



UNIVERSIDAD DE CHILE

Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza

Magíster en Áreas Silvestres y Conservación de la Naturaleza

PROPUESTA DE POBLACIONES PARA CONSERVACIÓN: CASO DE *Quillaja saponaria* Mol. CONSIDERANDO INFORMACIÓN GENÉTICA

Proyecto de grado presentado como parte de los requisitos para optar al título profesional de Ingeniera Forestal y al grado de Magíster en Áreas Silvestres y Conservación de la Naturaleza.

BETSABÉ MELISSA ABARCA ROJAS

Licenciada en Ciencias Forestales

Santiago - Chile

2019

HOJA DE APROBACION DE PROYECTO DE GRADO

Proyecto de grado presentado como parte de los requisitos para optar al título profesional de Ingeniera Forestal y al grado de Magíster en Áreas Silvestres y Conservación de la Naturaleza

Profesor(a) Guía

Nombre: Carlos R. Magni Díaz.

Nota: 7,0

Firma _____

Profesor(a) Consejero(a)

Nombre: Rosa Scherson Vicencio.

Nota: 7,0

Firma _____

Profesor(a) Consejero(a)

Nombre: Jaime Hernández Palma.

Nota: 7,0

Firma _____

AGRADECIMIENTOS

Con gozo y profunda gratificación quisiera reconocer a las personas que de alguna u otra forma me han dado su apoyo, confianza y amor para ir construyendo de a poco mi desarrollo profesional y cimentación personal.

En primer lugar a mis padres, Jaime y Danila, y mi hermano Joel: mi apañadora familia; me siento bendecida de contar con su infinito apoyo, constancia y entusiasmo con el que hicieron también suya esta profesión. Gracias por todo. También incluyo de forma muy especial a mis otras mamis: Taty y Miryam, de las cuales estoy profundamente en deuda por tanto amor.

A mi profesor guía Don Carlos Renato Magni Díaz, por la disposición, apoyo y paciencia en el desarrollo de esta casi-eterna tesis. Gracias por entregarme la confianza para desarrollarme profesionalmente durante todo este tiempo.

A mis profesores consejeros Rosa Scherson y Jaime Hernández, por su generosidad en la entrega de conocimientos y consejos para encauzar este estudio. A mis profesores y también guías en las sombras de este proyecto: Iván Grez y Eduardo Martínez, por su apoyo y cariño incondicional.

A mis compañeros de trabajo en CESAF: Nicole T., Nicole R., Suraj V. y Sandra B., por la consideración, apoyo y compañerismo mostrado en cada terreno y cada día de fuegos artificiales. Agrego a todos aquellos que han tenido paso por nuestro nunca bien ponderado "galpón", con quienes también compartimos trabajos y esfuerzos en el desarrollo de otras tantas memorias y tesis.

No quiero dejar afuera a quienes aportaron con apañe, risas y soporte en toda la vida universitaria y hasta el presente: Paula, Jocelyn, Luna, Carla, Fabián, Jorge, Vinci, Christian, Pamela, Claudio y tantos más de la 2006. También incluyo a mis compañeros de Magíster, que a pesar de ser la "mascota" del grupo, me ampararon en toda instancia. A todos, gracias por remar juntos en la conservación de nuestra naturaleza.

A mi Yelko, por el apoyo mutuo en todos nuestros sueños y la simplicidad con que llevamos nuestra vida juntos. A mi Nala, Melí y Turbo, gracias por sus almas inocentes llenas de amor.

Finalmente agradecer el financiamiento de este estudio al proyecto 067/2012 del "Fondo de Investigación del Bosque Nativo" de CONAF y al único, grande y nuestro: CESAF (Centro productor de Semillas y Árboles Forestales).

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	I
LISTA DE TABLAS.....	II
RESUMEN.....	III
SUMMARY	IV
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. OBJETIVOS.....	7
1.1.1. General.....	7
1.1.2. Específicos	7
2. MATERIALES Y MÉTODOS	8
2.1. ÁREA DE ESTUDIO DE QUILLAY.....	8
2.2. DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA ESPECIE EN LAS POBLACIONES MUESTREADAS (OBJETIVO 1)	9
2.2.1. Colecta del material vegetal y extracción de ADN	9
2.2.2. Genotipado	10
2.2.3. Análisis de datos y obtención de la diversidad genética	11
2.3. MODELACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA ESPECIE EN TODO SU RANGO DE DISTRIBUCIÓN (OBJETIVO 2).....	13
2.3.1. Fuentes de información: datos de presencia y genéticos	13
2.3.2. Modelación determinista a través de IDW de la diversidad genética.....	13
2.3.3. Mapas de riesgo y priorización.....	14
2.4. EVALUACIÓN DE LA CONSERVACIÓN ACTUAL DE LA ESPECIE Y PROPOSICIÓN DE ÁREAS DE CONSERVACIÓN JERARQUIZADA DE SUS POBLACIONES (OBJETIVO 3).....	17
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
3.1. DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA ESPECIE EN LAS POBLACIONES MUESTREADAS (OBJETIVO 1)	19

3.2.	MODELACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA ESPECIE EN TODO SU RANGO DE DISTRIBUCIÓN (OBJETIVO 2).....	29
3.3.	EVALUACIÓN DE LA CONSERVACIÓN ACTUAL DE LA ESPECIE Y PROPOSICIÓN DE ÁREAS DE CONSERVACIÓN JERARQUIZADAS DE SUS POBLACIONES (OBJETIVO 3)	35
3.3.1.	Conservación actual de la especie.....	35
3.3.2.	Propuesta de conservación genética para <i>Q. saponaria</i>	38
4.	CONCLUSIONES	49
5.	BIBLIOGRAFÍA	50
6.	APÉNDICES	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución natural de <i>Q. saponaria</i> ;.....	8
Figura 2. Esquema general de la metodología desarrollada para la determinación de la estructura genética	9
Figura 3. Mapa de Índice de influencia humana (HII).....	15
Figura 4. Esquema metodológico para la selección de áreas y poblaciones prioritarias para la conservación genética de la especie.....	18
Figura 5. Red de haplotipos y distribución geográfica de los mismos por localidades.....	22
Figura 6. Muestra de la estructuración de los tres grupos resultantes del análisis en STRUCTURE (cada color representa un grupo genético).	25
Figura 7. Dendrograma de las distancias genéticas de las localidades por agrupamiento de Neighbour-joining.....	28
Figura 8. Resultado de la modelación de la diversidad genética de la especie a través de IDW.	30
Figura 9. Reclasificación de las capas de diversidad genética de <i>Q. saponaria</i> (izquierda) e influencia humana (HII) (Derecha).	31
Figura 10. Áreas prioritarias de conservación para quillay según la concentración de la diversidad genética y un índice de influencia humana.	32
Figura 11. Ejemplificación de la afectación de los mega incendios del año 2017 en las poblaciones muestreadas de quillay.	34
Figura 12. Representación de las áreas de protección en comparación con simulación de la distribución de la diversidad genética para quillay.	37

Figura 13. Poblaciones seleccionadas para el primer escenario de conservación.....	39
Figura 14. Mapa de priorización de conservación bajo el principio de diversidad genética para <i>Q. saponaria</i>	41

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Marcadores de cloroplastos (CpSSRs) empleados en los análisis.....	12
Tabla 2. Matriz de riesgo e índices de priorización.....	16
Tabla 3. Amplificaciones de los 12 <i>primers</i> testeados para la especie.....	19
Tabla 4. Estimación de la diversidad genética según análisis de marcadores de CpSSRs, en 72 localidades de <i>Q. saponaria</i>	23
Continuación Tabla 4. Estimación de la diversidad genética según análisis de marcadores de CpSSRs, en 72 localidades de <i>Q. saponaria</i> (continuación)....	24
Tabla 5. Resumen de los análisis de varianza molecular (AMOVA) en CpSSR25	
Tabla 6. Resumen del análisis de cercanía para la evaluación de la conservación genética actual.....	36
Tabla 7. Propuesta de áreas potenciales de alto valor para la conservación genética de <i>Q. saponaria</i>	42

RESUMEN

Quillaja saponaria Mol. es una de las especies más abundantes del bosque esclerófilo chileno de la cual existe escasa información acerca de su diversidad y estructura genética. El presente estudio tiene como objetivo desarrollar una propuesta de conservación basada en antecedentes genéticos de la especie. Para esto se muestreó de forma intensiva el rango de distribución de la especie para luego realizar un genotipado a través de microsatélites de cloroplasto (CpSSR). Con la información obtenida se realizó una interpolación de la variable diversidad genética (h), espacializando de forma continua este parámetro. Adicionalmente, se realizó un análisis de riesgo incorporando el Índice de Influencia Humana (HII) para obtener zonas con alta diversidad y con riesgo de conservación. Finalmente, se hizo una priorización de conservación genética basada en las actuales figuras de protección estatal y privadas. La propuesta de conservación considera aquellas poblaciones de alta diversidad y singularidades genéticas, tomando en cuenta los niveles de riesgo. Los parámetros genéticos indican que la especie tiene bajos rangos de diversidad genética ($h = 0,29$), con una moderada estructuración intrapoblacional ($F_{st} = 0,17$), un flujo genético que supera los efectos de la deriva y previene la diferenciación local. El mapa de diversidad genética potencial indica una mayor concentración de diversidad genética en la zona centro de Chile. Los resultados de priorización de conservación genética indican que hay un muy bajo porcentaje de conservación del recurso bajo las actuales condiciones de protección de la especie. Los mapas de priorización muestran las zonas de alta prioridad de conservación genética de quillay a nivel territorial, resaltando las zonas de Valparaíso-Metropolitana norte, Navidad-Rancagua y Concepción-Antuco, por su alta diversidad y riesgo. Esto indica que esas áreas debieran ser estudiadas en mayor profundidad con el propósito de proponer acciones de conservación efectivas.

Palabras claves: conservación genética, microsatélites de cloroplasto (CpSSR), diversidad genética, interpolación espacial, Índice de Influencia Humana (HII).

SUMMARY

Quillaja saponaria Mol. is one of the most important sclerophyllous species of the Chilean native forests; however, there is little information about its genetic diversity and structure. The aim of this study is to develop a conservation strategy proposal based on genetic information of the species. The distribution range of the species was intensively sampled and then genotyped through chloroplast microsatellites (CpSSR). With this information, an interpolation of the variable genetic diversity (h) was carried out by continually spatializing this parameter. Additionally, a risk analysis was carried out by incorporating the Human Influence Index (HII) to obtain a combination of high diversity zones with those with conservation risk. Finally, for the prioritization of genetic conservation, the current conservation of the species was evaluated considering the public and private protection status. The conservation strategy proposal considers those populations of high diversity and genetic singularities, taking into account the levels of risk exposed. The genetic parameters reflected that the species has low ranges of genetic diversity ($H = 0,29$), with a moderate intrapopulation structure ($F_{st} = ,017$), a genetic flow that overcomes the effects of drift and prevents local differentiation. The map of potential genetic diversity emphasized the concentration of diversity in central Chile. The results of the prioritization of genetic conservation analysis showed a very low percentage of conservation of the species under the current public and private status. The prioritization maps show the areas of high priority of genetic conservation of quillay at a national scale, highlighting the areas of Valparaíso-northern Metropolitana, Navidad-Rancagua and Concepción-Antuco, whose results indicate high diversity and risk, and the need of further research with the aim to develop effective conservation actions.

Key words: genetic conservation, chloroplast microsatellites (CpSSR), genetic diversity, spatial interpolation, Human Influence Index (HII).

1. INTRODUCCIÓN

Los recursos fitogenéticos de nuestro país han recibido presiones antrópicas y climáticas que se han exacerbado en el último siglo, siendo factores de cambios para procesos ecológicos, fisiológicos y de composición genética de las poblaciones. Las señales visibles, como la reducción de su hábitat, la escasa regeneración natural de los bosques o la disminución en la cantidad de ejemplares en sus poblaciones, son antecedentes que preocupan a la sociedad, por estar ocurriendo y afectando negativamente los ecosistemas donde habitan, incluso a especies que hoy no presentan problemas de conservación. Adicionalmente en Chile, el endemismo es un componente importante en toda la flora, lo que implica la necesidad de conservar y utilizar los recursos genéticos de manera adecuada (Arroyo *et al.*, 2008) y sostenible.

La diversidad genética de las poblaciones es algo invisible al ojo humano y quizás uno de los factores más determinantes de la permanencia de las poblaciones en su estado natural. La erosión genética, endogamia u otros trastornos del déficit de vigor genético en las poblaciones, no son perceptibles en su desarrollo *per se*, siendo estos elementos preponderantes cuando se habla de la extinción de una especie (Frankham, 2005).

La conservación genética de especies vegetales se ha desarrollado desde distintos puntos de vista: *in situ*, *ex situ*, *circa situm* o través de acciones dentro de programas de mejoramiento genético, como colecciones dentro de poblaciones naturales para la formación de huertos semilleros, bancos de germoplasma o clonales, entre otros (Allenstein *et al.*, 2016). Sin embargo, operacionalmente y a nivel de poblaciones naturales, la conservación genética de los recursos vegetales a nivel territorial aún es incipiente. Cabe destacar que la investigación genética se enfoca en su mayoría a especies con propósito productivo o especies en categoría de conservación crítico, siendo deficitario y precoz en especies nativas en general.

Si bien, existe consenso en que los recursos genéticos nativos se deben conservar para la continuidad de la existencia de la biodiversidad del territorio, la

pregunta es ¿qué conservamos? y ¿dónde lo conservamos? Ambas deben tener una respuesta ecológica, técnica y económicamente factible. La combinación de estos tres factores incide en las decisiones operacionales a considerar y concretar (Ramanatha y Hodgkin, 2002). Para poder cumplir con lo anterior es necesario combinar enfoques, disciplinas y metodologías relacionadas a la distribución de las especies, dinámica de poblaciones, estructura genética, interacciones dentro y entre las poblaciones y ecosistemas (Prance, 2000).

En primera instancia, el saber qué conservar se analiza generalmente a nivel de especie, por lo que Prance (2000) y Corlett (2016) advierten que no vale la pena conservar un solo elemento de un ecosistema, debido a la conectividad y convivencia que existe entre los múltiples componentes. Sin embargo, en una primera aproximación es necesario considerar la especie y sus genes como base para las acciones que precederán a los planes integrados dentro de un programa de conservación.

La elección de la especie a conservar no es trivial. En general, los enfoques apuntan a la conservación de especies en peligro de extinción o en riesgo considerable de caer en un nivel más crítico (Beatley, 1994). Lo anterior es primordial por tener un alto riesgo de desaparición de poblaciones pequeñas o discontinuas sin flujo genético asociado o en desmoronamiento notable de sus poblaciones (Falk y Holsinger, 1991). Sin embargo, conservar una especie sin alguna categoría de conservación es también importante (Habel y Schmitt, 2012), debido a que la anticipación de las acciones y gestiones puede ayudar de forma considerable a la conservación de poblaciones o hábitat de otras especies asociadas (Kramer y Havens, 2009). Las acciones tardías contraen compromisos de actividades de alta dificultad de operación, sin considerar los altos costos asociados (Gerber, 2016).

Por otra parte, la conservación en cualquier nivel requiere información base para establecer una estrategia efectiva; si se considera una conservación desde el punto de vista genético, se hace necesario la generación de datos sobre la estructura genética de las poblaciones (Maxted *et al.*, 2000; Seguel, 2008).

En este contexto, la genética pasa a ocupar un rol importante en los objetivos de conservación; el asegurar un acervo de genes dentro de una especie mantiene de forma eficiente la disponibilidad de recursos genéticos para el uso sostenible de estos en la sobrevivencia de los ecosistemas en general (Maxted *et al.*, 2000).

Un parámetro importante y que otorga información sobre el estado de las poblaciones a nivel genético es la diversidad genética, la cual entrega nociones de la amplitud de adaptaciones y recursos que presentan las especies para su permanencia en el tiempo y el espacio (Muhammed, 1977). Este parámetro está definido como el tipo, cantidad y distribución de la diversidad genética presente en una especie (Fisher, 1930; Gregorius, 1978). La observación de la variación de este parámetro y la medición de factores relacionados, como los patrones ambientales, tienen una estrecha influencia en la diversidad genética y su determinación entrega antecedentes sobre cómo se compone una población, generando directrices de la presencia o ausencia de características de interés, incluyendo las del tipo productivo y económico. La obtención de la diversidad genética de las especies ha sido investigada durante años, teniendo una diversa gama de técnicas que han aportado a los estudios de genética de poblaciones (Hedrick, 2005).

La diversidad genética (h), es un parámetro considerado de importancia para la comprensión del estado de las poblaciones (Ramanatha y Hodgkin, 2002), debido a que su pérdida influye en los procesos de sobrevivencia, adaptación y evolución. Por otra parte, Souto *et al.* (2015) indican que espacializar de forma explícita datos de poblaciones y especies ayuda a identificar hotspots de biodiversidad para guiar acciones de conservación, buscando la preservación del potencial evolutivo de hábitats y especies; los sistemas de información geográfica facilitan la interpretación de resultados y la disponibilidad de información para la toma de decisiones. La taxonomía, origen y evolución de las especies de interés puede ser comprendido de mejor manera al identificar qué y dónde conservar (Ramanatha y Hodgkin, 2002).

La descripción de la diversidad genética se realiza a través de datos puntuales, lo que permite conocer componentes, interacciones y rangos de estructura de las poblaciones en estudio. Sin embargo, la toma de decisiones a nivel de territorio se beneficiaría al tener disponible para la ejecución de las acciones de conservación mapas continuos de información genética geográficamente explícita, siendo la interpolación espacial una de las técnicas para entregar dicha información, lo cual se ha estipulado como bases de datos primordiales para los gestores de la conservación (Draper *et al.*, 2003; Escudero *et al.*, 2003).

Para poder estimar la información en áreas donde no se dispone de datos se recurre a herramientas de interpolación, las cuales tienen por principio considerar puntos de muestreos conocidos para estimar valores desconocidos (Mitas y Mitasova, 1999).

Uno de los métodos más simples y de gran precisión es la interpolación inversa a la distancia (IDW, *Inverse Distance Weigthed*) el cual es un proceso flexible que permite estimar un conjunto de datos con tendencia o anisotropía (Mitas y Mitasova, 1999). Es un enfoque determinístico local, que calcula un valor desconocido como un promedio ponderado de acuerdo a las distancias de los puntos muestreados en un vecindario definido (Burrough y McDonnel, 1998).

Este tipo de interpolación ha sido empleado en múltiples disciplinas como la modelación de datos de arsénico en el suelo (Gong *et al.*, 2014), modelos de elevación (Arun, 2013), mapeo de precipitaciones (Plouffe *et al.*, 2015), radiación solar (Loghmari *et al.* 2018), entre otros, todos ellos demostrando que la técnica a pesar de ser simple es muy intuitiva y eficiente para el tipo de datos que se han estudiado.

Diversos autores (Garnero y Godone, 2013; Li y Heap, 2014; Gong, *et al.*, 2014) han respaldado el uso de este tipo de interpolación que puede entregar resultados óptimos y precisos a partir de datos incompletos. En los estudios realizados por Sentianto y Triandini (2013) y Gong *et al.* (2014) se comprobó que el método IDW entregó resultados con mayor veracidad en comparación con métodos que

tradicionalmente se consideran más exactos como son los análisis geoestadísticos *kriging* o *cokriging* (Babak y Deutsch 2009), siendo IDW dependiente de los puntos de muestreos y la superficie en la que interpola.

El conocimiento de la distribución espacial de datos de interés y en especial, de las características genéticas de las especies es esencial para los gestores forestales y de conservación, pudiendo con esta información identificar áreas de alta prioridad para las especies, hábitats vulnerables, designar áreas de reserva, refugios y otras áreas protegidas (Hernández-Stefanoni y Ponce-Hernández, 2006), así como para garantizar la disponibilidad y existencia permanente de poblaciones, individuos o partes de ellos, con tal de preservar la diversidad de los materiales genéticos para las generaciones presentes y futuras, de la mano de la priorización de recursos económicos y humanos que puedan ser concretos y óptimos para una real implementación (Gutiérrez e Ipinza, 2012)

Existen metodologías y/o programas enfocados a la conservación de recursos genéticos, pero en general consideran especies con uso conocido y con valor actual o potencial, siendo el lineamiento económico el que prima, descuidando la relación existente entre los recursos botánicos y los genéticos (Pezoa, 2001).

Por otro lado, la conservación de la información genética como un objetivo a través de una estrategia *in situ*, no implica solamente aquellas áreas de protección tradicional como las figuras estatales (SNASPE) o privadas (ASPP), sino en todo el rango natural de distribución de la especie (Prance, 2000; Whitlock *et al.*, 2016).

Quillay es una especie endémica y es considerada como el árbol más abundante del bosque esclerófilo de la zona central con el 2,6% del bosque nativo del país (Rodríguez *et al.*, 2005, Zuloaga *et al.*, 2008, Luebert, 2014). Su amplia distribución se sustenta además en la variabilidad de sus requerimientos ecológicos; la plasticidad exhibida le ha permitido que esté adaptado a climas secos y cálidos en su límite septentrional, localizándose también en sitios frescos y húmedos, tolerando inclusive nevadas y heladas en su límite altitudinal y meridional (Rodríguez *et al.*, 2005; Cruz *et al.*, 2006).

Q. saponaria actualmente no está clasificada bajo ningún estado de conservación, sin embargo, por ser una especie altamente atractiva por sus diversas propiedades, presenta amenazas latentes. En una clasificación de los recursos genéticos forestales (RGF) de Chile realizada por Magni *et al.*, (2012), *Q. saponaria* fue considerada como una especie con prioridad para la conservación de su patrimonio genético bajo los criterios FAO (2010), tomando como razones los ítems de producción/uso intensivo, uso tradicional/uso extensivo y uso en restauración o protección. A pesar de ser catalogada como una especie importante de conservar por sus múltiples funciones y características, la información en relación a su genética es escasa y su consideración como un RGF no presenta relevancia actual a nivel de estrategias de conservación. En un estudio realizado por Ramos *et al.*, (2010) se entrega información preliminar acerca de su diversidad genética indicando una reducida diversidad genética y una baja heterocigocidad debido a una escasa cantidad de marcadores SSR polimórficos identificados. Los resultados anteriores entregan nociones de la necesidad de reconocer aquellas poblaciones que urge proteger, pudiendo ampliar la investigación a través de un mayor espectro de muestras y extendiéndolos a escala de paisaje.

Dados los antecedentes anteriores, esta tesis tiene como objetivo determinar la estructura genética de *Quillaja saponaria* Mol. (quillay), para priorizar poblaciones de conservación desde el punto de vista genético, permitiendo una aproximación diferente sobre la gestión de los recursos genéticos de la especie. Lo anterior se realizará a través de interpolación espacial de la diversidad genética de la especie en su distribución natural, siendo este enfoque conducido principalmente sobre aquellas poblaciones que presenten altos niveles de diversidad y vulnerabilidad frente a cambio global. Los resultados a obtener permitirán contribuir a la toma de decisiones para la conservación actual de *Q. saponaria*, entregando una herramienta de análisis que aporte al conocimiento del estado actual de la especie, enfocando los esfuerzos a la incorporación de aquellas poblaciones de la especie que sean críticas para la mantención del acervo genético.

1.1. Objetivos

1.1.1. General

Proponer áreas prioritarias para la conservación *in situ* de *Q. saponaria*, en base a información genética en todo su rango de distribución.

1.1.2. Específicos

1. Determinar la diversidad y estructura genética de *Q. saponaria* a través de marcadores moleculares cloroplasmáticos.
2. Espacializar la estructura genética de la especie en todo su rango de distribución potencial.
3. Evaluar la conservación actual de la especie y proponer áreas de conservación prioritarias en base a información genética.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio de quillay

El área de estudio abarcó la distribución natural de *Q. saponaria*, basada en la información del Catastro de Bosque Nativo (CONAF, 2011), la cual fue obtenida como resultado del proyecto 067/2012 del “Fondo de Investigación del Bosque Nativo” titulado “Propuesta de procedencias e implementación de dos Áreas Productoras de Semillas de Quillay, mejorando la disponibilidad y calidad genética de semillas” (Magni *et al.*, 2015) (Figura 1). Esta cartografía sirvió como guía base para detectar la presencia de la especie en terreno y la planificación de las colectas de material vegetal.

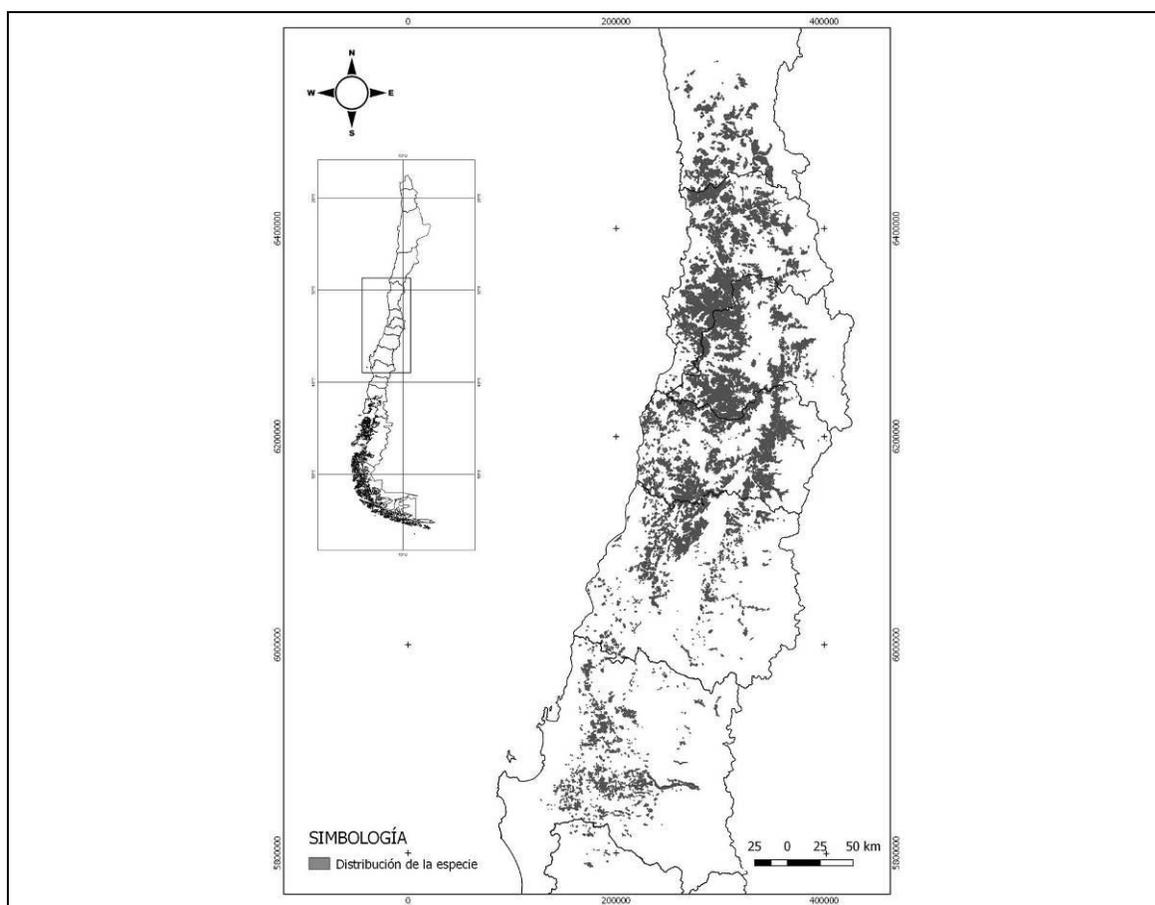


Figura 1. Distribución natural de *Q. saponaria*; los polígonos (en gris) muestran las áreas consideradas para la colecta del material vegetal.

Fuente: Magni *et al.*, 2015.

2.2. Determinación de la estructura genética de la especie en las poblaciones muestreadas (Objetivo 1)

Para el desarrollo de este objetivo se extrajo ADN total y posteriormente se determinaron los parámetros que explican la estructura genética de quillay. El protocolo ejecutado se muestra en el esquema de la Figura 2.

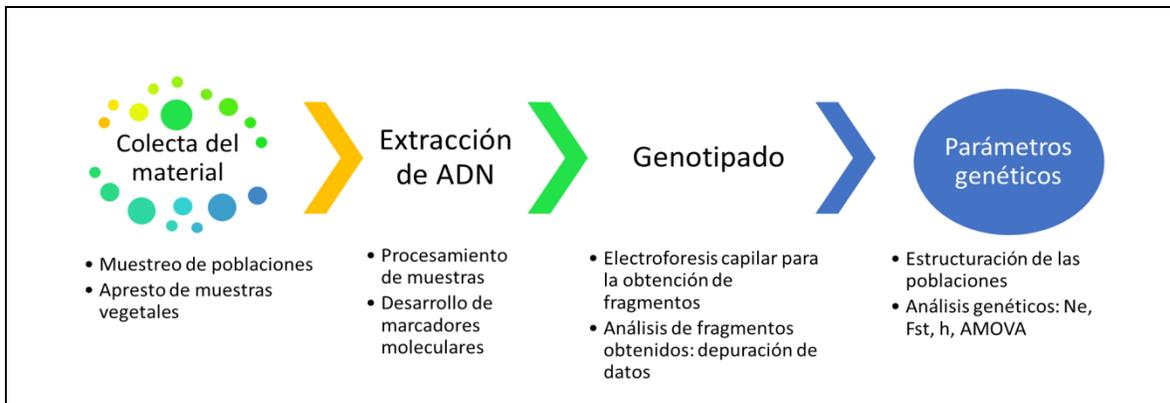


Figura 2. Esquema general de la metodología desarrollada para la determinación de la estructura genética de la especie (Modificado de Alejos *et al.* (2014) y complementado con la metodología del estudio).

2.2.1. Colecta del material vegetal y extracción de ADN

El protocolo de colecta consistió en la obtención de material vegetal de buena calidad (ramas con hojas fotosintéticamente activas y en buen estado fitosanitario) de a lo menos cinco ejemplares por cada locación visitada. En un mismo sector de muestreo, el espaciamiento entre individuos fue de 50 metros como mínimo, de tal forma de reducir la probabilidad de muestrear ejemplares emparentados. Las muestras fueron georreferenciadas (WGS84 Huso 19S) y transportadas a laboratorio para el apresto del material y puesta a punto para las etapas siguientes. La referencia de las localidades y la posición geográfica se detallan en el apéndice I.

Las muestras se deshidrataron en forma gradual, para no degradar el ADN presente en ellas (estufa de aire forzado a 25°C/5 días). Para la extracción de ADN se empleó un kit comercial "Nucleo Spin Plant II" (Macherey Nagel, 2014), siguiendo las instrucciones del fabricante. La estimación de la pureza y cantidad

de ADN se llevó a cabo mediante electroforesis (apreciación visual) y fluorimetría (Fierro, 2014).

2.2.2. Genotipado

Los marcadores moleculares de ADN cloroplástico empleados fueron de tipo microsatelites (CpSSRs; *Chloroplast Simple Sequence Repeats*). Se probaron 12 pares de partidores (Tabla 1), los cuales fueron desarrollados por Taberlet *et al.*, (1991), Weising y Gardener (1999), Cubas *et al.*, (2005), Shaw *et al.*, (2007) y Pardo *et al.*, (2008).

Para la obtención de amplicones fluoroforados, en cada reacción de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) se incluyó un tercer partidore: M13 (TGT AAA ACG ACG GCC AGT) (Schuelke, 2000), marcado con los siguientes fluoróforos: 6-FAM, VIC, NED y PET. Las condiciones de amplificación del PCR se ajustaron según las recomendaciones recabadas de Schuelke (2000).

Las reacciones se llevaron a cabo en un Termociclador T-100 de Bio Rad® empleando programas y condiciones de amplificación optimizadas para cada juego de partidores. Los fragmentos obtenidos se genotiparon en un servicio comercial externo empleando un secuenciador automático basado en la electroforesis capilar (3730 DNA Analyzer), dando como resultado electroferogramas que muestran los alelos por fluorescencia.

Los tamaños exactos de los fragmentos y alelos obtenidos del genotipado fueron determinados por medio del programa computacional Peak Scanner (Thermo Fisher Scientific Inc).

2.2.3. Análisis de datos y obtención de la diversidad genética

Una vez definidos y depurados los tamaños de fragmentos, se procedió a evaluar la estructura genética de la especie a través diferentes aproximaciones:

1. Para la determinación de parámetros genéticos, flujo genético (F_{st}), número alelos efectivos (N_e), diversidad genética (h), entre otros, se empleó la herramienta GENEPOP (v. 4.2; Raymond y Rousset, 1995) y GenAIEx (v. 6.5; Peakall y Smouse, 2012).
2. Para analizar las relaciones entre los genotipos se utilizó un análisis de agrupamiento utilizando el programa Populations (v. 1.2.32; Laboratoire Populations, Génétique et Evolution, Centre National de la Recherche Scientifique, Gif-sur-Yvette, France), en donde se calculó la distancia genética DAS (distancia de alelos compartidos) (Jin y Chakraborty, 1994). Además, como complemento se utilizó GENEPOP, para estimar la distancia genética del estimador F_{st} .
3. Con las dos matrices de distancia genética (DAS y F_{st}) y la generación de una matriz de distancias geográficas, se evaluó los patrones de correlación entre las matrices a través del Test de Mantel (Diniz-Filho *et al.*, 2013), con el fin de encontrar una relación entre las distancias genéticas y las geográficas. Esta información se complementó con un dendrograma a través de *Phylin* en R project (Tarroso *et al.*, 2019)
4. Para analizar el grado de estructuración de las poblaciones se empleó el software STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000), que busca obtener el número de grupos genéticos más probables dentro de los datos obtenidos.

La definición de los haplotipos y la visualización de distribución geográfica de los mismos se realizó a través del programa GenAIEx y QGIS (QGIS Development Team, 2018). Por otra parte, se empleó el programa NETWORK (v.5; Fluxus Technology, 2019) para la construcción de la red de haplotipos.

Tabla 1. Marcadores de cloroplastos (CpSSRs) empleados en los análisis.

Partidor forward	5'	Secuencia	3'	Tm (°C)	Partidor reverse	5'	Secuencia	3'	Tm (°C)	Posición en <i>Nicotiana</i> (bp)	Localización	Tamaño (bp)	Autor (*)
ccmp1		CAGGTAACTTCTCAACGGA		53,3		CCGAAGTCAAAGAGCGATT			57,3	3.801	trnK intron	139	(b)
ccmp2		GATCCCGGACGTAATCCTG		58		ATCGTACCGAGGGTTCGAAT			58,6	8.609	5' to trnS	189	(b)
ccmp3		CAGACCAAAGCTGACATAG		51,3		GTTTCATTTCGGCTCCTTTAT			53,9	10.075	trnG intron	112	(b)
ccmp4		AATGCTGAATCGAYGACCTA		55,3		CCAAATATTBGGAGGACTCT			56,1	12.872	atpF intron	126	(b)
ccmp5		TGTTCCAATATCTTCTTGTCATTT		55		AGTTCCATCGGAACAATTAT			55,4	16.950/16.977	3' to rps2	121	(b)
ccmp6		CGATGCATATGTAGAAAGCC		52,7		CATTACGTGCGACTATCTCC			52,5	45.119	ORF 77–ORF 82 intergenic	103	(b)
ccmp7		CAACATATACCACTGTCAAG		45,1		ACATCATTATTGTATACTCTTTC			44,5	57.339	atpB–rbcL intergenic	133	(b)
ccmp8		TTGGCTACTCTAACCTTCCC		52,9		TTCTTCTTATTTGCGAGDGAA			53,9	71.563	rpl20–rps12 intergenic	77	(b)
ccmp9		GGATTTGTACATATAGGACA		45,1		CTCAACTCTAAGAAATACTTG			44,2	74.060	ORF 74b–psbB intergenic	98	(b)
ccmp10		TTTTTTTTTAGTGAACGTGTCA		53,3		TTCGTCGDCGTAGTAAATAG			53,7	86.694	rpl2–rps19 intergenic	103	(b)
trnG(UUC)		GAATCGAACCCG CATCGTTAG		50	trnS(GCU)	AACTCGTACAACGGATTAGCA ATC			50	-	trnG intron	615-1035	(d)
e		GGTTCAAGTCCCTCTATCCC		50	108	ATTCCAATCAGATCCATTTG			50	-	trnL–trnF intergenic	122-128	(a)/(c)/(e)

(*) a) Taberlet *et al.*, 1991, b) Weising y Gardener, 1999, c) Cubas *et al.*, 2005, d) Shaw *et al.*, 2007 y e) Pardo *et al.*, 2008.

2.3. Modelación de la estructura genética de la especie en todo su rango de distribución (Objetivo 2)

2.3.1. Fuentes de información: datos de presencia y genéticos

Las fuentes de información de entrada del modelo de simulación fueron los datos de presencia (obtenidos en la colecta del material) y la variable genética de interés.

Los datos de presencia se obtuvieron de las colectas del material vegetal empleado en el análisis genético, es decir, el marcaje GPS realizado en los puntos de colecta. Estos puntos de muestreo se depuraron a través del método de distancia euclidiana (distancia lineal entre dos puntos), con tal de no repetir o sobreponer información geográfica y genética.

Del total de variables genéticas obtenidas en el objetivo anterior, se empleó la diversidad genética (h) de las poblaciones como variable objetivo. La elección de esta variable recae sobre la simplicidad de las características que describe y que es de utilidad para entender la estructura genética de las especies.

2.3.2. Modelación determinista a través de IDW de la diversidad genética

Para espacializar la variable genética se empleó el método de Interpolación Inversa a la Distancia (IDW), el cual consiste en una modelación determinista, estimando valores de un atributo en puntos no muestreados. IDW emplea una combinación lineal de los valores en puntos muestreados, ponderados por la función inversa a la distancia. Este método asume el principio de autocorrelación espacial explicada por la Primera Ley de la Geografía, la cual postula que "todas las cosas están relacionadas entre sí, pero las cosas más próximas en el espacio tienen una relación mayor que las distantes" (Tobler, 1970). La formulación de la modelación a través de IDW se detalla en la siguiente expresión (Li *et al.*, 2018):

$$Z = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{1}{(d_i)^p} Z_i}{\sum_{i=1}^n \frac{1}{(d_i)^p}}$$

donde Z es el valor estimado para el punto de predicción, Z_i es el valor del punto de muestreo, d_i es la distancia euclidiana entre la muestra y el punto de predicción, p es un parámetro de potencia y n representa el número de puntos de muestra empleados en la estimación.

La distancia de separación entre un punto muestreado y conocido con aquel desconocido se calcula con la distancia euclidiana:

$$h_{ij} = \sqrt{(\Delta x)^2 + (\Delta y)^2}$$

donde Δx y Δy son las distancias entre el punto desconocido j y el punto muestreado i de acuerdo con los ejes de referencia.

2.3.3. Mapas de riesgo y priorización

Para poder visualizar el riesgo de las poblaciones de la especie en cuanto a su diversidad, se combinó la información obtenida de la interpolación IDW con el Índice de Influencia Humana (HII en sus siglas en inglés) (WCS y CIESIN, 2005) (Figura 3), el cual es una medida directa de la influencia humana en los ecosistemas terrestres, usando la base de datos disponible de asentamientos humanos (densidad poblacional, áreas urbanizadas), accesos (camino, líneas ferroviarias, ríos navegables, bordes costeros), transformación del paisaje (*land use/land cover*) y la infraestructura de la energía eléctrica. Los valores de HII van de 0 a 64; los valores cero representan una nula influencia humana en el sistema y 64 el máximo valor de influencia humana posible en base a los ocho parámetros nombrados anteriormente (Sanderson *et al.* 2002).

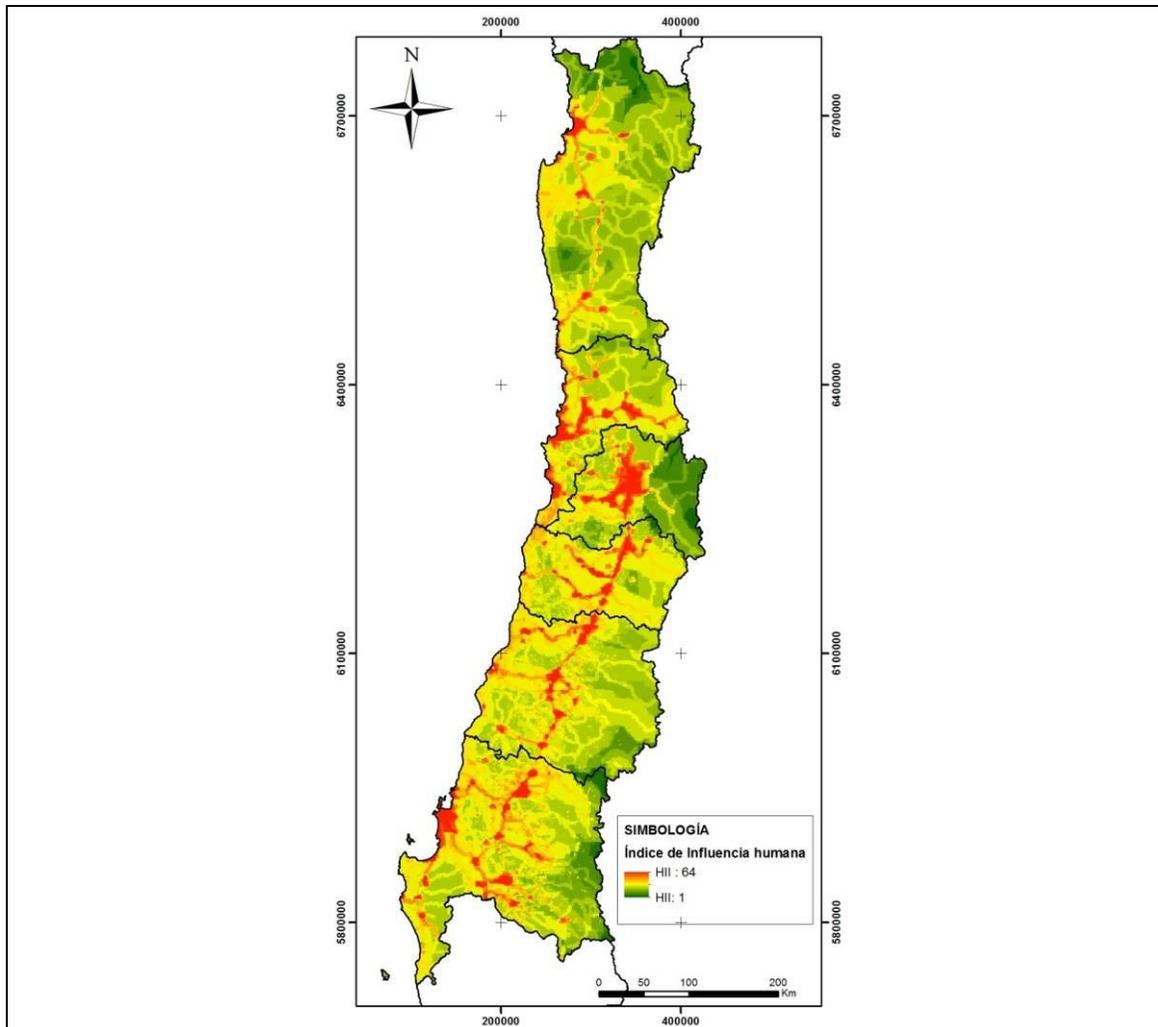


Figura 3. Mapa de Índice de influencia humana (HII).

Fuente: WCS y CIESIN, 2005.

Los valores de las capas de entrada, HII y h , se reclasificaron en tres categorías: bajo, medio, alto, en base a los quiebres naturales de la base de datos (*Jenks natural breaks*) (Jenks, 1963). Se consideró que un alto HII indica un alto riesgo a su vez para la pérdida de diversidad genética en el área.

El cruce de información se formalizó a través de la generación de una matriz de doble entrada con las clasificaciones de los índices de diversidad genética y HII (Tabla 2).

Tabla 2. Matriz de riesgo e índices de priorización.

h/HII	Bajo riesgo	Medio riesgo	Alto riesgo
Baja diversidad	Bajo	Bajo a moderado	Medio
Media diversidad	Bajo a moderado	Alto	Muy alto
Alta diversidad	Medio	Muy alto	Muy alto

*h= diversidad genética; HII= Índice de Influencia Humana

De esta matriz se obtuvo las clasificaciones de riesgo en relación a la presencia potencial de diversidad genética de la especie. La priorización definió cinco categorías: Bajo, bajo a moderado, medio, alto y muy alto, en donde prevalecen aquellas zonas en donde existen las más altas diversidades genéticas sujetas a las áreas de mayor influencia humana.

Como análisis adicional, se comparó el efecto de los incendios producidos en el año 2017 (IDE-Chile, 2018) para evaluar la afectación sobre las poblaciones de quillay, superponiendo los polígonos de ocurrencia de los incendios sobre las localidades muestreadas.

Para todos los cometidos anteriores se emplearon las herramientas R project (R CORE TEAM. 2015) y QGIS (QGIS Development Team, 2018).

2.4. Evaluación de la conservación actual de la especie y proposición de áreas de conservación jerarquizada de sus poblaciones (Objetivo 3)

En este objetivo se evaluó la actual conservación de la diversidad genética de la especie y se propuso áreas de conservación genética a través de la priorización de las poblaciones de importancia para la mantención de este recurso.

Con la información del Catastro de Bosque Nativo (CONAF, 2011) y de los mapas continuos de los parámetros genéticos resultantes del paso anterior, se analizó la actual protección de *Q. saponaria* a través de una comparación de superficies del sistema estatal (Sistema Nacional de Áreas Silvestres Protegidas del Estado, SNASPE), privado (Áreas Silvestres Protegidas Privadas, ASPP) y los sitios definidos como prioritarios para su conservación (Sitios prioritarios para la conservación de la biodiversidad) con la distribución y estructuración genética de la especie, lo que permite analizar la actual protección bajo las figuras de conservación nombradas y observar aquella diversidad genética de importancia que esta fuera de alguno de esos sistemas. Para evaluar la actual representatividad genética en el sistema de protección, se realizó un análisis de cercanía de las localidades muestreadas y sus respectivos haplotipos asociados.

Posterior a este análisis, se implementó un esquema de selección (Figura 4), el cual tuvo como objetivo principal, elegir poblaciones con las características que satisfagan el objetivo de priorización. La selección de las áreas o poblaciones a conservar tuvo como información de entrada, la estructura genética de la especie obtenida como resultado del objetivo N°1, y la interpolación espacial obtenida y el cruce de información para la priorización obtenidos del objetivo N°2.

Para la priorización de las áreas y poblaciones para la conservación genética de la especie se desarrolló de forma complementaria dos análisis de selección. El primero consistió en la elección de las poblaciones con mayor rango de diversidad de la especie y las particularidades genéticas. Esto fue complementado con la simplificación de las áreas resultantes del análisis y priorización por riesgo o influencia humana.

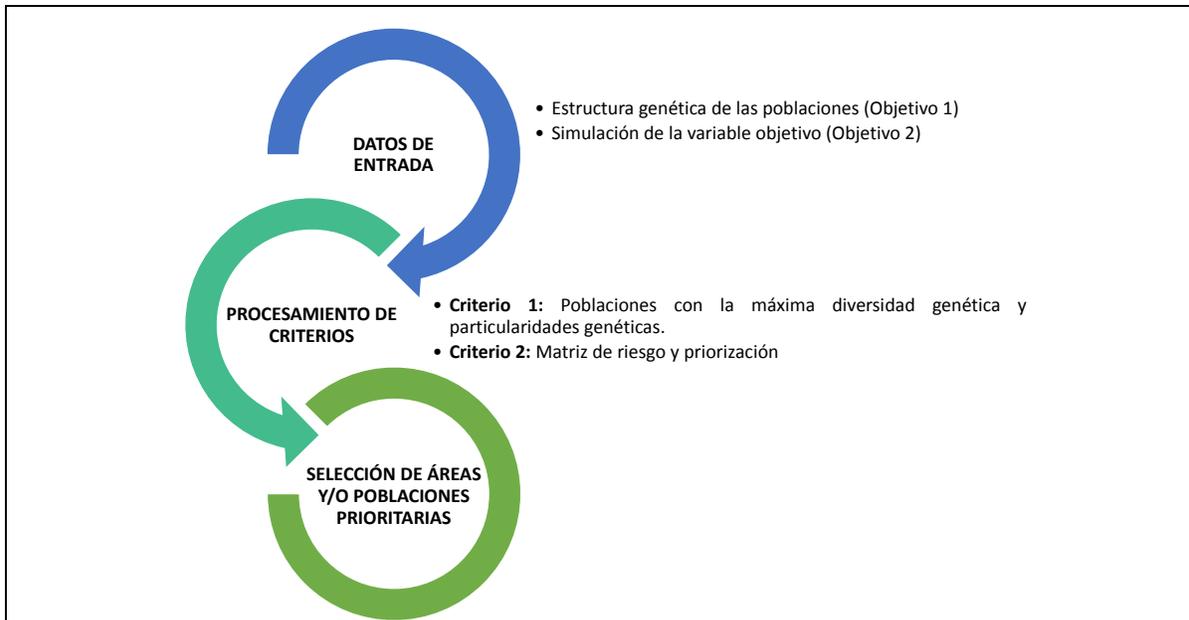


Figura 4. Esquema metodológico para la selección de áreas y poblaciones prioritarias para la conservación genética de la especie.

Los productos de esta selección servirán de antecedentes que complementarán los vacíos de protección, tratando de conciliar y llevar a escala operacional la conservación del recurso genético en estudio (Chávez-González *et al.*, 2015).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Determinación de la estructura genética de la especie en las poblaciones muestreadas (Objetivo 1)

Del total de marcadores probados, solo cuatro (ccmp1, ccmp2, ccmp3 y ccmp10) de los 12 se expresaron y amplificaron en la mayoría de las muestras (Tabla 3). Los marcadores que mostraron mayor nivel de polimorfismos fueron ccmp2 y ccmp10, presentando cinco alelos por *locus*. La dificultad de amplificación de los marcadores es debido a la gran cantidad de extraíbles y elementos secundarios que presenta la especie, lo cual es coincidente con lo indicado por Ramos *et al.* (2010), pues de 27 marcadores sólo amplificaron ocho.

Tabla 3. Amplificaciones de los 12 *primers* testeados para la especie. Se indica la temperatura de *annealing* (Tm) con la cual se realizaron las amplificaciones, el resultado de los protocolos de optimización y los tamaños obtenidos.

cpSSR	Tm reportada (°C)	Tm investigación (°C)	Resultado amplificación	Tamaño fragmento (bp)	
				Reportado	Investigación
ccmp1	53,3	60	+	139	191-192
ccmp2	58	60	+	189	149-159
ccmp3	51,3	60	+	112	148-151
ccmp4	55,3	60	± / =	126	187-189
ccmp5	55	60	=	121	114-115
ccmp6	52,7	60	+*	103	133-134
ccmp7	45,1	57	=	133	71-124
ccmp8	52,9	57	-	77	67-68
ccmp9	45,1	57	±	98	76-134
ccmp10	53,3	60	+	103	102-106
trnG/trnS	50	55,4	=	615-1.035	72-76
e/108	50	55,4	±*	122-128	164-165

Amplificación exitosa (+), amplificación débil (±), amplificación en multibanda (=), amplificación nula (-) y amplificación sin variación (*) (**primer seleccionados en negrita**).

Del análisis de haplotipos (Figura 5), se obtuvo un total de 34 para la especie (apéndice II), los cuales no presentan patrón geográfico evidente, con un haplotipo de alta frecuencia (Q), cuatro de frecuencia común (G, P, T y AB) y ocho haplotipos únicos (A, I, K, V, W, Y, AC, y AH). Estos últimos tampoco representan

una agrupación o patrón de distribución evidente, estando presentes en la región de Valparaíso, Metropolitana, Maule y Biobío. En el estudio realizado por Stoll y Letelier (2013) encontraron la presencia de 21 haplotipos, tres de alta frecuencia y seis únicos.

Los haplotipos presentes en todas las regiones (desde Coquimbo a Biobío) son Q, T y AB. Las regiones con menor cantidad de haplotipos son Valparaíso y O'Higgins. Lo anterior puede estar asociado a la baja cantidad de muestras analizadas (cinco y ocho localidades respectivamente), pues la cantidad de haplotipos a encontrar depende de la cantidad de poblaciones muestreadas y la intensidad de muestreo en estas. Muirhead *et al.* (2008) señalan que entre más poblaciones e individuos se muestrean más específicos y amplios pueden ser los resultados.

Los parámetros de diversidad genética analizados para las 72 localidades de *Q. saponaria* se muestran en la Tabla 4. El Índice de Shannon (I) tuvo un rango entre 0,13 y 0,98, con un promedio de 0,45 ($\pm 0,02$). El alto valor de este índice es atribuible a una mayor diversidad dentro de las localidades, cuyos valores máximos corresponden a las locaciones de Palquico (Región de Valparaíso), María Pinto y Piedra Roja (Región Metropolitana).

La diversidad genética (h) entregó valores entre los 0 y 0,58, con un promedio de $h=0,29 (\pm 0,014)$, lo cual es considerado un rango bajo de diversidad, pero similar a otras especies de familias cercanas, como es Fabaceae (Petit *et al.* 2005, Cubas *et al.*, 2005, Bessega *et al.*, 2019). Ramos *et al.* (2010) en su estudio indicó que *Q. saponaria* presentó bajos niveles de diversidad genética, lo cual se ratifica en el presente estudio. Las implicancias de un bajo rango de diversidad genética conlleva a una limitada capacidad de responder a los cambios del entorno.

Se destacan nuevamente las localidades de Palquico, María Pinto y Piedra Roja, con los más altos valores de diversidad. Se pudo observar la existencia de cuatro localidades en donde su diversidad fue igual a cero, debido a que todos los individuos analizados presentaban el mismo haplotipo (Parque Bucalemu (Región

de Valparaíso), Rapel (Región de O'Higgins), Requinoa (Región de Coquimbo) y camino a Antuco (Región del BíoBío)).

Los rangos de diferenciación poblacional (F_{st}) fluctuaron entre 0,04 y 0,23 con un total de $F_{st}=0,17$, lo cual expresa una moderada estructuración genética intrapoblacional. Este comportamiento puede ser explicado a través de la forma de vida de las especies: aquellas del tipo leñosas, según Hamrick *et al.* (1992), presentan mayor variación dentro de las poblaciones que especies con otras formas de vida, sin embargo, presentan menor variación entre sus poblaciones.

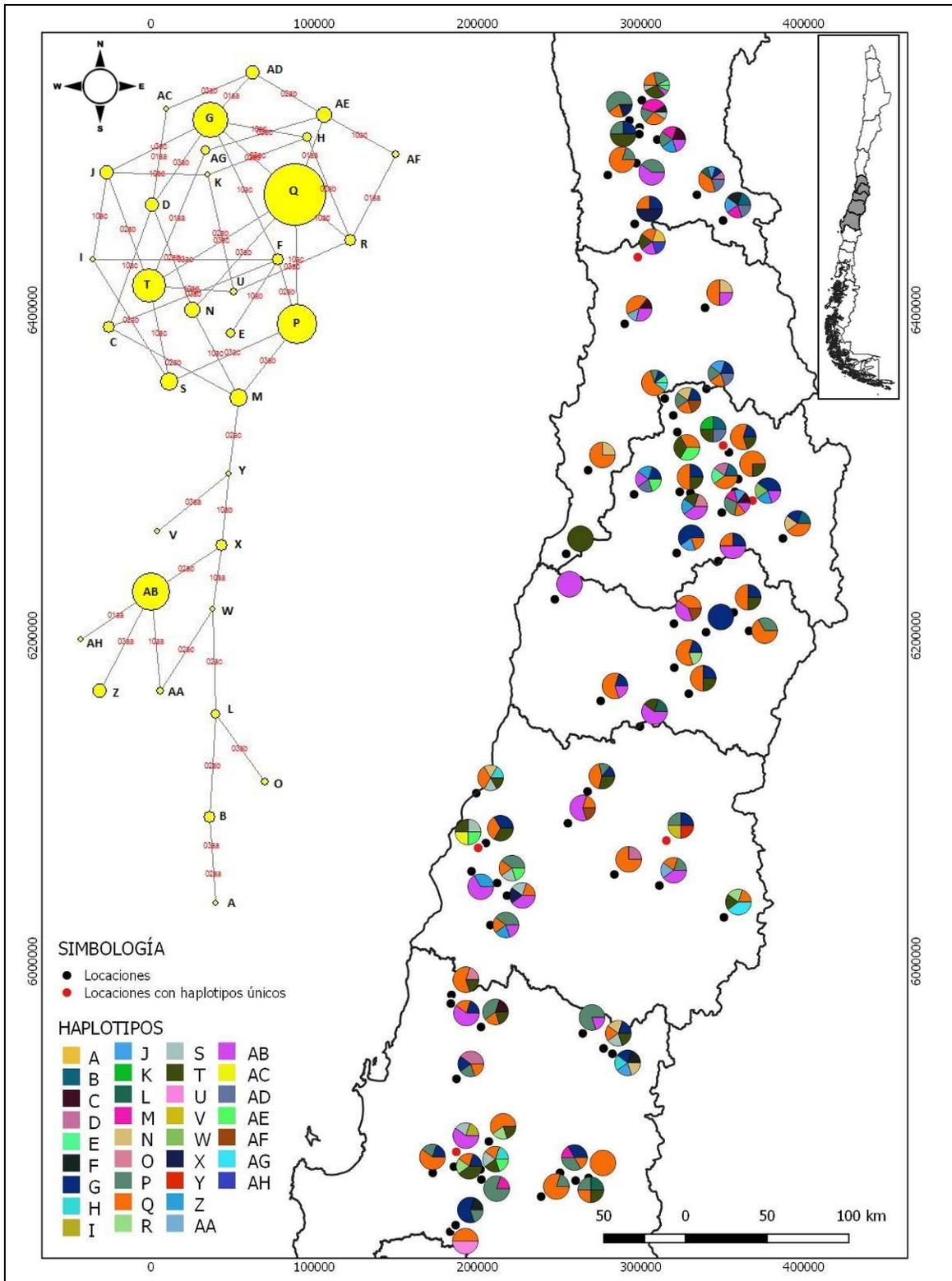


Figura 5. Red de haplotipos y distribución geográfica de los mismos por localidades. Los haplotipos en la red presentan tamaño proporcional a la frecuencia que representan respecto al total de individuos. Las letras asignadas son correlativas y aquellas dobles no tienen relación de parentesco ni afinidad entre sí.

Tabla 4. Estimación de la diversidad genética según análisis de marcadores de CpSSRs, en 72 localidades de *Q. saponaria*.

Localidad	N	Na	EE Na	Ne	EE Ne	I	EE I	h	EE h	uh	EE uh
POP1	11	2	0,408	1,535	0,285	0,452	0,196	0,281	0,124	0,309	0,136
POP2	5	2,500	0,289	2,124	0,377	0,778	0,160	0,480	0,092	0,600	0,115
POP3	5	2	0,408	1,553	0,264	0,488	0,194	0,300	0,115	0,375	0,144
POP4	5	2,250	0,479	1,993	0,375	0,670	0,237	0,420	0,144	0,525	0,180
POP5	4	2	0,408	1,917	0,344	0,607	0,218	0,406	0,139	0,542	0,185
POP6	5	1,750	0,250	1,692	0,231	0,505	0,168	0,360	0,120	0,450	0,150
POP7	14	2,750	0,250	1,752	0,295	0,650	0,163	0,375	0,108	0,404	0,116
POP8	10	2,250	0,250	1,635	0,178	0,580	0,105	0,365	0,073	0,406	0,081
POP9	4	1,750	0,250	1,550	0,206	0,454	0,155	0,313	0,108	0,417	0,144
POP10	5	1,250	0,250	1,118	0,118	0,125	0,125	0,080	0,080	0,100	0,100
POP11	3	1	0	1	0	0 (*)	0	0 (*)	0	0 (*)	0
POP12	4	1,250	0,250	1,150	0,150	0,141	0,141	0,094	0,094	0,125	0,125
POP13	7	2,500	0,645	2,201	0,481	0,741	0,275	0,449	0,155	0,524	0,181
POP14	5	3	0,408	2,649	0,435	0,986	0,174	0,580	0,089	0,725	0,111
POP15	4	1,750	0,250	1,550	0,206	0,454	0,155	0,313	0,108	0,417	0,144
POP16	4	1,500	0,289	1,300	0,173	0,281	0,162	0,188	0,108	0,250	0,144
POP17	5	2	0	1,810	0,113	0,630	0,043	0,440	0,040	0,550	0,050
POP18	5	1,500	0,289	1,235	0,136	0,250	0,144	0,160	0,092	0,200	0,115
POP19	5	2	0,408	1,553	0,264	0,488	0,194	0,300	0,115	0,375	0,144
POP20	4	1,500	0,289	1,300	0,173	0,281	0,162	0,188	0,108	0,250	0,144
POP21	3	1	0	1	0	0 (*)	0	0 (*)	0	0 (*)	0
POP22	3	1,250	0,250	1,200	0,200	0,159	0,159	0,111	0,111	0,167	0,167
POP23	3	1	0	1	0	0 (*)	0	0 (*)	0	0 (*)	0
POP24	5	2,250	0,629	2,104	0,535	0,670	0,272	0,420	0,151	0,525	0,189
POP25	5	2,250	0,479	1,993	0,375	0,670	0,237	0,420	0,144	0,525	0,180
POP26	5	2	0,408	1,667	0,276	0,531	0,200	0,340	0,124	0,425	0,155
POP27	4	1,500	0,289	1,300	0,173	0,281	0,162	0,188	0,108	0,250	0,144
POP28	5	2,250	0,250	1,897	0,164	0,699	0,093	0,460	0,050	0,575	0,063
POP29	5	1,750	0,250	1,466	0,188	0,418	0,145	0,280	0,101	0,350	0,126
POP30	3	1,250	0,250	1,200	0,200	0,159	0,159	0,111	0,111	0,167	0,167
POP31	3	1,500	0,289	1,400	0,231	0,318	0,184	0,222	0,128	0,333	0,192
POP32	4	2,250	0,250	1,967	0,252	0,714	0,113	0,469	0,060	0,625	0,080
POP33	6	2,250	0,479	1,739	0,346	0,582	0,228	0,347	0,135	0,417	0,162
POP34	5	1,750	0,250	1,579	0,221	0,462	0,159	0,320	0,113	0,400	0,141
POP35	4	2,250	0,479	1,983	0,413	0,660	0,247	0,406	0,148	0,542	0,197
POP36	5	2,500	0,500	2,081	0,379	0,739	0,248	0,440	0,148	0,550	0,185
POP37	7	1,750	0,250	1,335	0,141	0,355	0,126	0,224	0,084	0,262	0,098
POP38	4	2	0,577	1,833	0,481	0,520	0,300	0,313	0,180	0,417	0,241
POP39	5	2	0,408	1,680	0,382	0,514	0,215	0,320	0,131	0,400	0,163
POP40	5	1	0	1	0	0 (*)	0	0 (*)	0	0 (*)	0
POP41	5	1,500	0,289	1,235	0,136	0,250	0,144	0,160	0,092	0,200	0,115
POP42	5	2	0,408	1,780	0,273	0,574	0,202	0,380	0,128	0,475	0,160
POP43	4	1,500	0,289	1,500	0,289	0,347	0,200	0,250	0,144	0,333	0,192

Continuación Tabla 4. Estimación de la diversidad genética según análisis de marcadores de CpSSRs, en 72 localidades de *Q. saponaria* (continuación).

Localidad	N	Na	EE Na	Ne	EE Ne	I	EE I	h	EE h	uh	EE uh
POP44	5	1,500	0,289	1,235	0,136	0,250	0,144	0,160	0,092	0,200	0,115
POP45	5	1,750	0,250	1,466	0,188	0,418	0,145	0,280	0,101	0,350	0,126
POP46	5	1,250	0,250	1,118	0,118	0,125	0,125	0,080	0,080	0,100	0,100
POP47	5	1,500	0,289	1,235	0,136	0,250	0,144	0,160	0,092	0,200	0,115
POP48	5	2	0,408	1,667	0,276	0,531	0,200	0,340	0,124	0,425	0,155
POP49	5	1,750	0,250	1,579	0,221	0,462	0,159	0,320	0,113	0,400	0,141
POP50	5	2,250	0,479	1,754	0,315	0,600	0,226	0,360	0,133	0,450	0,166
POP51	5	1,750	0,250	1,353	0,118	0,375	0,125	0,240	0,080	0,300	0,100
POP52	5	2	0,408	1,780	0,273	0,574	0,202	0,380	0,128	0,475	0,160
POP53	5	1,500	0,289	1,348	0,221	0,293	0,173	0,200	0,120	0,250	0,150
POP54	5	2,250	0,250	1,784	0,195	0,656	0,106	0,420	0,060	0,525	0,075
POP55	6	1,750	0,250	1,546	0,223	0,445	0,157	0,306	0,112	0,367	0,135
POP56	5	1,250	0,250	1,118	0,118	0,125	0,125	0,080	0,080	0,100	0,100
POP57	5	2,500	0,645	2,192	0,532	0,739	0,281	0,440	0,155	0,550	0,194
POP58	4	2	0,408	1,917	0,344	0,607	0,218	0,406	0,139	0,542	0,185
POP59	5	2	0	1,584	0,113	0,544	0,043	0,360	0,040	0,450	0,050
POP60	3	1,500	0,289	1,400	0,231	0,318	0,184	0,222	0,128	0,333	0,192
POP61	10	2,250	0,250	1,356	0,079	0,447	0,076	0,255	0,043	0,283	0,048
POP62	5	1,750	0,250	1,579	0,221	0,462	0,159	0,320	0,113	0,400	0,141
POP63	5	2,500	0,500	2,333	0,444	0,791	0,264	0,480	0,160	0,600	0,200
POP64	4	1,250	0,250	1,150	0,150	0,141	0,141	0,094	0,094	0,125	0,125
POP65	5	1,500	0,289	1,235	0,136	0,250	0,144	0,160	0,092	0,200	0,115
POP66	5	1,500	0,289	1,235	0,136	0,250	0,144	0,160	0,092	0,200	0,115
POP67	5	2,500	0,289	2,224	0,202	0,838	0,098	0,540	0,038	0,675	0,048
POP68	7	2,500	0,500	2,061	0,359	0,729	0,243	0,439	0,147	0,512	0,171
POP69	5	2	0,408	1,780	0,273	0,574	0,202	0,380	0,128	0,475	0,160
POP70	4	2,500	0,289	2,133	0,308	0,801	0,138	0,500	0,072	0,667	0,096
POP71	4	1,500	0,289	1,300	0,173	0,281	0,162	0,188	0,108	0,250	0,144
POP72	5	2,250	0,250	1,671	0,201	0,613	0,112	0,380	0,060	0,475	0,075
Total	5,1	1,858	0,044	1,593	0,035	0,454	0,022	0,291	0,014	0,366	0,018

N= número de individuos por localidad, Na=número de alelos diferentes, Ne= número efectivo de alelos, I= Índice de Shannon, h=diversidad genética y uh=diversidad insesgada. Los errores estándar del análisis se incorporan en el apéndice II

(*) Los valores iguales a cero en I, h y uh corresponden a localidades con igual haplotipo para todos sus individuos (Na y Ne =1).

El análisis de varianza molecular (AMOVA) reportó un 17% de variación genética explicada por el componente interregional y la mayor variabilidad concentrada dentro de las localidades (83%) (Tabla 5). Estos análisis también fueron coincidentes con los encontrados por Stoll y Letelier (2013), en donde la mayor variabilidad fue encontrada dentro de las poblaciones con un 78,1%. Ambos

análisis tienen coincidencia con el comportamiento en general de las especies leñosas de amplia distribución, como es el caso de quillay, en donde se presenta mayor variación dentro de las poblaciones y menor variación entre poblaciones (Hamrick *et al.*, 1992)

Tabla 5. Resumen de los análisis de varianza molecular (AMOVA) en CpSSR

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación
Entre localidades	71	109,3	1,54	0,16	17%
Dentro de la localidad	292	219,9	0,75	0,75	83%
Total	363	329,24		0,909	100%

El flujo genético analizado a través del número efectivo de migrantes por generación (N_m), fue de 2,42, indicando que el flujo genético supera los efectos de la deriva génica y previene la diferenciación local, debido a que la presencia de más de un migrante por generación es suficiente para evitar la diferenciación por efectos de deriva (Piñero *et al.*, 2008).

La correlación de las matrices genéticas (DAS y F_{st}) y geográfica a través de Test de Mantel no entregó resultados significativos de relación entre el componente genético y el geográfico ($r = -0,001$ y $0,01$; $P = 0,48$ y $0,34$, respectivamente).

Los análisis anteriores se complementaron con otro análisis a través de STRUCTURE, donde se obtuvo que la especie está compuesta de tres grupos genéticos (Figura 6), los cuales no tienen un gradiente geográfico Norte-Sur, por no estar relacionada la ubicación con su estructura genética según los resultados.

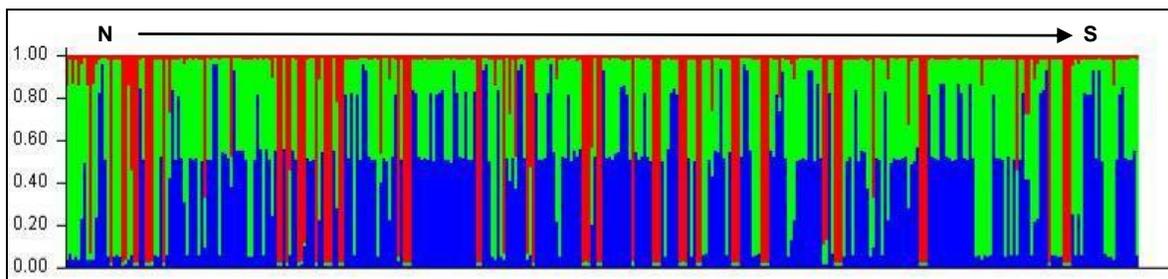


Figura 6. Muestra de la estructuración de los tres grupos resultantes del análisis en STRUCTURE (cada color representa un grupo genético). Los individuos están ordenados de norte a sur (de izquierda a derecha).

La estructura poblacional entregada por el análisis de agrupamiento mediante Neighbour-Joining (Figura 7) indicó la presencia de cuatro grupos, sin una relación geográfica entre sí; cada conjunto contiene locaciones en diferentes regiones del país, lo cual es coincidente con los otros análisis de la relación genética/geográfica a nivel poblacional.

Existe una hipótesis de larga data que asume que la diversidad genética de las especies presentan un patrón "centro-periferia" (CPH) (Sagarin y Gaines, 2002), en donde las poblaciones periféricas presentan baja diversidad genética y mayor diferenciación por aislamiento geográfico, en comparación con poblaciones geográficamente centrales. Dicho patrón no es coincidente con los resultados obtenidos para quillay y es coherente con otros estudios que sugieren que la hipótesis "centro-periferia" no aplica a todas las distribuciones de organismos (Eckert *et al.*, 2008; Pironon *et al.*, 2016). En variados casos se ha demostrado que existe una baja diferencia entre las poblaciones centrales y periféricas, postulando la incorporación de enfoques interdisciplinarios que incorporen factores contemporáneos e históricos para el entendimiento de los patrones espaciales de la variación genética (Pironon *et al.*, 2014).

Por otra parte, los análisis realizados a los parámetros genéticos de la especie confirman la hipótesis que es una especie que se comporta como una gran población, característico de aquellas con larga data en el territorio que ocupan, lo cual se puede relacionar con el trabajo de Moura y Alves (2017), quienes a través de la modelación de la presencia de *Quillaja brasiliensis*, explican que las dos especies del único género de la familia Quillajaceae comparten una historia de origen y una especiación vicariante climática producida por un aislamiento que generó una evolución independiente, conservando su categoría sistemática. Lo anterior respondería a que la especie no presenta agrupación de haplotipos de forma geográfica, al exhibir una diversidad disgregada a través de su rango de distribución, signo de que es una especie que lleva mucho tiempo presente en los ecosistemas donde habita y que ha mantenido dicha diversidad a través del tiempo.

Se proyectaba que debido a su amplia distribución y el habitar en diversas situaciones ambientales, la especie tendría una diferenciación entre las poblaciones septentrionales y australes, lo cual, con variados análisis no pudo ser comprobado en este estudio. La plasticidad fenotípica no siempre conlleva a una adaptación genética (Pfennig *et al.*,2010) y eso es lo que podría ocurrir con quillay: la especie muestra adaptaciones fenotípicas a los sitios que habita, pero no una adaptación del tipo genética.

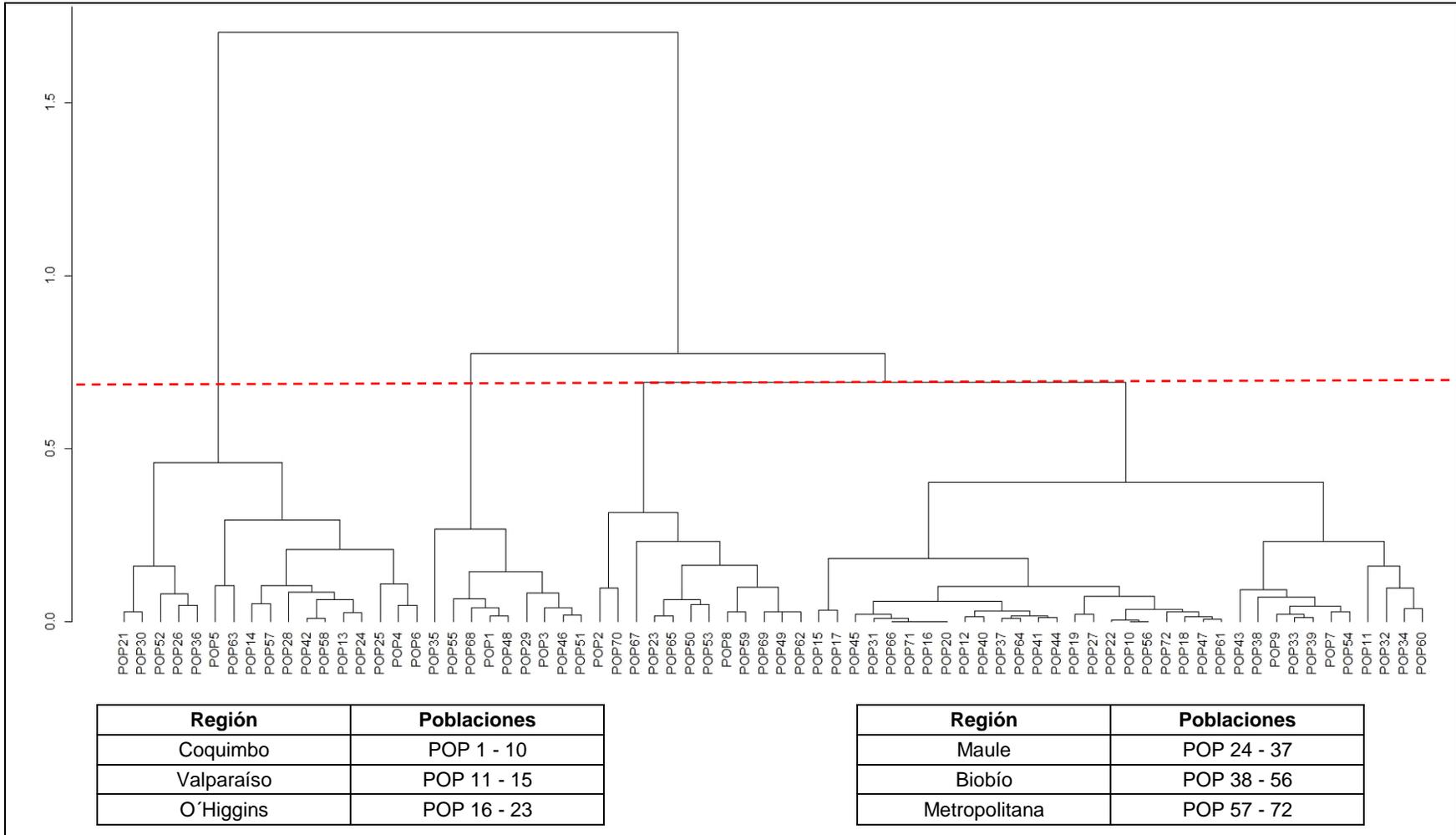


Figura 7. Dendrograma de las distancias genéticas de las localidades por agrupamiento de Neighbour-joining. La línea roja punteada indica el nivel de similitud, diferenciando los cuatro grupo planteados por el análisis.

3.2. Modelación de la estructura genética de la especie en todo su rango de distribución (Objetivo 2)

Se consideraron 364 individuos con sus respectivas coordenadas GPS como puntos de presencia, los cuales, bajo un parámetro de agrupación poblacional, se distribuyeron en 72 poblaciones. Las poblaciones se obtuvieron al agrupar localidades cercanas entre ellas (menos de 5 km de distancia) y sitios de baja cantidad de muestras (menor a 3 muestras).

La variable objetivo simulada en el plano espacial fue la diversidad genética (h), obtenida en el objetivo anterior (detalles en Tabla 4).

La interpolación a través de IDW entregó una simulación potencial de la diversidad genética de forma continua (Figura 8), pudiéndose observar áreas de alta, media y baja diversidad genética de la especie en estudio, la cual se mueve entre 0 y 0,58.

A pesar de ser una interpolación sencilla, Sentianto y Triandini (2013) señalan que IDW se desempeña de mejor manera que métodos más robustos basados, por ejemplo, en *kriging*, cuando los datos de la muestra no indican una estructura espacial, lo cual es aplicable al comportamiento de la diversidad genética de quillay.

A lo largo de la distribución de la especie se identificaron zonas potenciales de alta concentración de diversidad genética (en rojo, Figura 8). Al analizar la diversidad en las secciones costa, valle y cordillera, los sectores costeros de más alta diversidad se encuentran concentrados en la región de Valparaíso, extendiéndose hasta la comuna de Navidad en la región de O'Higgins. Además, se observan dos puntos de concentración en la región del Maule, cerca de Constitución y Cauquenes. En los sectores de valle se destaca Illapel y el norte de la región Metropolitana. En los sectores cordilleranos se acentúa el valle longitudinal perteneciente al Río Maule y el tramo final del Río Melado.

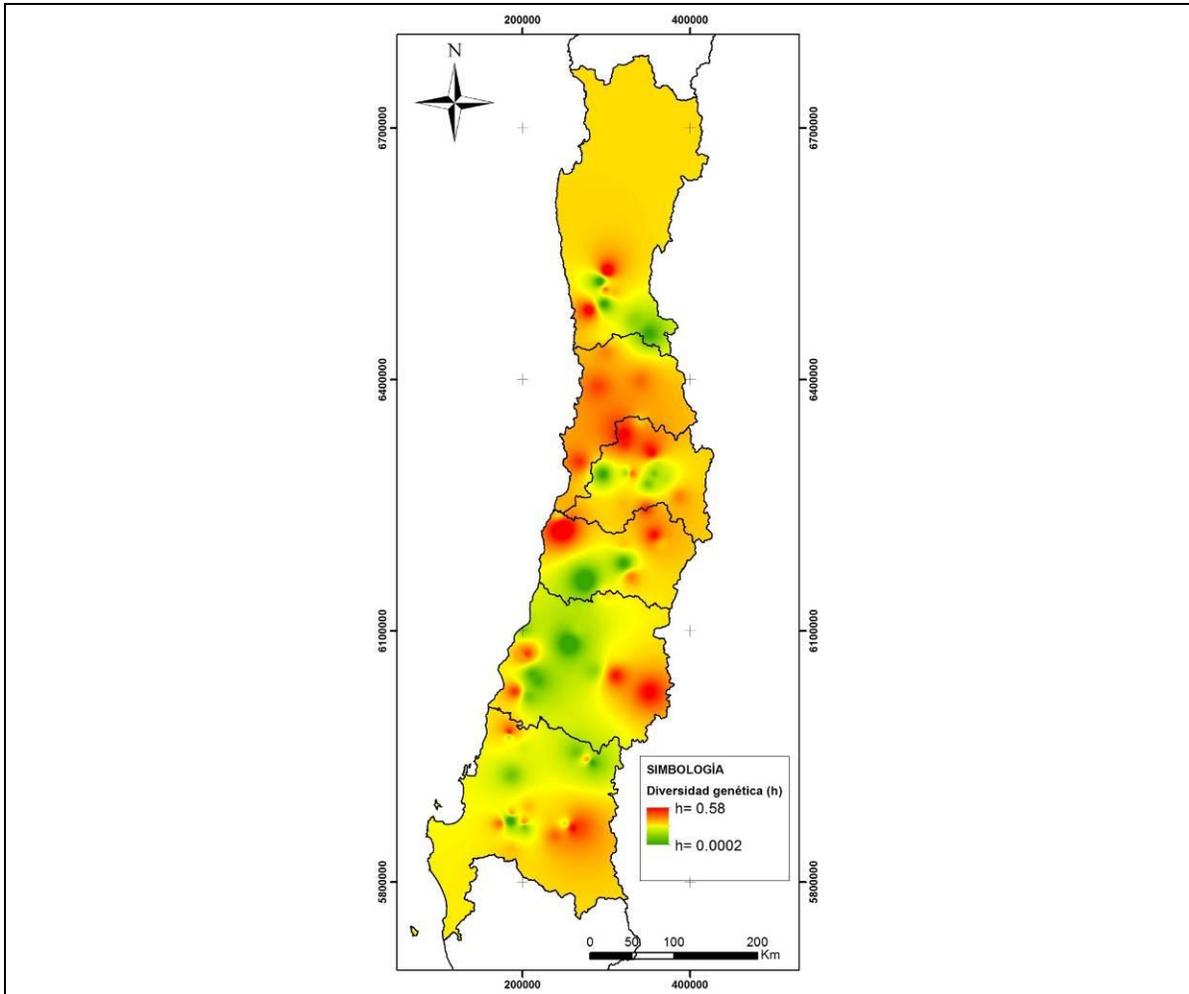


Figura 8. Resultado de la modelación de la diversidad genética de la especie a través de IDW.

Para el cruce de información, se reclasificó los raster de diversidad genética e influencia humana (Figura 9) en valores altos, medios y bajos para cada capa de entrada en la matriz de riesgo.

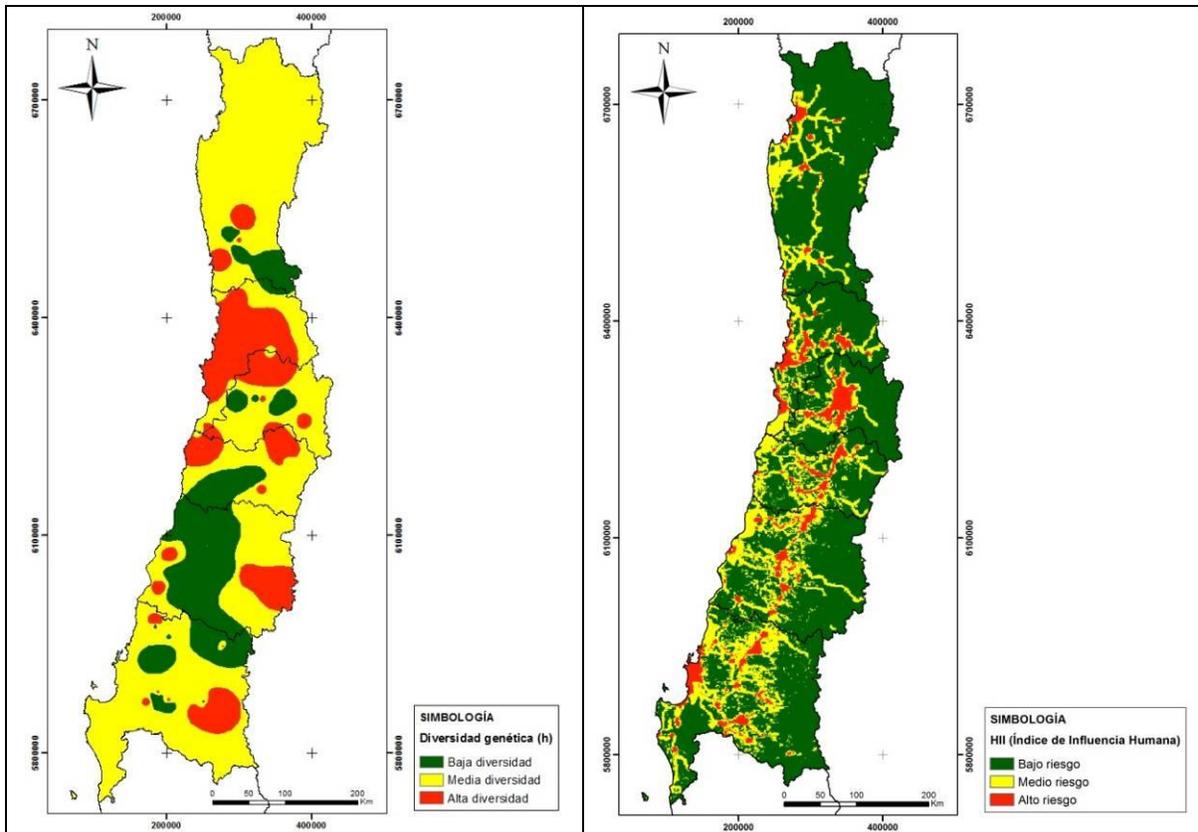


Figura 9. Reclasificación de las capas de diversidad genética de *Q. saponaria* (izquierda) e influencia humana (HII) (Derecha).

Al cruzar las capas reclasificadas de IDW y HII, se obtuvo nueve categorías de información, desde las áreas de baja diversidad y bajo riesgo, hasta aquellos sitios de alta diversidad y alto riesgo (Figura 10).

Las zonas de más alto riesgo y alta diversidad se encuentran ubicadas en la zona central de la distribución de la especie, extendiéndose entre las localidades de Petorca (Valparaíso) y Rengo (O'Higgins).

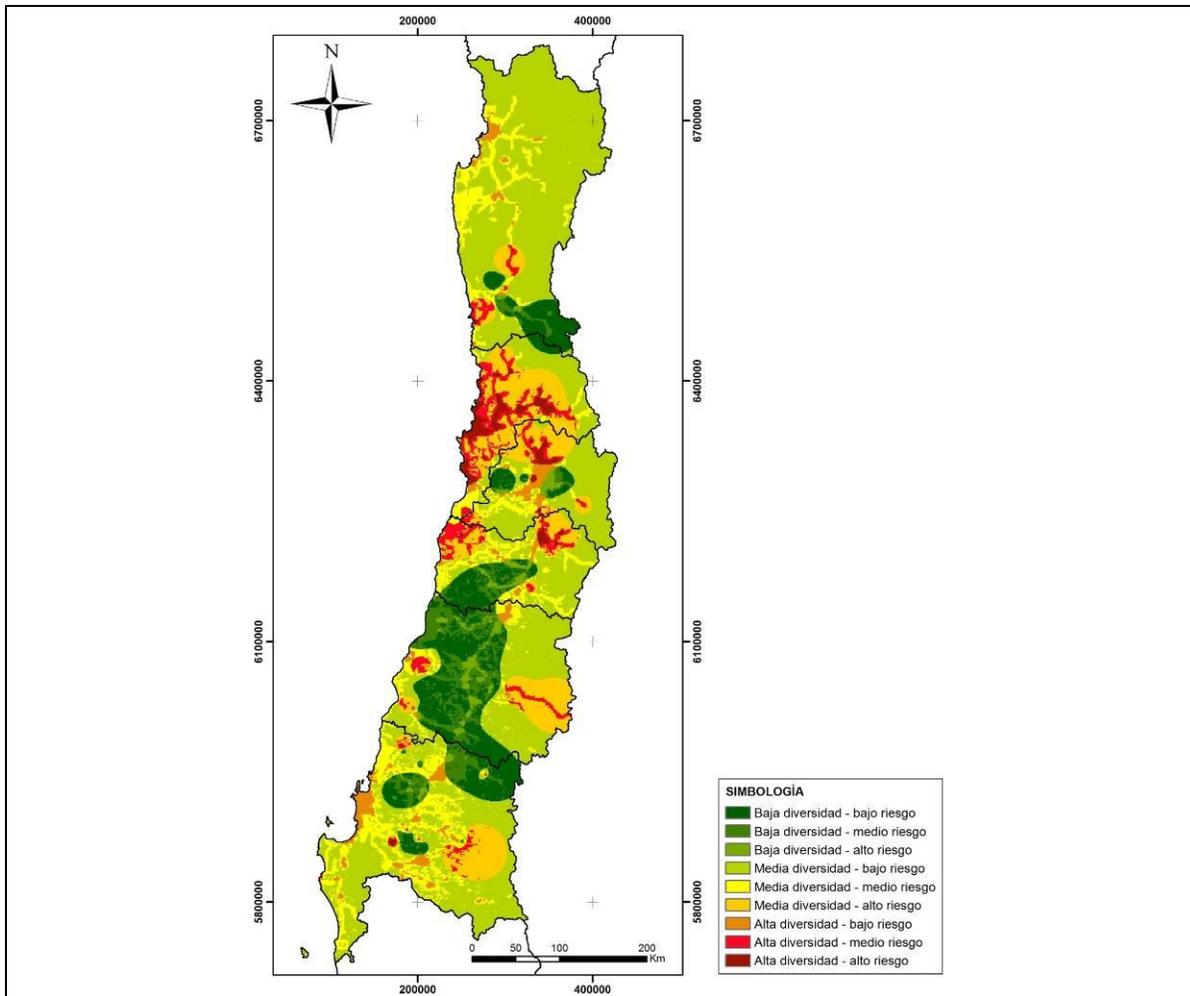


Figura 10. Áreas prioritarias de conservación para quillay según la concentración de la diversidad genética y un índice de influencia humana.

Como se aprecia en la Figura 10, los sectores de más alta prioridad para la conservación genética de la especie coinciden con aquellos de alta urbanización a nivel país (región de Valparaíso y Metropolitana).

Si bien, las áreas urbanas presentan grandes modificaciones, pequeños o escasos parches de vegetación (artificial o natural) en un paisaje altamente fragmentado (Manel y Holderegger, 2013), son importantes de considerar dentro de las estrategias de conservación, debido a la conectividad potencial que pueden ofrecer, siendo esta un ramo de investigación ampliamente estudiada para animales (Kool *et al.*, 2013), no así para plantas (Holderegger *et al.*, 2010).

Del análisis de comparación de los incendios del año 2017 con la afectación a la diversidad genética de quillay, se pudo apreciar que, del total de localidades muestreadas, 14 de ellas fueron afectadas por los incendios, en donde seis localidades presentaban alta diversidad, incluyendo tres con haplotipos únicos (Figura 11). En relación a la ocurrencia de los incendios, un 32,6% de ellos afectó áreas de alta diversidad genética para la especie.

Cowling *et al.* (2014) y Rundel *et al.* (2018) estudiaron los efectos de los incendios en las zonas mediterráneas a nivel mundial, especificando que, en la zona central de Chile las especies leñosas tienen por característica el rebrote desde cepas post-incendio y, en algunos clados, presentan semillas tolerantes al calor. Sin embargo, esto no asegura la mantención de la diversidad anterior a la ocurrencia de incendios. Sería de interés la evaluación y comparación de la diversidad post-incendio con la encontrada en este estudio, con tal de verificar si la diversidad de la especie se mantuvo, se redujo o permitió la incorporación de nuevos genotipos a través de la regeneración natural.

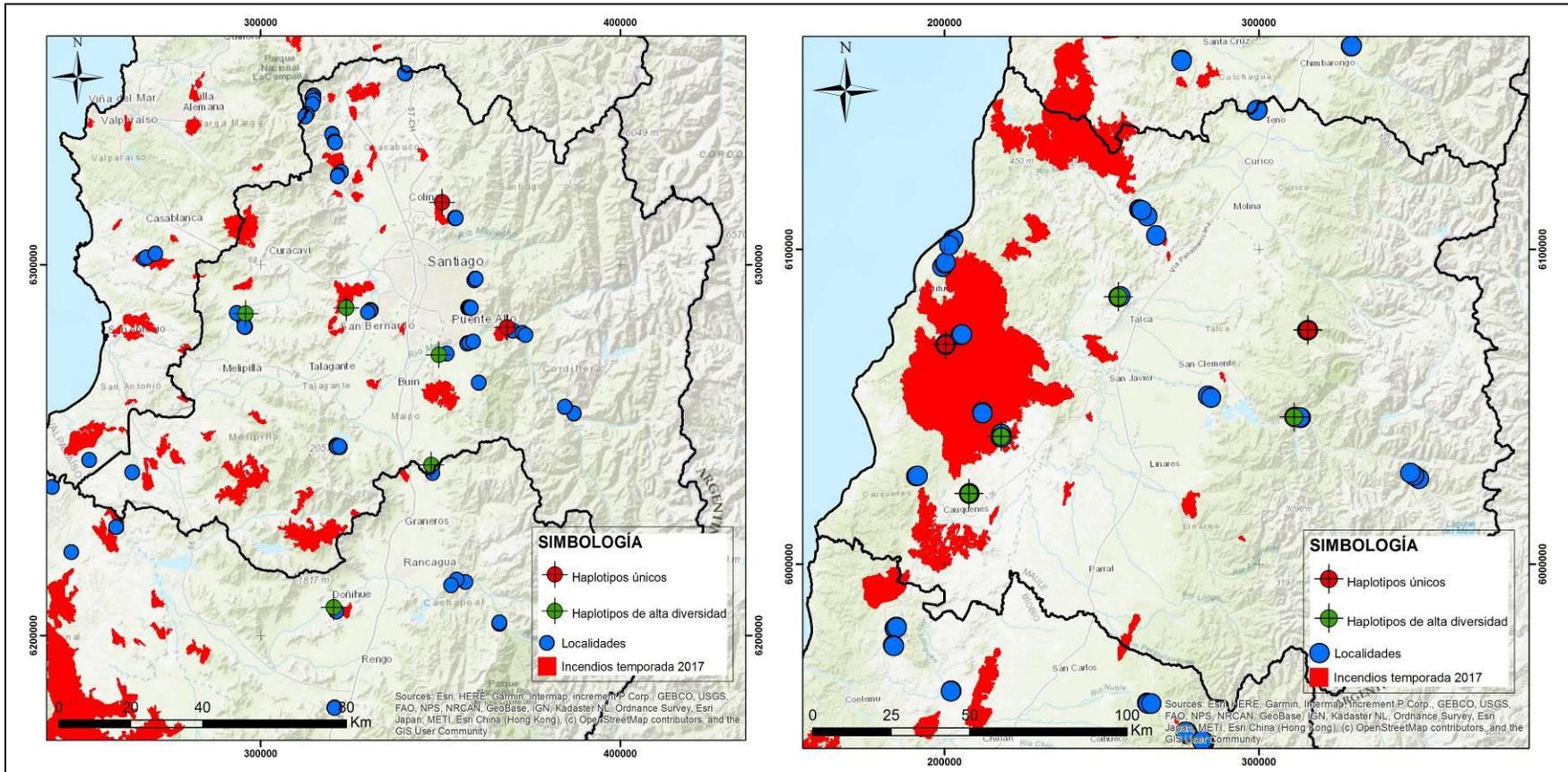


Figura 11. Ejemplificación de la afectación de los mega incendios del año 2017 en las poblaciones muestreadas de quillay. Se representa las áreas más afectadas en la región Metropolitana y del Maule, cuyas áreas presentaron la mayor afectación de localidades con alta diversidad genética y haplotipos únicos.

3.3. Evaluación de la conservación actual de la especie y proposición de áreas de conservación jerarquizadas de sus poblaciones (Objetivo 3)

3.3.1. Conservación actual de la especie

Se evaluó la actual protección del sistema estatal y privado de conservación (SNASPE y ASPP). En el apéndice III se indica el detalle de las superficies conservadas de la especie, sin considerar la densidad poblacional de quillay presentes en ellas.

Según el catastro, la especie se presentaría en una superficie de 1.310.175 ha, de las cuales 14.785 ha estarían bajo la protección del SNASPE y 11.833 ha en áreas privadas (ASPP). Estas superficies corresponderían a sólo el 1,4 % (SNASPE) y 0,9% (ASPP) de protección de toda la superficie que ocupa la especie en nuestro territorio.

La baja protección a nivel de formaciones vegetacionales que contienen la especie en estudio, se condice con el desequilibrio de la ubicación de las áreas protegidas en el territorio nacional. Squeo *et al.* (2010) indican que las figuras de protección actual presentan una representatividad con vacíos y omisiones de conservación, reflejados en serios problemas de representación al comparar la zona norte, centro y sur de nuestro país, siendo esta última la que ostenta la mayor concentración de áreas de protección.

El análisis de cercanía (Tabla 6), que evaluó la representatividad genética de la especie entregó que sólo cinco áreas del SNASPE presentan haplotipos asociados a su protección (rango máximo de 5 km de zona de influencia): RN Las Chinchillas Región de Coquimbo), PN La Campana(V R), RN Río Cipreses (VI R), PN Radal Siete Tazas (VII R) y RN Los Ruíles (VII R), que en su conjunto conservan 14 haplotipos (41,2% de los haplotipos encontrados para la especie) en siete localidades.

En el caso de las áreas privadas hubo sólo cuatro áreas que ingresaron al análisis: Fundo romeral (RM), Fundo Las Mercedes (Altos de Chicauma) (RM), Cerro Cantalao (RM) y RNP Altos de Cantillana (RM). El análisis fue realizado con una zona de influencia de sólo 2 km (debido a lo pequeño de las superficies asociadas a la protección). Los haplotipos que estarían conservados bajo esta figura serían sólo siete, consistiendo en el 20,6% respecto a los haplotipos totales.

Adicionalmente, se realizó el mismo análisis de cercanía para los "Sitios prioritarios para la conservación de la biodiversidad" (SPCB), en donde 13 poblaciones cupieron en el análisis, pudiendo conservar 21 haplotipos (61,7%) y un haplotipo único. Cabe mencionar que los sitios prioritarios se originaron como compromiso internacional para la protección de la diversidad nacional, complementando la protección del SNASPE (Muñoz *et al.*, 1997), sin embargo, hasta la fecha carecen de facultades legales que definan el organismo administrador y las facultades de acción frente a situaciones de conflicto.

Tabla 6. Resumen del análisis de cercanía para la evaluación de la conservación genética actual

Tipo de protección	Poblaciones conservadas	N° haplotipos conservados	Porcentaje haplotipos conservados	N° haplotipos únicos conservados	Promedio de diversidad (h)
SNASPE	7	14	41,2%	1	0,25
ASPP	4	7	20,6%	0	0,20
SPCB	13	21	61,7%	1	0,32

En cuanto a la diversidad genética interpolada y su potencial protección (Figura 12), se pudo verificar nuevamente la baja representación de las figuras actuales a pesar de existir puntos de contacto entre algunas áreas protegidas y sitios de alta diversidad genética. En el caso de los sitios prioritarios, al ser superficies con mayor amplitud, abarcan situaciones en donde la diversidad genética es relevante. Sin embargo, esto aplicaría principalmente para la región Metropolitana, donde los sitios prioritarios corresponden al 70% de la superficie total regional (GORE-RMS - SEREMI MMA RMS, 2013).

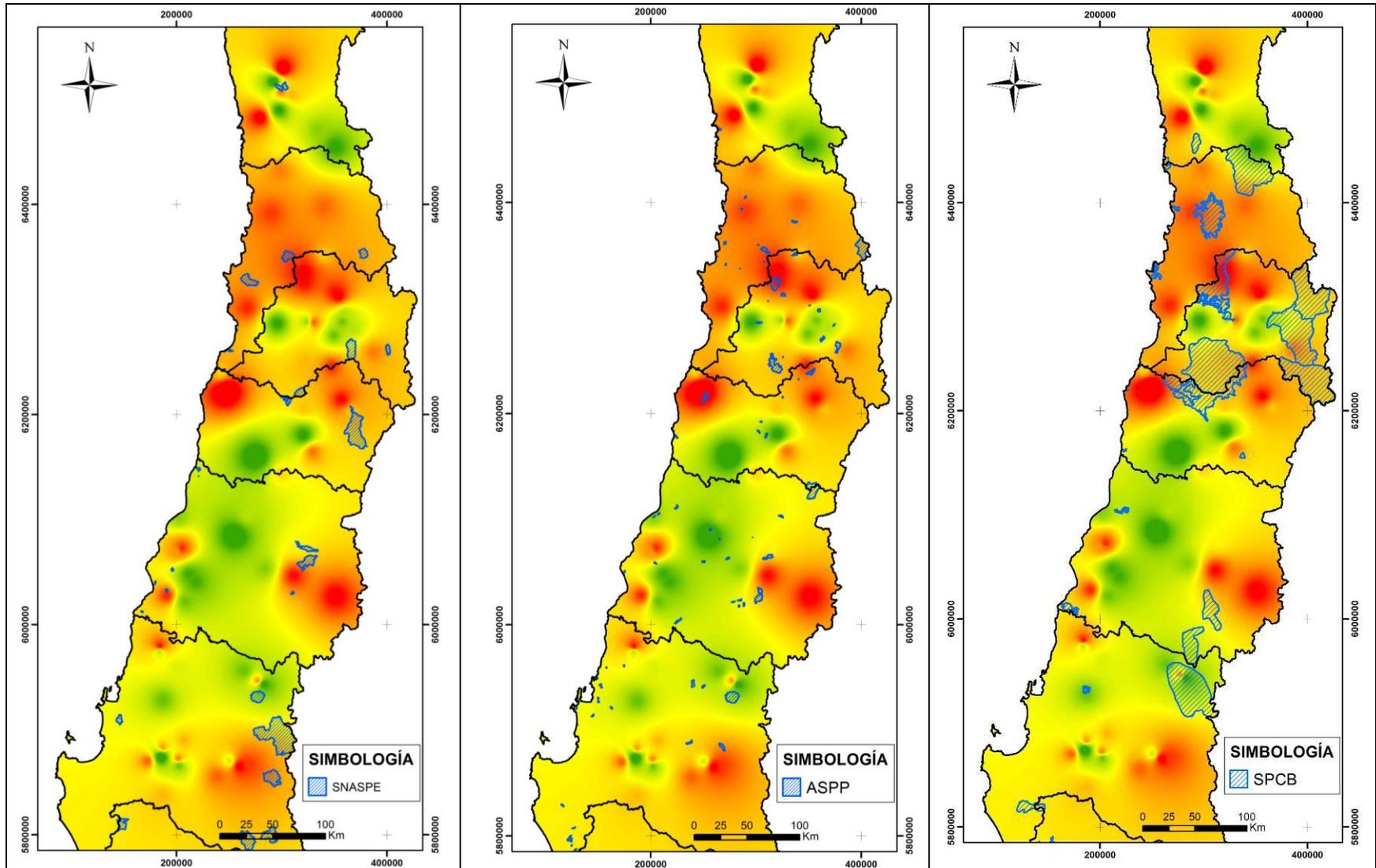


Figura 12. Representación de las áreas de protección en comparación con simulación de la distribución de la diversidad genética para quillay. De izquierda a derecha: SNASPE, ASPP y Sitios prioritarios para la conservación de la biodiversidad (SPCB).

Los análisis anteriormente expuestos validan los bajos rangos de protección de las áreas que actualmente operan frente a la conservación en nuestro país, debido a que no responden de forma eficiente a los requerimientos y compromisos actuales de conservación, sobre todo desde el punto de vista genético, pues no se dispone de estimaciones de pérdida de diversidad genética o antecedentes históricos que permitan diagnosticar el estado actual de las poblaciones (MMA, 2017).

3.3.2. Propuesta de conservación genética para *Q. saponaria*

El primer análisis para la propuesta de conservación genética consistió en la elección de la máxima diversidad de la especie y sus particularidades genéticas.

Al asignar un supuesto en donde se conservará aquellas poblaciones con $h \geq 0,4$ (de 0,4 a 0,58, que es el máximo valor de diversidad encontrado y corresponde al tercio más alto de la diversidad), 19 localidades cumplirían dicho requisito y estarían repartidas en toda la distribución de la especie (Figura 13), con una diversidad promedio de 0,45. La elección de estas localidades conservaría 26 de los 34 haplotipos encontrados, representando el 76,5% de la diversidad total, incorporando siete de los ocho haplotipos únicos. Se agregó a esta priorización la localidad de Ruta Yumbel, por presentar un haplotipo único, a pesar de no tener alta diversidad genética.

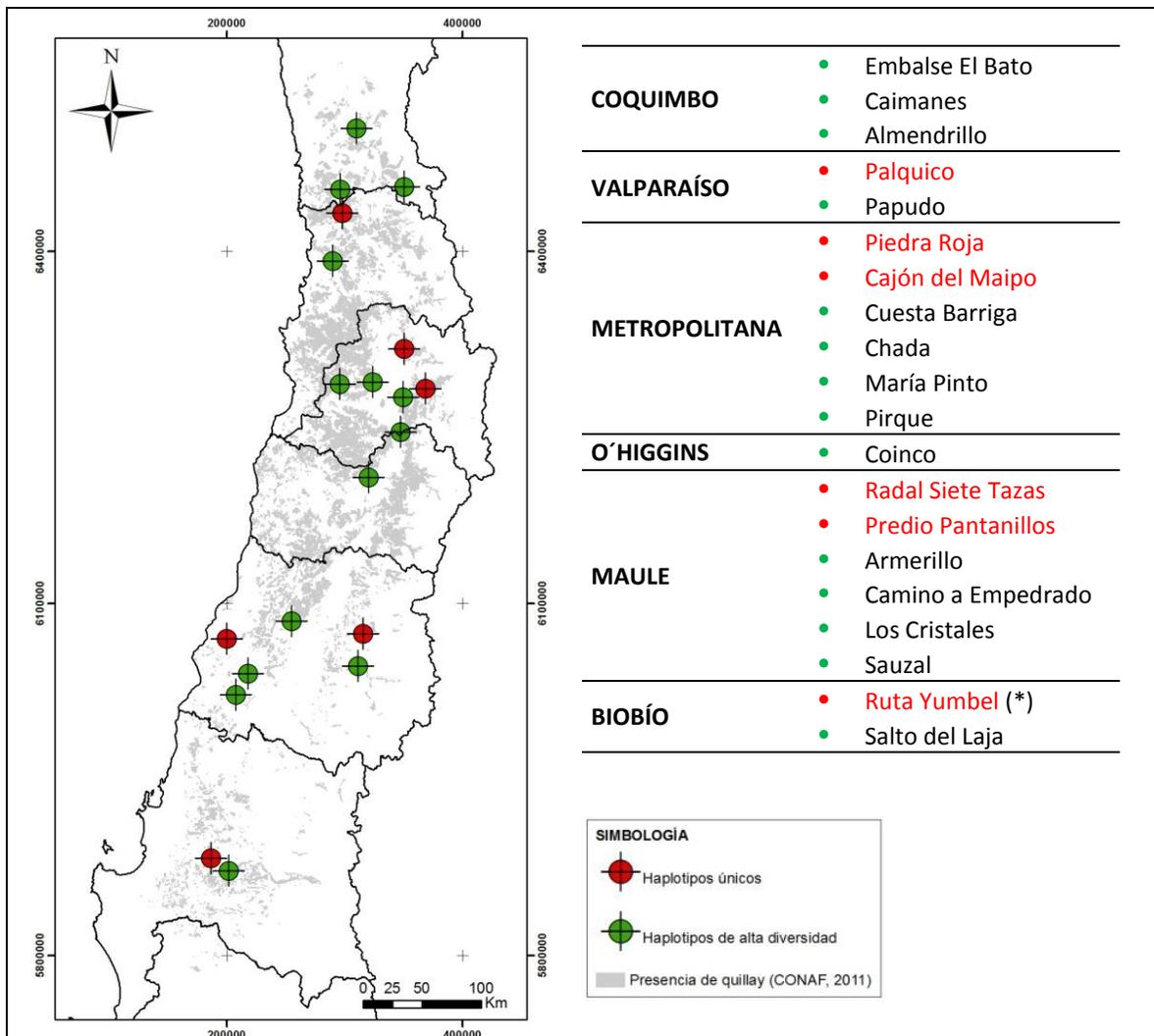


Figura 13. Poblaciones seleccionadas para el primer escenario de conservación. En rojo las poblaciones que presentan haplotipos únicos. Ruta Yumbel (*) fue incluida por presentar haplotipo único dentro de sus individuos.

La elección de la máxima diversidad responde a un principio de conservación básico: mientras más diversidad se conserve, mejor será la sobrevivencia, adaptación y evolución de las especies a su entorno, y según Hamrick (2004), la combinación de longevidad individual, alta diversidad genética dentro de la población y el potencial de altas tasas de flujo de polen debería hacer que las especies de árboles sean especialmente resistentes a la extinción y la pérdida de diversidad genética durante condiciones ambientales cambiantes.

El segundo análisis consistió en la simplificación de las categorías de priorización resultantes del objetivo 2, en donde se acotó el rango a cinco categorías para

mejorar la comprensión y visualización en el plano geográfico (Figura 14). La propuesta de conservación está analizada por región, con el fin de detallar en cada sector las áreas potenciales a conservar (Tabla 7). Se destaca que las zonas de alta priorización entre la región de Coquimbo y O'Higgins coinciden con las grandes ciudades de nuestro país, lo cual genera conflictos de intereses entre la conservación y el uso del territorio.

Doody *et al.* (2010) y Nilon *et al.* (2017) explican las oportunidades que genera considerar iniciativas incluyendo áreas urbanizadas a la planificación de acciones relacionadas a la biodiversidad. Doody *et al.* (2010) señala que al considerar remanentes naturales y espacios verdes urbanos es posible contribuir a la conservación, debido a su potencial de regeneración, sin embargo, sin una activa intervención humana en dichos sitios se separa aún más la brecha de incorporar las urbes a la conservación del paisaje.

Si bien la propuesta actual se enfoca en la conservación genética de una especie en particular, se debe visualizar la potencial conservación del hábitat y las relaciones con otras especies con las cuales convive, generando una protección a nivel de comunidad. Referido a esto, en una reciente investigación Letelier *et al.* (2017) evaluaron la composición y riqueza de comunidades asociadas a *Q. saponaria*, identificando 70 taxones, distribuidos en 29 familias (23 árboles y 37 arbustos). Quillay, por su amplia distribución y al coexistir naturalmente con variadas especies podría ser considerada una "especie paraguas" en temas de conservación (Roberge y Angelstam, 2004), especialmente en la zona que compone el Bosque Esclerófilo, en donde las amenazas son latentes y quillay es considerada una de las especies de mayor importancia dentro de la composición vegetacional.

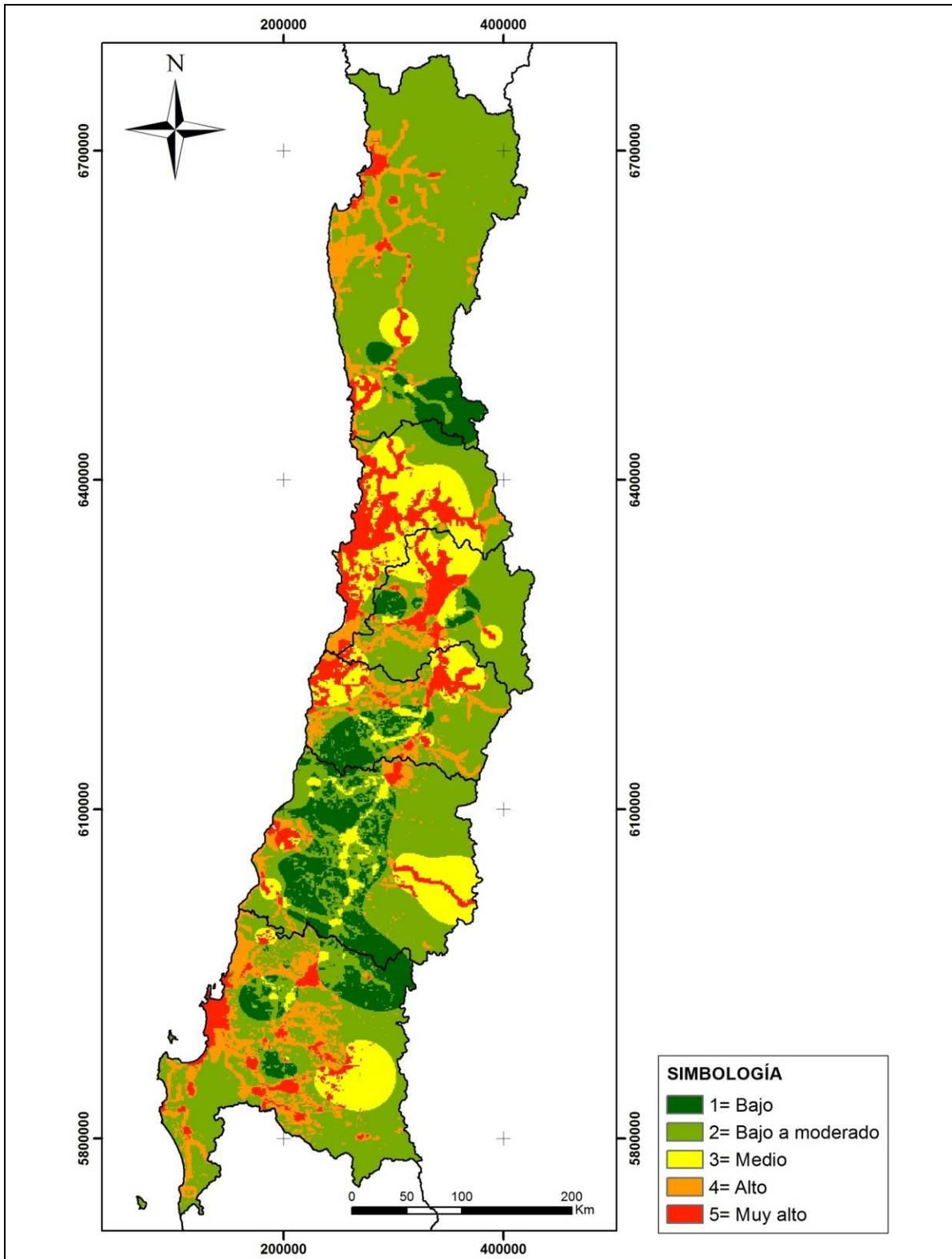
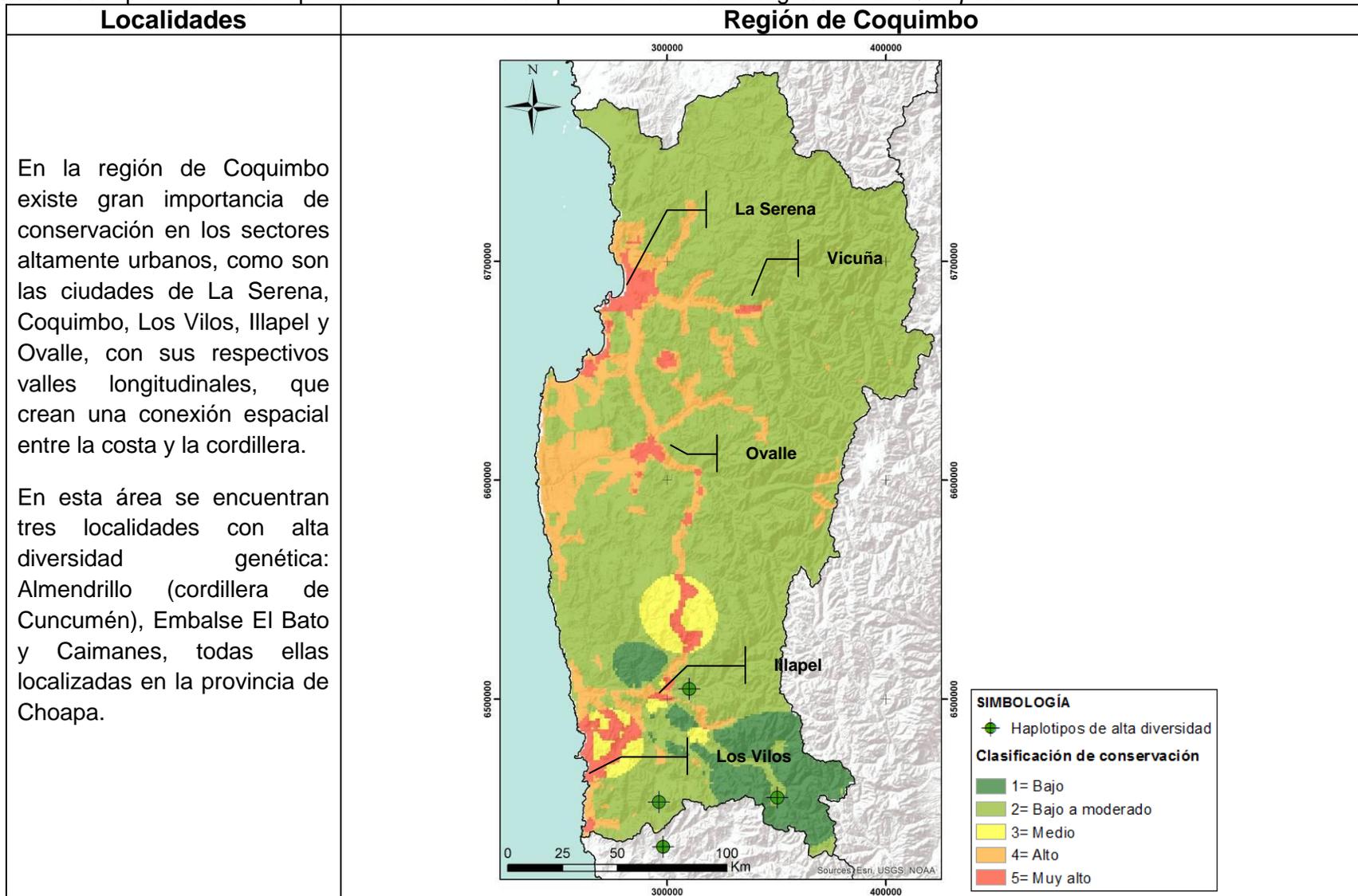


Figura 14. Mapa de priorización de conservación bajo el principio de diversidad genética para *Q. saponaria*.

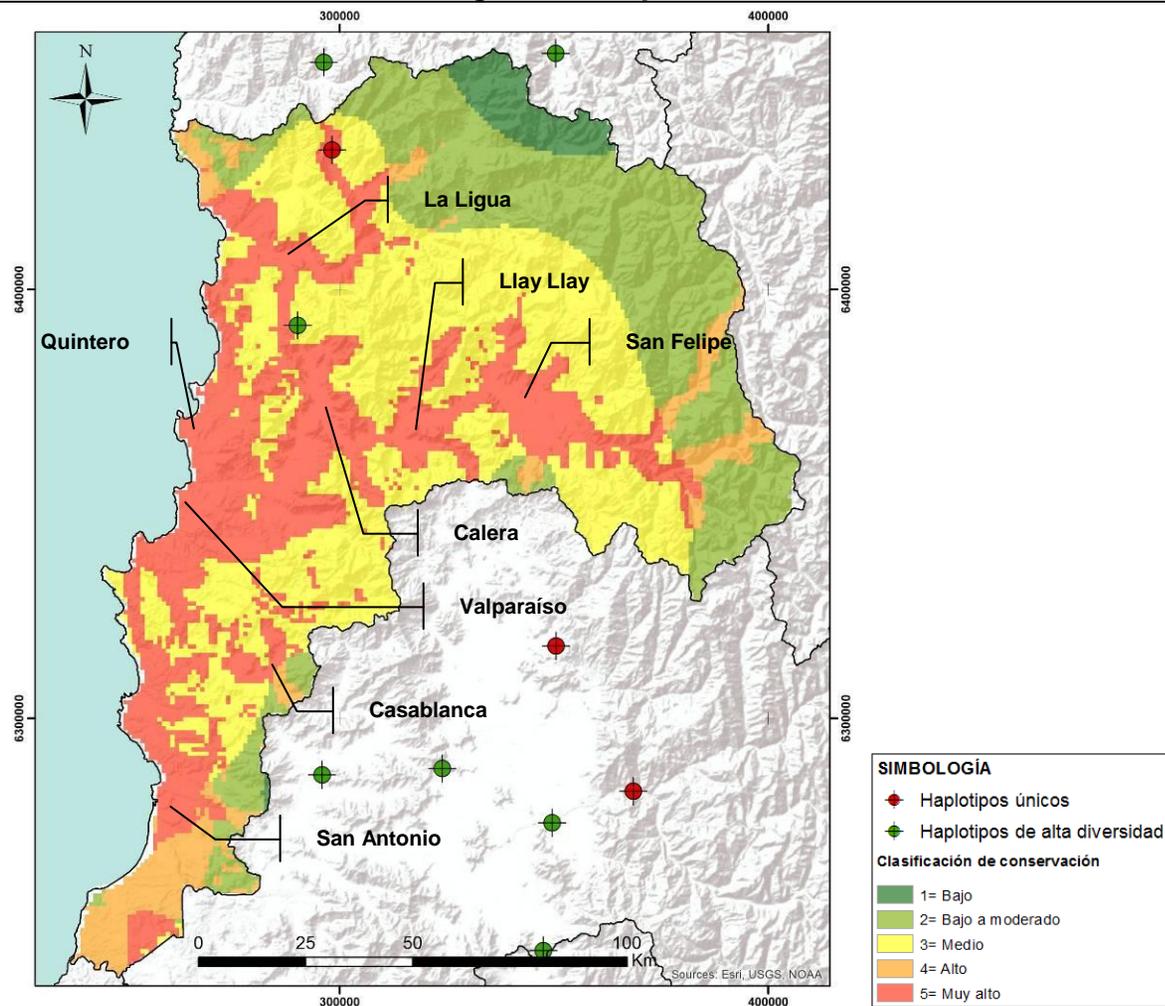
Tabla 7. Propuesta de áreas potenciales de alto valor para la conservación genética de *Q. saponaria*

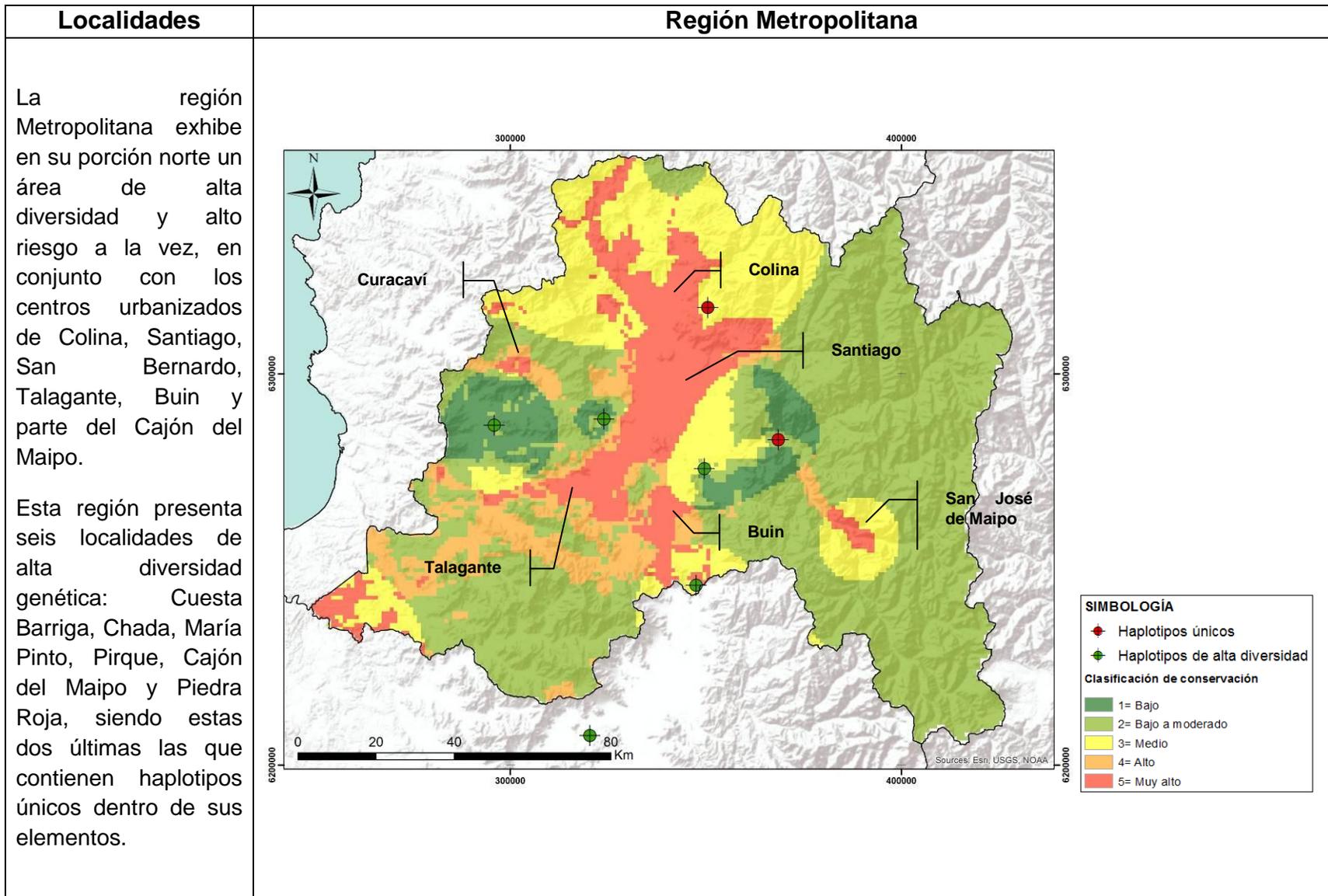


Localidades

La región de Valparaíso, se visualiza como el área más amenazada de todo el país, por presentar los sectores de mayor riesgo para la conservación de la diversidad de la especie. Se considera en esta región casi la totalidad de las áreas urbanizadas de costa a cordillera: Petorca-La Ligua-Cabildo, Quintero, Quillota, Calera, Llaillay, San Felipe-Los Andes. Viña del Mar-Valparaíso, Villa Alemana, Casablanca y San Antonio. Presenta dos localidades con alta diversidad: Papudo y Palquico, siendo esta última la que presenta la más alta diversidad de todas la localidades muestreadas y además dos haplotipos únicos dentro de sus elementos.

Región de Valparaíso



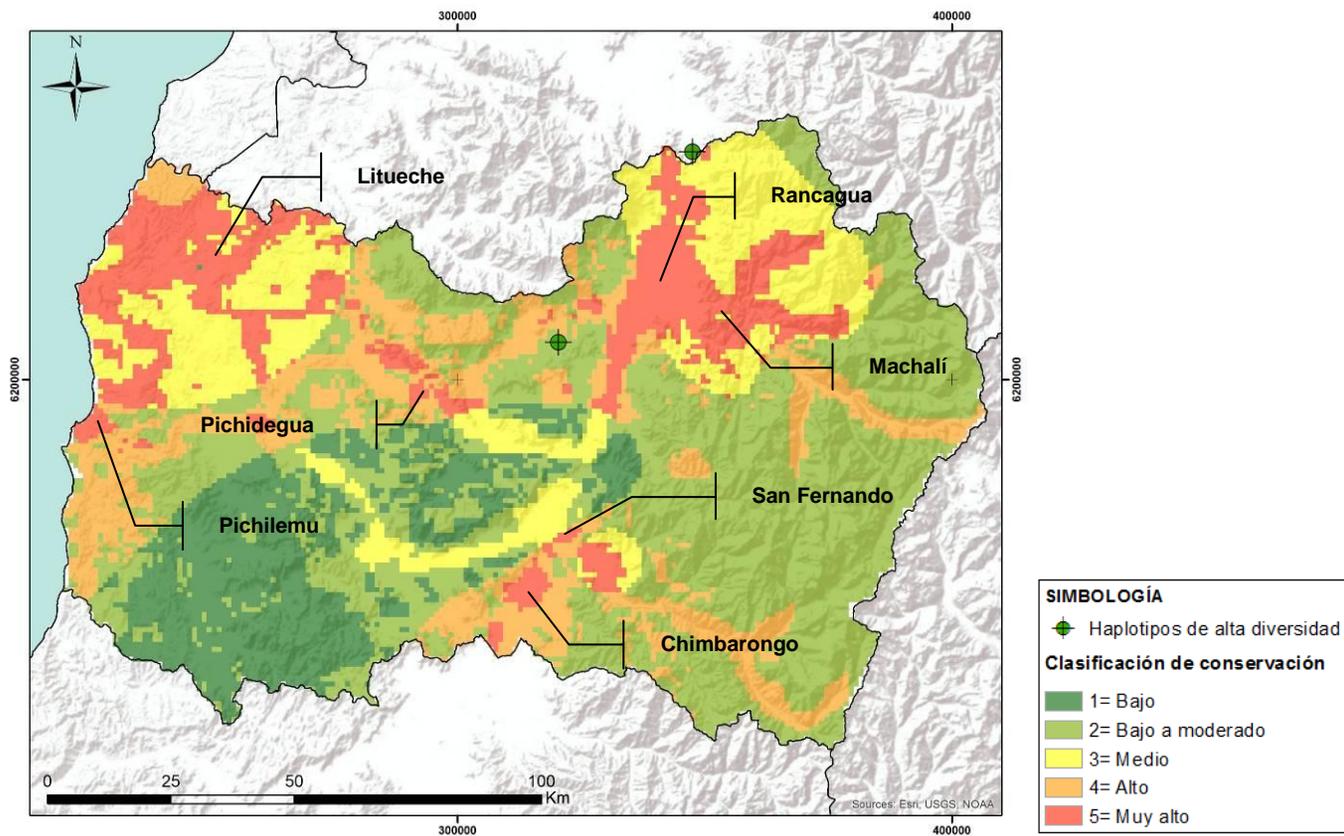


Localidades

Región del Libertador General Bernardo O'Higgins

La región de O'Higgins presenta las áreas de mayor interés puntualmente en el sector costero de Litueche y Pichilemu, Las Cabras, el radio Rancagua-Machalí-Requinoa y la localidad de Chimbarongo.

Existe sólo una localidad con alta diversidad situada en Coinco, provincia de Cachapoal.

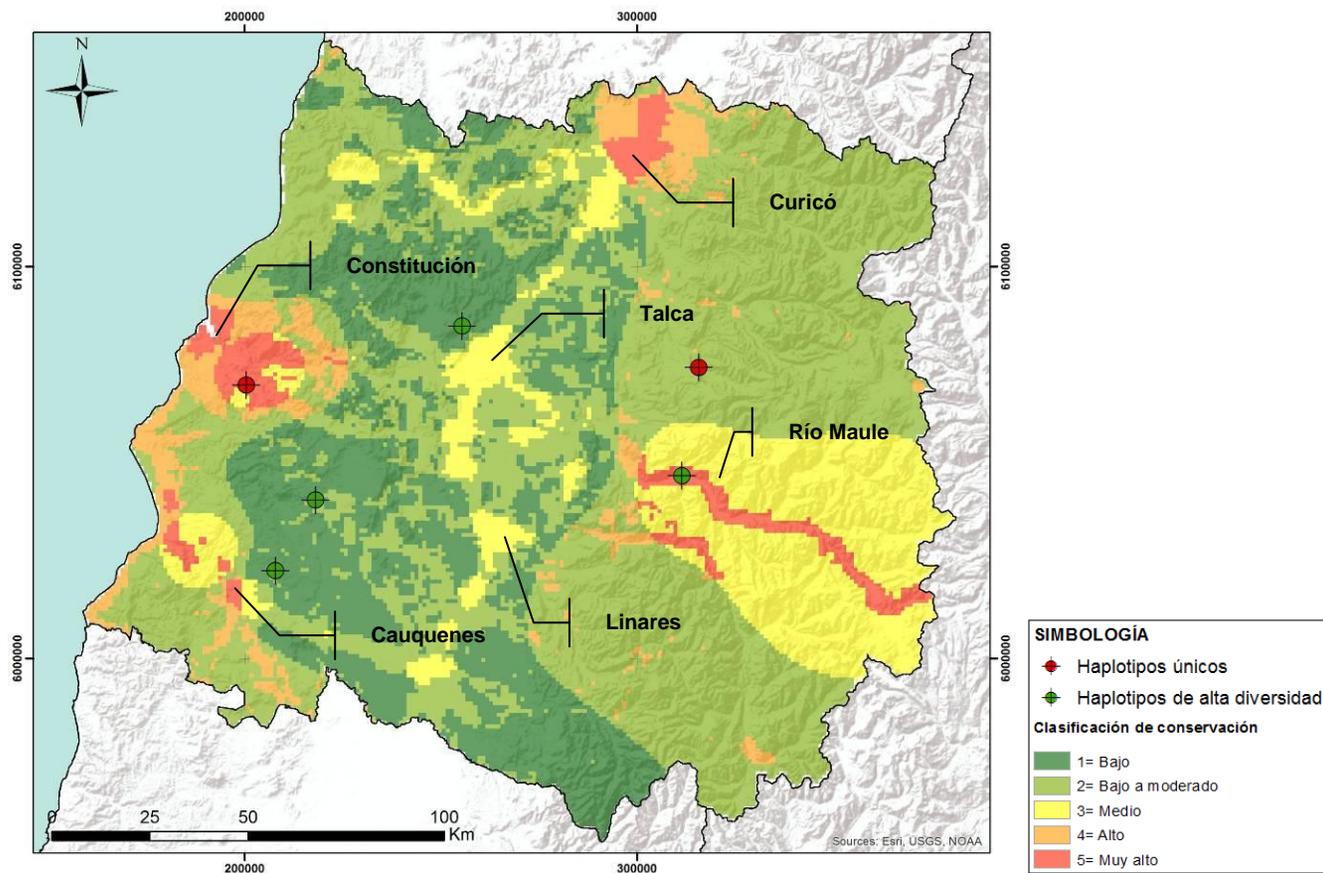


Localidades

El área en la región del Maule es la que presenta menos riesgo para la conservación de la diversidad de quillay, concentrándose en el área Constitución-Empedrado, Cauquenes, Curicó y el valle longitudinal perteneciente al Río Maule y el tramo final del Río Melado.

Existen seis localidades de alta diversidad: Armerillo, Camino a Empedrado, Los Cristales, Sauzal, Predio Pantanillos y Radal Siete Tazas, siendo estos dos últimos los que presentan haplotipos únicos.

Región del Maule

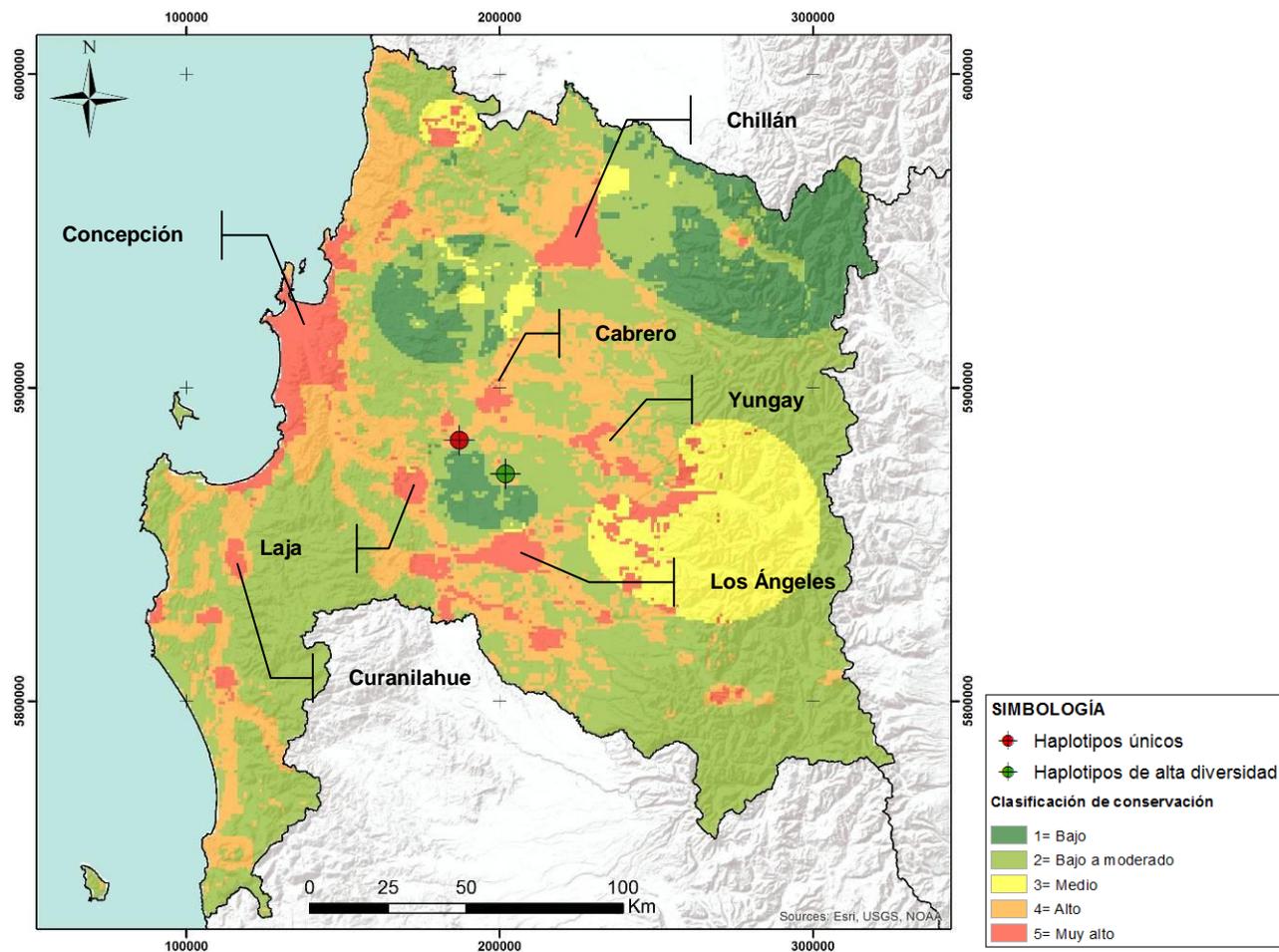


Localidades

Por último, el área de la región del Biobío, presenta gran concentración de riesgo en el tramo Tomé-Concepción-Arauco, en complementación con Chillán, Laja, Curanilahue, Nacimiento, Los Ángeles, Cañete, Mulchén y el área circundante entre el río Cholguán y el Río Laja.

El área presenta dos localidades con alta diversidad como son Salto del Laja y Ruta Yumbel, siendo esta última localidad la que contiene un haplotipo único.

Región del Biobío



En este estudio se planteó la pregunta ¿qué poblaciones se deberían conservar a nivel genético? La respuesta es aquellas que aseguren la permanencia de la especie, considerando poblaciones de alta diversidad genética y particularidades como son aquellas localidades con haplotipos únicos, lo cual, en su conjunto, responde a las premisas de conservación de recursos fitogenéticos nativos, que implica el resguardo de una fuente única e irremplazable para el futuro.

4. CONCLUSIONES

En esta investigación se desarrolló una propuesta de áreas prioritarias para la conservación *in situ* de *Q. saponaria*, empleando información genética en todo su rango de distribución.

La determinación de la estructura genética expuso que quillay muestra un bajo rango de diversidad genética, la cual se extiende de forma no estructurada en el territorio. También se comprobó que la especie presenta mayor variación dentro de sus poblaciones y una menor entre sus poblaciones, lo cual es coincidente en el comportamiento de las especies leñosas de amplia distribución.

La interpolación espacial de la diversidad genética confirmó que la distribución de este parámetro no responde a patrones geográficos, con áreas de mayor concentración de diversidad que coinciden con zonas de alta actividad humana. El empleo de datos genéticos espacialmente explícitos presenta un gran potencial que no ha sido explorado en extenso hasta la fecha, siendo de gran ayuda en la planificación de la conservación a nivel territorial.

La evaluación de la conservación actual de la especie permite ratificar la ineficiencia que presentan las actuales herramientas de protección, siendo aún más notorio al analizar la conservación de quillay a nivel genético. La propuesta de áreas de conservación *in situ* basado en información genética detectó el riesgo que presentan la mayoría de las poblaciones de alta diversidad, exponiendo una situación de conflicto entre el desarrollo humano y los intereses de conservación.

Actualmente, quillay no está contemplada entre las especies con categorías de conservación, no obstante es evidente que presenta un importante nivel de riesgo de sus poblaciones. La metodología desarrollada en el presente trabajo, permite generar resultados de información aplicable en forma práctica y factible de ser consideradas en la definición de futuras políticas de conservación sobre la especie.

5. BIBLIOGRAFÍA

- ALEJOS, P., ARAGÓN, M. y CORNEJO, A. 2014. Extracción y purificación de ADN. En: Cornejo, A., Serrato, A., Rendón, B. y Rocha, M.G. (Eds.) Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos. SEMARNAT, INECC, UAM-I, México. Pp. 1-27.
- ALLENSTEIN, P., DEWOODY, J., GWAZE, D., HIPKINS, V., MAN, G., SCHOETTLE, A., SHAW, K. y WESTWOOD, M. 2016. Improving genetic conservation of tree species. EN: Proceedings of Workshop on Gene conservation of tree species—banking on the future. Rep. PNW-GTR-963. Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station, Portland. Pp. 5-11.
- ARROYO, M., MARQUET, P., MARTICORENA, C., SIMONETTI, J., CAVIERES, L., SQUEO, F., ROZZI, R. Y MASSARDO, F. 2008. El Hotspot chileno, prioridad mundial para la conservación. EN: CONAMA. Biodiversidad de Chile: patrimonio y desafíos. Ocho libros editores, 2da edición, Santiago de Chile. Pp. 90-93.
- ARUN, P.V. 2013. A comparative analysis of different DEM interpolation methods Egyptian Journal of Remote Sensing and Space Science, 16 (2): 133-139.
- BABAK, O. y DEUTSCH, C.V. 2009. Statistical approach to inverse distance interpolation. Stochastic Environmental Research and Risk Assessment 23(5): 543-553.
- BEATLEY, T. 1994. Land Development and Endangeres Species: Emerging Conflicts. Habitat Conservation Planning: Endangered Species and Urban Growth. University of Texas Press, Estados Unidos. Pp 1-13.
- BESSEGA, C., CONY, M., SAIDMAN, B.O., AGUILÓ, R., VILLAGRA, P., ALVAREZ, J.A., POMETTI, C. y VILARDI, J.C. 2019. Genetic diversity and differentiation among provenances of *Prosopis flexuosa* DC (Leguminosae)

- in a progeny trial: Implications for arid land restoration. *Forest Ecology and Management*, 443: 59-68.
- BURROUGH, P. A., MCDONNELL, R., MCDONNELL, R. A. Y LLOYD, C. D. 1998. Principles of geographical information systems. Oxford university press. 329 pp.
- CHÁVEZ-GONZÁLEZ, H. GONZÁLEZ GUILLÉN, M.J. y HERNÁNDEZ DE LA ROSA, P. 2015. Metodologías para identificar áreas prioritarias para conservación de ecosistemas naturales. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 6 (27): 8-23.
- CONAF. 2011. Catastro de los Recursos Vegetacionales Nativos de Chile, Monitoreo de Cambios y Actualizaciones, Período 1997- 2011.
- CORLETT, R.T. 2016. Plant diversity in a changing world: Status, trends, and conservation needs. *Plant Diversity* 38(1): 10-16.
- COWLING, R. M., POTTS, A. J., BRADSHAW, P., COLVILLE, J., ARIANOUTSOU, M., FERRIER, S., ... PROCHE, S. 2014. Variation in plant diversity in Mediterranean climate ecosystems: the role of climatic and topographical stability. *Journal of Biogeography*, 42(3): 552–564.
- CRUZ, P., SCHULZE, C., HONEYMAN, P. y CABELLO, A. 2006. *Quillaja saponaria* Mol. Quillay. En: DONOSO, C. (Eds.) Las Especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Autoecología. Marisa Cuneo Ediciones, Valdivia, Chile. Pp. 545-555.
- CUBAS, P., PARDO, C., y TAHIRI, H. 2005. Genetic variation and relationships among *Ulex* (Fabaceae) species in southern Spain and Northern Morocco assessed by chloroplast microsatellite (CpSSr) markers. *American Journal of Botany*, 92(12): 2031–2043.
- DINIZ-FILHO, J.A.F., SOARES, T. N., LIMA, J.S., DOBROVOLSKI, R., LANDEIRO, V. LEMES, TELLES, M., RANGEL, T. F., Y BINI, L. M. 2013.

Mantel test in population genetics. *Genetics and Molecular Biology* 36(4): 475-485

DOODY, B.J., SULLIVAN, J.J., MEURK, C.D., STEWART, G.H. y PERKINS, H.C. 2010. Urban realities: the contribution of residential gardens to the conservation of urban forest remnants. *Biodiversity and Conservation*, 19(5): 1385-1400.

DRAPER, D., ROSELLÓ-GRAELL, A., GACIA, C., TAULEIGNE, C. y SÉRGIO, C. 2003. Application of GIS in plant conservation programmes in Portugal. *Biological conservation* 113: 337-349.

ECKERT, C.G., SAMIS, K.E y LOUGHEED, A.C. 2008. Genetic variation across species' geographical ranges: the central-marginal hypothesis and beyond. *Molecular Ecology*, 17(5): 1170-1188.

ESCUADERO, A., IRIONDO, J.M. y TORRES, M.E. 2003. Spatial analysis of genetic diversity as a tool for plant conservation. *Biological conservation* 113: 351-365.

FALK, D.A.I y HOLSINGER K.E. 1991. *Genetics and conservation of Rare Plants*. Oxford University Press, New York, Estados Unidos. 283 p.

FAO. 2010. Directrices para la preparación de los informes de los países para el Estado de los recursos genéticos forestales del mundo. Comisión de Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura. Decimotercera Reunión Ordinaria; Roma. 47p.

FIERRO, F. 2014. Electroforesis de ADN. En: Cornejo, A., Serrato, A., Rendón, B. y Rocha, M.G. (Eds.) *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos*. SEMARNAT, INECC, UAM-I, México. Pp. 27-52.

FISHER, R.A.1930. *The Genetical Theory of Natural Selection*. Oxford University Press, Oxford. 272 p.

- FLUXUS-ENGINEERING. 2019. Network © Copyright Fluxus Technology Ltd 1999-2019.[en línea] < <http://www.fluxus-engineering.com/sharenet.htm> > [consulta: 2 abril 2018]
- FRANKHAM, R. 2005. Genetics and extinction. *Biological Conservation* 126(2): 131-140.
- GARNERO, G. y GODONE, D. 2013 Comparisons between different interpolation techniques. *International Archives of the Photogrammetry, Remote Sensing and Spatial Information Sciences XL-5/W3*: 139-144.
- GERBER, L.R. 2016. Conservation triage or injurious neglect in endangered species recovery. *PNAS* 113(13): 3563-3566.
- GONG, G., MATTEVADA, S. Y O'BRYANT, S.R. 2014. Comparison of the accuracy of kriging and IDW interpolations in estimating groundwater arsenic concentrations in Texas. *Environmental Research* 130:59-69.
- GORE-RMS - SEREMI MMA RMS. 2013. Estrategia Regional para la Conservación de la Biodiversidad en la Región Metropolitana de Santiago 2015-2025. Gobierno Regional Metropolitano de Santiago y Secretaría Regional Ministerial del Ministerio del Medio Ambiente, Región Metropolitana de Santiago. Licitación 1261-3- LP12/2012. Código BIP N°30096753-0. 145 pp.
- GREGORIUS, H-R. 1978. The Concept of Genetic Diversity and Its Formal Relationship to Heterozygosity and Genetic Distance. *Mathematical Biosciences* 41: 253-271.
- GUTIÉRREZ, B. e IPINZA, R. 2012. Orientaciones para la conservación y uso sustentable de los recursos genéticos forestales. En: IPINZA, R., BARROS, S., GUTIERREZ, B, MAGNI, C.R y TORRES, J. (FIA-INFOR). Recursos genéticos forestales de Chile. Catastro 2012. pp. 167-186.

- HABEL, J.C. y SCHMITT, T. 2012. The burden of genetic diversity. *Biological conservation* 147(1): 270-274.
- HAMRICK, J.L, GODT, M.J. y SHERMAN-BROYLES, A.L. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *Populations Genetics of Forest Trees*, 42: 95-124.
- HAMRICK, J.L. 2004. Response of forest trees to global environmental changes. *Forest ecology and management*, 197(1-3): 323-335.
- HEDRICK, P.W. 2005. A standardized genetic differentiation measure. *Evolution* 59(8): 1633–1638.
- HERNANDEZ-STEFANONI, J.L. y R. PONCE-HERNANDEZ. 2006. Mapping the Spatial Variability of Plant Diversity in a Tropical Forest: Comparison of Spatial Interpolation Methods. *Environmental Monitoring and Assessment* 117(1): 307–334.
- HOLDEREGGER, R., BUEHLER, D., GUGERLI, F. y MANEL, S. 2010. Landscape genetics of plants. *Trends in Plant Science*, 15(2): 675-683.
- IDE-Chile (Infraestructuras de Datos Geoespaciales). 2018. Incendios Forestales 2017. Secretaría Ejecutiva del SNIT - IDE Chile.
- JENKS, G. 1963. Generalization in statistical mapping. *Association of American Geographers*, 53(1): 15-26.
- JIN, L.; R. CHAKRABORTY. 1994. Estimation of genetic distance and coefficient of gene diversity from single-probe multilocus DNA fingerprinting data. *Molecular Biology and Evolution* 11(1): 120-127.
- KOOL. J.T., MOILANEN, A. y TREML, E.A. 2013. Population connectivity: recent advances and new perspectives. *Landscape Ecology*, 28(2): 165-185.
- KRAMER, A.T. y HAVENS, K. 2009. Plant conservation genetics in a changing world. *Trends in Plant Science* 14(11): 599-607.

- LETELIER, L., HARVEY, N., VALDERRAMA, A., STOLL, A. y GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, A. 2015. Isolation and characterization of 12 microsatellite loci soapbark, *Quillaja saponaria* (Quillajaceae). Applications in Plant Science 3(5): 1-4.
- LETELIER, L., VALDERRAMA, A., STOLL, A., GARCÍA-GONZÁLES, R., Y GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, A. 2017. Patterns of composition, richness and phylogenetic diversity of woody plant communities of *Quillaja saponaria* Molina (Quillajaceae) in the Chilean sclerophyllous forest. Gayana. Botánica, 74(1): 57-72.
- LI, J. y HEAP, A. 2014. Spatial interpolation methods applied in the environmental sciences: A review. Environmental Modelling & Software 53: 173-189.
- LI, Z., WANG, K., MA, H., Y WU, Y. 2018. An Adjusted Inverse Distance Weighted spatial interpolation method. Advances in Computer Science Research 65: 128-132.
- LOGHMARI, I., TIMOUMI, Y. y MESSADI, A. 2018. Renewable and Sustainable Energy Reviews 82(1): 837-844.
- LUEBERT, F. 2014. Taxonomy and distribution of the genus *Quillaja* Molina (Quillajaceae). Feddes Repertorium 124: 157-162
- MACHEREY-NAGEL, 2014. Genomic DNA from Plant. User Manual. NucleoSpin® Plant II. 33 p.
- MAGNI, C.R., ABARCA, B.M. y TORRES, J. 2012. Caracterización de Recursos Genéticos Forestales en Chile. En: IPINZA, R., BARROS, S., GUTIERREZ, B., MAGNI, C.R. y TORRES, J. (Eds.). Recursos Genéticos Forestales de Chile. Catastro 2012 FIA-INFOR. Pp. 91-109.
- MAGNI, C.R., ESPINOZA, S. ABARCA, B.M., GREZ, I., POCH, P., LÓPEZ, M., ZELADA, C., TORO, N., VARELA M.J., ALVEAR, A., MATÍNEZ E., y SANTELÍCES, R. 2015. 067/2012 Propuesta de procedencias e

- implementación de dos Áreas Productoras de Semillas de Quillay, mejorando la disponibilidad y calidad genética de semillas. [en línea] <http://www.investigacion.conaf.cl/archivos/repositorio_documento/2018/11/067_2012-DOCUMENTOS_INFORME-FINAL.pdf> [Consulta: 16 febrero 2018].
- MANEL, S. y HOLDEREGGER, R. 2013. Ten years of landscape genetics. *Trends in Ecology & Evolution*, 28(10): 614-621.
- MAXTED, N., FORD-LLOYD, B.V., y HAWKES, J.G. 2000. Complementary conservation strategies. En: MAXTED, N., B.V. FORD-LLOYD y J.G. HAWKES. (Eds.) *Plant genetic conservation: the in situ approach*. The University of Birmingham, UK. 1ª ed. Kluwer Academic Publishers. Springer Science & Business Media. Pp. 15-19.
- MITAS, L., y MITASOVA, H. 1999. Spatial interpolation. En: LONGLEY, P.A., GOODCHILD, M.F., MAGUIRE, D.J. y RHIND, D.W., (Eds.) *Geographical information systems: principles, techniques, management and applications*, 2nd Edition, Vol. 1, Part 2, Chapter 34. Pp. 481-492.
- MMA (Ministerio del Medio Ambiente). 2017. Estrategia Nacional de Biodiversidad 2017-2030. [en línea] <https://mma.gob.cl/wp-content/uploads/2018/03/Estrategia_Nac_Biodiv_2017_30.pdf> [Consulta: 12 junio 2019].
- MOURA, L. y ALVES, A. 2017. Modelo de la distribución espacial de *Quillaja Brasiliensis* (A. ST-HIL. & TUL.) MART. en el sur de Brasil y la historia de la dispersión del género *Quillaja* (*Quillajaceae*) en América del Sur. *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural, Chile*, 66(2): 297-308.
- MUHAMMED, A., AKSEL, R. y VON BORSTEL, R.C. 1977. Genetic Diversity in Plants. En: HOLLAENDER, A. 1973-1977. *Basic Life Sciences*. Plenum press, New York and London. [en línea] <<https://books.google.cl/books?hl=es&lr=&id=HqTxBwAAQBAJ&oi=fnd&pg=>

PA3&dq=genetic+diversity+in+plants&ots=5CgoBx5q19&sig=rXcPTt8oSHKkHL8X6n6Tv8GE2gw&redir_esc=y#v=onepage&q=genetic%20diversity%20in%20plants&f=false> [Consulta: 15 enero 2018].

MUIRHEAD, J.R., GRAY, D.K., KELLY, D.W., ELLIS, S.M., HEATH, D.D. y MACISAAC, H.J. 2008. Identifying the source of species invasions: sampling intensity vs. genetic diversity. *Molecular Ecology*, 17(4): 1020-1035.

MUÑOZ, M., NUÑEZ, H. y YAÑEZ, J. 1997. Libro rojo de los sitios prioritarios para la conservación de la biodiversidad en Chile. *Ambiente y desarrollo*, 13(2): 90-99.

NILON, C.H., ARONSON, M.F.J., CILLIERS, S.S., DOBBS, C., FRAZEE, L.J., GODDARD, M.A., O'NEILL, K.M., ROBERTS, D., STANDER, E.K., WERNER, P., WINTER, M. y YOCOM, K.P. 2017. Planning for the Future of Urban Biodiversity: A Global Review of City-Scale Initiatives. *BioScience*, 67(4): 332–342.

PARDO, C. P. CUBAS y H. TAHIRI. 2008. Genetic variation and phylogeography of *Stauracanthus* (Fabaceae, Genisteae) from the Iberian Peninsula and northern Morocco assessed by chloroplast microsatellite (cpSSR) markers. *American Journal of Botany* 95(1): 98–109.

PEAKALL, R., y SMOUSE, P. E. 2012. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537-2539. doi:10.1093/bioinformatics/bts460.

PETIT, R.J., DUMINIL, J., FINESCHI, S., HAMPE, A., SALVINI, D. Y VENDRAMIN, G.G. 2005. Comparative organization of chloroplast, mitochondrial and nuclear diversity in plant populations. *Molecular Ecology*, 14: 689-701.

PEZOA, A. 2001. Capítulo 18. Estrategias de Conservación de la Diversidad biológica. Conservación de los recursos genéticos. En: SQUEO F.A.,

- ARANCIO, G. y GUTIÉRREZ, J.R. (Eds.) Libro Rojo de la Flora Nativa y de los Sitios Prioritarios para su Conservación: Región de Coquimbo. Ediciones Universidad de La Serena, La Serena, Chile. Pp. 273 - 280.
- PFENNIG, D.W., WUND, M.A., SNELL-ROOD, E.C., CRUICKSHANK, T., SCHLICHTING, C.D. y MOCZEK, A.P. 2010. Phenotypic plasticity's impacts on diversification and speciation. *Trends in Ecology and Evolution*, 25(8): 459-467.
- PIÑERO, D., BARAHONA, A., EGUIARTE, L., ROCHA, A. y SALAS, R. 2008. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México. EN: CONABIO (Eds.) Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México. Pp. 415-435.
- PIRONON, S., PAPUGA, G., VILLELLAS, J., ANGERT, A.L., GARCÍA, M.B. y THOMPSON, J.D. 2016. Geographic variation in genetic and demographic performance: new insights from an old biogeographical paradigm. *Biological Reviews*, 92(4): 1877-1909.
- PIRONON, S., VILLELLAS, J., MORRIS, W.F., DOAK, D.F. y GARCÍA, M.B. 2014. Do geographic, climatic or historical ranges differentiate the performance of central versus peripheral populations? *Global Ecology and Biogeography*, 24(6): 611-620.
- PLOUFFE, C.C.F., ROBERTON, C. y CHANDRAPALA, L. 2015. Comparing interpolation techniques for monthly rainfall mapping using multiple evaluation criteria and auxiliary data sources: A case study of Sri Lanka. *Environmental Modelling & Software* 67:57-71.
- PRANCE, G.T. 2000. The conservation of botanical diversity. En: MAXTED, N., B.V. FORD-LLOYD y J.G. HAWKES. (Eds.) *Plant genetic conservation: the*

in situ approach. The University of Birmingham, UK. 1^a ed. Kluwer Academic Publishers. Springer Science & Business Media. Pp. 3-14.

PRITCHARD, J.K, STEPHENS, M. y PETER DONNELLY, P. 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*, 155: 945–959.

QGIS DEVELOPMENT TEAM. 2018. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. [en línea] <<http://qgis.osgeo.org>> [Consulta: 15 febrero 2018]

R CORE TEAM. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [en línea] <<http://www.R-project.org>> [Consulta: 5 diciembre 2016].

RAMANATHA, V y HODGKIN, T. 2002. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 68: 1–19.

RAMOS, R., VELOZO, J. y HINRICHSEN P. 2010. Baja diversidad genética en una especie forestal endémica de Chile (*Quillaja saponaria* Mol.) revelada por marcadores AFLP y SSR. En: VII Simposio de Recursos Genéticos para América Latina y el Caribe: 21 al 23 noviembre del 2011. Quito, Ecuador. Pp 387-388.

RAYMOND M. y ROUSSET F. 1995. GENEPOP, version 1.2: population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86: 248–249.

ROBERGE, J-M. y ANGELSTAM, P. 2004. Usefulness of the Umbrella Species Concept as a Conservation Tool. *Conservation Biology*, 18(1): 76-85.

RODRÍGUEZ, R., RUIZ, E. y ELISSETCHE, J.P. 2005. Árboles en Chile. Editorial Universidad de Concepción, Concepción, Chile. Pp. 123.

- RUNDEL, P. W., ARROYO, M., COWLING, R. M., KEELEY, J. E., LAMONT, B. B., PAUSAS, J. G., y VARGAS, P. 2018. Fire and Plant Diversification in Mediterranean-Climate Regions. *Frontiers in plant science*, 9, 851.
- SAGARIN, R.D. y GAINES, S.D. 2002 The 'abundant centre' distribution: to what extent is it a biogeographical rule? *Ecology Letters*, 5:137-147.
- SANDERSON, E. W., JAITHE, M., LEVY, M. A., REDFORD, K. H., WANNEBO, A. V. Y WOOLMER, G. 2002. The Human Footprint and the Last of the Wild. *BioScience*, 52(10): 891-904.
- SCHUELKE, M. 2000. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nat Biotechnol*, 18(2):233-4.
- SEGUEL, I. 2008. Segundo Informe País sobre el Estado de los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura. Chile. 54 p.
- SENTIANTO, A. y TRIANDINI, T. 2013 Comparison of kriging and inverse distance weighed (IDW) interpolation methods in lineament extraction and analysis. *J. SE Asian Appl. Geol.* 5(1): 21-29.
- SHAW, J., E. B. LICKEY, E. E. SCHILLING y R.L. SMALL. 2007. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American journal of botany*, 94(3): 275-288.
- SOUTO, C., MATHIASSEN, P., ACOSTA, M.C., QUIROGA, M.P., VIDAL-RUSSELL, R., ECHEVERRÍA, C. y PREMOLI, A.C. 2015. Identifying Genetic Hotspot by mapping molecular diversity of Widespread trees: when commonness matters. *Journal of heredity*, 106(S1):537-545.
- SQUEO, F.A., LETELIER, L., GAYMER, C.F, STOLL, A., SMITH-RAMÍREZ, C., MIETHKE. S., CUNDILL, G., L'HERMITTE, S., MARQUET, P.A., SAMANIEGO, H.A., GUERRERO, P.C., ARANCIO, G., MARTICORENA, A., LÓPEZ, D. y MARTÍNEZ-TILLERÍA, K.P. 2010. Informe Final: Estudio de

- Análisis de Omisiones y Vacíos de Representatividad en los Esfuerzos de Conservación de la Biodiversidad en Chile [GAP-Chile 2009]. Comisión Nacional del Medio Ambiente, Santiago de Chile, Chile. 261 pp.
- STOLL, A. y LETELIER, L.E. 2013. Efectos del cambio en el uso del suelo y la extracción de hojas y corteza sobre a la diversidad genética y el estado de conservación del Quillay. Proyecto CONAF N°041/2011. 18p.
- TABERLET, P., L. GIELLY, G. PAUTOU y J. BOUVET. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, 17: 1105-1109.
- TARROSO, P., VELO-ANTÓN, G. y CARVALHO, S.B. 2014. PHYLIN: an R package for phylogeographic interpolation. *Molecular Ecology Resources* 15(2) 349-357.
- TOBLER, W.R. 1970. A computer movie simulating urban growth in the Detroit region. *Econ. Geogr.* 46: 234-240.
- WCS, W. C., y CIESIN. 2005. Global Human Influence Index (HII) Dataset (geographic), Last of the Wild Project, Version 2 (LWP-2). [en línea] <<https://doi.org/10.7927/H4BP00QC>> [Consulta: 30 mayo 2019]
- WEISING, K. y R.C. GARDNER. 1999. A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. *Genome*, 42: 9-19.
- WHITLOCK, R., HIPPERSON, H., THOMPSON, D.B.A., BUTLIN, R.K. Y BURKE, T. 2016. Consequences of *in-situ* strategies for the conservation of plant genetic diversity. *Biological Conservation* 203: 134–142.
- ZULOAGA, F. O.; MORRONE, O. y BELGRANO, M. J. 2008: Catálogo de las plantas vasculares del Cono Sur (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* 107: 1–3348.

6. APÉNDICES

APÉNDICE I. Poblaciones muestreadas de la especie de estudio, con su registro geográfico y la caracterización climática. Todas las muestras fueron obtenidas de poblaciones naturales.

Población	Código	Región	Provincia	Localidad	UTM (WGS84, 19S)		Altitud (m.s.n.m)	Datos climáticos			
					Este	Sur		P/mm	Año	TM°C	Año
POP1	R4AD	IV	Choapa	Agua Dulce	299265	6512187	608	195,4	2016	15	1992
	R4AG	IV	Choapa	Agua de la Falda	299350	6511933	657	195,4	2016	15	1992
	R4QT	IV	Choapa	Quebrada Torca	298795	6511910	682	195,4	2016	15	1992
POP2	R4AL	IV	Choapa	Almendrillo	350403	6455015	1556	289,2	2016	17	1993
POP3	R4AU	IV	Choapa	Camino Aucó	293030	6516515	989	195,4	2016	15	1992
POP4	R4BA	IV	Choapa	Embalse El Bato	310101	6504697	623	205,6	2016	15	1992
POP5	R4CA	IV	Choapa	Caimanes	296291	6452921	660	299	2016	14,6	1992
POP6	R4CC	IV	Choapa	Cuesta Los Cristales	297349	6490246	512	207,2	2016	15	1992
POP7	R4CE	IV	Choapa	Cuesta El Espino	300679	6528814	1395	195,4	2016	15	1992
	R4RA	IV	Choapa	Ramadilla	299999	6526012	1014	195,4	2016	15	1992
	R4RB	IV	Choapa	Rabanales	300834	6524018	1017	195,4	2016	15	1992
	R4RE	IV	Choapa	Ruta El Espino	299998	6521544	864	195,4	2016	15	1992
POP8	R4CP	IV	Choapa	Camino Pelambres	334402	6470800	856	290	2016	17	1993
	R4MA	IV	Choapa	El Manque.	335442	6473207	943	290	2016	17	1993
	R4RC	IV	Choapa	Río Chalinga	328059	6489164	1056	218,6	2016	15	1992
POP9	R4CU	IV	Choapa	Curicó	299074	6508066	604	195,4	2016	15	1992
POP10	R4CV	IV	Choapa	Cuesta Cavilolén	279803	6482925	670	179,8	2016	15	1992
POP11	R5BU	V	San Antonio	Parque Bucalemu	254296	6250308	72	545	2016	12,7	2017
POP12	R5CB	V	Valparaíso	Casablanca	267720	6301681	234	258	2016	13,7	1993
POP13	R5CM	V	Petorca	Cuesta el Melón	290153	6391581	361	378,5	2016	15	1993
	R5PA	V	Petorca	Papudo	272979	6400414	51	276,5	2016	15	1993
POP14	R5PQ	V	Petorca	Palquico	298166	6432515	579	249	2016	15,9	1993
POP15	R5PU	V	San Felipe	Putiendo	339383	6401431	1279	291	2016	14,2	2017
POP16	R6AB	VI	Colchagua	Agua Buenas	329412	6164479	497	364,8	2017	15,2	1993
POP17	R6CO	VI	Cachapoal	Coinco	320339	6207480	341	520,6	2016	15,2	1993
POP18	R6LE	VI	Cachapoal	La Ensenada	320544	6180474	319	896,2	2002	15,2	1993
POP19	R6LL	VI	Colchagua	La Lajuela	275443	6160023	168	467,3	2016	14,7	1993
POP20	R6MA	VI	Cachapoal	Machalí	356924	6214377	974	369,8	2016	15,2	1993
POP21	R6RA	VI	Cardenal Caro	Rapel	247347	6222426	253	252	2016	12,7	2017
POP22	R6RC	VI	Cachapoal	Río Cipreses	366351	6203043	1208	1133,6	2016	13,7	2017
POP23	R6RQ	VI	Cachapoal	Requinoa	339988	6202230	454	369,8	2016	15,2	1993
POP24	R7AR	VII	Talca	Armerillo	311388	6046671	501	1990,5	2015	14	2017
POP25	R7CE	VII	Cauquenes	Empedrado	749340	6023711	253	567,5	2016	14,2	2017
POP26	R7CH	VII	Curicó	Chépica	299491	6144276	283	520,5	2017	14,7	1993
POP27	R7CO	VII	Linares	Colbún	283837	6053485	296	923,6	2015	13,9	1993
POP28	R7LC	VII	Talca	Los Cristales	255352	6084906	187	418,9	2017	14,3	2017
POP29	R7LM	VII	Talca	Los Manzanos	755084	6049220	207	584,9	2015	13,8	2017
POP30	R7LR	VII	Talca	R.N. Los Ruiles	739852	6057341	403	691,6	2015	14,2	2017
POP31	R7PA	VII	Talca	Papalillo	749667	6074120	253	567,5	2016	14,2	2017
POP32	R7PP	VII	Talca	Predio Pantanillo	744792	6071451	522	567,5	2016	14,2	2017

Población	Código	Región	Provincia	Localidad	UTM (WGS84, 19S)		Altitud (m.s.n.m)	Datos climáticos			
					Este	Sur		P/mm	Año	TM°C	Año
POP33	R7CU	VII	Talca	Cuchi	745665	6105065	23	410,8	2016	14,2	2017
	R7PU	VII	Talca	Putú	745218	6096099	21	410,8	2016	14,2	2017
POP34	R7SE	VII	Talca	Sepultura	350973	6027153	1309	368,3	2016	14	2017
POP35	R7ST	VII	Curicó	Radal Siete Tazas	315678	6074275	952	693,4	2016	11,7	2017
POP36	R7SZ	VII	Cauquenes	Sauzal	760643	6041115	178	368,3	2016	14,9	2017
POP37	R7RP	VII	Curicó	San Rafael/Villa Prat	267390	6104427	198	635,8	2015	14,4	2015
	R7VP	VII	Curicó	Villa Prat	261944	6112634	154	635,8	2015	13,8	2017
POP38	R8AN	VIII	Biobío	Antuco	260075	5865485	517	1045,5	2016	12,8	2017
POP39	R8BL	VIII	Ñuble	Bullilleo	277192	5946658	511	752,1	2016	12,1	1985
POP40	R8CA	VIII	Biobío	Camino a Antuco	268014	5867113	598	1160,1	2016	12,8	2017
POP41	R8CC	VIII	Ñuble	Cerro Coiquén	722948	5982416	364	460,4	2016	12,6	2018
POP42	R8CQ	VIII	Ñuble	Camino a Quirihue	722222	5977142	145	460,4	2016	12,6	2018
POP43	R8CR	VIII	Biobío	Camino a Renaico	713032	5837452	82	729,6	2016	12,5	2018
POP44	R8CY	VIII	Biobío	Camino a Yungay	740188	5891187	164	616,9	2016	12,5	2018
POP45	R8EY	VIII	Biobío	Estación Yumbel	717843	5877129	91	616,9	2016	12,5	2018
POP46	R8LG	VIII	Biobío	Los Guanacos	734098	5868190	144	1049	2018	12,5	2018
POP47	R8LJ	VIII	Biobío	Laja	704675	5874136	66	481,4	2016	12,5	2018
POP48	R8NH	VIII	Ñuble	Camino a Ninhue	739769	5961624	107	564,2	2016	12,6	2018
POP49	R8QU	VIII	Ñuble	Camino a Quillón	722818	5930772	66	577,2	2016	12,6	2018
POP50	R8RL	VIII	Ñuble	Rio Lara	282619	5943384	581	510,3	2018	12,6	2018
POP51	R8RÑ	VIII	Ñuble	Rio Ñuble	264456	5955879	385	714,2	2016	12,6	2018
POP52	R8RY	VIII	Biobío	Ruta Yumbel	719891	5886101	107	481,4	2016	12,5	2018
POP53	R8SF	VIII	Biobío	Camino a Santa Fe	716610	5841233	78	647,3	2016	12,5	2018
POP54	R8SL	VIII	Biobío	Salto del Laja	733910	5874432	146	430,7	2016	12,5	2018
POP55	R8TR	VIII	Biobío	Trupán	250526	5870259	484	840	2016	12,5	2018
	R8TU	VIII	Biobío	Tucapel	237785	5867984	328	672,4	2016	12,5	2018
POP56	R8VM	VIII	Biobío	Villa Mercedes	238916	5855656	370	672,4	2016	12,5	2018
POP57	RMCB	RM	Talagante	Cuesta Barriga	323899	6288396	439	176,8	2016	14,5	2016
POP58	RMCD	RM	Maipo	Chada	347478	6245912	480	519,7	2016	15,5	1993
POP59	RMCH	RM	Chacabuco	Cuesta de Chacabuco	340233	6351667	1327	326	2016	14,7	1993
POP60	RMCHI	RM	Chacabuco	Chicauma	322425	6325096	533	184,1	2016	14,7	1993
POP61	RMCLU	RM	Chacabuco	Caleu	314674	6345679	1169	486,9	2015	14,7	1993
	RMLD	RM	Chacabuco	La Dormida	312943	6340649	129	436	2016	14,7	1993
POP62	RMCM	RM	Cordillera	Cajón del Maipo	387090	6259812	1307	373,2	2016	14,2	2017
POP63	RMCS	RM	Cordillera	Cajon del Maipo sur	368532	6283071	859	470,1	2016	14,2	2017
POP64	RMCT	RM	Santiago	Cantalado	359708	6296229	995	256,5	2016	14,5	2017
POP65	RMLA	RM	Maipo	Altos de Cantillana	321984	6250836	419	519,7	2016	15,5	1993
POP66	RMLT	RM	Santiago	Los Trapenses	354032	6312656	975	408,5	2016	15,6	2018
POP67	RMMP	RM	Melipilla	María Pinto	295896	6286845	163	263,1	2016	15,5	1993
POP68	RMPI	RM	Cordillera	Pirque	349625	6275681	642	421	2016	15,5	1993
	RMRC	RM	Cordillera	Río Clarillo	360432	6268219	824	421	2016	14,7	1991
POP69	RMPN	RM	Santiago	Panul	357637	6288448	841	316,2	2016	14,5	2017
POP70	RMPR	RM	Chacabuco	Piedra Roja	350505	6316883	881	184,1	2016	15	2017
POP71	RMRI	RM	Talagante	Rinconada	330442	6287808	465	176,8	2016	14,5	2016
POP72	RMTT	RM	Chacabuco	Til Til	319910	6335343	569	184,1	2016	14,7	1993

APÉNDICE II. Descripción de los haplotipos obtenidos para *Q. saponaria*, bajo la técnica de CpSSR.

N°	Haplotipo	Peso molecular CpSSRs				Cuenta de haplotipos	% haplotipo (*)
		ccmp1	ccmp2	ccmp3	ccmp10		
1	A	191	149	148	102	1	0,3%
2	B	191	155	149	102	4	1,1%
3	C	191	155	149	104	4	1,1%
4	D	191	155	149	105	5	1,4%
5	E	191	155	150	103	3	0,8%
6	F	191	155	150	104	4	1,1%
7	G	191	155	150	105	37	10,2%
8	H	191	155	150	106	3	0,8%
9	I	191	155	151	104	1	0,3%
10	J	191	155	151	105	6	1,6%
11	K	191	155	151	106	1	0,3%
12	L	191	156	149	102	3	0,8%
13	M	191	156	149	104	9	2,5%
14	N	191	156	149	105	7	1,9%
15	O	191	156	150	102	2	0,5%
16	P	191	156	150	104	43	11,8%
17	Q	191	156	150	105	106	29,1%
18	R	191	156	150	106	4	1,1%
19	S	191	156	151	104	9	2,5%
20	T	191	156	151	105	33	9,1%
21	U	191	156	151	106	2	0,5%
22	V	191	158	148	104	1	0,3%
23	W	191	158	149	102	1	0,3%
24	X	191	158	149	103	4	1,1%
25	Y	191	158	149	104	1	0,3%
26	Z	191	159	148	103	6	1,6%
27	AA	191	159	149	102	2	0,5%
28	AB	191	159	149	103	42	11,5%
29	AC	192	155	149	105	1	0,3%
30	AD	192	155	150	105	6	1,6%
31	AE	192	156	150	105	6	1,6%
32	AF	192	156	150	106	3	0,8%
33	AG	192	156	151	105	3	0,8%
34	AH	192	159	149	103	1	0,3%
TOTAL						364	100%

(*) El porcentaje de haplotipo tiene referencia a su nivel de participación y presencia en el total de muestras analizadas de la especie.

APÉNDICE III. Detalle de la superficie conservada de la especie (datos catastro de bosque nativo) según las figuras de conservación existentes en la actualidad (SNASPE y ASPP).

SNASPE		
Nombre área protegida	Superficie (ha)	%
PN La Campana	6.679	0,5
PN Palmas de Cocalán	683	0,05
RN Altos de Lircay	2.1	0,0002
RN Lago Peñuelas	3.008	0,2
PN Radal Siete Tazas	90	0,007
RN Río Clarillo	2.380	0,2
RN Río Cipreses	984	0,08
RN Roblería del Cobre de Loncha	3.740	0,3
RN Río Blanco	219	0,02
TOTAL	17.785	1,4

ASPP		
Nombre área protegida	Superficie (ha)	%
Santuario Laguna Reloca Forestal	36	0,003
Jardín Botánico Chagual	1,6	0,0001
Santuario de la Naturaleza Las Torcazas de Pirque	174	0,01
Propietarios Fundo Las Mercedes, Altos de Chicauma Lampa	4.811	0,4
Reserva Natural Protegida Altos de Cantillana	2.356	0,2
Sin Nombre (26)	330	0,03
San Francisco	191	0,01
Reserva Ecológica Oasis de la Campana	1.703	0,1
Reserva San José de Pataguas	131	0,01
Peruco	66	0,005
Paso del León	23	0,002
Parcela Pelarco s/n	0,1	0,00001
Parque Huequén	88	0,007
Parcela N 66 (Sector seco)	16	0,001
Parcela 30 F, Los Canelos	1,1	0,00008
Lote Invernaderos Mantagua	7,6	0,0006
Los Zorros (El Guancho)	90	0,007
Los Rábanos	22	0,002
Los Pavos Reales	2,1	0,0002
Fundo Romeral	319	0,02
Granja Los Almendros	13	0,001
Fundo Rayenlemu y Fundo Huemul Alto	215	0,02
El Potrero - Pachagua	38	0,003
El Asiento	8,3	0,0006
Campo Escuela Callejones	6,1	0,0005
Casas de Peuco y Picarquín	1.162	0,09
Central de Trabajo Río Colorado	9.3	0,0007
Agua del León	14	0,001
TOTAL	11.833	0,9