.* (2014).

Tabla 1. Los sitios de recolección que cubren el rango de *Araucaria araucana* en Chile varían en altitud y variables climáticas.

| Sitio | Región | Código | Familias | Latitud | Alt (m) | PAM (mm) | TAM (°C) | RAT (°C) | TDR (°C) |
|-------------------|--------|--------|----------|---------|---------|----------|----------|----------|----------|
| PN Nahuelbuta | Costa | NAH | 6 | -37.805 | 1269 | 1604 | 6.1 | 19.9 | 11.34 |
| Villas Araucarias | Costa | ARA | 5 | -38.495 | 664 | 1501 | 8.9 | 19.4 | 11 |
| RN Ralco | Andes | RAL | 18 | -37.939 | 1239 | 1696 | 8.8 | 25.4 | 14.46 |
| RN Las Nalcas | Andes | NAL | 11 | -38.269 | 976 | 2219 | 9.6 | 24.7 | 14.1 |
| RN Malalcahuello | Andes | MAL | 8 | -38.425 | 1382 | 1765 | 7.7 | 24.3 | 13.76 |
| Lonquimay | Andes | LON | 2 | -38.426 | 1376 | 1632 | 8.1 | 24.7 | 13.97 |
| PN Conguillio | Andes | CON | 9 | -38.647 | 1236 | 1860 | 7.9 | 23.6 | 13.38 |
| PN Huerquehue | Andes | HUE | 4 | -39.172 | 1378 | 1464 | 6.7 | 23.0 | 12.90 |
| Cruzaco | Andes | CRU | 3 | -38.800 | 1424 | 1138 | 7.9 | 24.7 | 14.01 |
| Icalma | Andes | ICA | 6 | -38.819 | 1195 | 1355 | 8.7 | 24.4 | 13.95 |
| Marimenuco | Andes | MAR | 2 | -38.762 | 1401 | 1110 | 8.2 | 24.4 | 14.16 |
| PN Villarica | Andes | VIL | 7 | -39.569 | 1187 | 1145 | 7.5 | 23.0 | 12.85 |

Fuente: Meltosh *et al.* (2021)

Nota: La región se refiere a la Cordillera de origen de las poblaciones (Costa y Andes). Los códigos corresponden a los sitios. Las familias al número de árboles madre muestreados en cada sitio. Las medias de las variables climáticas se calculan accediendo a datos de Worldclim. La coordenada de latitud de cada familia (se obtuvo de cada árbol de donde se mostraron las semillas y se calculó un promedio). Se calcularon las medias a nivel de sitio. PN = Parque Nacional, RN = Reserva Nacional. Alt. = altitud media

(m), PAM = precipitación media anual (mm), TAM = temperatura media anual (°C) , RAT = rango de temperatura anual (temperatura máxima – temperatura mínima) (°C) y TDR = temperatura rango diurno (°C)

4.2 Recolección de semillas y crecimiento de plántulas

En cada uno de los sitios se recolectaron muestras de los árboles que tenían semillas disponibles el año 2018 durante el momento de la recolección, con una distancia mínima de 1500 m entre ellos. El número de los individuos muestreados varió dependiendo de cuales estaban produciendo semillas, no fueron seleccionados al azar y muchos fueron muestreados lo largo de caminos o senderos por existir un mayor acceso. Las semillas de cada árbol individual de cada uno de los 12 sitios muestreados fueron consideradas como una familia .

Posteriormente, las plántulas fueron cultivadas en un invernadero en Yumbel, Región del Biobío; durante un año estas recibieron agua dos veces al día dependiendo de la temperatura. Después del año un subconjunto de estas plantas fueron trasladadas a un invernadero al aire libre dentro de la Universidad de Concepción en el cual permanecieron aproximadamente un mes para realizar la medición de los rasgos. Las bandejas que contenían las plántulas no se asignaron al azar, sin embargo, fueron rotadas regularmente para eliminar los efectos de invernadero, además fueron mantenidas en sombra regadas una vez al día.

4.3 Análisis de rasgos

Para evaluar la variación a nivel de sitio se midió un conjunto de rasgos en un número variado de familias por sitio, en su totalidad fueron 81 familias para el conjunto de los 12 sitios.

Se conto el número de verticilos (ramas opuestas que se originan en un solo punto) y de ramas de cada plántula y se midió la longitud del tallo, el diámetro basal, la biomasa subterránea y sobre el suelo, el porcentaje de germinación y supervivencia. Además, se midió el largo y la ancho de las tres hojas mas largas para calcular la longitud y la anchura medias de las hojas. En la Tabla 2 se incluyen descripciones adicionales de las medidas de los rasgos y sus unidades.

Tabla 2. Rasgos medidos en plántulas de *Araucaria araucana* en estudio de jardín común. Descripción de la medición del rasgo con su respectiva unidad de medida.

| Rasgos | Descripción rasgos |
|-------------------------------------|---|
| Biomasa sobre el suelo | Masa seca de tejido aéreo (g) |
| Biomasa subterránea | Masa seca del tejido subterráneo (g) |
| Número de verticilos | Número de verticilos de las ramas (nº) de cada plántula. |
| Número de ramas | Número de ramas (nº) de cada plántula. |
| Longitud del tallo | Longitud por encima/por debajo de la separación del tejido del suelo hasta la parte superior de la yema apical (cm) |
| Diámetro basal | Diámetro en la separación del tejido por encima/por debajo del suelo (mm) |
| Largo de la hoja | Longitud media de las 3 hojas mas largas (cm) |
| Ancho de la hoja | Anchura media de las 3 hojas más anchas (mm) |
| Porcentaje de germinación | Proporción de semillas que germinación |
| Porcentaje de supervivencia (1 año) | Proporción de semillas que sobrevivieron |
| Largo/ancho de la hoja | Longitud media de las 3 hojas mas largas (cm)/ Anchura media de las 3 hojas más anchas (mm) |

Fuente: McIltosh *et al.* (2021)

4.3.1 Cambios en rasgos fenotípicos con el clima de origen de las poblaciones. Para probar si los rasgos mostraban relaciones con las variables climáticas, se calculó el coeficiente de correlación Spearman y el R^2 ajustado entre las medias de los rasgos de la población con cada una de las variables climáticas (Tabla 3).

Los datos de las variables climáticas fueron extraídos del estudio realizado por Meltosh *et al* 2021, donde fue recolectado de las base de datos como: WorldClim, TerraClimate y SoilGrids , para las coordenadas GPS de cada una de las familias por sitio (Tabla 1)

4.5 Análisis de base de datos.

Antes de hacer la comparación de los índices de Q_{ST} y F_{ST} para cada uno de los rasgos medidos en las plántulas se realizaron ciertas modificaciones a cada una de las bases de datos. En primer lugar, dado que no todos los individuos se les midieron todos los rasgos que fueron parte del análisis genético, fueron excluidos del análisis los rasgos que no tenían información asociada (sin datos) en ambas bases a la vez. En segundo lugar, ya que con todos los SNPs obtenidos en el el trabajo de Sepúlveda *et al.* (2020) el valor del F_{ST} era muy bajo se optó por filtrar el total y utilizar un total de 182 SNPs.

4.6 Comparación de Q_{ST} - F_{ST}

Con todas estas modificaciones las matrices de datos fueron transformadas al formato necesario por el script del paquete de R utilizado: QSTFSTCOMP creado por Gilbert y Whitlock (2015) y de esta manera obtener una serie de parámetros a analizar : La diferencia de Q_{ST} - F_{ST} con su respectivo valor p , el Q_{ST} estimado y el F_{ST} estimado con sus respectivos intervalos de confianza.

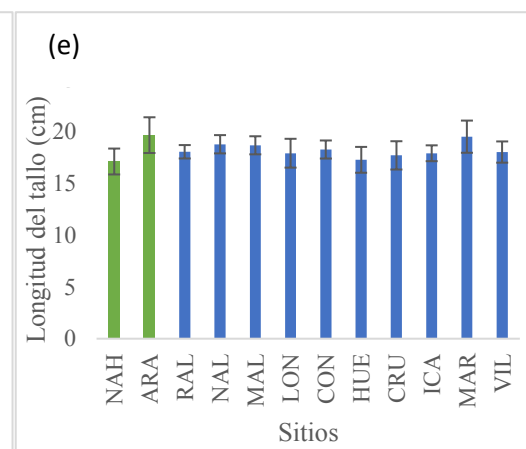
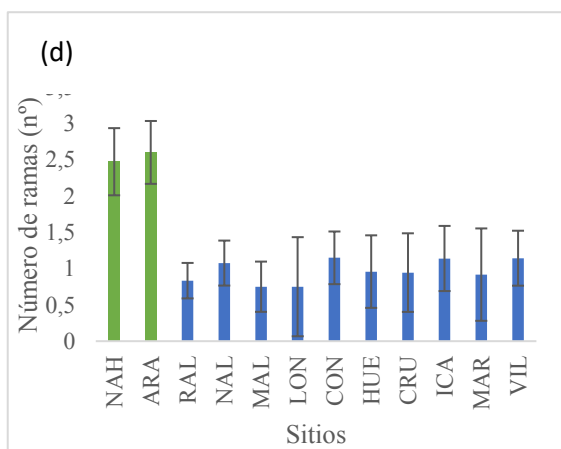
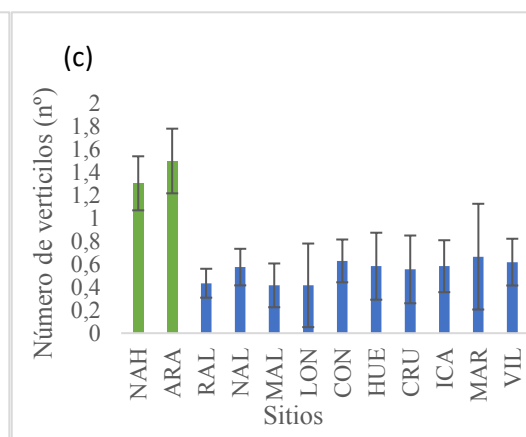
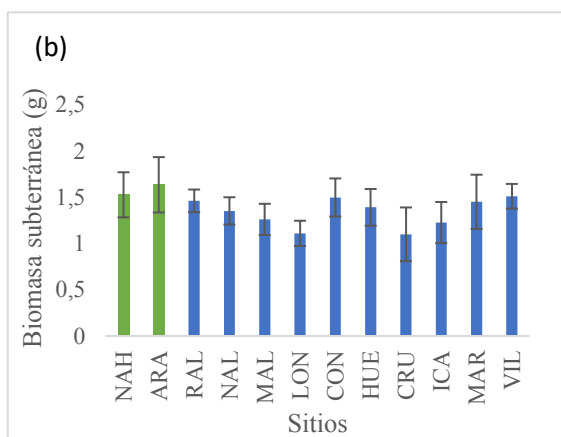
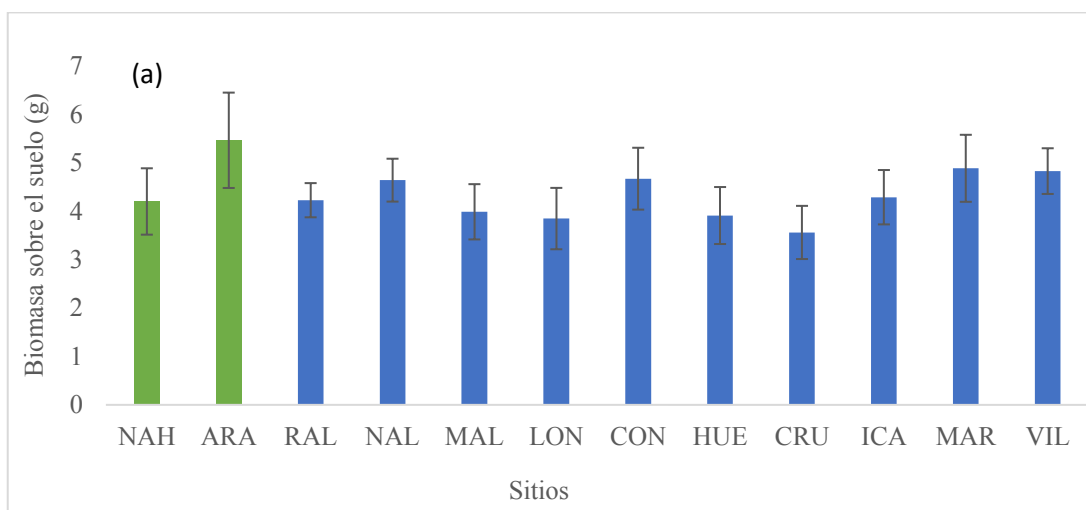
V. RESULTADOS

5.1 Diferenciación fenotípica en rasgos morfológicos entre poblaciones ubicadas a lo largo del rango de distribución de la especie

Se observó una clara diferenciación entre las poblaciones de la Cordillera de la Costa y la Cordillera de los Andes para cuatro rasgos (Figura 1). Por un lado en la Costa las poblaciones tendieron a tener un mayor número de ramas, número de verticilos y un menor largo de la hoja, ancho de la hoja. Mientras que las provenientes de los Andes tienden a albergar Araucarias con un menor número de ramas, número de verticilos pero con hojas mas largas y mas anchas.

Por otro lado, las poblaciones no fueron diferenciadas significativamente en el resto de los siete rasgos cuantitativos (Biomasa sobre el suelo, Biomasa subterránea, largo/ancho de la hoja, Porcentaje sobrevivencia, Porcentaje germinación, diámetro basal y longitud del tallo), no observando un patrón a lo largo de la distribución de la especie.

Dentro de cada Cordillera, en el caso de la Costa la población de Villa las Araucarias presentó en promedio valores mas altos para 10 de los 11 rasgos morfológicos medidos. A diferencia de la Cordillera de los andes donde no se observó un patrón establecido, sin embargo, se encontró una leve tendencia de las poblaciones Cruzaco e Icalma a tener los valores mas bajos (Figura 1).



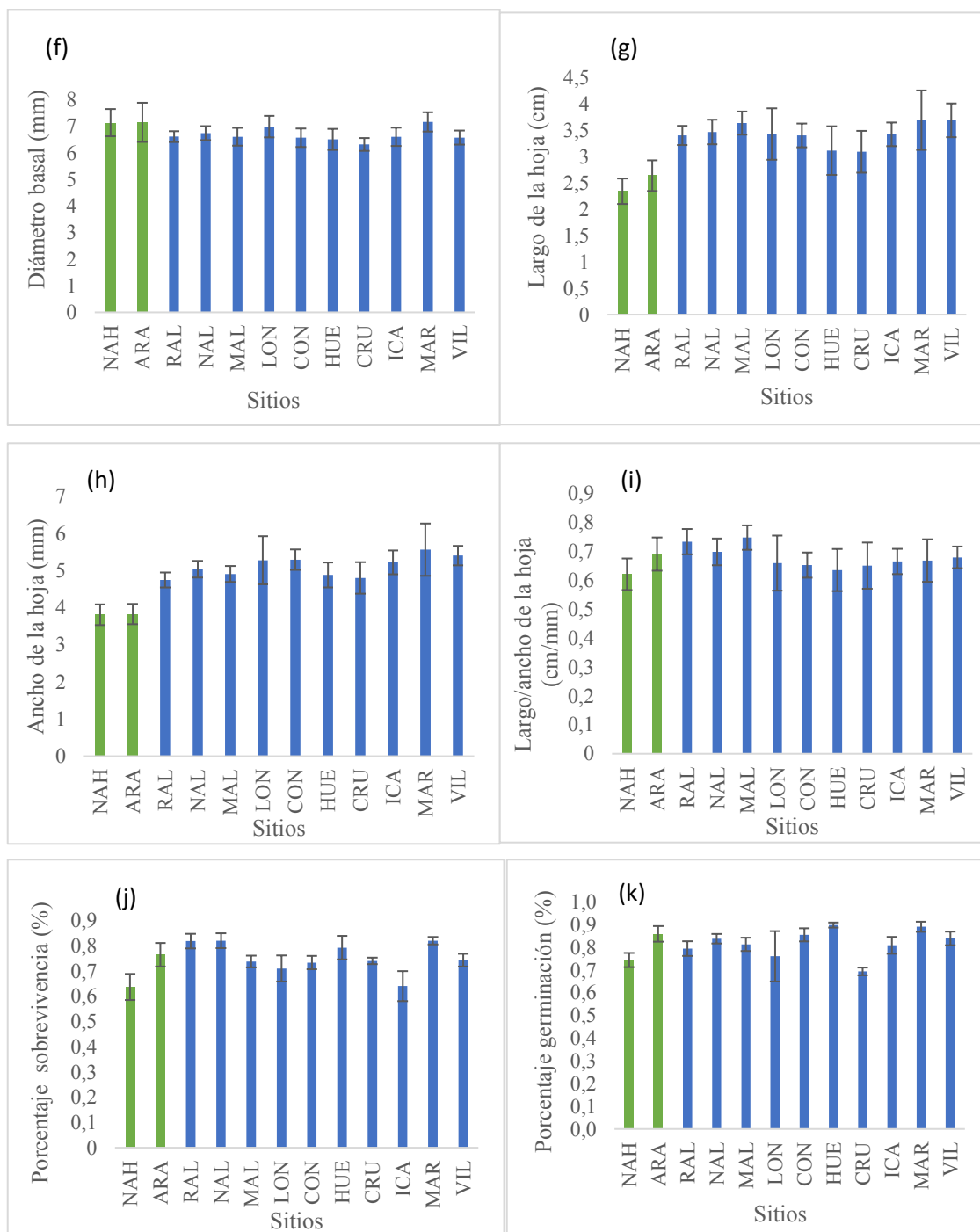


Figura 1. Valor promedio de los rasgos (a) biomasa sobre el suelo, (b) biomasa subterránea, (c) número de verticilos, (d) número de ramas, (e) longitud del tallo, (f) diámetro basal, (g) largo de la hoja, (h) ancho de la hoja, (i) largo/ancho de la hoja, (j) porcentaje sobrevivencia, (k) porcentaje germinación entre los 12 sitios ubicados a lo largo del rango de distribución natural de *Araucaria araucana*. Con su respectivo error estándar. Las categorías de color corresponden a la región (Verde =Costa y Azul = Andes). Los códigos para cada población se encuentran en (Tabla 1).

5.2 Comparación de Q_{ST} y F_{ST}

Los valores de Q_{ST} fueron mayores que los valores de F_{ST} para cuatro rasgos (número de verticilos, número de ramas, largo de la hoja y ancho de la hoja (Figura 2), indicando que estos rasgos potencialmente están bajo la acción de selección natural diversificadora. Por otro lado, los valores de Q_{ST} fueron menores que los valores de F_{ST} para cinco rasgos (Biomasa sobre el suelo, biomasa subterránea, longitud del tallo, porcentaje de germinación, largo/ancho de la hoja (Figura 2), Mientras que para dos rasgos (diámetro basal y porcentaje de sobrevivencia) el valor de la diferencia entre Q_{ST} y F_{ST} fue muy cercano a cero, es decir, para el caso de estos siete rasgos no habría evidencia significativa que los rasgos son diferentes y no se conoce si estarían bajo la acción o efecto de una selección estabilizadora o deriva genética.

Las estimaciones de los valores Q_{ST} variaron desde -0,44 para el largo/ancho de la hoja hasta 0,206 para el número de verticilos (Figura 2), para mayor detalle se puede encontrar los valores en apéndice (Tabla A.1). Las poblaciones se diferenciaron significativamente en cuatro de los 11 rasgos cuantitativos. Todos los rasgos relacionadas con la hoja y las ramas mostraron valores de Q_{ST} significativamente diferentes de cero.

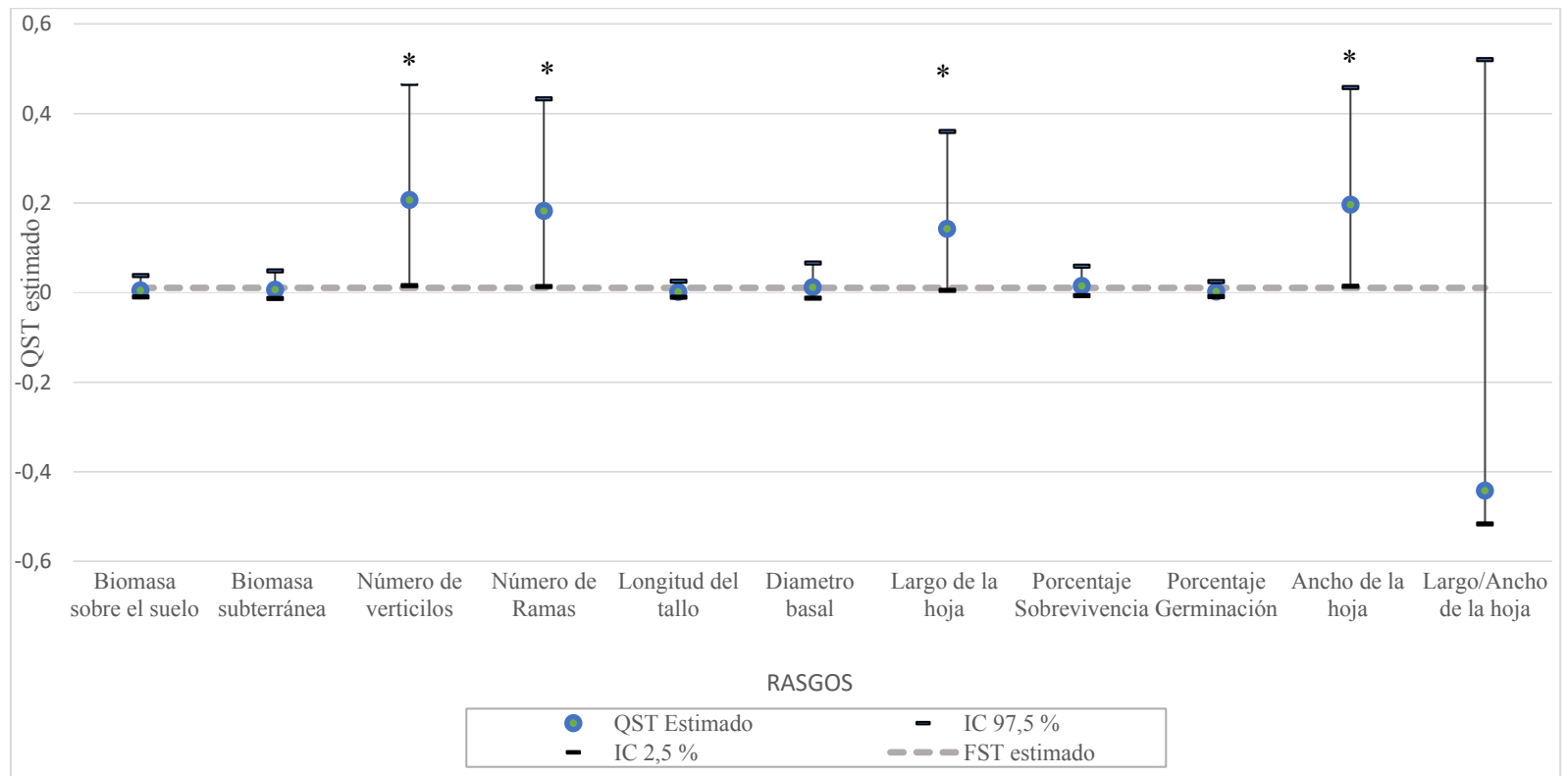


Figura 2. Q_{ST} estimado con su intervalo de confianza del 95%. Índice Q_{ST} (en azul) con su respectivo intervalo de confianza (en negro) para cada uno de los 11 rasgos fenotípicos de las plántulas de *Araucaria araucana* que fueron cultivadas en un experimento de jardín común. El F_{ST} medio esta representado por la línea gris discontinua y horizontal presente en la figura. * representa los rasgos significativamente diferentes ($P < 0,05$)

5.3 Cambios en rasgos fenotípicos con el clima de origen de las poblaciones

De las variables climáticas y geográficas solo tres presentaron alguna correlación (R^2 ajustado $p < 0,05$), en cuanto a si la correlación fue significativa (Coeficiente de Spearman $p < 0,05$) fueron cuatro que presentaron una correlación significativa con al menos uno de los rasgos medidos, destacando la correlación negativa entre el rango de temperatura anual ($^{\circ}\text{C}$) (RAT) y el número de ramas donde la correlación fue prácticamente muy significativa ($p < 0,006$). También existió una correlación negativa, de este rasgo con dos variables más la altitud media ($p < 0,023$) y la Temperatura rango diurno ($p < 0,011$) es decir, a mayor RAT, Alt o TDR menor es el número de ramas. El número de verticilos solo presentó una correlación significativa ($p < 0,019$) con el Rango de temperatura anual (RAT). En el caso del largo/ancho de la hoja y la longitud del tallo se encontró una correlación significativa con la temperatura media anual, con un ($p < 0,049$) y ($p < 0,020$) respectivamente. Con respecto a la Biomasa subterránea existe una correlación significativa con el Rango de Temperatura Anual ($p < 0,027$) y la biomasa sobre el suelo se correlacionó significativamente con la altitud media ($p < 0,039$) (Tabla 3).

Además destacar que tres de los rasgos (número de verticilos, biomasa subterránea y número de ramas) se correlacionaron negativamente con el RAT ($^{\circ}\text{C}$). Por otro lado, no hubo correlación entre la latitud, precipitación media anual (PAM) y alguno de los rasgos medidos. (Tabla 3).

En general las correlaciones entre los rasgos cuantitativos y las variables climáticas y/o geográficas fueron altas para solo cuatro de los 11 rasgos medidos en las plántulas de *A. araucana*.

Tabla 3. Coeficientes de correlación con el R² ajustado, entre los rasgos cuantitativos, las variables climáticas y geográficas. Basados en la media de los 12 sitios donde se distribuye *Araucaria araucana*.

| RASGOS | Latitud | | Alt (m) | | PAM (mm) | | TAM (°C) | | TDR (°C) | | RAT(°C) | |
|--------------------------|----------|----------------|---------------|----------------|----------|----------------|--------------|----------------|---------------|----------------|---------------|----------------|
| | Spearman | R ² | Spearman | R ² | Spearman | R ² | Spearman | R ² | Spearman | R ² | Spearman | R ² |
| Biomasa Sobre el Suelo | 0,10 | 0,011 | -0,62* | 0,58 | -0,06 | 0,001 | 0,41 | 0,143 | -0,19 | 0,18 | -0,29 | 0,203 |
| Biomasa Subterránea | -0,16 | 0,004 | -0,52 | 0,31 | 0,07 | 0,004 | -0,10 | 0,010 | -0,57 | 0,40 | -0,63* | 0,41 |
| Número de Verticilos | 0,15 | 0,064 | -0,36 | 0,41 | -0,31 | 0,006 | -0,07 | 0,032 | -0,56 | 0,83 | -0,66* | 0,885 |
| Número de Ramas | 0,12 | 0,095 | -0,64* | 0,42 | -0,05 | 0,000 | -0,06 | 0,038 | -0,70* | 0,84 | -0,74* | 0,893 |
| Longitud del tallo | -0,17 | 0,0001 | -0,33 | 0,26 | 0,24 | 0,004 | 0,65* | 0,415 | 0,19 | 0,00 | 0,12 | 0,0004 |
| Diametro basal | -0,55 | 0,175 | -0,19 | 0,12 | 0,06 | 0,001 | 0,39 | 0,00002 | 0,05 | 0,21 | 0 | 0,257 |
| Largo de la hoja | 0,24 | 0,185 | 0,06 | 0,12 | -0,04 | 0,001 | 0,14 | 0,149 | 0,41 | 0,63 | 0,37 | 0,658 |
| Ancho de la hoja | 0,50 | 0,295 | 0,04 | 0,23 | -0,17 | 0,022 | 0,04 | 0,050 | 0,27 | 0,59 | 0,25 | 0,619 |
| Largo/ancho de la hoja | -0,27 | 0,042 | -0,32 | 0,05 | 0,34 | 0,106 | 0,58* | 0,315 | 0,32 | 0,12 | 0,30 | 0,122 |
| Porcentaje Supervivencia | 0,06 | 0,01 | -0,05 | 0,01 | -0,06 | 0,020 | 0,46 | 0,181 | 0,44 | 0,11 | 0,34 | 0,118 |
| Porcentaje Germinación | 0,43 | 0,156 | -0,22 | 0,08 | -0,09 | 0,005 | 0,07 | 0,019 | -0,23 | 0,01 | -0,36 | 0,008 |

En color negro = correlaciones de Spearman y R² mayores al 0,50 . Nivel de significancia Correlación Spearman : *Significativo = valor P < 0,05. **Muy Significativo = valor P < 0,001. Alt = Altitud (m) , PAM = Precipitación media anual (mm), TAM = Temperatura media anual (°C), TDR = Temperatura rango diario (°C) , RAT = Rango de temperatura anual (°C).

VI. DISCUSIÓN

6.1 Variación de los rasgos Cuantitativos

El encontrar diferencias en los rasgos entre las regiones, donde por un lado la cantidad de ramas y de verticilos es mayor en la Cordillera de la Costa, en comparación con la Cordillera de los Andes, que los individuos presentan un menor número de ramas y verticilos da un claro ejemplo de que tan diferenciadas están las poblaciones. Lo contrario sucede con el largo y ancho de la hoja, donde las poblaciones de los Andes son las que tienen las hojas más largas y anchas que las de la Costa. Esta variación en los cuatro rasgos relacionados con la hoja (verticilos, ramas, largo de la hoja y ancho de la hoja) podría deberse a una respuesta adaptativa de la especie a presiones ambientales como la aridez, competencia, estrés hídrico o heladas tempranas durante el otoño (Jaramillo-Correa *et al.* 2001). En este estudio, las correlaciones entre los rasgos cuantitativos y las variables geográficas y/o climáticas son en general moderadas, reflejando quizás la capacidad de *A. araucana* para adaptarse a condiciones ambientales tan variables.

Si bien las correlaciones significativas no son entre todos los rasgos cuantitativos y las variables ambientales asociadas, mediante el análisis de Spearman, los cuatro rasgos mencionados anteriormente, están siendo afectados por la selección divergente, la variable ambiental que estaría ejerciendo esta fuerza de selección es el Rango de temperatura anual (RAT) que corresponde a las Temperaturas máximas – Temperaturas mínimas. Al hacer una comparación con lo encontrado por autores como Delmastro y Donoso (1980) se observa una concordancia en los resultados encontrando que estas diferencias pueden ser producto de la ubicación de las poblaciones en dos condiciones totalmente diferentes, por un lado el mayor número de ramas y verticilos en la Costa puede estar asociado al clima templado lluvioso, una humedad relativa relativamente mayor, una brecha entre las temperaturas mínimas y máximas menores (Aguilar *et al.* 2013) a diferencia de lo que ocurre en la Cordillera de los Andes, donde el menor número de ramas y verticilos podría ser por el clima templado cálido, donde predomina el frío, con temperaturas mucho más

bajas, con veranos mas secos por la intensificación de la sequía y el aumento en la intensidad de las heladas que estaría influyendo en la perdida de las ramas (Pérez & Villagrán 1994) . Así, el clima de origen si estaría significativamente correlacionado con las diferencias de rasgos entre las poblaciones, sugiriendo que el gran gradiente climático experimentado por las poblaciones en sus respectivas regiones es un agente de selección dado que, las poblaciones mostraron una adaptación en los rasgos morfológicos asociados a la hoja y las ramas a lo largo de su distribución.

En cuanto a los niveles de diferenciación poblacional de *A. araucana* para los rasgos cuantitativos (Q_{ST}) que varían entre -0,44 y 0,206, estimaciones de Q_{ST} de las cuales solo cuatro rasgos son significativamente mayores que cero (número de ramas, número de verticilos, el largo de la hoja y ancho de la hoja (Tabla 3) sugiriendo que estos caracteres particulares se han adaptado en respuesta a las diferencias regionales detectadas en los factores climáticos. Ahora bien, las poblaciones la Cordillera de la Costa y la Cordillera de los Andes están significativamente diferenciadas con respecto a los cuatro rasgos mencionados anteriormente, del total de 11 rasgos morfológicos (asociados a la hoja, apoyando así una hipótesis de selección divergente de múltiples rasgos ($Q_{ST} > F_{ST}$) (Figura 1), mientras que los otros rasgos mostraron evidencia significativa de diferenciación (Figura 1). Esta heterogeneidad ambiental y la interacción genotipo-ambiente parecen tener un papel importante en la diferenciación cuantitativa cuando el flujo de genes es alto.

Algunos factores ecológicos importantes (Temperatura de rango diurno, Rango de temperatura anual) explican la mayor parte de la diferenciación en los rasgos que presenta en esta especie. A su vez, medidas relativas de divergencia entre poblaciones, como el Q_{ST} , dependen intrínsecamente de la extensión de la diversidad intrapoblacional.

Al comparar con otras especies de árboles, también se manifiestan valores significativos de Q_{ST} por ejemplo estudios hechos con *Pinus contorta* (Douglas ex Louden), sin embargo

para ese caso en los rasgos afectados por una selección están relacionados con caracteres de crecimiento de tallo y capacidad reproductiva (Jaramillo-Correa *et al.* 2001) a diferencia de lo que ocurre con *A. araucana* donde son rasgos morfológicos y se encuentran asociado a las hojas, además como los rasgos de crecimiento en este caso (diámetro basal y longitud del tallo) no están bajo selección adaptativa es un indicador que la especie no experimenta gran competencia con plantas vecinas. Dada su longevidad, sus características morfológicas y las condiciones climáticas a las cuales se encuentra adaptada, no es sorprendente que esta conifera haya experimentado diversas presiones de selección y que probablemente fueran inducidas por patrones regionales de precipitación, temperatura, humedad relativa o viento, dando como resultado poblaciones únicas (diferenciadas) adaptadas a sus propios ambientes, es decir, si la selección natural ha influido en los fenotipos de los individuos dando como resultado ecotipos adaptados localmente por las condiciones ambientales tan marcadas en que se encuentra cada población (Leimu & Fisher 2008), en si, el grado de diferenciación observado de los rasgos entre las poblaciones finalmente puede ser producto de procesos adaptativos o estocásticos.

6.2 Rasgos Cuantitativos Vs Marcadores genéticos

Partiendo de la base que tanto los marcadores genéticos (SNPs) como los rasgos cuantitativos se ven afectados por los cambios en las poblaciones, algunos biólogos y conservacionistas han sugerido que la variación en ambos tipos de caracteres podría estar correlacionada, sin embargo a menudo existe una escasa correlación entre la variación de los marcadores moleculares y la variación cuantitativa para los rasgos de importancia adaptativa (Pfrender 2000, Reed y Frankham 2001, Bekessy *et al.* 2003).

La medida F_{ST} (proporción de variación entre poblaciones en los loci marcadores) se compara con Q_{ST} , una medida análoga para los rasgos cuantitativos (Prout & Barker 1993). Esta última se define como $Q_{ST} = V_B / (V_B + 2V_A)$, donde V_B es la varianza entre poblaciones (se supone que es totalmente aditiva) y V_A la varianza genética aditiva dentro

de la población. Si los rasgos morfológicos muestran una mayor diferenciación que los marcadores neutros ($Q_{ST} > F_{ST}$), los investigadores concluyen que la selección divergente es la responsable (Yang *et al.* 1996, McKay & Latta 2002,). La comparación indirecta de la diferenciación basada en datos cuantitativos (Q_{ST}) y moleculares (F_{ST}) sugiere que al menos cuatro de los rasgos cuantitativos analizados han sido influenciados por la selección natural diversificadora (largo de la hoja, ancho de la hoja, número de ramas, número de verticilos) . Esta diferenciación de los rasgos cuantitativos dentro de una población no sólo se produce por el aislamiento y la deriva, sino también por la adaptación a condiciones ambientales contrastadas (es decir, la selección), por ejemplo el tamaño de las hojas se ve afectado por factores climáticos, especialmente insolación (Potts y Jordan 1994).

Los siete rasgos restantes (Biomasa sobre el suelo, Biomasa subterránea , Longitud del tallo, largo/ancho de la hoja, Porcentaje de Germinación, diámetro basal y Porcentaje de supervivencia) presentaron valores de $Q_{ST} \leq F_{ST}$ lo que sugiere que no hay diferencia significativa que son diferentes, es decir, pueden permanecer relativamente uniforme en las poblaciones o tener influencia de factores mas estocásticos, este ultimo factor es bastante improbable en la mayoría de las coníferas por ejemplo en Picea blanca, teniendo en cuenta los altos niveles de diversidad genética dentro de las poblaciones, el gran tamaño de las mismas y el alto flujo de genes entre las poblaciones (Govindaraju 1988) o dado que fueron evaluados en condiciones controladas en un jardín común quizás tiene un efecto sobre la variación entre las plántulas a diferencia de lo que podría ocurrir en condiciones naturales.

Los resultados apoyan la idea de que las comparaciones Q_{ST} - F_{ST} son un buen primer paso para explorar los posibles papeles de la selección natural divergente y los procesos evolutivos neutros en la divergencia fenotípica. Autores como Whitlock (2008), Edelaar *et al.* (2011) y Whitlock & Gilbert (2012) han destacado cómo los rasgos pueden utilizarse para identificar las posibles presiones ecológicas que subyacen a la selección natural, con

algunos rasgos potencialmente implicados en la adaptación por ejemplo de *A. majus* a las condiciones de los lugares de origen locales de las poblaciones, y un subgrupo de estos rasgos que podrían desempeñar un papel en la adaptación de *A. m. striatum* a la altitud.

Para especies de coníferas, las diferencias entre la diferenciación molecular (F_{ST}) y la de rasgos cuantitativos (Q_{ST}) es ligera en algunas especies como *Pino halepensis* Mill., 1768, a diferencia de otras especies donde las diferencias significativas son moderadas por ejemplo en *Pino contorta* (Yang *et al.* 1996) y en otros estudios como es el caso de *Pinus pinaster* (Ait., 1789) el grado de diferenciación es mucho mayor. En varias de estas y otras especies arbóreas muy extendidas se aprecia una fuerte selección diversificadora, ya que los valores de Q_{ST} suelen ser mucho más elevados que los valores neutrales de F_{ST} . (Le Corre y Kremer 2003), sin embargo, los valores de Q_{ST} no son siempre altos. Por el contrario, son los valores F_{ST} los que son muy bajos. Esto no es algo sorprendente porque muchas especies arbóreas son a menudo polinizadas por el viento y se distribuyen en grandes áreas. Por ejemplo, en un estudio de *Picea glauca* (Moench) Voss las estimaciones del Q_{ST} de 10 rasgos oscilaban entre 0,035 y 0,246 (Jaramillo-Correa *et al.* 2001) y en este estudio de la *A. araucana* donde se estimó el Q_{ST} de 11 rasgos oscilando entre -0,44 y 0,206.

Al utilizar estas aproximaciones en las investigaciones, continua existiendo un debate en la literatura sobre si los marcadores moleculares pueden predecir el grado de diferenciación de la población en los rasgos cuantitativos (Crnokrak y Merilä 2002, Latta y McKay 2002). Algunos investigadores han detectado una correlación positiva entre la magnitud de F_{ST} y Q_{ST} y han sugerido que los marcadores moleculares pueden proporcionar una estimación de la divergencia cuantitativa (Pfrender 2000, Merilä y Crnokrak 2001). Al contrario, autores como McKay y Latta (2002) no han encontrado tal correlación y advierten de las precauciones a tener al utilizar datos moleculares para inferir patrones geográficos de divergencia adaptativa de la población dentro de una especie. Hay estudios donde esta última apreciación se hace presente, por ejemplo uno realizado con

Eucalyptus globulus Labill donde los marcadores moleculares no reflejaron necesariamente la cantidad y distribución de la variación de los rasgos adaptativos importantes. Por lo tanto, aunque los marcadores moleculares pueden proporcionar una amplia indicación del germoplasma y puede ayudar a maximizar la diversidad de plántulas, puede que no siempre proporcione la información necesaria para tomar decisiones de gestión sólidas para maximizar la supervivencia y minimizar la mala adaptación (Edmands y Timmerman 2003).

De esta manera es importante tener esto en cuenta a la hora de utilizar los marcadores moleculares para fundamentar las decisiones de gestión en la silvicultura y la conservación (por ejemplo, la designación de zonas de semillas), en programas de revegetación o incluso programas forestales donde los cultivadores cumplen un rol fundamental en la plantación de genotipos “apropiados” en cada localidad para mejorar la supervivencia de la especie y minimizar la dilución de la reserva genética nativa local con genes mal adaptados (Linhart 1995).

Ambas aproximaciones son una gran fuente de información sobre la genética de las poblaciones y por ende contribuyen mantener a uno de los principales objetivos que tiene la genética de la conservación, utilizar la información proporcionada por los marcadores genéticos para aplicar políticas de conservación y, en particular, para identificar áreas de conservación. Sin embargo, los patrones de variación de los rasgos moleculares y cuantitativos pueden ser diferentes, el conocimiento de la información de los marcadores moleculares por sí solo es insuficiente para desarrollar programas de conservación de recursos genéticos en esta especie. A pesar que existen sesgos al momento de seleccionar las poblaciones a estudiar, la utilidad estos estudios comparativos de rasgos cuantitativos y diferenciación de marcadores neutros es muy utilizada, ya que actúa como herramienta exploratoria, es decir, estas comparaciones son útiles como herramientas de búsqueda a ciegas para detectar rasgos que están bajo selección, pero para los que hay información de fondo limitada para dar expectativas claras en primera instancia. En esta misma línea,

las comparaciones Q_{ST} - F_{ST} pueden ser útiles para decidir si las poblaciones en estudio deben considerarse unidades de gestión o conservación separadas, esto quiere decir , cuando pueden mostrar divergencia adaptativa pero se desconoce la presión de selección potencialmente divergente que afecta a las distintas subpoblaciones.

En el contexto de la conservación y la gestión de las poblaciones silvestres, una característica especialmente interesante que se desprende de estos análisis es el hecho de que la diferenciación de rasgos cuantitativos puede ser muy elevada incluso en los casos en que los valores de F_{ST} son muy bajos. Esto significa que incluso si el flujo de genes es alto entre las poblaciones y/o los tamaños efectivos de las poblaciones son muy grandes, la selección puede ser una fuerza importante que conduzca a la divergencia adaptativa. Por esta razón, las políticas de conservación y gestión basadas únicamente en la información sobre la variación de los marcadores genéticos neutros pueden ser potencialmente muy engañosas.

6.3 Implicancias para la Restauración de *Araucaria araucana*

La Restauración es una aproximación que actualmente ha tomado bastante fuerza (Aronson & Alexander 2013). Sin embargo, al momento de llevar a cabo estas acciones para cualquier especie es necesario tener en cuenta el como poder minimizar los riesgos, tal como menciona Futuyama *et al.* (2017) aspectos como por ejemplo, emplear plantas de procedencias adecuadas que puedan sobrevivir al corto y largo plazo, por lo cual es vital poner énfasis en la variabilidad genética, plasticidad fenotípica de las mismas siendo clave el como los organismos responden y se adaptan frente a factores ambientales tan variables.

En el caso de una especie tan icónica como es *A. araucana* y que actualmente esta bajo amenaza, uno de los principales objetivos al momento de formular estrategias o acciones de restauración es asegurar un mejor establecimiento y resguardo de la diversidad genética de las poblaciones (Thomas *et al.* 2014). Sin embargo la falta de suministros adecuados,

plántulas de buena calidad y diversidad de semillas que actualmente poseen los programas de restauración forestal en Chile (Smith-Ramírez *et al.* 2015) dificultan el proceso. Se requiere seguir una serie de consideraciones para implementar una restauración o conservación de la especie a largo plazo, por ejemplo, realizar una colecta y propagación del material vegetal siempre asegurando una base genética amplia con énfasis en el uso de fuentes semilleras adaptadas localmente, que a su vez integren la variabilidad genética, las condiciones ambientales presentes y futuras (Thomas *et al.* 2014).

En particular poner énfasis en esta especie, dado que la distribución de las poblaciones esta evidentemente delimitada por condiciones climáticas y topográficas entre las regiones tan diferentes, provocando que muchos de los rasgos morfológicos que fueron medidos en las plántulas de los 12 sitios donde se encuentra naturalmente la *A. araucana* estén sometidos bajo presiones de selección natural por la existencia de una adaptación local o producto de factores estocásticos. Considerar que un uso de semillas que no están adaptadas localmente podría aumentar el riesgo de provocar contaminación genética (Bischoff *et al.* 2010) o que el origen del germoplasma no coincida con las condiciones del sitio a restaurar causando así que, a corto o largo plazo estos esfuerzos de restauración no den los resultados esperados traducándose en una baja supervivencia de los individuos y un bajo establecimiento inicial de las plantas en los sitios escogidos.

De ahí la importancia de comprender como varían espacialmente los ecotipos localmente (Gibson & Nelson 2017) para así maximizar la aptitud de las plantas, de la población en general de especies nativas e endémicas, que actualmente no poseen mas de una amenaza a su persistencia. En esta línea hablamos de las especies exóticas de rápido crecimiento como por ejemplo *Pinus contorta* que pueden amenazar el éxito de restauración de especies nativas, en el caso de Chile este tipo de especies tienen programas de mejoramiento genético a diferencia de las especies nativas donde solo son dos que tienen este tipo de iniciativas, el Roble y Raulí respectivamente (Vergara 2011), todas las otras

especies incluyendo *A. araucana* no lo presentan, ni tampoco cuentan con zonas de transferencias de semillas identificadas.

Esto sumado a la existencia de limitados de estudios genéticos de las poblaciones en los que se ha mapeado la variación en la diversidad genética (e.g.; Hasbún *et al.* 2015), lo convierten en un enorme desafío para los profesionales junto con una creciente conciencia de la necesidad que implica evaluar una posible variación ecotípica en respuesta al clima futuro, de ahí que las fuentes semilleras a utilizar no coincidan con las climáticas históricas donde se emplazan las poblaciones, sino con las condiciones actuales de la zona a restaurar o las condiciones anticipadas que podrían resultar del cambio climático (Gibson & Nelson 2017).

Estos tipos de análisis genéticos de especies nativas permitirían realizar mayores investigaciones para delimitar zonas con un alto riesgo de vulnerabilidad al cambio climático (Thuiller *et al.* 2009). Dado que si bien han existido avances en la identificación de estas zonas para un grupo de especies chilenas (Alarcón & Cavieres 2018), se necesita incluir análisis espaciales de la variación ecotípica (ya sea basada en rasgos o variación genética) para así definir con mayor exactitud cuales serian las potenciales zonas de transferencia de semilla para la restauración ecológica en escenarios de cambio climático o disturbios (Fitzpatrick & Keller 2015) de especies nativas y en particular de especies tan importantes como *A. araucana*.

VII. CONCLUSIONES

A través de esta investigación se encontraron indicios de selección diversificadora en cuatro rasgos morfológicos (Número de ramas, Número de verticilos, Largo de la Hoja, Ancho de la hoja), estos a su vez se diferencian entre las poblaciones de la Cordillera de la Costa y la Cordillera de los Andes.

En la misma línea la Comparación Q_{ST} - F_{ST} estimado permitió determinar indirectamente que estos cuatro rasgos morfológicos mencionados anteriormente de *A. araucana* podían estar potencialmente bajo adaptación local, con un valor de $Q_{ST} > F_{ST}$. Respecto a los otros siete rasgos: Biomasa sobre el suelo; Biomasa subterránea; Longitud del tallo; Largo/ancho de la hoja; Porcentaje de germinación, diámetro basal y porcentaje de sobrevivencia con un $Q_{ST} \leq F_{ST}$ no se encontró evidencia significativa de una diferenciación. Dentro de las variables ambientales y geográficas que fueron analizadas, existió solo una que podría estar determinando en mayor parte esta diferenciación, el Rango de Temperatura anual (RAT °C), dado que se correlacionó de manera significativa con la mayor cantidad de rasgos.

En consecuencia , a pesar de que actualmente *A. araucana* se encuentra amenazada por las características mencionadas anteriormente (Gallo *et al.* 2004) convirtiéndola en una especie muy susceptible al impacto del hombre y si bien solo existen dos poblaciones en la Cordillera de la Costa en comparación con la Cordillera de los andes donde hay 10, quedo demostrado que las poblaciones se encuentran adaptadas localmente a las condiciones climáticas de cada región, sin embargo solo los rasgos asociados a las hojas y ramas se encontrarían diferenciadas producto de la acción de la selección divergente , es decir, se encontrarían bajo adaptación local. En general las poblaciones de *A. araucana* poseen una alta diversidad genética y es reflejada en sus diversos fenotipos que están adaptados localmente productos de diferentes fuerzas evolutivas que han actuado a lo largo del tiempo.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Aagesen D. 1998. Indigenous resource rights and conservation of the monkey-puzzle tree (*Araucaria araucana*, Araucariaceae): A case study from southern Chile. *Economic Botany* 52(2): 146-160.
- Aguilar, G., Riquelme, R., Martinod, J., & Darrozes, J. 2013. Rol del clima y la tectónica en la evolución geomorfológica de los Andes Semiáridos chilenos entre los 27-32 S. *Andean Geology* 40(1):79-101.
- Alarcón, D. Cavieres, L. 2018. Relationships between ecological niche and expected shifts in elevation and latitude due to climate change in South American temperate forest plants. *Journal of Biogeography*. DOI: 10.1111/jbi.13377.
- Aronson, J. & S. Alexander. 2013. Ecosystem restoration is now a global priority: time to roll up our sleeves. *Restoration Ecology* 21(3):293-296.
- Bekessy S., R. Ennos, M. Burgman, A. Newton, P. Ades. 2003. Neutral DNA markers fail to detect genetic divergence in an ecologically important trait. *Biological Conservation* 110(2): 267-275.
- Bekessy S., T. Allnutt, A. Premoli, A. Lara, R. Ennos, M. Burgman, *et al.* 2002. Genetic variation in the vulnerable and endemic Monkey Puzzle tree, detected using RAPDs. *Heredity* 88(4): 243-249.
- Bischoff, A., Steinger, T., & Müller-Schärer, H. 2010. The importance of plant provenance and genotypic diversity of seed material used for ecological restoration. *Restoration ecology* 18(3): 338-348.
- Burns R. 1993. Fire-induced dynamics of *Araucaria araucana-Nothofagus antarctica* forest in the southern Andes. *Journal of Biogeography* 20: 669-685.
- Chan Y., P. Arcese. 2003. Morphological and microsatellite differentiation in *Melospiza melodia* (Aves) at a microgeographic scale. *Journal of Evolutionary Biology* 16(5): 939-947.
- Crnokrak, P., & Merilä, J. 2002. Genetic population divergence: markers and traits. *Trends in Ecology & Evolution* 17(11): 501.

- Delmastro R., C. Donoso. 1980. Review of distribution, variation and utilization of gene resources of *Araucaria araucana* (Mol.) Koch in Chile. pp. In: Proceedings of the Simposio IUFRO en mejoramiento genético e productividad de especies florestais de rápido crecimiento, Brazil.
- Edelaar, P. I. M., Burraco, P., & Gomez-Mestre, I. V. A. N. 2011. Comparisons between QST and FST—how wrong have we been?. *Molecular Ecology* 20(23): 4830-4839.
- Edmands, S., & Timmerman, C. C. 2003. Modeling factors affecting the severity of outbreeding depression. *Conservation Biology* 17(3): 883-892.
- Fitzpatrick, C., Keller, S. 2014. Ecological genomics meets community-level modelling of biodiversity: mapping the genomic landscape of current and future environmental adaptation. *Ecology Letters* 18: 1-16.
- Futuyma, D. J., & Kirkpatrick, M. 2017. *Evolution*, 4th edn Sunderland, MA: Sinauer
- Gallo L., F. Izquierdo, L. Sanguinetti, A. Pinna, G. Siffredi, J. Ayesa, *et al.* 2004. *Araucaria araucana* forest genetic resources in Argentina. Challenges in managing forest genetic resource for livelihoods: examples from Argentina and Brazil International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy: Pp. 105-131.
- Gianoli, E. 2004. Plasticidad fenotípica adaptativa en plantas. *Fisiología Ecológica en Plantas: Mecanismos y Respuestas al Estrés en los Ecosistemas*; M. Cabrera.(ed). Departamento de Botánica. Universidad de Concepción, Chile. Pp. 13-25.
- Gibson AL, Nelson CR .2017. Comparing provisional seed transfer zones for a commonly seeded grass, *Pseudoroegneria spicata*. *Natural Areas Journal* 37: 188-199.
- Gilbert K., M. Whitlock. 2015. QST-FST comparisons with unbalanced half-sib designs. *Molecular Ecology Resources* 15(2): 262-267.
- Govindaraju, D. R. 1988. Relationship between dispersal ability and levels of gene flow in plants. *Oikos* 52: 31-35.
- Hasbún, R. et al. 2015. Using Genome-Wide SNP Discovery and Genotyping to reveal the main source of population differentiation in *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst. in Chile. *International Journal of Genomics* 2016: 1-10.

- Herrmann T. 2005. Knowledge, values, uses and management of the *Araucaria araucana* forest by the indigenous Mapuche Pewenche people: A basis for collaborative natural resource management in southern Chile. *Natural Resources Forum* 29(2): 120-134.
- Holsinger K., B. Weir. 2009. Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F_{ST} . *Nature Reviews Genetics* 10(9): 639-650.
- Jaramillo-Correa, J. P., Beaulieu, J., & Bousquet, J. 2001. Contrasting evolutionary forces driving population structure at expressed sequence tag polymorphisms, allozymes and quantitative traits in white spruce. *Molecular Ecology* 10(11): 2729-2740.
- Le Corre, V., & Kremer, A. 2003. Genetic variability at neutral markers, quantitative trait loci and trait in a subdivided population under selection. *Genetics* 164(3): 1205-1219.
- Leimu, R., & Fischer, M. 2008. A meta-analysis of local adaptation in plants. *PloS one*, 3(12), e4010.
- Leinonen T., S. McCairns, R. O'hara, J. Merilä. 2013. Q_{ST} – F_{ST} comparisons: evolutionary and ecological insights from genomic heterogeneity. *Nature Reviews Genetics* 14(3): 179-190.
- Linhart, Y. B. 1995. Restoration, revegetation, and the importance of genetic and evolutionary perspectives. In McArthur, JS Haley, DK Mann, eds. *Proceedings: wildland shrub and arid land restoration symposium*. Intermountain Research Station, Forest Service, USDA, Logan, Utah (Pp. 271-287).
- Marchelli P., C. Baier, C. Mengel, B. Ziegenhagen, A. Gallo. 2010. Biogeographic history of the threatened species *Araucaria araucana* (Molina) K. Koch and implications for conservation: A case study with organelle DNA markers. *Conservation Genetics* 11(3): 951-963.
- Marin, S., Gibert, A., Archambeau, J., Bonhomme, V., Lascoste, M., & Pujol, B. 2020. Potential adaptive divergence between subspecies and populations of snapdragon plants inferred from Q_{ST} – F_{ST} comparisons. *Molecular ecology* 29(16): 3010-3021.

- Martín M., C. Mattioni, I. Lusini, J. Molina, M. Cherubini, F. Drake, *et al.* 2014. New insights into the genetic structure of *Araucaria araucana* forests based on molecular and historic evidences. *Tree Genetics and Genomes* 10(4): 839-851.
- McKay J., R. Latta. 2002. Adaptive population divergence: markers, QTL and traits. *Trends in ecology & evolution* 17(6): 285-291.
- Meltosh M., Gonzales J., Demaree P., Toro O., Ipinza R., Bustamante M., Hasbún R., Nelson C. 2021. The iconic South American tree *Araucaria araucana* differs genetically in traits between and within Andes and coastal mountain ranges in Chile. *Ecological Applications*. Department of Ecosystem and Conservation Science, University of Montana. 42.
- Merilä J., P. Crnokrak. 2001. Comparison of genetic differentiation at marker loci and quantitative traits. *Journal of Evolutionary Biology* 14(6): 892-903.
- Montaldo P. 1974. La bio-ecología de *Araucaria araucana* (Mol) Koch. *Inst Forestal Latino-Americano de investigación y capacitación*. Bol Técn.: 46: 43-55.
- O'Hara R., J. Merilä. 2005. Bias and precision in QST estimates: problems and some solutions. *Genetics* 171(3): 1331-1339.
- Pérez, C., & Villagrán, C. 1994. Influencia del clima en el cambio florístico, vegetacional y edáfico de los bosques de "olivillo" (*Aextoxicon punctatum* R. et Pav.) de la Cordillera de la Costa de Chile: implicancias biogeográficas. *Revista Chilena de Historia Natural* 67: 77-90.
- Pfrender, M. E., Spitze, K., Hicks, J., Morgan, K., Latta, L., & Lynch, M. 2000. Lack of concordance between genetic diversity estimates at the molecular and quantitative-trait levels. *Conservation Genetics* 1(3): 263-269.
- Potts, B. M., & Jordan, G. J. 1994. The spatial pattern and scale of variation in *Eucalyptus globulus* ssp *globulus*: variation in seedling abnormalities and early growth. *Australian Journal of Botany* 42(4): 471-492.
- Prout, T., & Barker, J. S. 1993. F statistics in *Drosophila buzzatii*: selection, population size and inbreeding. *Genetics*, 134(1), 369-375.

- Rafii Z., R. Dodd. 1998. Genetic diversity among coastal and Andean natural populations of *Araucaria araucana* (Molina) K. Koch. *Biochemical Systematics and Ecology* 26(4): 441-451.
- Reed, D. H., & Frankham, R. 2001. How closely correlated are molecular and quantitative measures of genetic variation? A meta-analysis. *Evolution* 55(6): 1095-1103.
- Ruiz E., F. González, C. Torres, G. Fuentes, M. Mardones, T. Stuessy, *et al.* 2007. Genetic diversity and differentiation within and among Chilean populations of *Araucaria araucana* (Araucariaceae) based on allozyme variability. *Taxon* 56(4): 1221-1228.
- Sepúlveda F., E. Alvarez, A. Bertín, R. Hasbún. 2020. Diversidad genética mediante marcadores SNPs usando GBS en *Araucaria araucana* (Mol.) K. Koch.:Universidad de Concepción.Laboratorio de Epigenética Vegetal.
- Slatkin M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236(4803): 787-792.
- Smith-Ramírez, C., et al. 2015. Estado actual de la restauración ecológica en Chile, perspectivas y desafíos: Current state of ecological restoration in Chile: Perspectives and challenges. Universidad de Magallanes. In *Anales del Instituto de la Patagonia* 43(1): 11-21.
- Spitze K. 1993. Population structure in *Daphnia obtusa*: quantitative genetic and allozymic variation. *Genetics* 135(2): 367-374.
- Thomas, et al. 2014. Genetic considerations in ecosystem restoration using native tree species. *Forest Ecology and Management* 333: 66-79.
- Thuiller, W. Et al. 2009. BIOMOD - a platform for ensemble forecasting of species distributions. *Ecography* 32: 369- 373.
- Veblen T. 1982. Regeneration patterns in *Araucaria araucana* forests in Chile. *Journal of Biogeography*: 11-28.
- Vergara, R. 2011. Neutral and adaptive genetic structure of the South American species of *Nothofagus subgenus Lophozonia*. Natural history, conservation, and tree improvement implications. University of Florida.

- Viveros H., C. Sáenz, J. Vargas, B. Tapia, J. López, A. Santacruz, *et al.* 2014. Comparison of Qst vs.Fst in *Pinus hartwegii* lindl. natural populations. *Revista Fitotecnia Mexicana* 37(2): 117-127.
- Whitlock M.C. 2008. Evolutionary inference from Qst. *Molecular ecology* 17(8): 1885-1896.
- Whitlock, M. C., & Gilbert, K. J. 2012. QST in a hierarchically structured population. *Molecular Ecology Resources* 12(3): 481-483.
- Wright S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of eugenics* 15: 323-354.
- Yang, R. C., Yeh, F. C., & Yanchuk, A. D. 1996. A comparison of isozyme and quantitative genetic variation in *Pinus contorta* ssp. *latifolia* by FST. *Genetics* 142(3): 1045-1052.

IX APENDICE

Tabla A.1. Diferencia de QST-FST con su respectivo valor de P, para cada uno de los rasgos medidos en plántulas de *Araucaria araucana*. *p (<0,05) es significativo.

| Rasgos medidos | Diferencia del QST-FST | Valor P |
|--------------------------|------------------------|---------|
| Biomasa sobre el suelo | -0.0053 | 0.8860 |
| Biomasa subterránea | -0.0044 | 0.9346 |
| Longitud del tallo | -0.0095 | 0.6224 |
| Porcentaje Germinación | -0.0084 | 0.6350 |
| Largo/Ancho de la hoja | -0.4532 | 0.0584 |
| Diametro basal | 0.0014 | 0.8088 |
| Porcentaje sobrevivencia | 0.0042 | 0.6348 |
| *Número de Verticilos | 0.1961 | 0 |
| *Número de Ramas | 0.1718 | 0.0006 |
| *Largo de la hoja | 0.1319 | 0.0014 |
| *Ancho de la hoja | 0.1857 | 0.0006 |