



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD
MANEJO INTEGRAL DE ECOSISTEMAS

BIOLOGÍA DE LA CONSERVACIÓN DE QUILLAJA SAPONARIA MOLINA (QUILLAJACEAE)

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

LUIS ERASMO ÁNGEL LETELIER GÁLVEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y
SUSTENTABILIDAD, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. MAURICIO QUESADA AVENDAÑO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD MORELIA, UNAM
DR. FRANCISCO MOLINA FREANER
INSTITUTO DE GEOLOGÍA, ESTACIÓN REGIONAL DEL NOROESTE, UNAM

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX.
MARZO, 2017.**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (Méjico).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD
MANEJO INTEGRAL DE ECOSISTEMAS

BIOLOGÍA DE LA CONSERVACIÓN DE QUILLAJA SAPONARIA MOLINA (QUILLAJACEAE)

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

LUIS ERASMO ÁNGEL LETELIER GÁLVEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y
SUSTENTABILIDAD, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. MAURICIO QUESADA AVENDAÑO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD MORELIA, UNAM
DR. FRANCISCO MOLINA FREANER
INSTITUTO DE GEOLOGÍA, ESTACIÓN REGIONAL DEL NOROESTE, UNAM

MÉXICO, D.F. MARZO, 2017.



Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted, que el Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas , del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión ordinaria del dia 27 de febrero de 2017, aprobó el jurado para la presentación del exámen para obtener el grado de DOCTOR EN CIENCIAS, al alumno LETELIER GALVEZ LUIS ERASMO ANGEL, con número de cuenta 511453339, con la tesis titulada titulada "Biología de la Conservación de *Quillaja saponaria* Molina (Quillajaceae)" bajo la dirección del DR. ANTONIO GONZÁLES RODRÍGUEZ, Tutor principal.

Presidente: Dr. Juan Servando Núñez Farfán
Vocal: Dr. Eduardo Ruiz Sánchez
Secretario: Dr. Mauricio Ricardo Quesada Avendaño
Suplente: Dra. Silvana Martén Rodríguez
Suplente: Dr. Eric José Fuchs Castillo

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 15 de marzo de 2017

M. del C. Arizmendi
DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Quiero partir agradeciendo al Posgrado en Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por permitirme cursar mis estudios de doctorado.

Agradezco también al programa Becas Chile en el Extranjero, Nivel Doctorado, convocatoria 2010 de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT, Chile); y al II Concurso Fondo de Investigación del Bosque Nativo, Proyecto N°041-2011 de la Corporación Nacional Forestal (CONAF, Chile).

Finalmente quiero dar las gracias al Dr. Antonio González Rodríguez, del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad (IIES, UNAM) por aceptarme como su alumno y brindarme su apoyo como mi tutor principal. Adicionalmente agradezco a los investigadores miembros de mi Comité Tutorial, Dr. Mauricio Quesada Avendaño, de la Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad Morelia (ENES Unidad Morelia) y al Dr. Francisco Molina Freaner del Instituto de Geología, Estación Regional del Noroeste.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Deseo expresar mis agradecimientos personales, partiendo por dar las gracias al Dr. Patricio H. Peñailillo Brito, Doctor en Botánica y profesor de la Universidad de Talca (Chile), pues fue él quien me enseño el amor por la flora chilena y me ayudo en mis primeros pasos como botánico, si es que merezco llamarle así. Quiero dar las gracias también al Dr. Francisco A. Sque Porcile, de la Universidad de La Serena (Chile). Fueron estos dos investigadores quienes me vieron dar mis primeros pasos en la que espero, sea una carrera como investigador que recien comience y que siga adelante trabajando con lo que más me gusta y que es el cuidado y conservación de la flora y ahora también, la fauna de Chile y porque no decirlo, de America Latina.

Por otra parte, quiero dar las gracias a mi esposa, Dra. Aly Valderrama, quien ha sido un pilar fundamental en esta aventura que ya hace unos años, significo venirnos desde Chile a comenzar mis estudios de Doctorado en la UNAM.

Finalmente, quiero agradecer a mi familia, mi madre Sonia y mi Padre Luis, y también a mis hermanos, Luis Alberto y Lia Sonia. Además de la familia mexicana que me llevo en el corazón y que son todos los PUMAS que conocí en el antiguo Centro de Investigaciones en Ecosistemas (CIEco) hoy Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad (IIES), mis amigos Edson Jacob, Maria de Jesus, Gonzalo Contreras, Oscar Ángel (mi tocayo Chilango), Jose Contreras, y tantos otros que faltarian paginas para nombrarlos; a todos ellos les dedico un merecido y fuerte GOYA, GOYA.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a mis abuelos paternos, mi abuela Elba y mi Tata Lucho, pues fue en su casa de campo donde conocí por primera vez la flora asociada al bosque esclerófilo, sin saber en esos años que terminaría estudiando esa comunidad vegetal. Dedico también esta tesis a mi segunda abuela paterna, Sra. María Saavedra o como la conocimos, la “Josefa”; junto a mis hermanos sabemos que fuimos los nietos o hijos que nunca pudo tener y que nos quiso como suyos. Fueron mis abuelos y la Josefa, quienes me enseñaron con su gran conocimiento primigenio, que por ejemplo el Quillay (*Quillaja saponaria*), que es mi especie de estudio, era usado para evitar que las polillas se comieran la ropa de lana; o me enseñaron que los frutos del Boldo (*Peumus boldus*) eran comestibles.

Finalmente, dedico esta tesis a mi Tía Ena del Carmen Galvez Contreras, fallecida recientemente, durante el periodo en que me encontraba en México preparando mi examen de grado, y a mi Tía Victoria del Carmen Gávez Contreras, fallecida ya hace un año.

ÍNDICE

RESUMEN	9
ABSTRACT	11
INTRODUCCIÓN	13
BIOLOGÍA Y ECOLOGÍA DE <i>QUILLAJA SAPONARIA</i>	13
DIVERSIDAD GENÉTICA DE <i>QUILLAJA SAPONARIA</i>	14
<i>QUILLAJA SAPONARIA</i> DENTRO DEL HOTSPOT DE BIODIVERSIDAD DE CHILE	14
OBJETIVO GENERAL	16
OBJETIVOS PARTICULARES	16
Patterns of Composition, Richness and Phylogenetic Diversity of Woody Plant Communities of <i>Quillaja saponaria</i> Molina (Quillajaceae) in The Chilean Sclerophyllous Forest	18
ABSTRACT.....	19
RESUMEN	20
INTRODUCTION	21
MATERIALS AND METHODS	23
SPECIES AND STUDY AREA	23
FIELD SURVEYS.....	24
PATTERNS OF RICHNESS AND DIVERSITY	24
ANALYSIS OF PHYLOGENETIC DIVERSITY	25
RESULTS.....	26
FLORA.....	26
PATTERNS OF RICHNESS AND DIVERSITY	27
PATTERNS OF PHYLOGENETIC DIVERSITY	28
DISCUSSION	29
CONCLUSIONS	33
ACKNOWLEDGEMENTS.....	33
REFERENCES.....	33

Portafolio de Conservación del Bosque Esclerófilo de Chile central: Una mirada desde el uso de Modelos de Nicho Climático y Análisis de Vacíos y Omisiones de Conservación	53
INTRODUCCIÓN	53
MATERIALES Y MÉTODOS	54
ANÁLISIS DE VACÍOS Y OMISIONES DE CONSERVACIÓN	54
MODELAMIENTO DE NICHO CLIMÁTICO.....	54
PORTAFOLIO DE CONSERVACIÓN DEL BOSQUE ESCLERÓFILO	55
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	55
ANÁLISIS GAP DEL BOSQUE ESCLERÓFILO	55
ANÁLISIS HISTÓRICO DE LA PÉRDIDA DEL BOSQUE ESCLERÓFILO	57
PORTAFOLIO DE CONSERVACIÓN DEL BOSQUE ESCLERÓFILO	58
CONCLUSIONES	58
BIBLIOGRAFÍA	59
Diversidad y Estructura Genética de <i>Quillaja saponaria</i> Molina (Quillajaceae).....	68
INTRODUCCIÓN	68
MATERIALES Y MÉTODOS	69
ÁREA DE ESTUDIO Y ESPECIE	69
EXTRACCIÓN DE ADN	69
MARCADORES GENÉTICOS	70
ANÁLISIS DE DATOS.....	71
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	72
MICROSATÉLITES UNIVERSALES DE CLOROPLASTO (SSRCP)	72
MICROSATÉLITES NUCLEARES ESPECÍFICOS (SSR)	73
BIBLIOGRAFÍA	77
Isolation and Characterization of 12 Microsatellite Loci in the Soapbark, <i>Quillaja Saponaria</i> (Quillajaceae)¹.....	95
INTRODUCTION	96
METHODS AND RESULTS.....	97

CONCLUSIONS.....	99
LITERATURE CITED	99
DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES.....	105
LITERATURA CITADA.....	108

RESUMEN

Quillaja saponaria Molina, llamado comúnmente como Quillay en Chile o como Soap Bark Tree o Soapbark en Europa y Estados Unidos, es un árbol endémico a Chile. Perteneciente a la familia Quillajaceae, se distribuye desde las regiones de Coquimbo a la de la Araucanía (31° - 38° Latitud Sur) y desde el nivel del mar hasta los 2000 m. Adicionalmente, es la principal especie del Bosque Esclerófilo, comunidad vegetal caracterizada climáticamente por la presencia de veranos secos e inviernos lluviosos. En ocasiones, es posible encontrarlo creciendo sobre laderas inclinadas y/o en suelos pobres en nutrientes y materia orgánica. Con respecto a la valoración ecológica de la especie, se destaca por sus flores y la presencia de nectarios y la abundante producción de néctar, lo que la convierte en una especie melífera; que le ha dado un potencial importante en la industria productora de miel; destacando además, la actividad antifúngica y antibacteriana reportada recientemente para las mieles monoflORALES de la especie. Por otra parte, la composición química de sus tejidos (hojas, tronco y corteza) se caracterizan por presentar saponinas. La explotación a consecuencia de los metabolitos que presenta, junto al cambio de uso del suelo han llevado a la especie a requerir medidas de conservación. En los últimos 20 años, se ha incrementado en un 176% la superficie plantada de Aguacates (*Persea americana* L.), situación que ha ocurrido en los suelos en donde existía Bosque Esclerófilo. Desde inicios de la década del 2000, ya se consideraba a *Q. saponaria* como una especie Vulnerable en el límite norte de su distribución, señalando que estaba siendo afectada por destrucción de su hábitat, explotación de su corteza y hojas para cosmética y medicina.

A la fecha no existen antecedentes respecto de la diversidad y estructura genética de *Q. saponaria*; y menos de las relaciones biogeográficas del género *Quillaja*, siendo imposible responder por ejemplo, porque solo existan dos especies, *Quillaja brasiliensis* y *Q. saponaria*. Los estudios genéticos circunscritos a una especie, permiten comprender o elucidar los flujos génicos que pueden ocurrir entre las diferentes poblaciones y cómo ellas se conectan. En el caso de *Q. saponaria* la conectividad entre las poblaciones ocurre probablemente mediante agentes polinizadores asociados al consumo de néctar o polen, principalmente. Los agentes polinizadores, pudiesen verse afectados por el cambio de uso del suelo y por las plantaciones vecinas a los Bosques Esclerófilos, por ello, la fragmentación del bosque podría estar afectando la conservación de los recursos biológicos y la consecuente pérdida de diversidad que conlleva. Lo anterior a dado pie a que la zona central de Chile, sea reconocida como un hotspot mundial de biodiversidad denominado “Chilean winter rainfall-Valdivian forests”, donde *Q. saponaria* habita. Este hotspot, de Norte a Sur, incluye los desiertos de lluvia de invierno del Norte Chico hasta Paposo, la flora altoandina que se desarrolla por sobre la línea arbórea o su equivalente fitogeográfico en la Cordillera de los Andes, el bosque esclerófilo y matorrales del área de clima mediterráneo de Chile central, los bosques deciduos dominados por varias especies del género *Nothofagus* (conocidas como Coigüe, Hualo, Lenga, Roble, Ruil) y los bosques lluviosos tipos Norpatagónico y Valdiviano. En esta área se desarrolla *Q. saponaria*, inserto en la principal área productiva del país y por ende,

con la mayor tasa de transformación del bosque nativo hacia plantaciones forestales o agrícolas, junto con los mayores índices demográficos del país. Por ello, existe una alta demanda por el uso del suelo y se encuentran en riesgo tanto las formaciones de bosques esclerófilos como todas las formaciones vegetales. Además, existe una necesidad de expansión de las ciudades y sumado a los modelos de cambio climático que muestran un desplazamiento de la zonas áridas típicas del Norte Chico hasta las intermedias de Santiago o quizás un poco más al Sur.

El presente estudio evaluó la diversidad genética, patrones filogeográficos de *Q. saponaria* a lo largo de su área de distribución, así como el estado de conservación de las poblaciones de la especie y de las comunidades de bosque esclerófilo donde está presente. Estos análisis se complementan con modelos de los cambios que experimentaría *Q. saponaria* en su distribución bajo diferentes escenarios de cambio climático. De esta forma, se elaboró para la especie y el bosque esclerófilo del que forma parte, un portafolio de conservación robusto y acorde a los actuales conocimientos en Biología de la Conservación. Pues se ha observado una reducción en la existencia de árboles adultos de *Q. saponaria*, atribuible a la explotación debido a que se utiliza como fuente de saponinas y al cambio de uso de suelo en los hábitats de *Q. saponaria*.

En términos generales, dentro de los resultados obtenidos se destaca que al realizar la evaluación de las comunidades se encontró una estrecha relación con la matriz circundante al bosque esclerófilo, donde la diversidad de la comunidad de bosque se vio afectada por la agricultura o las plantaciones forestales. En tales circunstancias disminuyó el número total de especies nativas integrantes del bosque esclerófilo cuando la matriz circundante era alguna de las anteriores mencionadas (i.e. agricultura o plantaciones forestales). Por otra parte, los modelos de nicho climático realizados hacia el futuro, nos mostraron una migración de *Q. saponaria* y las especies principales integrantes del bosque esclerófilo hacia el Sur del país y utilizando como refugios ambas cordilleras, es decir, la Cordillera de Los Andes y la Cordillera de La Costa. Esto se explica por el patrón de desertificación que a consecuencia del cambio climático se está observando para Chile central. Respecto de la diversidad genética podemos decir que *Q. saponaria* presenta una marcada estructura genética poblacional en sentido Norte – Sur, la cual pudiera explicarse por el surgimiento de la diagonal árida a consecuencia del levantamiento de la Cordillera de Los Andes y que separó a la especie de su congénere *Q. brasiliensis*. Los análisis con el programa Structure mostraron que el número más probable de grupos genéticos fue de 2 y en segundo lugar 4 y presentaron correlación con la latitud, ordenándose por ejemplo el grupo genético 1 del K= 2 típicamente hacia el Sur y el grupo genético 2 del K= 2 hacia el Norte de la distribución de la especie. Por otra parte, estos mismos grupos genéticos se separan en función de la matriz vegetacional circundante a las localidades.

Finalmente, podemos decir que mientras se sigan realizando esfuerzos para controlar los efectos del cambio climático y se regule el efecto antrópico sobre el cambio de uso del suelo, *Q. saponaria* podría ser una especie que perdure en el tiempo; ya que posee el pool genético para asegurar su estabilidad como especie en el futuro.

ABSTRACT

Quillaja saponaria Molina, commonly known as Quillay in Chile or as Soap Bark Tree or Soapbark in Europe and the United States, is an Chilean endemic tree. It is an evergreen tree of the Quillajaceae family distributed from Coquimbo to Araucanía regions (31 ° - 38 ° South Latitude) and from sea level to 2000 masl. Additionally, it is considered one of the most important and representative species from the sclerophyllous forest from central Chile, where the plant community is characterized by the presence of dry summers and rainy winters. Sometimes, it grows on inclined hill or in soil poor in nutrients and organic material. In relation with the ecological value of the species, it stands out because of the presence of flowers with an abundant nectar production, which makes it a melliferous species, with a high potential importance in the honey industry due to the recently described antifungal and antibacterial activity of the monofloral Quillay honey. On the other hand, the chemical composition of the Quillay tissues (leaf, trunk and bark) is characterized by the presence of saponins. The exploitation as consequence of the metabolites (saponins) extraction, together with the land use change requires conservation measures. In the last twenty years, the area plantation of avocado (*Persea americana* L.) was increased by 176% on sclerophyllous forest soils. From 2000, *Q. saponaria* was considered as a vulnerable species at the Northern limits of its distribution, where the threats for the species result from habitat destruction, and bark and leaf exploitation for the cosmetic and medical industries.

Previous to this study, information was not available on the genetic diversity and structure of *Q. saponaria*. The biogeographic relations of the *Quillaja* genus are also unclear, making it impossible to answer for example, why there are only two species in the genus, *Quillaja brasiliensis* and *Quillaja saponaria*. The genetic studies circumscribed to one species, allow understanding or elucidating the amount and pattern of gene flow that has occurred between the different populations and to establish their degree of connectivity. In the case of *Q. saponaria* the connectivity among the populations is probably maintained by pollinator agents associated to nectar or pollen consumption. However, pollinators could be affected by the land use change; thus, the forest fragmentation could threaten the conservation of biological resources and result on the reduction of diversity. For these reasons, central Chile was recognized as a world biodiversity hotspot called “Chilean winter rainfall-Valdivian forests”, where *Q. saponaria* is an important component. The Chilean hotspot from North to South, included the desert with winter rain from Norte Chico at Paposo, the altoandina flora established above the arboreal limits or the equivalent vegetation in the Cordillera de los Andes, the sclerophyllous forest and the mediterranean shrub from the central Chile, the deciduous forest dominated by several *Nothofagus* species (called Coigüe, Hualo, Lenga, Roble, Ruil); and, the rainy forest type Norpatagónico and Valdiviano. On this area *Q. saponaria* is found, within the main Chilean production area, and with the highest rate of native forest transformation to forest plantations and agricultural lands, together with the highest Chilean human population density and urbanization rate. Furthermore, climate change scenarios indicate that the arid climate currently

found in the Norte Chico will extend southwards near Santiago or maybe to the south of Santiago. For all these reasons, there are strong pressures for land use change, and serious threats to conservation of sclerophyllous forests as well as other vegetation types.

This study evaluated the genetic diversity and phylogeographic patterns of *Q. saponaria* across its distribution area, as well as the conservation status of the species populations and the community of sclerophyllous forest where Quillay is found. These analyses were complemented with distribution change models of *Q. saponaria* under different scenarios of climatic change. In this way, a robust conservation portfolio for the species and the sclerophyllous forest was obtained, in accordance with current approaches in conservation biology.

In general terms, the evaluation of the communities was relevant because I found a significant effect of the type of vegetation matrix (agriculture, forest plantation, native forest) on the diversity and composition of the forest community of the sampled sites. On the other hand, the climatic niche model under future climate change scenarios indicated a southwards migration of *Q. saponaria* together with other sclerophyllous forest species, where the species will use Cordillera de los Andes and Cordillera de la Costa as refuges. This shift on the potential distribution area is explained by the desertification tendency as consequence of climatic change in central Chile.

The genetic diversity of *Q. saponaria* shows a significant structure in a North-South direction, which could be explained by the rise of the arid diagonal as consequence of the Andean Mountain uplift, which caused the separation from the congeneric *Q. brasiliensis*. The analysis with the Structure software showed that the number of most probable genetic groups was 2 or 4. The proportion of the genetic groups in the populations was correlated with latitude, where the genetic group 1 from the k=2 result had a higher frequency to the South, and the genetic group 2 from the k=2 result had a higher frequency to the north. On the other hand, the abovementioned genetic group also showed associations with the neighbouring vegetation matrices surrounding the sampled localities.

Finally, as long as measures are taken to control the climatic change effects and to ameliorate anthropogenic impacts from land use change, *Q. saponaria* could persist through time because the species has a diverse genetic pool that will allow the species adaptation in the future.

INTRODUCCIÓN

BIOLOGÍA Y ECOLOGÍA DE QUILLAJA SAPONARIA

Quillaja saponaria Molina, llamado comúnmente como Quillay en Chile o como Soap Bark Tree o Soapbark en Europa y Estados Unidos, es un árbol endémico a Chile, perteneciente a la familia Quillajaceae, con solo dos especies *Q. saponaria* y *Q. brasiliensis* (Kubitzki 2007). *Q. saponaria* se distribuye desde las regiones de Coquimbo a la de la Araucanía (31° - 38° Latitud Sur) (García & Ormazabal 2008; Luebert 2013; Prehn *et al.* 2003) y desde el nivel del mar hasta los 2000 m. Adicionalmente, es la principal especie del Bosque Esclerófilo, comunidad vegetal caracterizada climáticamente por la presencia de veranos secos e inviernos lluviosos. En ocasiones, es posible encontrarlo creciendo sobre laderas inclinadas y/o en suelos pobres en nutrientes y materia orgánica.

Con respecto a la valoración ecológica de la especie, se destaca por sus flores y la presencia de nectarios y la abundante producción de néctar, lo que la convierte en una especie melífera; que le ha dado un potencial importante en la industria productora de miel tal y como lo reportan Montenegro y colaboradores (2008; 2009) o Díaz-Forestier y colaboradores (2009); destacando además, la actividad antifúngica y antibacteriana reportada recientemente para las mieles monoflORALES de la especie (Montenegro *et al.* 2009). Adicionalmente, otras especies visitan las flores de *Q. saponaria* para alimentarse de los órganos florales.

Por otra parte, la composición química de sus tejidos (hojas, tronco y corteza) se caracterizan por presentar saponinas (Bate-Smith 1965; Goldblatt 1976; Kensil *et al.* 1991; San Martín & Briones 1999). En sus escritos del año 1898, Carlos Rieche señalaba: “*Su corteza contiene un principio jabonoso i se esporta al estranjero*”. Montenegro y colaboradores (2001) hablan de la corteza de *Q. saponaria* como un recurso para la farmacopea universal, destacando el papel co-adyuvante reportado para las saponinas de la especie, o el uso como emulsificante en la industria alimenticia o humectante en las películas fotográficas (San Martín & Briones 1999).

La explotación a consecuencia de los metabolitos que presenta, junto al cambio de uso del suelo han llevado a la especie a requerir medidas de conservación. En los últimos 20 años, se ha

incrementado en un 176% la superficie plantada de Aguacates (*Persea americana* L.), situación que ha ocurrido en los suelos en donde existía bosque esclerófilo (ODEPA 2017). Desde inicios de la década del 2000, ya se consideraba a *Q. saponaria* como una especie Vulnerable en el límite norte de su distribución, señalando que estaba siendo afectada por destrucción de su hábitat, explotación de su corteza y hojas para cosmética y medicina (Benoit 1989; Squeo *et al.* 2001).

DIVERSIDAD GENÉTICA DE *QUILLAJA SAPONARIA*

A la fecha no existen antecedentes respecto de la diversidad y estructura genética de *Q. saponaria*; y menos de las relaciones biogeográficas del género *Quillaja*, siendo imposible responder por ejemplo, porque solo existan dos especies, *Quillaja brasiliensis* y *Q. saponaria*. No obstante, las herramientas moleculares permitieron segregar a la familia Quillajaceae de la familia Rosaceae, mediante la secuenciación utilizando *rbcL* (Morgan *et al.* 1994).

Los estudios genéticos circunscritos a una especie, permiten comprender o elucidar los flujos génicos que pueden ocurrir entre las diferentes poblaciones y cómo ellas se conectan. Por ello, lo planteado por Lander y colaboradores (2009) quienes estudiaron otra especie arbórea endémica a Chile, *Gomortega keule* (Molina) Baillón, demostraron que el flujo de polen era realizado por sírfidos (pequeñas mosquitas) y que el polen viajaba como máximo 500 metros; demostrando a la vez el valor que los árboles aislados tenían en el mantenimiento de la diversidad de la especie, ya que servían de puentes biológicos que comunicaban diferentes fragmentos. En el caso de *Q. saponaria* la conectividad entre las poblaciones ocurre probablemente mediante agentes polinizadores asociados al consumo de néctar o polen, principalmente. Los agentes polinizadores, pudiesen verse afectados por el cambio de uso del suelo y por las plantaciones vecinas a los bosques esclerófilos, por ello, la fragmentación del bosque podría estar afectando la conservación de los recursos biológicos y la consecuente, pérdida de diversidad que conlleva.

QUILLAJA SAPONARIA DENTRO DEL HOTSPOT DE BIODIVERSIDAD DE CHILE

Los hotspot o “puntos calientes” de biodiversidad se definen como regiones que contienen concentraciones excepcionales de especies nativas o, presentan especies de alto valor; las cuales

se encuentran amenazadas por la pérdida de hábitat. A nivel mundial existen 34 hotspots y nueve de ellos se encuentran en América, de los cuales 2 están en Chile y es en el hotspot denominado “Chilean winter rainfall-Valdivian forests”, donde *Q. saponaria* habita (Myers *et al.* 2000; Arroyo *et al.* 2004). Este hotspot, de Norte a Sur, incluye los desiertos de lluvia de invierno del Norte Chico hasta Paposo, la flora altoandina que se desarrolla por sobre la línea arbórea o su equivalente fitogeográfico en la Cordillera de los Andes, el bosque esclerófilo y matorrales del área de clima mediterráneo de Chile central, los bosques deciduos dominados por varias especies del género *Nothofagus* (conocidas como Coigüe, Hualo, Lenga, Roble, Ruil) y los bosques lluviosos tipos Norpatagónico y Valdiviano (Hoffman *et al.* 1998). En esta área se desarrolla *Q. saponaria*, inserto en la principal área productiva del país y por ende, con la mayor tasa de transformación del bosque nativo hacia plantaciones forestales o agrícolas, junto con los mayores índices demográficos del país. Por ello, existe una alta demanda por el uso del suelo y se encuentran en riesgo tanto las formaciones de bosques esclerófilos como todas las formaciones vegetales. Además, existe una necesidad de expansión de las ciudades y sumado a los modelos de cambio climático que muestran un desplazamiento de las zonas áridas típicas del Norte Chico hasta las intermediaciones de Santiago o quizás un poco más al Sur (Conama 2006).

Por todo lo anterior, el presente estudio busca evaluar la diversidad genética y los patrones filogeográficos de *Q. saponaria* a lo largo de su área de distribución, así como evaluar el estado de conservación de las poblaciones de la especie y de las comunidades de bosque esclerófilo donde está presente. Estos análisis se complementarán con modelos de los cambios que experimentaría *Q. saponaria* en su distribución bajo diferentes escenarios de cambio climático. De esta forma, se buscará obtener para la especie y el bosque esclerófilo del que forma parte, un portafolio de conservación robusto y acorde a los actuales conocimientos en Biología de la Conservación. Pues se ha observado una reducción en la existencia de árboles adultos de *Q. saponaria*, atribuible a la explotación debido a que se utiliza como fuente de saponinas y al cambio de uso de suelo en los hábitats de *Q. saponaria*. Debido a ello, se ha producido un proceso de fragmentación de las poblaciones, siendo esta la razón que motiva este estudio. Por lo tanto, los objetivos generales y particulares de la tesis fueron los siguientes:

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el estado de conservación de *Quillaja saponaria* Molina en las comunidades de bosque esclerófilo de Chile central, con base en el estudio de los patrones de diversidad de las comunidades de bosque esclerófilo, de la diversidad y estructura genética poblacional y mediante la realización de modelos de distribución potencial bajo escenarios de cambio climático global.

Para cumplir el objetivo general, se han planteado 3 objetivos particulares, cada uno de ellos con su hipótesis de trabajo particular.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Evaluar el grado de perturbación y/o conservación de las comunidades de bosque esclerófilo donde está presente *Quillaja saponaria*.

Hipótesis particular: ante las presiones antrópicas a las que están sometidas las comunidades de bosque esclerófilo, se esperaría encontrar cambios en la diversidad y composición de las comunidades de bosque donde está presente *Q. saponaria* como resultado de los disturbios antropogénicos a los que son expuestas las comunidades vegetales.

2. Evaluar los patrones de distribución potencial de *Q. saponaria* (i.e., modelación de nicho) actual y futura, como modelo para el bosque esclerófilo del que forma parte y donde es especie principal, que en conjunto con los resultados obtenidos de los objetivos 1 y 2, permita obtener un portafolio de conservación para la especie y el bosque esclerófilo.

Hipótesis particular: en el caso de los patrones de distribución potencial de *Q. saponaria*, esperamos que independientemente del escenario de cambio climático que se use, la distribución potencial de *Q. saponaria* se verá modificada, al predecirse la migración de los individuos de las poblaciones del extremo norte de distribución de la especie más al Sur o refugiándose hacia el Este, en la Cordillera de los Andes.

3. Analizar la diversidad y estructura genética de las poblaciones de *Q. saponaria* a través de su área de distribución, para determinar la influencia de los patrones de fragmentación sobre el aislamiento poblacional.

Hipótesis particular: ante el aumento en el riesgo de conservación de la especie y de los niveles de fragmentación de sus poblaciones, existirá una disminución de la diversidad genética de la especie desde una condición de alta diversidad en el Sur de la distribución de la especie a una condición de baja diversidad (erosión genética) en el centro y norte del área de distribución de la especie, presentándose menor heterocigosidad en el centro y norte de su distribución.

**Patterns of Composition, Richness and Phylogenetic Diversity of Woody Plant Communities
of *Quillaja saponaria* Molina (Quillajaceae) in The Chilean Sclerophyllous Forest**

**Patrones de Composición, Riqueza y Diversidad Filogenética de las Comunidades de
Plantas Leñosas de *Quillaja saponaria* Molina (Quillajaceae) en el Bosque Esclerófilo de
Chile**

Luis Letelier^{1,2*}, Aly Valderrama², Alexandra Stoll³, Rolando García-González⁴ & Antonio González-Rodríguez¹

¹Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, Universidad Nacional Autónoma de México, Antigua Carretera a Pátzcuaro N° 8701, Col. Ex -Hacienda de San José de la Huerta, Morelia, CP 58190, México.

²Universidad Bernardo O Higgins, Centro de Investigación en Recursos Naturales y Sustentabilidad, General Gana 1702, Santiago, Chile.

³Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas, Campus Andrés Bello, Universidad de La Serena, La Serena, Chile.

⁴Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Católica del Maule, Avenida San Miguel N° 3605, Casilla 617, Talca, Chile.

*lletelier@cieco.unam.mx

ABSTRACT

Sclerophyllous forest is among the most representative types of woody plant communities in central Chile where *Quillaja saponaria* is considered to be one of the most important species. In this study, we analysed the main factors that explain the geographical patterns of variation in composition, richness and phylogenetic diversity of woody plant communities in the Chilean sclerophyllous forest where *Quillaja saponaria* is present. Vegetation surveys were performed for trees and shrubs in thirty-nine sites from 30° to 38° of latitude south in the Mediterranean biome of Chile. Composition, richness, alfa diversity and phylogenetic diversity metrics of the communities were calculated and associated with spatial (latitude, longitude and altitude), climate (annual mean temperature, annual precipitation, aridity), and disturbance variables (type of adjacent vegetation matrix) using multiple regression models. Sixty taxa were identified, distributed in 29 families, including 23 trees and 37 shrubs. A significant effect of the type of adjacent vegetation matrix (i.e. agricultural land, commercial forestry plantation or natural forest) on diversity and composition of the sampled communities was found. Significant effects of latitude on diversity, and altitude, latitude and annual mean temperature on composition were also found. Metrics of phylogenetic diversity and structure were only associated with altitude and latitude. In conclusion, diversity, composition and phylogenetic structure patterns of sclerophyllous forest communities are associated with spatial and climate variables, and anthropogenic disturbance has also caused important changes in these communities.

KEYWORDS: Diversity; Forest fragmentation; Mediterranean flora; Phylogenetic diversity; Vegetation matrix

RESUMEN

El Bosque Esclerófilo es uno de los tipos más representativos de las comunidades de plantas leñosas en el centro de Chile donde *Quillaja saponaria* se considera es una de las especies más importantes. En este trabajo se analizaron los principales factores que explican la distribución geográfica de la variación en la composición, riqueza y diversidad filogenética de las comunidades de plantas leñosas del Bosque Esclerófilo de Chile donde *Q. saponaria* está presente. Se llevaron a cabo censos de vegetación de árboles y arbustos en treinta y nueve sitios desde los 30° a los 38° de latitud Sur en el bioma mediterráneo de Chile. Se calcularon la composición, riqueza, diversidad alfa y la diversidad filogenética de las comunidades y se asociaron con variables espaciales (latitud, longitud y altitud), climáticas (temperatura media anual, precipitación anual, aridez), y variables de perturbación (tipo de matriz de la vegetación adyacente) usando modelos de regresión múltiple. Se identificaron sesenta taxones, distribuidos en 29 familias, incluyendo 23 árboles y 37 arbustos. Se encontró un efecto significativo del tipo de matriz de vegetación adyacente (es decir, tierras agrícolas, plantaciones forestales comerciales o bosques naturales) en la diversidad y composición de las comunidades estudiadas. También se encontraron efectos significativos de la latitud sobre la diversidad; y de la altitud, latitud y temperatura media anual sobre la composición de las comunidades, la diversidad filogenética sólo se asoció con la altitud y la latitud. En conclusión, la diversidad, composición y patrones de estructura filogenética se asocian con variables espaciales y climáticas; y las perturbaciones antropogénicas también han provocado cambios importantes en estas comunidades.

PALABRAS CLAVES: Diversidad; Fragmentación del Bosque; Flora Mediterránea; Diversidad Filogenética; Matriz Vegetacional

INTRODUCTION

Mediterranean biomes occur between approximately 30° to 40° of North and South latitude on the west sides of continents (Archibald 1995) and are known for their outstanding biodiversity and high level of endemism (Lavorel et al. 1998; Tang 2006). Worldwide, the total area covered by Mediterranean vegetation is 1,996,300 km² (Keeley et al. 2012), divided into five floristic biome subtypes: 1) Mediterranean basin (Europe), 2) Californian (USA), 3) Chilean (Chile), 4) Capensis (South Africa) and 5) Australian (Australia) (Archibald 1995). The Chilean subtype ranks third in area, with 111,725 km², being surpassed by the Mediterranean and Australian regions (Keeley et al. 2012). These five areas account for less than 5% of the surface of the earth, but the richness of vascular plant species in these communities represents about 20% of known species (Cowling et al. 1996).

Due to their high biological diversity, Mediterranean ecosystems have been recognized as biodiversity hotspots and a prime target for conservation efforts (Matesanz & Valladares 2014; Squeo et al. 2012). These communities are not only exposed to a changing climate (Matesanz & Valladares 2014), but also have been profoundly transformed by human activities for centuries or millenia in the case of the European region. However, many of the traditional management practices of Mediterranean environments are also changing in the present time, resulting in increased disturbance (Arroyo et al. 1999; Briones et al. 2013; Mittermeier et al. 1998; Myers et al. 2000).

It is widely acknowledged that besides habitat loss per se, fragmentation is also a major threat for natural communities. Fragmentation has an effect on the composition and structure of the forest, and contributes to the degradation and loss of biodiversity (Harper et al. 2005). The edge effect, caused by fragmentation, creates gradients in abiotic variables such as sunlight, wind and moisture from the edge to the interior of the fragments, and also facilitates the establishment of invasive species, with important consequences for the richness, composition and structure of the remaining natural communities (Harper et al. 2005).

Recently, the incorporation of phylogenetic information into the analysis of community structure and composition has provided a new understanding of the processes that underlie species

assemblages and their dynamics (Buerki *et al.* 2015; Cavender-Bares *et al.* 2009). Increasing evidence shows the importance of incorporating the evolutionary history of the species in the analysis of conservation strategies, particularly given that the likelihood of extinction is not random, and that the phylogenetic diversity is lost at higher rates than species diversity (Buerki *et al.* 2015). Importantly, different patterns of phylogenetic diversity are expected depending on whether environmental filtering or biotic interactions (i.e. competition) predominate as processes shaping a particular community (Cavender-Bares *et al.* 2009). Several studies have now used this approach to evaluate how the phylogenetic structure of different plant and animal communities vary along altitudinal and latitudinal gradients (Hoiss *et al.* 2012; Machac *et al.* 2011; Qian *et al.* 2013) and also the effect of forest fragmentation on the phylogenetic diversity in tree communities (e.g. Arroyo-Rodríguez *et al.* 2012).

In the Mediterranean biome of Chile, the sclerophyllous forest is one of the most representative types of woody plant communities in the biodiversity hotspot called the Chilean Winter Rainfall-Valdivian Forest (Arroyo *et al.* 1999; Briones *et al.* 2013; Mittermeier *et al.* 1998; Myers *et al.* 2000). In these woody communities, *Quillaja saponaria* is considered one of the most important, abundant and representative species and therefore can be considered as a foundation species; i.e. a species that has a strong role in structuring the community (Gajardo 1994). The species also has a high economic importance since it is not only a source of timber (García & Ormazabal 2008), but it is also melliferous (Díaz-Forestier *et al.* 2009; Montenegro *et al.* 2009a; Montenegro *et al.* 2008; Montenegro *et al.* 2003; Montenegro *et al.* 2009b). Furthermore, the bark yields saponins (San Martín & Briones 1999), and medicinal coadjuvants (Kensil *et al.* 1991; San Martín & Briones 1999). Other abundant species in these forests are *Acacia caven*, *Prosopis chilensis*, *Cryptocarya alba*, *Lithrea caustica*, *Maytenus boaria*, *Peumus boldus*, *Schinus molle*, *Kageneckia oblonga*, *Beilschmiedia berteroana*, *B. miersii* and *Crinodendron patagua* (Hechenleitner *et al.* 2005).

Unfortunately, the Chilean Winter Rainfall-Valdivian Forest hotspot has experienced a strong decline of natural forest areas. In particular, sclerophyllous forest communities have been under strong pressure from changes in land use, either to forestry plantations, agriculture, and

urbanization (Arroyo *et al.* 1999; Hechenleitner *et al.* 2005; Squeo *et al.* 2010) and the remaining forest is estimated to cover less than 40% of its original area (Hechenleitner *et al.* 2005). For this reason, this area is considered a priority for conservation (Arroyo *et al.* 1999; Briones *et al.* 2013; Mittermeier *et al.* 1998; Myers *et al.* 2000). In addition, the effects of climate change are expected to produce a further decrease in cover area of the sclerophyllous forest in central Chile, together with a southwards displacement of about 350 km by year 2100 (Bambach *et al.* 2013).

The aim of the present work was to characterise and explain the geographical patterns of composition, richness, phylogenetic diversity, and similarity of woody plant communities of the Chilean sclerophyllous forest, based on sites with presence of *Quillaja saponaria*, in terms of spatial, climate and disturbance variables. In particular, we hypothesized that habitat fragmentation, and particularly the type of the adjacent plant matrix surrounding the sampled sites, would have an effect on the diversity and composition of the communities, with an agricultural matrix being associated with lower diversity than that found in communities where the matrix is native forest.

MATERIALS AND METHODS

SPECIES AND STUDY AREA

Sclerophyllous forest communities in Chile occur from the Coquimbo Region in the north to the O'Higgins Region in the south (Hechenleitner *et al.* 2005), although Gajardo (1994) and Moreira-Muñoz (2011) extended the range further south into the central valley of the Maule and Bío-Bío Regions. According to the second classification, the distribution of sclerophyllous communities coincides entirely with the range of *Q. saponaria*. The climate type in which these communities develop is Mediterranean with a dry summer season, changing to arid in the north, and to humid and sub-humid in the south (Di Castri & Hajek 1976); the annual mean precipitation varies from 50 mm in the north to 500 mm in the south (Moreira-Muñoz 2011), although in the Andes range southwards from Santiago it may reach 1000 mm. The rain is brought by frontal systems which originate in the Pacific Ocean and enter the continent from the South-West. The Coastal Range (with North-South orientation) acts as a barrier to the cloud masses and as a result the sites to the

West of the range present a lower aridity index than those immediately to the East (Di Castri & Hajek 1976).

Quillaja saponaria Molina, commonly named Quillay, is an endemic Chilean tree found from the Coquimbo Region to the Bío-Bío Region (Arauco Province), approximately between 31° and 38° south (García & Ormazabal 2008; Prehn *et al.* 2003). It grows from sea level to 1600 m a.s.l., preferably in dry areas which are poor in nutrients. The study area covered the whole distribution of *Q. saponaria*.

FIELD SURVEYS

We visited 39 sites where *Q. saponaria* grows naturally, within the range of the species (Fig. 1, Table I), in four field campaigns between August 2011 and April 2012. In each of the 39 sites visited, three sampling transects were established, each 400 m long. In each transect five plots were established, one every 85 m, giving a total of 15 sampling units per site. The plots were rectangular (20×5 m; 100 m 2). In each plot all the woody species were recorded, including arborescent cacti. The abundance of each species was expressed as a percentage of the sampled area (Mueller-Dombois & Ellenberg 1974). The specific names followed the nomenclature proposed by Zuloaga *et al.* (2008), and in a few cases the nomenclature of Marticorena & Quezada (1985). In every case, the record included the botanical family, the chorological characterisation as an endemic species (geographical range restricted to Chile), element of the flora of the southern cone (native) and/or cosmopolitan species (adventitious), and the life form (tree or shrub).

PATTERNS OF RICHNESS AND DIVERSITY

The richness of species (number of species) was determined for each site, and the alpha diversity was calculated using the Shannon-Wiener index (H') and the Simpson's index (D) – the former attributes greater weight to rare species whereas in the latter rare species have little influence (Felfili & Felfili 2001). It is important to consider that these two indices are not collinear.

A Principal Coordinates Analysis (PCoA, Podani & Miklós 2002) was done to determine the similarity patterns between the species composition and abundance of the sites, using the Bray-Curtis similarity index (Podani & Miklós 2002). For this purpose, the sites were grouped according to the vegetation matrix adjacent to each sampling locality, with three types of matrix being defined:

1) native forest, when the sampled community was surrounded by a natural forest or matorral community; 2) commercial forestry plantations, when the community was surrounded by a commercial forestry matrix, principally plantations of *Pinus radiata*; and 3) agricultural use when the community was surrounded by farm crops. These analyses were done using the PAST 3.x software (Hammer et al. 2001).

To assess if the richness and diversity of the communities is influenced by climatic variables, the values of annual mean temperature and annual precipitation were obtained from Worldclim (Hijmans et al. 2005, Available: <http://www.worldclim.org/>) for each locality visited. Additionally, the De Martonne aridity index was calculated (sensu Mercado-Mancera et al. 2010; Wang & Takahashi 1999) for each site. This aridity index (AI) relates annual or monthly precipitation, as appropriate, with the average annual or monthly temperature. The value obtained allows classifying the plant community or site under study as desert, grassland or forest, depending on the degree of aridity (Wang & Takahashi 1999). The index was obtained as follows:

$$AI = \frac{P}{T+10} \quad (\text{Wang \& Takahashi 1999}).$$

Where P is the annual precipitation in millimetres and T the average annual temperature in Celsius degrees.

To detect spatial patterns in the variation of the number of species, alpha diversity, and composition of the communities (as summarized by coordinate axes 1 and 2 of the PCoA), multiple regression analyses (stepwise) of these variables were done with the spatial and climate variables of the sites. The variables included as predictors were latitude, longitude, the De Martonne aridity index, altitude, type of forestry matrix, annual mean temperature and annual precipitation. The parameters used for the analysis were: Probability to enter = 0.250, Probability to leave = 0.100, Direction = Forward, Rules = Combine. Subsequently, the variables identified as significant, were incorporated to a multiple regression model. These analyses were done with the JMP 8.0 SAS Institute Inc., Cary, NC, 1989-2007.

ANALYSIS OF PHYLOGENETIC DIVERSITY

For each site visited, we calculated four abundance-based phylogenetic metrics (Vamosi et al. 2009; Webb et al. 2008; Webb et al. 2002): 1) mean phylogenetic distance (MPD), 2) mean nearest

taxon phylogenetic distance (MNTD), 3) net related index (NRI) and 4) nearest taxon index (NTI). MPD and MNTD measure the average phylogenetic distance among pairs of individuals drawn at random from a sample, where MPD includes conspecifics and MNTD considers the closest non-conspecific relative (Vamosi *et al.* 2009; Webb *et al.* 2008). NRI is a calculation of the effect size of MPD relative to a null model and indicates whether taxa in a sample are more phylogenetically clustered (positive NRI) or even (negative NRI) than expected at random; NTI quantifies the extent of terminal clustering, that is, intrafamilial clustering (positive NTI also indicates phylogenetic clustering, while negative values represent phylogenetic uniformity).

To estimate these metrics, we compiled a full species list based on the Angiosperm Phylogeny Group (2009) classification for the 60 taxa sampled in the 39 sites. Then, species were classified by genus and family and we used the Phylomatic function of Phylocom 4.1 (Webb *et al.* 2008) and a maximally resolved supertree of angiosperms (R20100701 available at <http://www.phyldiversity.net>) to construct a regional phylogeny from the species list. The ‘bladj’ algorithm was used to estimate branch lengths in the phylogeny and the node ages provided by Wikström *et al.* (2001) were used. Then, we used the Comstruct function of Phylocom 4.1 to calculate the phylogenetic metrics for each sampled site. The switch ‘-a’ was used to weight phylogenetic distances by taxa abundances.

To detect spatial patterns in the variation of the phylogenetic diversity indices of the sites, multiple regression analyses (stepwise) were performed using the same set of spatial and climate variables and the same specifications previously explained for the analyses of richness diversity and composition of the communities, using the JMP 8.0 SAS Institute Inc., Cary, NC, 1989-2007.

RESULTS

FLORA

Analysis of the flora resulted in the presence of 60 taxa (species level or lower), distributed among 29 families. In terms of life forms, we distinguished 23 trees and 37 shrubs. The most frequent families were Fabaceae with 10 taxa, followed by Asteraceae with 7 taxa, Myrtaceae with 4 taxa

and Anacardiaceae, Nothofagaceae and Solanaceae with 3 taxa each. 28 taxa were native, 27 were endemic to Chile and 5 were adventitious (see Table II).

PATTERNS OF RICHNESS AND DIVERSITY

The lowest alpha diversities were found in the localities of Santa Bárbara (SB) in the Bío-Bío Region, and Tregualemu (Tg), Fundo El Peral (EP) and Risco Afuera (RA) in the Maule Region. The highest alpha diversities were found in the populations of Cuesta Los Cristales (CC) in the Coquimbo Region, and Potrero Grande (PG), El Colorado (EC) and Cuesta Batuco (Bt) in the Maule Region (see Table III), surrounded by forest matrix. The mean species richness per site was seven, with a maximum of 14 species in Santa Marta (SM, Valparaíso Region) and a minimum of 3 species at sites of Cuesta Chacabuco (CCH, Metropolitan Region of Santiago), Santa Barbara (SB) and Cuesta Tomeco (CT), both in the Bío-Bío Region. The average of the Shannon-Wiener index for all sites was (mean \pm standard deviation) 0.558 ± 0.139 and for the Simpson index the average was 0.320 ± 0.108 .

The Principal Coordinates Analysis (PCoA) suggested an influence of the vegetation matrix surrounding the sites on the composition of the sampled communities (see Fig. 2). The coordinate axes 1 and 2, explained 16.4 and 12% of the total variation, respectively. The sites where the surrounding matrix was native forest were grouped mainly in the negative part of coordinate axis 2, although the Cuesta Los Cristales (CC), Cuesta Chacabuco (CCH) and El Morro (Mr) sites separated from this group. In contrast, sites where the surrounding matrix was agricultural land clustered mostly in the negative part of coordinate axis 1. Finally, the sites where the matrix was commercial forest showed the greatest dispersion (see Fig. 2).

The values of the De Martone aridity index were correlated with both latitude and longitude ($r = 0.96$; $p < 0.0001$) with a Equation: 3D, Paraboloid (Durbin-Watson Statistic: 1.8280, Passed), showing that the aridity diminishes towards the south and west (see Fig. 3).

The results of the stepwise regression models for the diversity and composition metrics of the 39 communities as a function of spatial and climate variables are shown in Table IV. The model for species richness was marginally significant ($p = 0.079$), with type of vegetation matrix being the only explanatory variable included in the model. Species richness tended to be lower at sites

surrounded by an agricultural matrix than at sites surrounded by commercial forest plantations or native forest.

In the case of the Shannon-Wiener diversity index the model indicated a significant effect of the vegetation matrix ($p = 0.012$) with sites adjacent to native forests being more diverse than sites adjacent to an agricultural or commercial forest plantation matrix. The effect of latitude was also significant ($p = 0.046$) with a decrease in diversity with increasing latitude. In contrast, for the Simpson's index a marginally significant ($p = 0.089$) decrease in diversity with longitude was detected (from East to West).

For the scores on coordinate axes 1 and 2 from the PCoA analysis (which summarize the similarity relationships among sites in terms of composition) the resulting models were highly significant ($p < 0.0001$ and $p = 0.0017$, respectively). In the case of coordinate 1 there was a significant effect of the adjacent vegetation matrix ($p < 0.0001$), and altitude ($p = 0.003$). Coordinate 2 was significantly associated with latitude ($p = 0.004$) and annual mean temperature ($p = 0.001$).

PATTERNS OF PHYLOGENETIC DIVERSITY

All the taxa recorded were included in the phylogenetic diversity analysis except *Saxegothea conspicua* because this species could not be matched in the megatree file. However, this species was only found in one site (Chorro de la Vieja, CV in the O'Higgins Region). Therefore, the analysis was made with 59 taxa in 39 sites.

The Mean Phylogenetic Distance (MPD) was on average 27.8 million years (myr) with a standard deviation of 8.52 myr. The maximum value was found in Potrero Grande (PG) with 42.4 myr, and the minimal value was obtained in San José de Maipo (SJ) with 11.6 myr (see Table III). Although a significant pattern related with the surrounding matrix was not detected, the highest MPD values tended to occur in the localities surrounded by a matrix of native forest or forestry plantation, and the lowest values were found in sites surrounded by an agricultural matrix.

The Mean Nearest Taxon Phylogenetic Distance (MNTD) showed an average of 26.1 myr with a standard deviation of 8.37 myr. The Risco Afuera (RA) site showed the maximum value with 46.6 myr, and the Santa Cristina (SC) site had the minimum value of 8.1 myr (see Table III). In this case, the localities near to the forestry plantation matrix have the highest MNTD value (mean of

30.3 myr), and the localities near to native forest or agricultural matrix showed a MNTD mean of 25.6 myr and 24.7 myr, respectively.

The average Net Related Index (NRI) was 0.07 with a standard deviation of 1.07. The sites with the maximum values were San José de Maipo (SJ) and Santa Cristina (SC), with positive values of 2.51 and 1.99, respectively, indicating phylogenetic clustering at these sites. The minimum value was found in Risco Afuera (RA), with -2.15, indicating phylogenetic evenness (see Table III). The localities near to the forestry plantation matrix showed the lowest NRI value.

For the Nearest Taxon Index (NTI) the average value was 0.05 with a standard deviation of 1.05. The higher positive values (indicating phylogenetic clustering) were found in Santa Cristina (SC) and San José de Maipo (SJ) (2.27 and 2.10, respectively). The largest negative value was found in Risco Afuera (RA) with -2.27 (see Table III), indicating phylogenetic evenness.

The results of the stepwise multiple regression models calculated for the four metrics of phylogenetic diversity are shown in Table IV. The only explanatory variables significantly correlated with these metrics were altitude and latitude: MPD decreased and NTI increased with altitude, indicating less phylogenetic diversity and higher phylogenetic clustering at higher altitudes, while MNTD decreased and NRI increased with increasing latitude, indicating less diversity and higher clustering in the north in comparison to the south (Table IV).

DISCUSSION

In this study, we have explored the patterns of richness, diversity and phylogenetic diversity of woody plant communities in the sclerophyllous forests of Chile across their whole native range. Furthermore, we evaluated whether these patterns can be explained by geographic, climatic and human disturbance variables.

In general, the species found in this study correspond to the woody flora defined historically as components of sclerophyllous forest communities (Amigo & Flores-Toro 2012; García & Ormazabal 2008; Hechenleitner *et al.* 2005). The presence of species belonging to genera such as *Nothofagus*, *Lomatia* or *Austrocedrus* at some sites was atypical for these types of communities.

This occurred particularly at some of the southernmost sites, located in areas that are probably transitional towards more humid types of forest (Gajardo 1994; Luebert & Pliscoff 2004).

The stepwise multiple regression models allowed determining the relevance of the different spatial, climate and disturbance variables (i.e. the type of the surrounding vegetation matrix) on the patterns of richness, diversity and composition of the sites. Interestingly, the type of vegetation matrix was found to have a marginally significant effect on species richness and a significant effect on the Shannon-Wiener diversity index and on the scores of the first axis of the Principal Coordinates Analysis, which summarizes the similarity relationships among sites in terms of composition. These results indicated that sites surrounded by the same type of vegetation matrix also tended to be more similar in their species composition and also that the diversity of the communities was in general lower, intermediate and higher at sites surrounded by agricultural, commercial forestry plantation and natural forest matrices, respectively.

For example, the low alpha diversity found in Santa Bárbara (SB) in the Bío-Bío Region, and Tregualemu (Tg), Fundo El Peral (EP) and Risco Afuera (RA) in the Maule Region, may be related to the surrounding vegetation matrix, which in the cases of SB and EP is agricultural land, and in the RA and Tg communities is commercial forestry plantation of *Pinus radiata*. Furthermore, the clear separation of the Risco Afuera (RA) community from the other sites where the adjacent matrix was commercial forest is explained by the very high abundance of *Pinus radiata* at this site. This pine covered 60% of the sampled area and defined the community, evidencing the colonising ability of the species, reported previously by Gómez et al. (2011), who found that in small fragments of native forest (less than or equal to 20 hectares, as is the case with the RA site), colonisation by seeds of *P. radiata* from the adjacent matrix was higher than in larger fragments.

A reduction in the diversity of communities frequently results from disturbance caused by human activity (Hobbs & Huenneke 1992). Furthermore, as described by Gómez et al. (2011), *P. radiata* plantations may be a source of propagation into natural communities. This effect may be seen as an increase in the diversity of the community suffering the invasion, but also as a threat, since the presence of this species increases competition for soil (Jorquera-Jaramillo 2008). In addition, as mentioned by Figueroa et al. (2004), pasture regimes and propagation pressure result

in a threat by exotic species to native plant communities. This supports the idea that the surrounding matrix affects the number of species in a location, and therefore the alpha diversity of the communities, since transformation to commercial forestry plantations or agriculture leads to a reduction in the diversity of the adjacent remaining natural communities (Hobbs & Huenneke 1992).

A different case is probably represented by the Cuesta Chacabuco (CCH) site, which is surrounded by native forest but showed a low diversity, with only three tree species recorded (i.e., *Acacia caven*, *Lithrea caustica* and *Quillaja saponaria*). This site is situated in the northern part of the study region in a transitional zone to more arid vegetation types. Also, the unusual composition of this locality is related to its classification as “spiny open woodland” (bosque espinoso abierto), a type of sclerophyllous forest particularly poor in species (Gajardo 1994).

In contrast, the communities of Cuesta Los Cristales (CC) in the Coquimbo Region, and Potrero Grande (PG), El Colorado (EC) and Cuesta Batuco (Bt) in the Maule Region presented the highest values of alpha diversity. All these communities, with the exception of Bt, are surrounded by native forest and situated in the foothills of the Andes cordillera (i.e. pre-cordilleran sites), where the effect of land-use changes is still smaller than those reported for the Central Valley or the Coastal Range (Squeo *et al.* 2012; Squeo *et al.* 2010). In the case of CC, the high diversity and composition distinctness (see Fig. 2) is also due to the presence of *Flourensia thurifera* and *Porlieria chilensis*, species that are characteristic of the Atacama Desert flora (Gajardo 1994).

The other variables that according to the regression models contributed significantly to explain the diversity and composition of the studied communities were latitude in the case of the Shannon-Wiener index, altitude in the case of the first axis of the PCoA and latitude and annual mean temperature in the case of the second axis of the PCoA. Besides, the decrease of Shannon-Wiener index with increased latitude could be explained by the higher anthropogenic pressure on natural communities towards the south caused by land use change from native forest to commercial forest (Squeo *et al.* 2012; Squeo *et al.* 2010).

The effect of altitude and latitude on the pattern of similarity in the composition of the communities (given the correlations with the first and second axis of the PCoA) probably results from the fact that contiguous sites tend to share more species than distant sites. For example, as

previously mentioned, in the sites located to the southermost of the study area we found species of genera like *Nothofagus*, *Lomatia* or *Austrocedrus*, which are characteristic of the mesophilous forest (Hechenleitner et al. 2005), while to the north of the study area we found species that belong to the Atacama Desert flora, like *Flourensia thurifera* and *Porlieria chilensis*. The effect of annual mean temperature is probably because this climatic variable imposes a physiological limit to distributional patterns of species and therefore sites with similar temperature have a more similar floristic composition than sites with different temperatures.

The patterns detected for the phylogenetic diversity metrics in the communities indicated two clear trends. Firstly, there was a decrease in phylogenetic diversity of the communities (indicated by a decrease in Mean Phylogenetic Distance) and an increase in phylogenetic clustering (indicated by a change from negative to positive values in Nearest Taxon Index) with increasing altitude. Secondly, there was also a pattern of south to north decrease in phylogenetic diversity (indicated by a decrease in Mean Nearest Taxon Phylogenetic Distance) and an increase in phylogenetic clustering (indicated by a change from negative to positive values in the Net Related Index). Similar patterns have been found in other regions of the world for insect communities (Hoiss et al. 2012; Machac et al. 2011) and angiosperm trees (Qian et al. 2013) and can be explained by an increase in environmental filtering effects towards higher altitude sites (perhaps because of lower temperatures) and more northern locations (in our case, possibly due to increased aridity). However, an effect of anthropogenic disturbance is also possible, since the presence of adventitious (e. g. *Pinus radiata*) species may result in a higher phylogenetic evenness within communities. The abundance of such species was higher at sites surrounded by agricultural or commercial forestry matrices and these sites predominated at lower altitudes and at the southern portion of the studied region.

The highest MPD values were obtained in localities near the native forest or forestry plantation matrix. The values from the forestry plantation matrix are explained by the introduction of exotic plant species to the native communities (Bennett et al. 2014), for example *P. radiata*. In addition, the native forest matrix has a high stability of the community due the presence of native flora (Cadotte et al. 2012).

CONCLUSIONS

This work provides an update of the diversity and composition of Chilean sclerophyllous forest communities containing *Quillaja saponaria*. We have also evaluated how this diversity and composition changed with variations in the vegetation matrix surrounding these plant communities. It was found that the alpha diversity index of the communities studied was affected by the matrix surrounding the community, with native forest as adjacent matrix being associated with the greatest diversity and number of species in the communities. The results show that studies in greater depth are needed to assess the effects of changes in land use on sclerophyllous forest plant communities, particularly those formed by *Q. saponaria*. There is also a need to study the plant species of the herbaceous stratum, and to associate them with the analyses already carried out, so as to demonstrate whether a greater effect of human activity is found when these elements are incorporated into the analysis.

ACKNOWLEDGEMENTS

Chile Abroad Grants programme, Doctorate level – Call 2010, National Commission for Scientific and Technological Research (CONICYT, Chile); II Competitive Native Forest Research Fund (Project N°041-2011), National Forestry Corporation (CONAF, Chile); Post-graduate Programme in Biological Sciences of the National Autonomous University of Mexico (UNAM). This article constitutes a partial fulfillment of the graduate program in Biological Sciences of UNAM. The authors also thank Dr. Alfonso Valiente-Banuet for his valuable comments on the initial version of the manuscript. We also thank two anonymous reviewers for valuable comments on the paper.

REFERENCES

- AMIGO, J., & L. FLORES-TORO. 2012. Revisión sintaxonómica de los bosques esclerófilos de Chile Central: La alianza *Cryptocaryon albae*. Lazaroa 33(1): 171-196.
- ARCHIBOLD, O. W. 1995. Ecology of World Vegetation. Springer Netherlands, Amsterdam, Netherlands.522.

- ARROYO-RODRÍGUEZ, V., J. CAVENDER-BARES, F. ESCOBAR, F. P. L. MELO, M. TABARELLI & B. A. SANTOS. 2012. Maintenance of tree phylogenetic diversity in a highly fragmented rain forest. *Journal of Ecology* 100(3): 702-711.
- ARROYO, M. T. K., R. ROZZI, J. A. SIMONETTI, P. MARQUET & M. SALABERRY. 1999. Central Chile. in R. A. MITTERMEIER, N. MYERS, P. ROBLES GIL & C. GOETTSCH MITTERMEIER (eds.), *Hotspots: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecosystems*, 161-171. Cemex, Conservation International, México, México,
- BAMBACH, N., F. J. MEZA, H. GILABERT & M. MIRANDA. 2013. Impacts of climate change on the distribution of species and communities in the Chilean Mediterranean ecosystem. *Regional Environmental Change* 13(6): 1245-1257.
- BENNETT, J. A., G. C. STOTZ & J. F. CAHILL. 2014. Patterns of phylogenetic diversity are linked to invasion impacts, not invasion resistance, in a native grassland. *Journal of Vegetation Science* 25(6): 1315-1326.
- BRIONES, R., V. JEREZ & H. A. BENÍTEZ. 2013. Vertical diversity of beetles (Insecta: Coleoptera) associated with *Lithraea caustica* (Anacardiaceae) in patches of sclerophyllous forest in Central Chile. *Journal of the Entomological Research Society* 15(3): 41-52.
- BUERKI, S., M. W. CALLMANDER, S. BACHMAN, J. MOAT, J.-N. LABAT & F. FOREST. 2015. Incorporating evolutionary history into conservation planning in biodiversity hotspots. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 370(1662): 1-8.
- CADOTTE, M. W., R. DINNAGE & D. TILMAN. 2012. Phylogenetic diversity promotes ecosystem stability. *Ecology* 93(sp8): S223-S233.
- CAVENDER-BARES, J., K. H. KOZAK, P. V. A. FINE & S. W. KEMBEL. 2009. The merging of community ecology and phylogenetic biology. *Ecology Letters* 12(7): 693-715.
- COWLING, R. M., P. W. RUNDEL, B. B. LAMONT, M. T. K. ARROYO & M. ARIANOUTSOU. 1996. Plant diversity in mediterranean-climate regions. *Trends in Ecology & Evolution* 11(9): 362-366.
- DI CASTRI, F., & E. R. HAJEK. 1976. *Bioclimatología de Chile*. Universidad Católica de Chile, Santiago de Chile. 128.

- DÍAZ-FORESTIER, J., M. GÓMEZ & G. MONTENEGRO. 2009. Nectar volume and floral entomofauna as a tool for the implementation of sustainable apicultural management plans in *Quillaja saponaria* Mol. Agroforestry Systems 76(1): 149-162.
- FARR, T. G., P. A. ROSEN, E. CARO, R. CRIPPEN, R. DUREN, S. HENSLEY, M. KOBICK, M. PALLER, E. RODRIGUEZ, L. ROTH, D. SEAL, S. SHAFFER, J. SHIMADA, J. UMLAND, M. WERNER, M. OSKIN, D. BURBANK & D. ALSDORF. 2007. The Shuttle Radar Topography Mission. Reviews of Geophysics 45(2): RG2004.
- FELFILI, M. C., & J. M. FELFILI. 2001. Diversidade alfa e beta no Cerrado *sensu stricto* da Chapada Pratinha, Brasil. Acta Botanica Brasiliensis 15(2): 243-254.
- FIGUEROA, J. A., S. A. CASTRO, P. A. MARQUET & F. M. JAKSIC. 2004. Exotic plant invasions to the mediterranean region of Chile: Causes, history and impacts. Revista Chilena de Historia Natural 77(3): 465-483.
- GAJARDO, R. 1994. La Vegetación Natural de Chile: Clasificación y Distribución Geográfica. Editorial Universitaria, Santiago de Chile, Chile. 165.
- GARCÍA, N., & C. ORMAZABAL. 2008. Arboles Nativos de Chile. Enersis S.A., Santiago de Chile. 196.
- GÓMEZ, P., R. O. BUSTAMANTE, J. SAN MARTÍN & S. HAHN. 2011. Estructura poblacional de *Pinus radiata* D. Don en fragmentos de Bosque Maulino en Chile central. Gayana Botánica 68(1): 97-101.
- HAMMER, Ø., D. A. T. HARPER & P. D. RYAN. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica 4(1): 1-9.
- HARPER, K. A., S. E. MACDONALD, P. J. BURTON, J. CHEN, K. D. BROSOFSKE, S. C. SAUNDERS, E. S. EUSKIRCHEN, D. ROBERTS, M. S. JAITEH & P.-A. ESSEEN. 2005. Edge influence on forest structure and composition in fragmented landscapes. Conservation Biology 19(3): 768-782.
- HECHENLEITNER, P., M. F. GARDNER, P. I. THOMAS, C. ECHEVERRÍA, B. ESCOBAR, P. BROWNLESS & C. MARTÍNEZ. 2005. Plantas Amenazadas del Centro-Sur de Chile: Distribución, Conservación y Propagación. Universidad Austral de Chile y Real Jardín Botánico de Edinburgo, Valdivia, Chile. 188.

- HIJMANS, R. J., S. E. CAMERON, J. L. PARRA, P. G. JONES & A. JARVIS. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. International Journal of Climatology 25(15): 1965-1978.
- HOBBS, R. J., & L. F. HUENNEKE. 1992. Disturbance, diversity, and invasion: Implications for conservation. Conservation Biology 6(3): 324-337.
- HOISS, B., J. KRAUSS, S. G. POTTS, S. ROBERTS & I. STEFFAN-DEWENTER. 2012. Altitude acts as an environmental filter on phylogenetic composition, traits and diversity in bee communities. Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences 279(1746): 4447-4456.
- JORQUERA-JARAMILLO, C. 2008. Agricultura y flora nativa en la Región de Atacama: ¿Es posible producir y conservar? in F. A. SQUEO, G. ARANCIO & J. R. GUTIÉRREZ (eds.), Libro Rojo de la Flora Nativa y de los Sitios Prioritarios para su Conservación: Región de Atacama, 305-322. Ediciones Universidad de La Serena, La Serena, Chile,
- KEELEY, J. E., W. J. BOND, R. A. BRADSTOCK, J. G. PAUSAS & P. W. RUNDEL. 2012. Fire in Mediterranean Ecosystems: Ecology, Evolution and Management. Cambridge University Press, Cambridge, UK
- KENSIL, C. R., U. PATEL, M. LENNICK & D. MARCIANI. 1991. Separation and characterization of saponins with adjuvant activity from *Quillaja saponaria* Molina cortex. The Journal of Immunology 146(2): 431-437.
- LAVOREL, S., J. CANADELL, S. RAMBAL & J. TERRADAS. 1998. Mediterranean terrestrial ecosystems: Research priorities on global change effects. Global Ecology and Biogeography Letters 7(3): 157-166.
- LUEBERT, F., & P. PLISCOFF. 2004. Clasificación de Pisos de Vegetación y Análisis de Representatividad Ecológica de Áreas Propuestas para la Protección en la Ecorregión. WWF Chile, Programa Ecoregión Valdiviana, Valdivia, Chile. iii + 175.
- MACHAC, A., M. JANDA, R. R. DUNN & N. J. SANDERS. 2011. Elevational gradients in phylogenetic structure of ant communities reveal the interplay of biotic and abiotic constraints on diversity. Ecography 34(3): 364-371.

- MARTICORENA, C., & M. QUEZADA. 1985. Catálogo de la flora vascular de Chile. *Gayana Botánica* 42(1-2): 5-157.
- MATESANZ, S., & F. VALLADARES. 2014. Ecological and evolutionary responses of Mediterranean plants to global change. *Environmental and Experimental Botany* 103(0): 53-67.
- MERCADO-MANCERA, G., E. TROYO-DIÉGUEZ, A. AGUIRRE-GÓMEZ, B. MURILLO-AMADOR, L. F. BELTRÁN-MORALES & J. L. GARCÍA-HERNÁNDEZ. 2010. Calibración y aplicación del índice de aridez de De Martonne para el análisis del déficit hídrico como estimador de la aridez y desertificación en zona áridas. *Universidad y ciencia* 26(1): 51-64.
- MITTERMEIER, R. A., N. MYERS, J. B. THOMSEN, G. A. B. DA FONSECA & S. OLIVIERI. 1998. Biodiversity hotspots and major tropical wilderness areas: Approaches to setting conservation priorities. *Conservation Biology* 12(3): 516-520.
- MONTENEGRO, G., M. GÓMEZ, G. CASAUBON, A. BELANCIC, A. M. MUJICA & R. C. PEÑA. 2009a. Analysis of volatile compounds in three unifloral native Chilean honeys. *Phyton (Buenos Aires)* 78(1): 61-65.
- MONTENEGRO, G., M. GÓMEZ, R. PIZARRO, G. CASAUBON & R. C. PEÑA. 2008. Implementación de un panel sensorial para mieles chilenas. *Ciencia e Investigación Agraria* 35(1): 51-58.
- MONTENEGRO, G., R. PIZARRO, G. AVILA, R. CASTRO, C. RIOS, O. MUÑOZ & F. BAS. 2003. Origen botánico y propiedades químicas de las mieles de la región mediterránea árida de Chile. *Ciencia e Investigación Agraria* 30(3): 161-174.
- MONTENEGRO, G., F. SALAS, R. C. PEÑA & R. PIZARRO. 2009b. Actividad antibacteriana y antifúngica de mieles monoflorales de *Quillaja saponaria*, especie endémica de Chile. *Phyton (Buenos Aires)* 78(2): 141-146.
- MOREIRA-MUÑOZ, A. 2011. *Plant Geography of Chile*. Springer Dordrecht Heidelberg, London, UK and New York, USA.xxii + 346.
- MUELLER-DOMBOIS, D., & H. ELLENBERG. 1974. *Aims and Methods of Vegetation Ecology*. John Wiley & Sons, New York, U.S.A.547.
- MYERS, N., R. A. MITTERMEIER, C. G. MITTERMEIER, G. A. B. DA FONSECA & J. KENT. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403(6772): 853-858.

- PODANI, J., & I. MIKLÓS. 2002. Resemblance coefficients and the horseshoe effect in Principal Coordinates Analysis. *Ecology* 83(12): 3331-3343.
- PREHN, D., C. SERRANO, C. G. BERRIOS & P. ARCE-JOHNSON. 2003. Micropopagation de *Quillaja saponaria* Mol. a partir de semillas. *Bosque (Valdivia)* 24(2): 3-12.
- QIAN, H., Y. ZHANG, J. ZHANG & X. WANG. 2013. Latitudinal gradients in phylogenetic relatedness of angiosperm trees in North America. *Global Ecology and Biogeography* 22(11): 1183-1191.
- RODRÍGUEZ, E., C. S. MORRIS, J. E. BELZ, E. C. CHAPIN, J. M. MARTIN, W. DAFFER & S. HENSLEY. 2005. An Assessment of the SRTM Topographic Products. Jet Propulsion Laboratory, NASA, Pasadena, California, USA.143.
- SAN MARTÍN, R., & R. BRIONES. 1999. Industrial uses and sustainable supply of *Quillaja saponaria* (Rosaceae) saponins. *Economic Botany* 53(3): 302-311.
- SQUEO, F. A., R. A. ESTÉVEZ, A. STOLL, C. F. GAYMER, L. LETELIER & L. SIERRALTA. 2012. Towards the creation of an integrated system of protected areas in Chile: Achievements and challenges. *Plant Ecology & Diversity* 5(2): 233-243.
- SQUEO, F. A., L. LETELIER, C. F. GAYMER, A. STOLL, C. SMITH-RAMÍREZ, S. MIETHKE, G. CUNDILL, S. L'HERMITTE, P. A. MARQUET, H. A. SAMANIEGO, P. C. GUERRERO, G. ARANCIO, A. MARTICORENA, D. LÓPEZ & K. P. MARTÍNEZ-TILLERÍA. 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.
- TANG, C. Q. 2006. Evergreen sclerophyllous *Quercus* forests in northwestern Yunnan, China as compared to the Mediterranean evergreen *Quercus* forests in California, USA and northeastern Spain. *Web Ecology* 6(1): 88-101.
- THE ANGIOSPERM PHYLOGENY, G. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161(2): 105-121.
- VAMOSI, S. M., S. B. HEARD, J. C. VAMOSI & C. O. WEBB. 2009. Emerging patterns in the comparative analysis of phylogenetic community structure. *Molecular Ecology* 18(4): 572-592.

- WANG, Q., & H. TAKAHASHI. 1999. A land surface water deficit model for an arid and semiarid region: Impact of desertification on the water deficit status in the Loess Plateau, China. *Journal of Climate* 12(1): 244-257.
- WEBB, C. O., D. D. ACKERLY & S. W. KEMBEL. 2008. Phylocom: Software for the analysis of phylogenetic community structure and trait evolution. *Bioinformatics* 24(18): 2098-2100.
- WEBB, C. O., D. D. ACKERLY, M. A. MCPEEK & M. J. DONOGHUE. 2002. Phylogenies and community ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33(1): 475-505.
- WIKSTRÖM, N., V. SAVOLAINEN & M. W. CHASE. 2001. Evolution of the angiosperms: Calibrating the family tree. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 268(1482): 2211-2220.
- ZULOAGA, F. O., O. MORRONE & M. J. BELGRANO. 2008. *Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur*. Ediciones Missouri Botanical Garden, St. Louis, Missouri.3888.

Table I. Geographical and climatic information for the 39 sampled sites of *Q. saponaria*. The order of localities follows the North - South orientation of the States and within each State the sites are listed in alphabetical order.

Tabla I. Información geográfica y climática para los 39 sitios muestreados de *Q. saponaria*. El orden de las localidades sigue la orientación Norte - Sur de las Regiones y dentro de cada Región los sitios se enumeran en orden alfabético.

State	Site	Site code	Geographical Coordinates (Lat. S / Long. W)	Vegetation Matrix ¹	Altitude ² (m a.s.l.)	Annual Precipitation ³ (mm)	Annual Mean Temperature ³ (°C)	De Martonne aridity index (AI)
Región de Coquimbo (Coquimbo Region)	Angostura	AN	31°27'00" / 71°31'32"	AU	341	186	15.2	7.4
	Chillepin	Ch	31°52'01" / 70°49'34"	NF	749	233	14.7	9.4
	Cuesta El Espino	CE	31°21'28" / 71°05'26"	NF	1,413	211	10.2	10.4
	Cuesta Los Cristales	CC		NF			14.4	
	Santa Cristina	SC	30°32'02" / 71°26'41"	CF	200	120	15.6	4.7
Región de Valparaíso (Valparaíso Region)	Casablanca	Ca	33°24'35" / 71°31'02"	AU	226	545	15.2	21.6
	Cuesta La Dormida	LD		AU			13.2	
	Los Patos	LP	32°31'08" / 70°38'19"	AU	1,205	296	15.0	11.8
	Santa Marta	SM	32°19'07" / 71°11'35"	AU	200	273	17.6	9.9
	Tabolango	Tb	32°56'52" / 71°20'33"	AU	213	446	14.2	18.4
Región Metropolitana de Santiago (Metropolitan Region of Santiago)	Camino a La Disputada	Dp		NF			10.7	24.7
	Cuesta Chacabuco	CCH	33°20'15" / 70°21'54"		1,642	511		
	San José de Maipo	SJ	32°59'06" / 70°42'40"		995	314		12.9
			33°40'22" / 70°20'45"	AU			11.9	
					1,157	658		30.0

State	Site	Site code	Geographical Coordinates (Lat. S / Long. W)	Vegetation Matrix ¹	Altitude ² (m a.s.l.)	Annual Precipitation ³ (mm)	Annual Mean Temperature ³ (°C)	De Martonne aridity index (AI)
Región de O'Higgins (O'Higgins Region)	Chorro de la Vieja	CV	34°53'05" / 70°32'16"	NF	1,283	989	10.0	49.5
	Coya	Cu	34°12'19" / 70°36'33"	NF	904	796	12.2	35.9
	Cuesta San Vicente	SV		NF			15.9	
	Fundo La Rosa	LR	34°19'10" / 71°14'28"	NF	390	519	16.3	19.7
	La Gatera	LG	34°49'12" / 70°56'03"	AU	449	903	13.6	38.3
	Los Maitenes	LM	34°20'05" / 71°33'33"	AU	189	614	15.9	23.7
	Rinconada de Navarro	RN		AU			13.7	35.0
	Sector Molineros	Mo	34°30'18" / 71°36'34"	NF	343	708	14.2	29.2
	Túnel Angostura	TA	33°55'12" / 70°43'09"	AU	598	519	15.4	20.4
Región del Maule (Maule Region)	Astillero	AS	35°21'48" / 71°15'48"	AU	303	923	13.4	39.4
	Camino a Cerro Gupo	Gu		AU			12.6	
	Cuesta Batuco	Bt	35°17'46" / 71°58'14"	CF	267	924	13.0	40.2
	El Colorado	EC	35°38'53" / 71°15'12"	NF	473	1,072	12.4	47.9
	El Morro	Mr	35°27'33" / 71°53'25"	NF	258	855	14.5	34.9
	Fundo El Peral	EP	35°25'10" / 71°49'40"	AU	81	832	14.3	34.2
	Potrero Grande	PG	35°12'51" / 71°03'41"	NF	491	973	12.4	43.4
	Risco Afuera	RA	35°24'42" / 72°05'56"	CF	245	1,021	13.0	44.4
	Tregualemu	Tg	35°57'25" / 72°44'48"	CF	10	816	13.6	34.6

State	Site	Site code	Geographical Coordinates (Lat. S / Long. W)	Vegetation Matrix ¹	Altitude ² (m a.s.l.)	Annual Precipitation ³ (mm)	Annual Mean Temperature ³ (°C)	De Martonne aridity index (AI)
Región del Bío-Bío (Bío-Bío Region)	Vuelta El Horno	EH	35°59'07" / 71°28'01"	NF	439	1,200	13.2	51.7
	Zapallar	Zp	35°02'48" / 71°07'26"	NF	288	845	13.6	35.8
	Cuesta Tomeco	CT	36°58'29" / 72°39'18"	AU	205	1,301	12.4	58.1
	La Invernada	LI	36°52'11" / 71°37'20"	NF	808	1,371	9.7	69.6
	San Fabián de Alico	FA		CF			11.9	
	Santa Bárbara	SB	37°36'37" / 72°07'42"	AU	200	1,357	12.8	59.5
	Trehuaco	Tr	36°23'56" / 72°38'44"	CF	143	1,070	13.5	45.5
	Villa Mercedes	VM	37°22'08" / 71°52'33"	CF	406	1,374	11.3	64.5

¹ Type of vegetation matrix: Agricultural Use (AU), Commercial Forest (CF) and Native Forest (NF).

² The values of altitude (m a.s.l.) were extracted from "Shuttle Radar Topography Mission" (Rodríguez et al. 2005, Farr et al. 2007).

³ The values of Annual Precipitation (mm) and Annual Mean Temperature (°C) extracted from Worldclim (Hijmans et al. 2005).

¹ Tipo de matriz vegetacional: Uso Agrícola (AU), Plantación Forestal (CF) y Bosque Nativo (NF).

² Los valores de altitud (msnm) fueron obtenidos del "Shuttle Radar Topography Mission" (Rodríguez et al. 2005, Farr et al. 2007).

³ Los valores de precipitación anual (mm) y temperatura media anual (°C) fueron extraídos de Worldclim (Hijmans et al. 2005).

Table II. Composition, growth habit, number of sites where each species was collected and origin of woody species associated with the sites of *Q. saponaria*. Growth habit and origin were extracted from Zuloaga et al. (2008).

Tabla II. Listado de especies, hábito de crecimiento, número de sitios donde se encontró y origen de las especies leñosas asociadas con los sitios de *Q. saponaria*. Hábito de crecimiento y origen se extrajeron de Zuloaga et al. (2008).

DIVISION	CLASS	Growth habit	Number of sites	Origin
Family	Species			
GNETOPHYTA GNETOSIDA				
Ephedraceae	<i>Ephedra chilensis</i> C. Presl	Shrub	2	Native
PINOPHYTA PINOSIDA				
	<i>Austrocedrus chilensis</i> (D. Don) Pic.Serm. &		1	
Cupressaceae	Bizzarri	Tree		Native
Pinaceae	<i>Pinus radiata</i> D.Don	Tree	3	Adventitious
Podocarpaceae	<i>Saxegothaea conspicua</i> Lindl.	Tree	1	Native
MAGNOLIOPHYTA MAGNOLIOPSIDA				
Anacardiaceae	<i>Lithrea caustica</i> (Molina) Hook. & Arn.	Tree	21	Endemic
	<i>Schinus areira</i> L.	Tree	2	Native
	<i>Schinus polygamus</i> (Cav.) Cabrera var. <i>polygamus</i>	Shrub	8	Native
Asteraceae	<i>Baccharis linearis</i> (Ruiz & Pav.) Pers. ssp. <i>linearis</i>	Shrub	17	Native
	<i>Flourensia thurifera</i> (Molina) DC.	Shrub	1	Endemic
	<i>Haplopappus canescens</i> (Phil.) Reiche	Shrub	3	Endemic
	<i>Haplopappus taeda</i> Reiche	Shrub	1	Endemic
	<i>Haplopappus velutinus</i> J. Remy	Shrub	2	Native
	<i>Proustia cuneifolia</i> D. Don var. <i>cuneifolia</i>	Shrub	1	Native
	<i>Tessaria absinthioides</i> (Hook. & Arn.) DC.	Shrub	1	Native
Berberidaceae	<i>Berberis actinacantha</i> Mart.	Shrub	1	Endemic
	<i>Berberis chilensis</i> Gillies ex Hook. & Arn. var.		4	
	<i>chilensis</i>	Shrub		Endemic
Buddlejaceae	<i>Buddleja globosa</i> Hope	Shrub	2	Native
Cactaceae	<i>Trichocereus chiloensis</i> (Colla) Britton & Rose ssp. <i>chiloensis</i>	Shrub	6	Endemic
Calceolariaceae	<i>Calceolaria dentata</i> Ruiz & Pav. ssp. <i>dentata</i>	Shrub	1	Native
Campanulaceae	<i>Lobelia excelsa</i> Bonpl.	Shrub	4	Endemic
	<i>Lobelia tupa</i> L.	Shrub	3	Endemic

DIVISION	CLASS	Growth habit	Number of sites	Origin
Family	Species			
Celastraceae	<i>Maytenus boaria</i> Molina	Tree	7	Native
Elaeocarpaceae	<i>Aristotelia chilensis</i> (Molina) Stuntz	Shrub	11	Native
Ericaceae	<i>Gaultheria angustifolia</i> (Lindl.) Teillier	Shrub	1	Native
Fabaceae	<i>Acacia caven</i> (Molina) Molina	Tree	21	Native
	<i>Acacia dealbata</i> Link	Tree	2	Adventitious
	<i>Adesmia argentea</i> Meyen	Shrub	4	Endemic
	<i>Genista monspessulana</i> (L.) L.A.S. Johnson	Shrub	3	Adventitious
	<i>Geoffroea decorticans</i> (Gillies ex Hook. & Arn.) Burkart	Tree	1	Native
	<i>Otholobium glandulosum</i> (L.) J.W. Grimes	Tree	2	Endemic
	<i>Prosopis chilensis</i> (Molina) Stuntz emend. Burkart var. <i>chilensis</i>	Tree	1	Native
	<i>Senna cumingii</i> (Hook. & Arn.) H.S. Irwin & Barneby var. <i>alcaparra</i> (Phil.) H.S. Irwin & Barneby	Shrub	1	Endemic
	<i>Senna cumingii</i> (Hook. & Arn.) H.S. Irwin & Barneby var. <i>cumingii</i>	Shrub	1	Endemic
	<i>Sophora macrocarpa</i> Sm.	Tree	2	Endemic
Lamiaceae	<i>Lepechinia chamaedryoides</i> (Balb.) Epling	Shrub	4	Endemic
Lauraceae	<i>Cryptocarya alba</i> (Molina) Looser	Tree	12	Endemic
	<i>Laurus nobilis</i> L.	Shrub	1	Adventitious
Monimiaceae	<i>Peumus boldus</i> Molina	Tree	21	Endemic
Myrtaceae	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Tree	1	Adventitious
	<i>Luma apiculata</i> (DC.) Burret	Shrub	4	Native
	<i>Luma chequen</i> (Molina) A. Gray	Shrub	4	Native
	<i>Ugni candollei</i> (Barnéoud) O. Berg	Shrub	1	Endemic
Nothofagaceae	<i>Nothofagus dombeyi</i> (Mirb.) Oerst.	Tree	3	Native
	<i>Nothofagus macrocarpa</i> (A. DC.) F.M. Vázquez & R. Rodr.	Tree	2	Endemic
	<i>Nothofagus obliqua</i> (Mirb.) Oerst. ssp. <i>obliqua</i>	Tree	1	Native
Onagraceae	<i>Fuchsia lycioides</i> Andrews	Shrub	1	Endemic
	<i>Fuchsia magellanica</i> Lam.	Shrub	1	Native
Polygonaceae	<i>Muehlenbeckia hastulata</i> (Sm.) I.M. Johnst. var. <i>hastulata</i>	Shrub	7	Native
Proteaceae	<i>Grevillea avellana</i> Molina	Tree	1	Native

DIVISION	CLASS	Growth habit	Number of sites	Origin
Family	Species			
	<i>Lomatia hirsuta</i> (Lam.) Diels ssp. <i>obliqua</i> (Ruiz & Pav.) R.T. Penn.	Tree	1	Native
Quillajaceae	<i>Quillaja saponaria</i> Molina	Tree	39	Endemic
Rhamnaceae	<i>Colletia spinosissima</i> J.F. Gmel.	Shrub	8	Native
	<i>Retanilla trinervia</i> (Gillies & Hook.) Hook. & Arn.	Shrub	9	Endemic
Rosaceae	<i>Kageneckia oblonga</i> Ruiz & Pav.	Tree	10	Endemic
Salicaceae	<i>Azara dentata</i> Ruiz & Pav.	Shrub	2	Endemic
	<i>Azara integrifolia</i> Ruiz & Pav.	Shrub	2	Endemic
Solanaceae	<i>Cestrum parqui</i> L'Hér.	Shrub	8	Native
	<i>Fabiana imbricata</i> Ruiz & Pav.	Shrub	2	Endemic
	<i>Solanum crispum</i> Ruiz & Pav.	Shrub	1	Native
Zygophyllaceae	<i>Porlieria chilensis</i> I.M. Johnst.	Tree	2	Endemic

Table III. Shannon-Wiener (H') and Simpson (D) indexes (alpha diversity), Number of species, Coordinates 1 & 2 of the PCoA and Indices of Phylogenetic Diversity: Mean Phylogenetic Distance (MPD), Mean Nearest Taxon Phylogenetic Distance (MNTD), Net Related Index (NRI) and Nearest Taxon Index (NTI) of sites of *Q. saponaria*. The names of sites are listed in Table I.

Tabla III. Índices de diversidad alfa de Shannon-Wiener (H') y Simpson (D), Número de especies, Coordenadas 1 y 2 de PCoA e Índices de Diversidad Filogenética: Distancia Filogenética Promedio (MPD), Distancia Filogenética Promedio al Taxón más cercano (MNTD), Índice de Relación Neta (NRI) y Índice del Taxón más cercano (NTI) de los sitios de *Q. saponaria*. Los nombres de los sitios están listados en la Tabla 1.

Site code	Shannon-Wiener (H')	Simpson (D)	Number of species	Coord 1	Coord 2	MPD	MNTD	NRI	NTI
AN	0.453	0.342	4	-0.101	-0.175	27.5	34.7	-0.04	-0.36
Ch	0.461	0.346	7	-0.014	-0.019	21.6	21.6	0.83	0.53
CE	0.716	0.208	10	-0.153	-0.242	21.8	13.8	1.64	1.69
CC	0.936	0.108	11	-0.166	0.076	27.5	14.7	1.43	1.71
SC	0.653	0.283	7	-0.108	-0.132	14.6	8.1	1.99	2.27
Ca	0.651	0.231	7	0.099	0.026	38.6	32.6	-0.88	-0.87
LD	0.503	0.379	7	-0.037	-0.171	22.4	23.7	0.59	0.29
LP	0.488	0.354	4	-0.249	0.165	16.9	19.2	1.08	1.00
SM	0.536	0.325	14	0.076	0.143	33.7	24.7	-0.18	-0.34
Tb	0.460	0.347	6	-0.247	0.067	16.7	17.4	1.37	1.10
Dp	0.613	0.264	8	-0.113	-0.230	23.6	20.3	0.92	0.69
CCH	0.439	0.368	3	-0.189	0.021	17.4	21.3	1.02	1.04
SJ	0.629	0.251	7	-0.177	-0.179	11.6	10.3	2.51	2.10
CV	0.598	0.291	5	-0.102	-0.116	15.9	20.4	1.18	0.94
Cu	0.604	0.303	9	0.119	-0.024	32.1	30.2	-0.34	-0.80
SV	0.703	0.238	8	0.150	-0.038	31.4	30.0	-0.01	-0.21
LR	0.652	0.240	12	0.187	-0.047	33.7	26.2	-0.17	-0.49
LG	0.531	0.318	8	0.048	-0.032	29.1	25.6	0.06	-0.06
LM	0.604	0.295	7	-0.107	0.358	30.9	25.9	-0.24	0.15
RN	0.472	0.337	9	0.002	0.137	30.6	25.8	-0.23	-0.19
Mo	0.540	0.307	9	0.166	-0.078	36.3	32.6	-0.79	-1.11
TA	0.538	0.308	6	-0.090	0.110	25.6	22.6	0.35	0.47
AS	0.528	0.318	4	-0.235	-0.007	16.7	17.6	-0.04	-0.36
Gu	0.567	0.319	9	-0.106	0.307	32.1	24.4	-0.33	0.02
Bt	0.741	0.200	13	0.190	-0.101	41.1	32.8	-1.04	-1.80
EC	0.761	0.193	9	0.169	-0.119	39.4	29.2	-0.84	-0.73
Mr	0.624	0.254	8	0.154	0.316	39.8	31.1	-1.06	-0.77
EP	0.350	0.513	6	-0.178	0.328	21.9	25.7	-0.13	0.13

	Shannon-	Simpson	Number of species	Coord 1	Coord 2	MPD	MNTD	NRI	NTI
Site code	Wiener (H')	(D)							
PG	0.815	0.153	11	0.224	-0.013	42.4	29.6	-1.07	-1.16
RA	0.394	0.578	8	-0.124	0.225	28.7	46.6	-2.15	-2.27
Tg	0.319	0.624	6	0.338	0.127	22.8	40.4	-1.31	-1.31
EH	0.528	0.318	4	0.184	0.049	39.2	40.8	-1.43	-0.91
Zp	0.419	0.419	10	0.266	0.044	35.9	34.7	-1.22	-1.34
CT	0.415	0.412	3	-0.033	-0.211	24.0	35.0	-0.08	-0.08
LI	0.410	0.425	10	-0.041	-0.107	15.8	16.1	1.35	1.02
FA	0.574	0.272	4	0.275	0.018	40.2	34.5	-1.19	-0.28
SB	0.279	0.523	3	-0.129	-0.135	26.0	30.9	-0.70	0.24
Tr	0.715	0.209	9	0.092	-0.021	31.8	22.1	0.20	0.42
VM	0.554	0.293	5	-0.040	-0.228	27.0	22.1	0.20	0.42
Average	0.558	0.320	7.4			27.8	26.1	0.07	0.05
Standard									
Deviation	0.139	0.108	2.8			8.52	8.37	1.07	1.05
Maximum									
value	0.936	0.624	14			42.4	46.6	2.51	2.27
Minimal									
value	0.279	0.108	3			11.6	8.1	-2.15	-2.27

Table IV. Results of the multiple regression analysis of the Number of species, Shannon-Wiener (H') and Simpson (D) indices (alpha diversity), Coordinates 1 & 2 of the PCoA and Indices of Phylogenetic Diversity (MPD, MNTD, NRI and NTI), on spatial and climate variables of *Q. saponaria* sites. Values in boldface are significant ($P < 0.05$).

Tabla IV. Resultados del análisis de regresión múltiple para el número de especies, índices de diversidad alfa de Shannon-Wiener (H') y Simpson (D), coordenadas 1 y 2 del PCoA y de los índices de diversidad filogenética (MPD, MNTD, NRI y NTI), respecto de variables espaciales y climáticas de los sitios de *Q. saponaria*. Valores en negritas son significativos ($P < 0.05$).

	Estimate	Standard Error	t	P (P Model) ¹
<i>Number of species</i>				(0.0792)
Intercept	7.5788	0.4411	17.18	< 0.0001
Forestry Matrix (Agricultural Use ≠ Commercial Forest and Native Forest)	-0.7962	0.4411	-1.81	0.0792
<i>Shannon-Wiener</i>				(0.0120)
Intercept	1.3745	0.3998	3.44	0.0015
Forestry Matrix (Native Forest ≠ Agricultural Use and Commercial Forest)	-0.0527	0.0206	3.44	0.0147
Latitude	-0.0240	0.0116	2.07	0.0460
<i>Simpson</i>				(0.0284)
Intercept	-3.3499	2.0987	-1.60	0.1192
Forestry Matrix (Commercial Forest ≠ Native Forest and Agricultural Use)	-0.0244	0.0177	-1.38	0.1768
Longitude	-0.0513	0.0294	-1.75	0.0894
<i>Coord 1</i>				(< 0.0001)
Intercept	5.6820	3.8405	1.48	0.1482
Forestry Matrix (Commercial Forest ≠ Native Forest and Agricultural Use)	-0.0930	0.0208	-4.46	< 0.0001
Latitude	-0.0253	0.0155	-1.86	0.0709
Longitude	0.0902	0.0560	1.61	0.1161
Altitude	-0.0002	7.673e-5	-3.21	0.0029
<i>Coord 2</i>				(0.0017)
Latitude	-1.8028	0.5913	-3.05	0.0043
Annual Mean Temperature	0.0538	0.0140	3.84	0.0005
<i>MPD</i>				(0.0025)

	Estimate	Standard Error	t	P (P Model) ¹
Intercept	33.8793	1.9839	17.08	< 0.0001
Forestry Matrix (Agricultural Use)	-3.2293	1.6356	-1.97	0.0563
Forestry Matrix (Commercial Forest)	-1.3775	2.1445	-0.64	0.5248
Altitude	-0.0124	0.0033	-3.75	0.0006
<i>MNTD</i>				(0.0011)
Intercept	-269.6311	152.7879	-1.94	0.0603
Latitude	-2.2294	0.9043	-2.47	0.0187
Longitude	-3.2278	2.4258	-1.33	0.1919
Annual Mean Temperature	1.1460	0.7469	1.53	0.1339
<i>NRI</i>				(0.0002)
Intercept	12.5820	5.8710	2.14	0.0396
Forestry Matrix (Agricultural Use)	0.3458	0.1920	1.80	0.0809
Forestry Matrix (Commercial Forest)	-0.0714	0.2546	-0.28	0.7809
Latitude	0.3119	0.1202	2.59	0.0141
Annual Mean Temperature	-0.1638	0.1355	-1.21	0.2353
Altitude	0.0008	0.0006	1.34	0.1902
<i>NTI</i>				(0.0021)
Intercept	4.9827	3.0793	1.62	0.1149
Forestry Matrix (Agricultural Use)	0.3170	0.1990	1.59	0.1204
Forestry Matrix (Commercial Forest)	0.0190	0.2595	0.07	0.9419
Latitude	0.1618	0.0869	1.86	0.0714
Altitude	0.0013	0.0004	2.99	0.0051

¹ Value of P, of the model (Standard Least Squares) produced after the multiple regression analysis.

¹ Valor de P, del modelo (Estándar de Mínimos Cuadrados) realizado *a posteriori* del análisis de regresión múltiple.

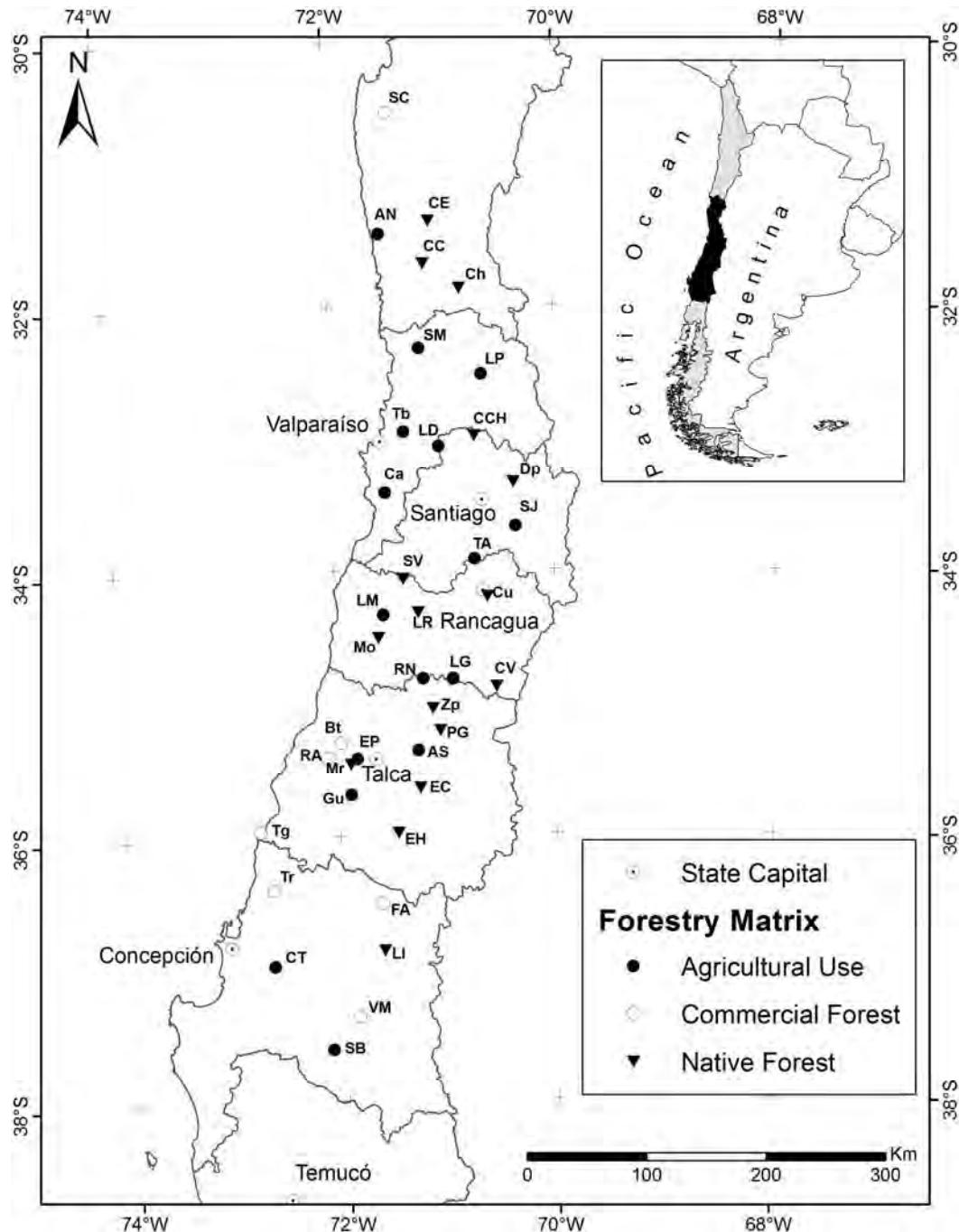


Figure 1: Location of the sampled sites. Different symbols indicate the type of vegetation matrix adjacent to each site. The name codes are listed in Table I.

Figura 1: Localización de los sitios muestreados. Diferentes símbolos indican el tipo de matriz de la vegetación adyacente a cada sitio. Los códigos de nombres se enumeran en la Tabla I.

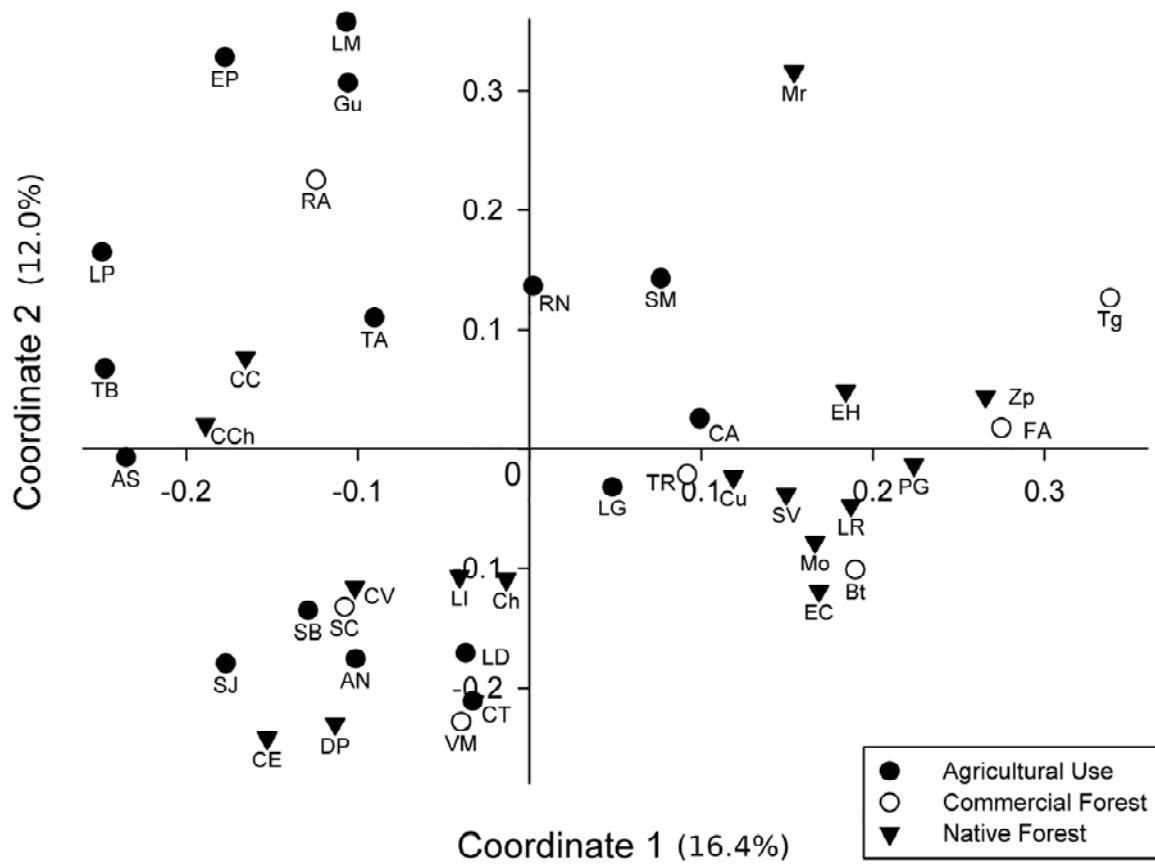


Figure 2: Principal Coordinates Analysis based on the Bray-Curtis similarity index among sampled sites. In parentheses the percentage of explained variance is shown for each of the coordinate axes.

Figura 2: Análisis de Coordenadas Principales basado en el índice de similitud de Bray-Curtis de los sitios. En paréntesis aparece el porcentaje de la varianza que es explicado por cada eje de coordenadas.

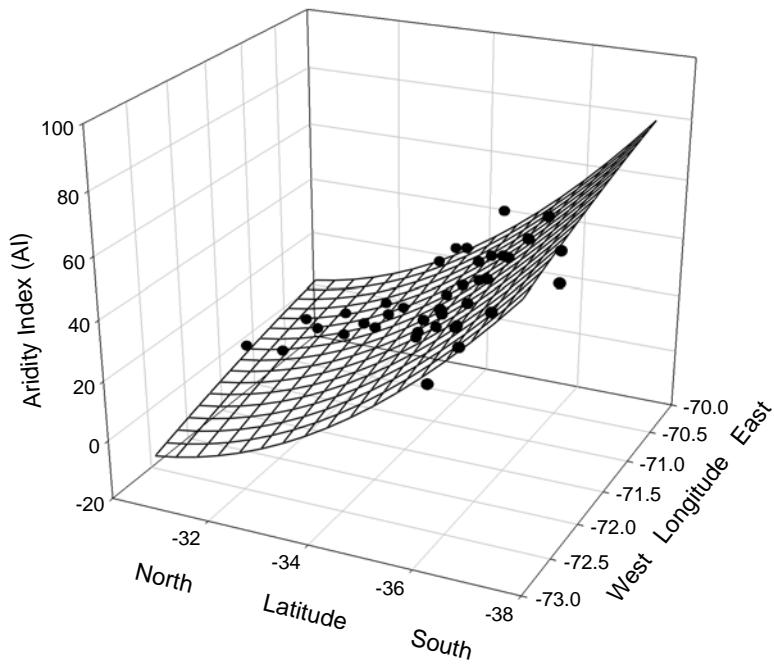


Figure 3: Correlation between the De Martonne aridity index (AI) with latitude and longitude.
Figura 3: Correlación entre el índice de aridez de De Martonne (AI) versus Latitud y Longitud.

Portafolio de Conservación del Bosque Esclerófilo de Chile central: Una mirada desde el uso de Modelos de Nicho Climático y Análisis de Vacíos y Omisiones de Conservación

INTRODUCCIÓN

El bosque esclerófilo de Chile central corresponde a una de las principales comunidades boscosas de Chile (Hechenleitner *et al.* 2005). Comunitariamente esta compuesta entre otros elementos arboreos por *Acacia caven* (Espino), *Prosopis chilensis* (Algarrobo), *Cryptocarya alba* (Peumo), *Lithrea caustica* (Litre), *Maytenus boaria* (Maitén), *Peumus boldus* (Boldo), *Schinus molle* (Molle), *Kageneckia oblonga* (Bollén), *Beilschmiedia berteroana* y *B. miersii* (Belloto del Sur y del Norte, respectivamente), *Quillaja saponaria* (Quillay) y *Crinodendron patagua* (Patagua) (Hechenleitner *et al.* 2005). No obstante, la importancia ecológica y social que presenta el bosque esclerófilo, se ha observado una reducción de la comunidad y de las especies que la forman, valiendo esto para que se definiera como hotspot.

Los hotspot o “puntos calientes” de biodiversidad se definen como regiones que contienen concentraciones excepcionales de especies nativas pero están experimentando rápidas pérdidas de su hábitat natural. Actualmente se conocen mundialmente 34 hotspots (Mittermeier *et al.* 2004), nueve de los cuales se encuentran en el continente Americano. Uno de los 2 hotspot chilenos es el llamado “Chilean winter rainfall-Valdivian forests”, ubicado principalmente en Chile central (Arroyo *et al.* 2004).

Este hotspot, de Norte a Sur, incluye los desiertos de lluvia de invierno del Norte Chico hasta Paposo, la flora altoandina que se desarrolla por sobre la línea arbórea o su equivalente fitogeográfico en la Cordillera de los Andes, el bosque esclerófilo y matorrales del área de clima mediterráneo de Chile central, los bosques deciduos dominados por varias especies del género *Nothofagus* (conocidas como Coigüe, Hualo, Lenga, Roble, Ruil) y los bosques lluviosos tipos Norpatagónico y Valdiviano (Hoffmann *et al.* 1998). Las principales causas que explican esta disminución son entre otras, estar inserto en la principal área productiva del país y por ende, con la mayor tasa de transformación del bosque nativo hacia plantaciones forestales o agrícolas y con los mayores índices demográficos del país, se vislumbra un futuro poco prometedor no solo para los bosques esclerófilos sino para todas las formaciones vegetales que aquí

se desarrollan, esto debido en parte a la necesidad de expansión de las ciudades sino también por los modelos de cambio climático, que muestran una desplazamiento de la zonas áridas típicas del Norte Chico hasta las intermediaciones de Santiago o quizás un poco más al Sur (CONAMA 2006).

Se pretende evaluar estos efectos, tanto con la realización de un Análisis de Vacíos y Omisiones de Conservación (o análisis GAP por sus siglas en inglés), como con la elaboración de modelos actuales y proyecciones al futuro del nicho climático para las especies arbóreas endémicas a Chile y que en su conjunto, definen el bosque esclerófilo de Chile central.

MATERIALES Y MÉTODOS

ANÁLISIS DE VACÍOS Y OMISIONES DE CONSERVACIÓN

Se realizó un análisis de Vacíos y Omisiones de Conservación, usando como punto de comparación y metodología los resultados obtenidos por Squeo y colaboradores (2010). Utilizando como aproximación para realizar el análisis GAP, las formaciones vegetacionales de Gajardo (1994) y las unidades del Sistema Nacional de Áreas Silvestres Protegidas por el Estado (SNASPE) de Chile, como unidad básica para la conservación.

MODELAMIENTO DE NICHO ECOLÓGICO CLIMÁTICO

Se evaluó el nicho climático de 8 especies arbóreas endémicas de Chile (i.e., *Beilschmiedia berteroana*, *B. miersii*, *Crinodendron patagua*, *Cryptocarya alba*, *Kageneckia oblonga*, *Lithraea caustica*, *Peumus boldus* y *Quillaja saponaria*) formadoras del bosque esclerófilo de Chile central; con un total de registros para cada especie de 29, 12, 62, 600, 88, 1342, 1638 y 625, respectivamente.

Se utilizó el algoritmo de Máxima Entropía (MAXENT 3.3.3e, Phillips *et al.* 2006) para generar los modelos de nicho climático de las respectivas especies, con los datos de presencia obtenidos de los herbarios CONC, SGO, ULS, Herbario de la Universidad de Talca, además de las bases de datos electrónicas de GBIF y Tropicos y en aquellas especies donde el número de registros era reducido, se extrajeron registros provenientes del Catastro Vegetacional de la CONAF (Figura 1). La discriminación del aporte de cada variable se realizó mediante el uso de la prueba de Jackknife y cada modelo se replicó 50 veces, lo que da para el caso de los modelos de nicho

actuales tuvieran 100 replicas y las proyecciones al futuro un total de 50 replicas cada uno (i.e., CCCMA-CGCM31 y CSIRO-Mk30).

Las variables de entrada para elaborar los modelos de nicho climático fueron las provenientes de WORLDCLIM 1.3 Bioclim Variables (Graham *et al.* 2010; Hijmans *et al.* 2005; Letelier *et al.* 2011; Peterson & Nakazawa 2008; Sanchez *et al.* 2010), trabajándose las proyecciones futuras con los modelos CCCMA-CGCM31 y CSIRO-Mk30, ambos en el escenario A1b para 2080, los que corresponden a modelos donde se asume que el uso de las diferentes fuentes de combustible sera equilibrada. Obteniéndose como resultados mapas de cada una de las especies con la probabilidad de ocurrencia actual y futura (Escenario A1B para el año 2080).

PORAFOLIO DE CONSERVACIÓN DEL BOSQUE ESCLERÓFILO

Para la definición de Sitios Prioritarios de Conservación del bosque esclerófilo, se procedió a utilizar el programa MARXAN 2.1.1 (Ball *et al.* 2009) como herramienta de apoyo a las decisiones. Los objetos de conservación fueron las 8 especies antes mencionadas, con las metas explicitas de conservación de 75% del área que arrojo el modelo de nicho para *Beilschmiedia berteroana* (especie declarada En Peligro), un 50% del area que arrojo el modelo de nicho para *B. miersii* (especie Vulnerable) y un 10% del area que arrojaron los respectivos modelos de nicho para las demás especies, pues no cuentan con clasificación del estado de conservación oficialmente reconocida por el Estado de Chile, para todo el territorio. El costo de conservación y las unidades de planificación fueron las mismas de Squeo y colaboradores (2010). Se definieron 2 escenarios, para la definición de sitios prioritarios, el primero no consideró áreas sugeridas u obligadas en la definición de sitios prioritarios y el segundo escenario, consideró las actuales áreas del SNASPE como obligadas en la solución del sitios prioritarios y como sugeridos los Sitios Prioritarios de CONAMA (2003).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ANÁLISIS GAP DEL BOSQUE ESCLERÓFILO

Squeo y colabordores (2010) realizaron un estudio de Vacíos y Omisiones de Conservación (Análisis GAP) para Chile territorial y marino, este estudio arrojó serios problemas de representatividad de las eco-regiones terrestres y marinas en el Sistema de Áreas Protegidas

actualmente presentes en Chile. Los resultados de este análisis, para el caso de las Formaciones Vegetacionales de Gajardo (1994) se muestran en el cuadro I. Donde se aprecia que ninguna de las formaciones logra cumplir con la meta de proteger el 10% de la superficie del ecosistema o formación en cuestión.

Destaca que tanto el Matorral Espinoso de la Cordillera de la Costa y el Matorral Espinoso del Secano Interior, no están representados dentro del SNASPE; así como tampoco lo está el Bosque Esclerófilo de los Arenales y el Bosque Esclerófilo Montano, estos últimos, hábitat del Belloto del Norte (*Beilschmiedia miersii* (Gay) Kosterm.) y el Belloto del Sur (*Beilschmiedia berteroana* (Gay) Kosterm.), ambos elementos relictos de la familia Lauraceae, con serios problemas de conservación por intervención antrópica que han reducido los hábitats de dichas especies (Ramírez *et al.* 2004).

Si bien es cierto, las definiciones de formaciones vegetales de Gajardo (1994) corresponden a hábitat potencial, nos permiten entender y dimensionar la pérdida de hábitat que ha sufrido Chile desde la llegada de los españoles. Un ejemplo de cuantificación del efecto antrópico sobre las especies vegetales, es el trabajo realizado por Estévez y colaboradores. (2010), quienes estimaron para el año 2007 una producción total de carbón vegetal de 281 toneladas para la provincia de Huasco (Región de Atacama, Chile), lo que equivale a una extracción anual de arbustos en un área de entre 573 y 1,112 hectáreas. Siendo las principales especies utilizadas: *Fabiana imbricata* Ruiz & Pav. (Solanaceae), *Balsamocarpon brevifolium* Clos (Fabaceae) y *Adesmia hystrix* Phil. (Fabaceae); y si bien 1,112 hectáreas, en el caso más extremo de los datos estimados por los autores, puede ser un número bajo si se considera que dicha región posee una superficie de alrededor de 75,000 km², para el desierto corresponde a una cifra no despreciable.

Entonces, ¿Cuál sería el efecto real sobre el estado de conservación del bosque esclerófilo y de las especies que lo forman?. Gómez y colaboradores (2011) mencionan el efecto que las

plantaciones de *Pinus radiata* D.Don¹ están teniendo sobre los fragmentos de Bosque Maulino, mostrando que existen individuos jóvenes y adultos reproductivos dentro de los fragmentos de bosque nativo, transformándose en una amenaza al mantenimiento de las comunidades nativas de especies. En un sentido opuesto al reportado por Gómez y colaboradores (2011), Fuentes-Ramírez y colaboradores (2011) reportan un efecto positivo de la especie alóctona *Acacia dealbata* Link, al permitir, según los autores, el reclutamiento de *Cryptocarya alba* (Molina) Looser, especie endémica de Chile y formadora principal del bosque esclerófilo; favoreciendo la recuperación de zonas antropizadas hacia comunidades de bosque esclerófilo.

ANÁLISIS HISTÓRICO DE LA PÉRDIDA DEL BOSQUE ESCLERÓFILO

Para entender las dinámicas que se han dado en el bosque esclerófilo y sus diferentes tipos, Van de Wouw y colaboradores (2011) estudiaron las dinámicas de las savanas de *Acacia caven* (Molina) Molina y encontraron un efecto imprevisto, ya que *A. caven* es una especie nativa de Chile, que habita también en Argentina, Bolivia, Brasil, Paraguay y Uruguay. Mediante análisis de imágenes de satélite dentro del período comprendido entre los años 1975-2008, los autores detectaron una disminución de los bosques esclerófilos hacia una vegetación dominada por *Acacia caven*, conocidas como espinales, atribuyendo esto a cambios en la disponibilidad de recursos para las especies del bosque esclerófilo (e.g., topografía, disponibilidad de agua, radiación solar), disponibilidad potencial de propágulos (i.e., distancia a los parches de bosque remanentes), y perturbación antrópica (e.g., pastoreo, ocurrencia de incendios y la distancia a las carreteras y ciudades).

En una aproximación diferente, hemos realizado modelos de nicho climático actual y futuro para 8 especies endémicas de Chile, formadoras del bosque esclerófilo, encontrando que para el año 2080, se esperaría un desplazamiento hacia el Sur de las comunidades (ver Figs. 2 y 3). Destacando que se hace necesario evaluar las tendencias futuras en el cambio del uso del suelo,

¹ *Pinus radiata* D.Don corresponde a la principal especie productiva forestal de Chile. La superficie forestal artificial en Chile corresponde a 2.1 millones de hectáreas, equivalentes al 13.5% de la superficie boscosa del país y al 2.8% del territorio nacional. Donde *P. radiata* representa casi el 75% de esa superficie. Fuente: <http://www.forest.cl/infofor.htm>

para evaluar de mejor manera las tendencias que los modelos arrojan. La figura 2 muestra los modelos de nicho climáticos de cada especie, de izquierda a derecha con el modelo en el escenario actual, CCCMA y CSIRO, respectivamente. Por otra parte, la figura 3 es una compilación de las áreas en cada uno de los escenarios (actual, CCCMA y CSIRO), donde se concentran las especies modeladas. Destacando en este sentido, que la zona costera de las regiones del Maule y Bío-Bío, en ambos escenarios al 2080, son las que concetran en promedio 7 de las 8 especies modeladas y resultan en refugios para las especies.

PORAFOLIO DE CONSERVACIÓN DEL BOSQUE ESCLERÓFILO

Realizados los modelos de nicho climático, se procedió a realizar un análisis de vacíos y omisiones de conservación (análisis GAP), que arrojó que ninguna de las especies modeladas cumple con la meta solicitada (más detalles ver Cuadro II). Casos extremos son los que presentan la Patagua (*Crinodendron patagua*) que presenta un GAP de 100% y el Belloto del Sur (*Beilschmiedia berteroana*) que presenta un GAP de 96,8% al poseer solo el 3,2% de su nicho climático en alguna figura de conservación del SNASPE.

Realizado el análisis GAP, la posterior realización de la búsqueda del portafolio de conservación que cumpla con la totalidad de las metas planteadas para las especies (objetos de conservación) modeladas; se requiere ampliar las unidades del SNASPE del Parque Nacional La Campana, con el objeto de mejorar la protección del Belloto de Norte; unir las unidades del SNASPE Parque Nacional Radal Siete Tazas con Reserva Nacional Altos de Lircay y Reserva Nacional Los Bellotos del Melado, protegiendo a un menor costo de conservación (o de oportunidad), el resto de las especies estudiadas (ver Fig. 4).

CONCLUSIONES

Los análisis de vacíos y omisiones de conservación (GAP) dejan en evidencia la escasa representación del bosque esclerófilo en la unidades del SNASPE y llaman a reforzar los esfuerzos en proteger este tipo de comunidad vegetal, tan representativa de la zona central de Chile.

En esta misma línea, el portafolio de conservación generado busca responder a la pregunta de cómo y donde conservar las especies y representa un primer esfuerzo. La necesidad de ampliar el Parque Nacional La Campana o las unidades del SNASPE de la cordillera de la Región del Maule es una necesidad, pues de paso se conservaría además otras especies como el propio Radal, especie emblema de Parque Nacional Radal Siete Tazas.

Si bien, los modelos de nicho climático fueron una respuesta a la imposibilidad de disponer de los planes de manejo de bosque nativo, los que se solicitaron en más de una ocasión, resultaron ser en conjunto con el análisis realizado a partir de los polígonos del catastro vegetacional de la CONAF una herramienta que demuestra la pérdida de la que está siendo víctima el bosque esclerófilo y muestran lo importante de realizar actualizaciones constantes del catastro.

BIBLIOGRAFÍA

- ARROYO M.T.K., P.A. MARQUET, C. MARTICORENA, J.A. SIMONETTI, L.A. CAVIERES, F.A. SQUEO & R. Rozzi. 2004. Chilean winter rainfall-Valdivian forests. In R.A. MITTERMEIER, P.R. GIL, M. HOFFMANN, J. PILGRIM, T. BROOKS, C.G. MITTERMEIER, J. LAMOREUX & G.A.B. DA FONSECA (eds.) Hotspots Revisited: Earth's Biologically Wealthiest and most Threatened Ecosystems, 99-103. CEMEX, México D.F.
- BALL, I. R., H. P. POSSINGHAM & M. WATTS. 2009. Marxan and relatives: Software for spatial conservation prioritisation. in A. MOILANEN, K. A. WILSON & H. P. POSSINGHAM (eds.), Spatial Conservation Prioritisation: Quantitative Methods and Computational tools, 185-195. Oxford University Press, Oxford, UK.
- CONAMA (Comisión Nacional del Medio Ambiente). 2003. Estrategia Nacional de Biodiversidad. Santiago de Chile. 182.
- CONAMA (Comisión Nacional del Medio Ambiente). 2006. Estudio de la Variabilidad Climática en Chile para el Siglo XXI: Informe Final. Realizado por el Departamento de Geofísica de la Universidad de Chile. Santiago de Chile. 71.
- ESTÉVEZ, R. A., F. A. SQUEO, G. ARANCIO & M. B. ERAZO. 2010. Producción de carbón vegetal a partir de arbustos nativos en la Región de Atacama, Chile. Gayana Botánica 67(2): 213-222.

- FUENTES-RAMÍREZ, A., A. PAUCHARD, L. A. CAVIERES & R. A. GARCÍA. 2011. Survival and growth of *Acacia dealbata* vs. native trees across an invasion front in south-central Chile. Forest Ecology and Management 261(6): 1003-1009.
- GAJARDO, R. 1994. La Vegetación Natural de Chile: Clasificación y Distribución Geográfica. Editorial Universitaria, Santiago de Chile. 165.
- GÓMEZ, P., R. O. BUSTAMANTE, J. SAN MARTÍN & S. HAHN. 2011. Estructura poblacional de *Pinus radiata* D. Don en fragmentos de Bosque Maulino en Chile central. Gayana Botánica 68(1): 97-101.
- GRAHAM, C. H., N. SILVA & J. VELÁSQUEZ-TIBATÁ. 2010. Evaluating the potential causes of range limits of birds of the Colombian Andes. Journal of Biogeography 37(10): 1863-1875.
- HECHENLEITNER, P., M. F. GARDNER, P. I. THOMAS, C. ECHEVERRÍA, B. ESCOBAR, P. BROWNLESS & C. MARTÍNEZ. 2005. Plantas Amenazadas del Centro-Sur de Chile: Distribución, Conservación y Propagación. Universidad Austral de Chile y Real Jardín Botánico de Edimburgo, Valdivia, Chile. 188.
- HIJMANS, R. J., S. E. CAMERON, J. L. PARRA, P. G. JONES & A. JARVIS. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. International Journal of Climatology 25(15): 1965-1978.
- HOFFMANN A., M.T.K. ARROYO, F. LIBERONA, M. MUÑOZ & J. WATSON. 1998. Plantas Altoandinas en la Flora Silvestre de Chile. Ediciones Fundación Claudio Gay, Santiago. 281.
- LETELIER, L., H. RODRÍGUEZ-CORREA, R. GARCÍA-GONZÁLES, A. STOLL & A. GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ. 2011. Análisis del nicho climático actual y futuro para especies del Bosque Esclerófilo de Chile. Biological Research 44 supl. A(R-126).
- MITTERMEIER R.A., P.R. GIL, M. HOFFMANN, J. PILGRIM, T. BROOKS, C.G. MITTERMEIER, J. LAMOREUX & G.A.B. DA FONSECA. 2004. Hotspots Revisted: Earth's Biologically Wealthiest and most Threatened Ecosystems. CEMEX, México D.F.
- PETERSON, A. T., & Y. NAKAZAWA. 2008. Environmental data sets matter in ecological niche modelling: An example with *Solenopsis invicta* and *Solenopsis richteri*. Global Ecology and Biogeography 17(1): 135-144.

- PHILLIPS, S. J., R. P. ANDERSON & R. E. SCHAPIRE. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling* 190(3-4): 231-259.
- RAMÍREZ, C., C. SAN MARTÍN, J. SAN MARTÍN & R. VILLASEÑOR. 2004. Comparación fitosociológica de los bosques de Belloto (*Beilschmiedia*, Lauraceae) en Chile central. *Bosque* (Valdivia) 25(1): 69-85.
- SANCHEZ, A. C., P. E. OSBORNE & N. HAQ. 2010. Identifying the global potential for baobab tree cultivation using ecological niche modelling. *Agroforestry Systems* 80(2): 191-201.
- SQUEO, F. A., L. LETELIER, C. F. GAYMER, A. STOLL, C. SMITH-RAMÍREZ, S. MIETHKE, G. CUNDILL, S. L'HERMITTE, P. A. MARQUET, H. A. SAMANIEGO, P. C. GUERRERO, G. ARANCIO, A. MARTICORENA, D. LÓPEZ & K. P. MARTÍNEZ-TILLERÍA. 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.
- VAN DE WOUW, P., C. ECHEVERRÍA, J. M. REY-BENAYAS & M. HOLMGREN. 2011. Persistent *Acacia* savannas replace Mediterranean sclerophyllous forests in South America. *Forest Ecology and Management* 262(6): 1100-1108.

Cuadro I. Análisis de vacíos y omisiones de conservación para las Formaciones Vegetacionales de Gajardo (1994). Meta de conservación = 10% de la superficie. Modificado de Squeo et al. (2010).

Formación Vegetacional	Área (km ²)	% meta	GAP
Bosque Esclerófilo Andino	74.5	24.2	*
Bosque Esclerófilo Costero	175.7	17.2	*
Bosque Esclerófilo de los Arenales	0.0	0.0	*
Bosque Esclerófilo Maulino	6.0	0.6	*
Bosque Esclerófilo Montano	0.0	0.0	*
Bosque Espinoso Abierto	0.4	0.3	*
Matorral Esclerófilo Andino	339.1	42.4	*
Matorral Espinoso de la Cordillera de la Costa	0.0	0.0	*
Matorral Espinoso de las Serranías	22.0	3.8	*
Matorral Espinoso del Secano Costero	4.9	0.9	*
Matorral Espinoso del Secano Interior	0.0	0.0	*
Matorral Estepario Arborescente	0.5	0.2	*
Matorral Estepario Boscoso	46.6	19.8	*

GAP: * = meta no cumplida (<50%).

Cuadro II. Análisis GAP actual para las 8 especies formadoras del Bosque Esclerófilo.

Especie	EC	Nicho de la Especie (ha)		Análisis GAP		
		Total Especie	SNASPE	Meta (ha)	Meta (%)	% Logrado
<i>Beilschmiedia berteroana</i>	EN	426.223,47	10.480,24	319.667,60	75%	3,27
<i>B. miersii</i>	VU	325.070,46	10.082,11	162.535,23	50%	6,20
<i>Crinodendron patagua</i>	ND	1.251.557,16	0,2	125.155,72	10%	0,00
<i>Cryptocarya alba</i>	ND	1.934.068,92	27.286,94	193.406,89	10%	14,11
<i>Kageneckia oblonga</i>	ND	1.702.799,76	25.394,32	170.279,98	10%	14,91
<i>Lithraea caustica</i>	ND	5.047.296,60	46.546,13	504.729,66	10%	9,22
<i>Peumus boldus</i>	ND	5.116.214,91	17.710,49	511.621,49	10%	3,46
<i>Quillaja saponaria</i>	ND	4.213.121,17	48.649,02	421.312,12	10%	11,55

EC = Estado de conservación, donde EN: En Peligro; VU: Vulnerable y ND: No determinado.

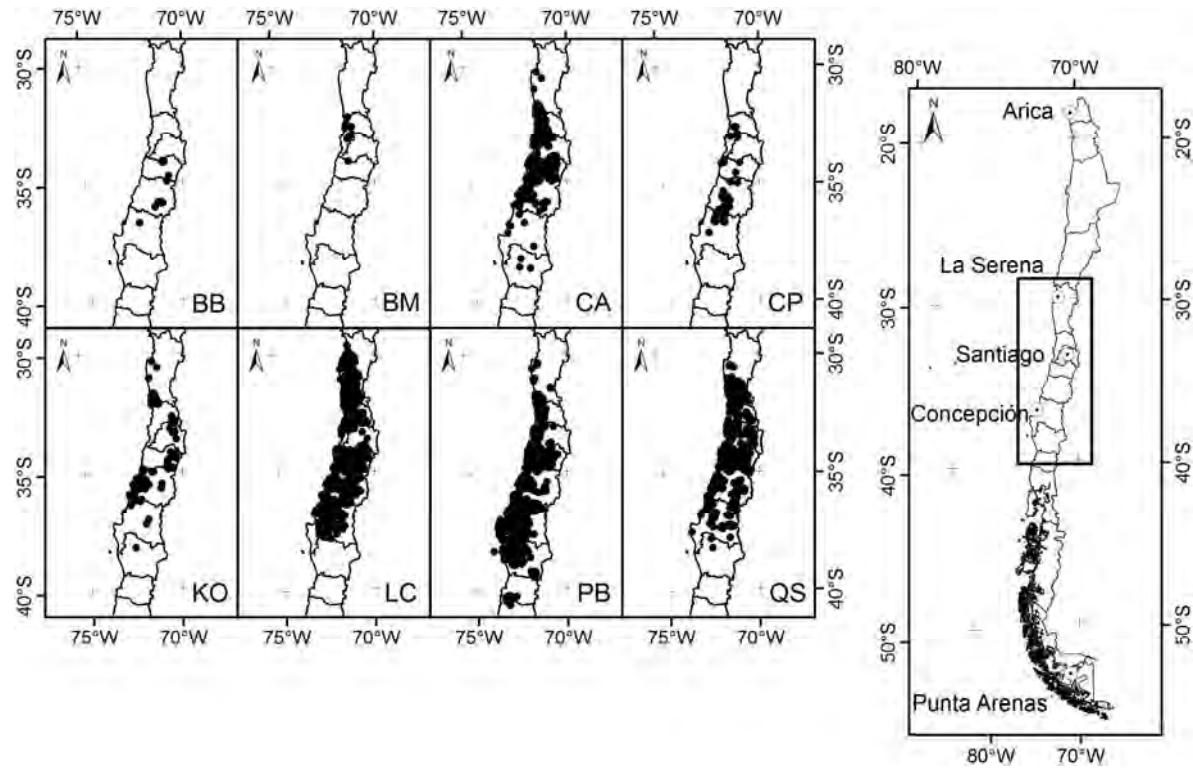


Figura 1: Base de datos (Datos de presencia de las especies). BB = *Beilschmiedia berteroana*, BM = *B. miersii*, CA = *Cryptocarya alba*, CP = *Crinodendron patagua*, KO = *Kageneckia oblonga*, LC = *Lithraea caustica*, PB = *Peumus boldus* y QS = *Quillaja saponaria*.

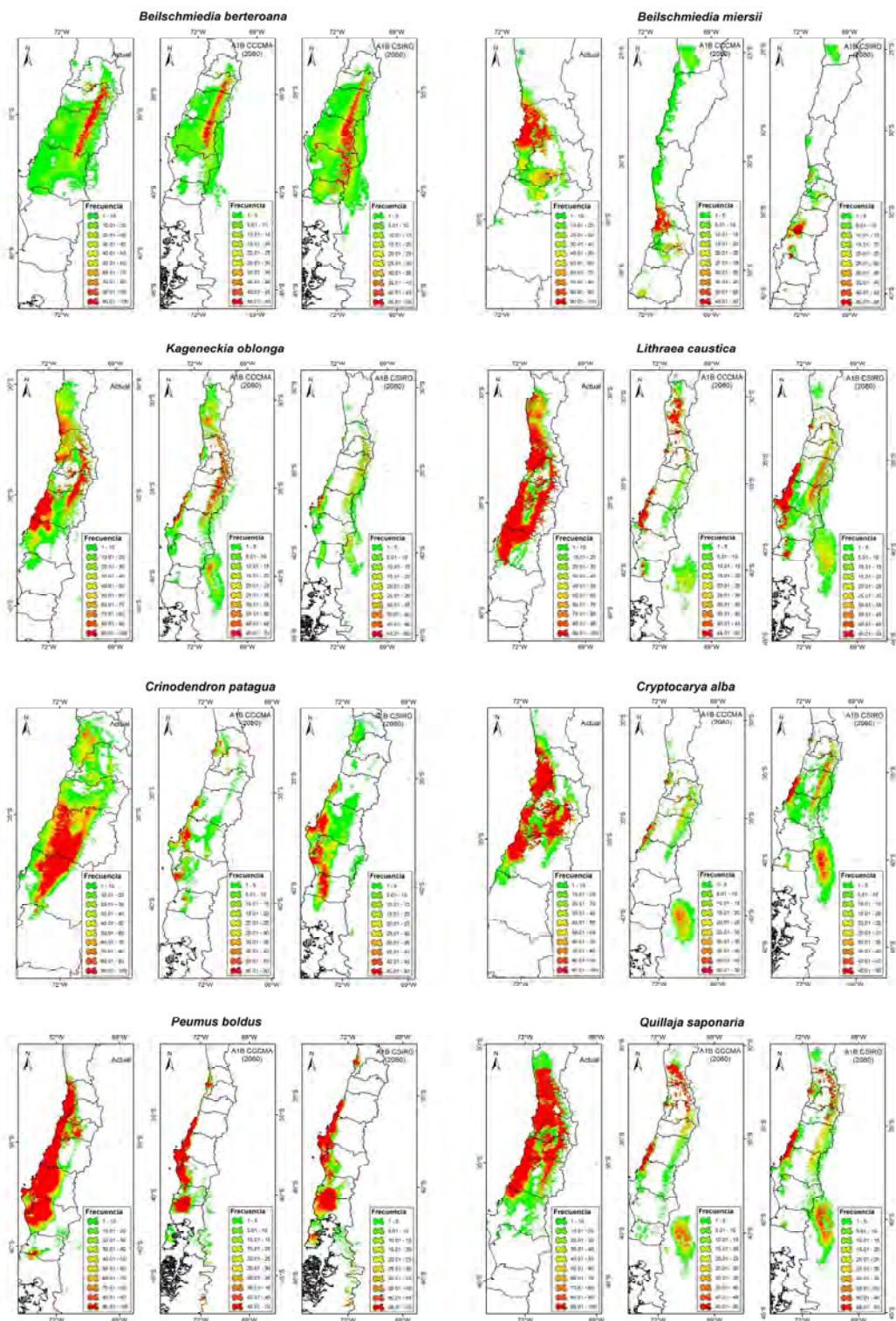


Figura 2 : Modelos de nicho climático actual y futuro, para 8 especies endémicas del bosque esclerófilo de Chile. De izquierda a derecha los modelos de cada especie corresponden al nicho actual, al nicho del modelo a 2080 de CCCMA y CSIRO, respectivamente. La escala al costado de cada mapa corresponde a la frecuencia de selección, donde el rojo representa una probabilidad de ocurrencia en dicha área de 100%.

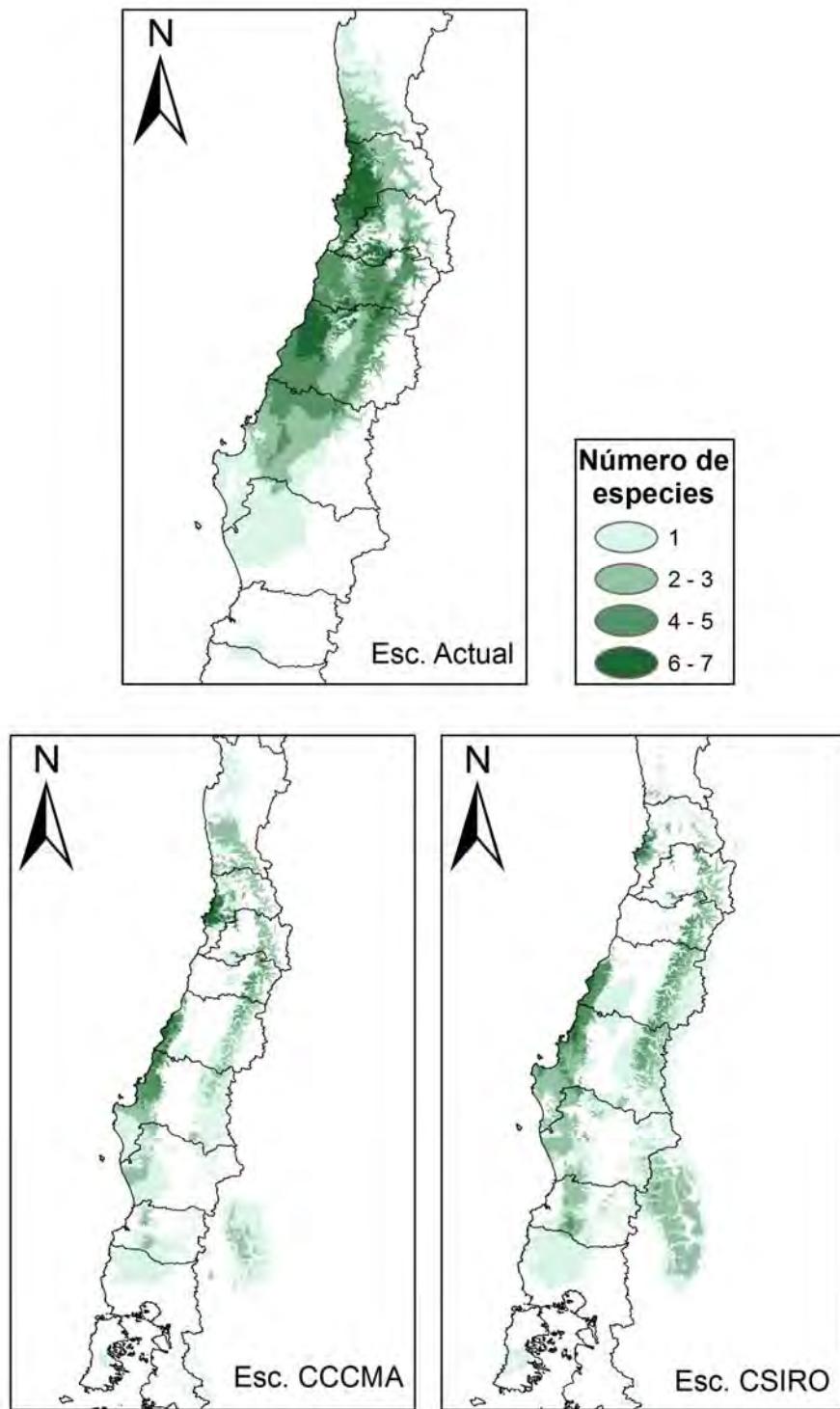
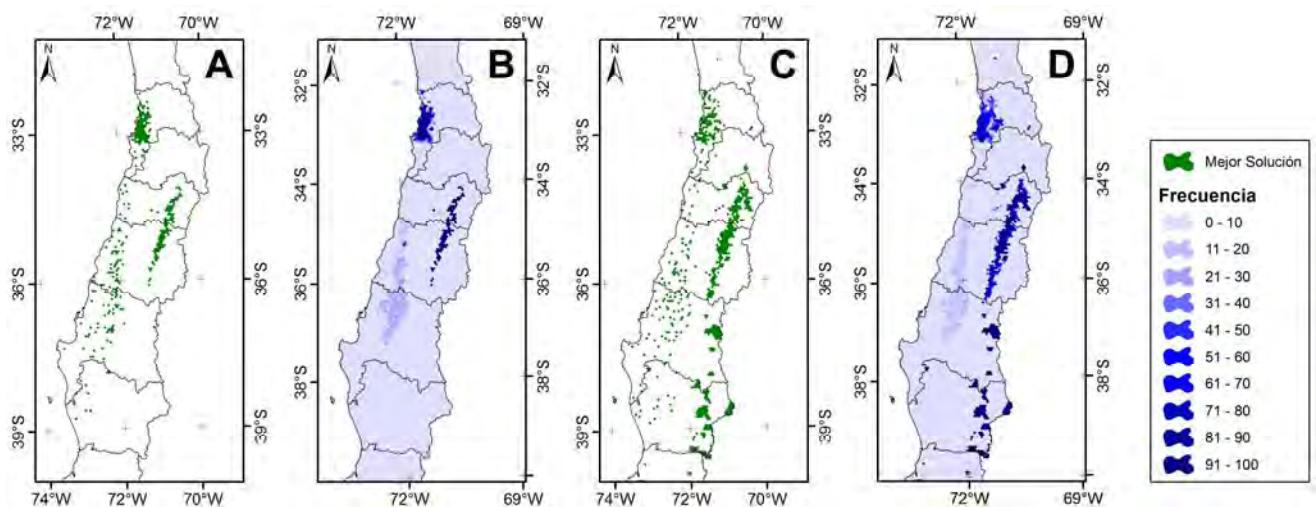


Figura 3: Modelo de diversidad (zonas de concentración de especies) actual y futura para las especies del bosque esclerófilo. Los mapas de diversidad se obtuvieron de la suma de los pixeles de los mapas de nicho de las especies (suma del 10% de las probabilidades de ocurrencia más altas).



Diversidad y Estructura Genética de *Quillaja saponaria* Molina (Quillajaceae)

INTRODUCCIÓN

Quillaja saponaria Molina, llamado comúnmente como Quillay en Chile o como Soap Bark Tree o Soapbark en Europa y Estados Unidos, perteneciente a la familia Quillajaceae, familia monogenérica de solo dos especies *Q. saponaria* y *Q. brasiliensis* (Kubitzki 2007; Luebert 2013). *Q. saponaria* es un árbol endémico a Chile, que se distribuye desde las regiones de Coquimbo a la de la Araucanía (31° - 38° Latitud Sur) (García & Ormazabal 2008; Luebert 2013; Prehn *et al.* 2003) y desde el nivel del mar hasta los 2000 m. Adicionalmente, es la principal especie del bosque esclerófilo, comunidad vegetal caracterizada climáticamente por la presencia de veranos secos e inviernos lluviosos. En ocasiones, es posible encontrarlo creciendo sobre laderas inclinadas y/o en suelos pobres en nutrientes y materia orgánica.

A pesar del importante rol ecológico que presenta la especie, ya que por ejemplo es una especie melífera (Montenegro *et al.* 2009a; Montenegro *et al.* 2009b), presenta un elevado contenido de saponinas (San Martín & Briones 1999) que son usadas en la industria de los alimentos o en la industria de producción de películas fotográficas, o saponinas con actividad adyuvante (Kensil *et al.* 1991). Poco se sabe de las relaciones ecológicas de la especie, destacando en este sentido el trabajo de Letelier y colaboradores (2017), quienes analizan las dinámicas comunitarias del bosque esclerófilo de Chile central en donde crece *Q. saponaria*. Sin embargo, hasta la fecha no se ha realizado ningun estudio de la diversidad y estructura genética de la especie.

En este sentido, con el objetivo de dilucidar los patrones de diversidad y estructura genética de *Q. saponaria* a lo largo de toda su área de distribución, en este capítulo se utilizaron marcadores genéticos del tipo de los microsatélites o secuencias simples repetidas (SSR, por su sigla en inglés), pues dentro de las características de este tipo de marcadores destaca que son

híper variables, ubíquos y se presentan tanto en ADN nuclear como de cloroplasto (Ellegren 2004); características que permiten responder por ejemplo como los síndromes de dispersión de semillas o de polinización puedan afectar la diversidad de la especie y explicar los patrones que se encuentren.

En el presente estudio se planteó utilizar microsatélites universales de cloroplasto (Weising & Gardner 1999) y microsatélites nucleares específicos, diseñados previamente para la especie (Letelier *et al.* 2015). Mediante estas herramientas se propone analizar la diversidad y estructura genética de la especie, en toda el área de distribución de la misma, desde un enfoque integral que incorpore la historia evolutiva y el efecto antrópico que sobre las comunidades se está evidenciando. En particular, evaluamos en qué medida las variables geográficas, climáticas y de uso de suelo permiten explicar los patrones genético-poblacionales y filogeográficos de *Q. saponaria*, tomando como antecedente el estudio previo de Letelier *et al.* (2017) que mostró un efecto de la matriz circundante a las comunidades de bosque esclerófilo con presencia de *Q. saponaria* sobre la diversidad y composición de especies arbóreas en las comunidades.

MATERIALES Y MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDIO Y ESPECIE

El área de estudio abarcó la distribución actual completa y conocida de *Quillaja saponaria*, esto es, de los 32° a los 38° latitud Sur, aproximadamente desde la provincia de Coquimbo a la de Malleco en Chile (García & Ormazabal 2008; 2013; Prehn *et al.* 2003). En esta área se muestreó un total de 39 localidades (Cuadro I y Figura 1). En cada localidad se colectaron 15 individuos (exceptuando: Chillepin, Cerro Gupo, Los Patos, Chorro de la vieja; ver Cuadro I), lo que dio un total de 567 individuos, y adicionalmente, se colectó material de respaldo para herbario los cuales fueron depositados en el Herbario CONC.

EXTRACCIÓN DE ADN

El ADN total fue aislado de hojas jóvenes utilizando el protocolo CTAB modificado, descrito en detalle por Doyle y Doyle (1990). El tejido congelado (100 mg aproximadamente) fue triturado en un mortero Precellys en criotubos junto a esferas de cerámicas y conteniendo 700 uL de Mix buffer de extracción CTAB precalentado a 65 °C, el que contenía: 1 M Tris-HCl pH 8.0, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, CTAB 3% (v/v) y 2%

β -mercaptoethanol (v/v). Todas las muestras de ADN fueron almacenadas a -20 °C y su concentración fue medida usando un fluorómetro Qubit (Invitrogen).

MARCADORES GENÉTICOS

Se evaluaron 10 marcadores microsatélites de cloroplasto universales (SSRcp, Weising & Gardner 1999), de los cuales solo 3 de ellos resultaron polimórficos (ccmp 2, ccmp 7 y ccmp 10). La reacción de amplificación se realizó a un volumen final de 10 μ L conteniendo 2X Platinum Multiplex PCR Master Mix (Applied Biosystems, California, USA), 0.1 μ M del mix de primer, 1 mM de MgCl₂, 20 ng de ADN y completado con agua Mili-Q. La reacción de PCR fue con una activación inicial a 94 °C durante 5 minutos; seguidos de 30 ciclos de: 94 °C por 1 minuto, 47.8 °C durante 1 minuto y 72 °C por 1 minuto; y finalmente, 72°C por 8 minutos.

Junto a lo anterior, se evaluaron 10 microsatélites nucleares (SSRn) específicos para la especie (Letelier *et al.* 2015), agrupados en tres mezclas de amplificación, Mezcla 1: Qsa7, Qsa11, Qsa13 y Qsa24; Mezcla 2: Qsa17 y Qsa18; Mezcla 3: Qsa19, Qsa26, Qsa28 y Qsa66. La reacción de amplificación fue a un volumen final de 5 μ L conteniendo 1X Platinum Multiplex PCR Master Mix (Applied Biosystems, California, USA), 2 mM MgCl₂, 0.10 μ M de cada mix y 20 ng de ADN. La reacción de PCR consistió en una etapa de activación inicial a 94°C durante 5 minutos; posteriormente 32 ciclos iniciados con una etapa de denaturación a 95°C durante 1 minuto, seguidos de un ciclo “touchdown” como etapa de annealing disminuyendo 1°C cada 2 ciclos, siendo 12 ciclos de 60 segundos comenzando a 64°C y finalizando a 59°C, posteriormente 10 ciclos de 60 segundos a 58°C y 10 ciclos de 60 segundos a 57°C; y una etapa de elongación final a 72°C por 1 minuto. Finalizados los 32 ciclos, la etapa de elongación final de 5 minutos a 72°C.

Finalmente, para ambos marcadores se utilizaron 2 μ L del producto de PCR cargados sobre 10 μ L de Formamida (HiDi, Applied Biosystems, CA, USA) y 0.3 μ L de LIZ Size Standard 600 (Applied Biosystems, CA, USA) y medidos en un secuenciador automático ABI-PRISM 3100-Avant (Applied Biosystems). El análisis de los fragmentos y sus tamaños fueron realizados usando Peak Scanner software, version 1.0 (Applied Biosystems).

ANÁLISIS DE DATOS

Para obtener los estimadores genéticos de los SSRcp, se utilizó el programa Haplotype Analysis 1.05 (Eliades & Eliades 2009), el cual entrega el Número de haplotipos detectado en cada población (A), el número de haplotipos privados (P), el número efectivo de haplotipos (Ne), la riqueza haplotípica (Rh), la diversidad genética (He) y la distancia media genética entre individuos (D^2sh), entre otros. Con los datos obtenidos, se construyó la red de haplotipos utilizando el programa Network 5.0.0.1 (Bandelt *et al.* 1999). El análisis de varianza molecular (AMOVA) se realizó utilizando Arlequin 3.5.1.3 (Excoffier & Lischer 2010).

En el caso de los SSRn, para obtener los estimadores genéticos se utilizó el programa GenAIEx 6.5 b.2 (Peakall & Smouse 2012), el cual entrega el número de alelos diferentes (Na), el número efectivo de alelos (Ne), la heterocigosidad observada (Ho) y la heterocigosidad esperada (He), entre otros. Además se utilizó el programa Structure 2.3.4 (Pritchard *et al.* 2000) para analizar la estructura genética entre las localidades. Se utilizó un modelo de admixture con frecuencias alélicas correlacionadas estableciendo 20 K independientes (con 10 repeticiones para cada K), definiendo 50.000 periodos de burn-in y 100.000 repeticiones. Finalmente, para evaluar la existencia o no de cuellos de botella, se utilizó el programa Bottleneck 1.2.02 (Cornuet & Luikart 1996).

Además se obtuvo la determinación de las barreras genéticas en ambos tipos de marcadores (SSRcp y SSRn) usando el programa Barriers 2.2 (Manni *et al.* 2004), el cual utiliza el algoritmo de Monmonier's para definir el establecimiento de las barreras al flujo génico. Para SSRcp se utilizó la matriz de Nei obtenida con el programa Haplotype Analysis 1.05 y para SSRn, se utilizó un bootstrap de 100 matrices de la distancia genética de Nei, mismas que se obtuvieron con el programa Microsatellite analyser (MSA) 4.05 (Dieringer & Schlötterer 2003).

Finalmente, se realizaron correlaciones evaluando el ajuste lineal de los índices genéticos de SSRcp (A, P, Ne, Rh, He y D^2sh) y de SSRn (Na, Ne, I, Ho, He, uHe, F, grupos genéticos 1 y 2 pertenecientes al K2 del análisis de Structure y los grupos genéticos 1, 2, 3 y 4 pertenecientes al K4 del análisis de Structure) confrontados con variables climáticas (precipitación anual, temperatura media anual e índice de aridez de De Martonne), y variables geográficas (latitud, longitud y altura). Por otra parte, se correlacionaron la matriz vegetacional asociada a las localidades estudiadas (Letelier *et al.* 2017) respecto de los índices genéticos (SSRcp y SSRn) y cuando el ANOVA resultaba ser significativo ($p \geq 0.05$), se

realizó una separación de medias utilizando pruebas de T de Student, todos estos análisis fueron realizados con el programa JMP 8.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de un tamaño muestral inicial de 567 individuos distribuidos en 39 localidades, hubo individuos que no amplificaron tanto para SSRcp como para SSRn, se trabajo con 516 y 534 individuos, respectivamente; en ambos casos distribuidos en las 39 localidades.

MICROSATÉLITES UNIVERSALES DE CLOROPLASTO (SSRCP)

Los análisis mostraron un total de 21 haplotipos, registrándose en promedio 4 haplotipos por localidad, con un máximo de 7 en las localidades de Fundo El Peral (EP), San Fabián de Alico (FA) y La Invernada (LI) y un mínimo de 2 haplotipos por localidad en Chillepin (Ch) y Rinconada de Navarro (RN). Junto a lo anterior, se registraron un total de 9 haplotipos privados (ver Cuadro II); en este sentido destaca que la localidad de Santa Bárbara (SB) en el extremo sur de la distribución de la especie, posee 2 haplotipos privados (ver Cuadro II y III). El número efectivo de haplotipos en promedio fue de 3, con un máximo de 6 y un mínimo de 1 (ver Cuadro II). Destaca del cuadro II, el elevado valor de distancia media genética entre individuos (D^2_{sh}) de la localidad de Santa Bárbara y de la localidad de San José de Maipo (SJ); en el caso de SB, esto se explicaría por la presencia de 2 haplotipos privados con una frecuencia acumulada de 0.29 (ver Cuadro III).

El análisis de AMOVA muestra una elevada variación dentro de las localidades (77.7%) y una baja variación entre las poblaciones (22.3%) con un índice de fijación (F_{ST}) de 0.223, que fue altamente significativo ($P < 0.001$) (ver Cuadro IV – A), lo que se explicaría por el síndrome de polinización de la especie, pues como se mencionó previamente, corresponde a una especie melífera (Montenegro *et al.* 2008; Montenegro *et al.* 2009b).

La distribución espacial de haplotipos, la red de haplotipos y las barreras genéticas se muestran en la figura 2. Destaca la presencia de 3 barreras genéticas, donde la barrera 2 separaría las 3 localidades más áridas y de distribución más al Norte de la especie. La barrera 3 corresponde al límite natural Sur del valle transversal de Choapa respecto del valle transversal del Aconcagua (ubicado este último inmediatamente al Sur del anterior), geoforma característica de esta zona del país y que genera barreras

transversales con cadenas de cerros que se orientan en sentido Este-Oeste (Novoa & López 2001). Finalmente, a la barrera 1, ubicada en la zona central de la distribución, resulta un poco más difícil darle una explicación de tipo geográfica, pues la barrera aísla la localidad de Rinconada de Navarro (RN) de las localidades aledañas a ella, exclusivamente por presentar 2 haplotipos y estar inserta en una matriz de uso agrícola. Respecto a la red de haplotipos y como estos se distribuyen espacialmente, podemos decir que la red presenta 2 haplotipos ancestrales (H13 y H14). Adicionalmente, podemos ver que los haplotipos más recientes (H1, H2, H7 y H9) tienden a tener una distribución más hacia el Sur de la distribución de la especie.

Finalmente, de las correlaciones realizadas resultaron significativas las correlaciones entre el número de haplotipos detectado por cada localidad (A) con el índice de aridez de De Martonne, donde una menor aridez se asocia a un mayor número de haplotipos; con la latitud, donde a menor latitud menor número de haplotipos y con la precipitación anual, donde a mayor precipitación mayor era el número de haplotipos. Las ecuaciones, R cuadrado y valor p se muestran en el Cuadro V – A.

MICROSATÉLITES NUCLEARES ESPECÍFICOS (SSRN)

Los análisis de los SSRn mostraron que la localidad de Angostura (AN) en el extremo Norte de la distribución de la especie, presenta los valores más bajos de número de alelos diferentes (Na), número efectivo de alelos (Ne) y Heterocigosidad esperada (He); lo que nos estaría evidenciando lo afectada que esta dicha localidad a consecuencia del aislamiento geográfico que presenta, y que se estaría desencadenando un aumento de la endogamia (ver Cuadro VI). En el lado contrario, la localidad de Cuesta El Espino (CE), que corresponde a la localidad de más al Norte pero por la zona precordillerana, presentó los valores más altos en el número de alelos diferentes (Na) y del índice de Shannon (I). Respecto de las localidades de más al Sur, destaca la localidad de Vuelta El Horno (EH), que presentó los valores más altos de los índices de Heterocigosidad esperada (He) y con un valor de Heterocigosidad observada (Ho) de 0.82, que está sobre el promedio de Ho que fue de 0.671.

Respecto del AMOVA, la mayor diversidad se presentó dentro de las localidades, con un 87.0% respecto del 13.0% de variación entre las localidades y un índice de fijación (F_{ST}) de 0.129 ($P < 0.001$) (ver Cuadro IV – B). A pesar del comportamiento, el moderado valor de F_{ST} , nos estaría hablando de que existe flujo génico vía polen y que estaría mediado por los polinizadores.

Respecto del análisis de Structure, la implementación del método de Evanno se realizó con Structure Harvester (Earl & Vonholdt 2012), lo que permitió definir que los valores de K con un mayor Delta K fueron los K= 2 y K= 4, con valores de Delta K de 130.2 y 60.6, respectivamente. Los histogramas de K= 2 y K= 4 se muestran en la figura 3; donde podemos ver claramente una estructura genética, en que por ejemplo: el grupo genético 2 (i.e., K2_G2 de figura 4A) tiene una distribución Nor-este y el grupo genético 1 (ie., K1_G1 de figura 4A) tiene una distribución Sur o Sur-oeste. Respecto del análisis de barreras genéticas que se muestran en la figura 4, podemos ver 4 barreras todas con una sustentación superior al 90%.

Por otra parte, los análisis de correlación entre los estimadores genéticos de SSRn y las variables climáticas, geográficas y de matriz vegetacional presentaron correlaciones lineales o de separación de medias, solo para los grupos genéticos provenientes del análisis de Structure. Respecto del análisis de separación de medias, resulta interesante encontrar que el grupo genético 1 proveniente del K= 2 presentó correlación con la matriz vegetacional ($R^2= 0.17$, $P= 0.038$), obteniéndose una separación de medias que nos indica que dicho grupo genético es más típico en aquellas localidades donde la matriz vegetacional circundante corresponde a la de Uso Agrícola o a la de Plantación Forestal y por otro lado, el grupo genético 2 del K= 2 presentó igualmente una correlación con la matriz vegetacional ($R^2= 0.17$, $P= 0.038$), pero en este caso, el grupo genético 2 es más afín a las localidades donde la matriz vegetacional circundante corresponde a Bosque Nativo. Ahora respecto al análisis de separación de medias para los grupos genéticos provenientes del K= 4, solo resultó significativa la correlación entre el grupo genético 2 del K=4 con la matriz vegetacional ($R^2= 0.32$, $P= 0.038$), donde dicho grupo genético es más típico en aquellas localidades donde la matriz vegetacional circundante resultó ser Bosque Nativo.

En cuanto a las correlaciones con comportamiento lineal, se observó que existe una correlación entre el grupo genético 1 (K= 2) y la latitud, donde dicho grupo aumenta hacia el Sur de la distribución de la especie; y por otro lado, el grupo genético 2 (K= 2) aumenta al Norte de la distribución de la especie (ver Cuadro V – B). Adicionalmente, resultó significativa la correlación entre el grupo genético 4 (K= 4) con la latitud, resultando este grupo más propio en el Sur de la distribución de la especie. Por otra parte, resultaron significativas las correlaciones entre la variable altura y los grupos genéticos 2 y 3 del K= 4, en donde el grupo genético 2 resultó más afín en aquellas localidades ubicadas a mayor altura o distribuidas

al Este de la distribución de la especie; y el grupo genético 3 mostró un comportamiento opuesto. Finalmente, el grupo genético 3 ($K= 4$) tuvo correlación además, con la temperatura media anual (TMA), donde dicho grupo genético fue más afín a aquellas localidades distribuidas en zonas con TMA mayores (esto es, zonas más bajas en altura y ubicadas principalmente en el Centro y Norte de la distribución de la especie).

Finalmente, en el análisis de cuellos de botellas realizado con Bottleneck 1.2.02 sobre las 39 localidades de *Q. saponaria* visitadas en el estudio, se observó que 27 localidades presentaron una señal significativa de haber estado sujetas a cuellos de botella, lo que equivale a un 69% de la distribución de la especie y tan solo 12 localidades (31%) no presentaron evidencia de cuellos de botella; todo esto basado en la significancia estadística de la prueba de ranqueo y la significancia de las pruebas de Wilcoxon a una y dos vías (ver Cuadro S1 de material suplementario). De las 27 localidades que mostraron señales significativas de haber sido sujetas a cuellos de botella, el 63% de correspondieron a localidades que presentaron una matriz circundante de tipo antrópico (Uso Agrícola y Plantación Forestal, con un 37% y 26%, respectivamente) versus un 37% de localidades con matriz circundante de Bosque Nativo. Por otra parte, las 12 localidades que no presentaron cuellos de botella, mostraron partes iguales de matriz circundante entre Bosque Nativo y Uso Agrícola.

Resulta interesante observar que para ambos tipos de marcadores moleculares, y que reflejan, en el caso de SSRcp la herencia materna y los SSRn la herencia biparental; los análisis de AMOVA mostraron un comportamiento similar, siendo la mayor variación registrada entre individuos dentro de la población (77.69% y 87.00%, respectivamente). Esto patrón probablemente se relaciona con el síndrome de polinización, el cual está asociado con la morfología floral que le atribuye características melíferas (Montenegro *et al.* 2008; Montenegro *et al.* 2009b); y con el tipo de dispersión de semillas, el cual es dependiente del viento (Kubitzki 2007). Otras especies arbóreas y endémicas de Chile, han mostrado el mismo comportamiento en el análisis de AMOVA, tales como *Gomortega keule* (Herrera *et al.* 2005), dicha especie al igual que *Q. saponaria* presenta síndrome de polinización por insectos, y en el caso de *G. keule*, se reportó que árboles aislados en sistemas agrícolas y forestales de baja intensidad, pueden ayudar a mantener la conectividad entre las poblaciones (Lander *et al.* 2009). Este es un aspecto aún no estudiado en *Q. saponaria*, sistema en el que también sería interesante determinar si los árboles aislados pudiesen

servir como puentes al flujo génico en paisajes fragmentados. En forma paralela, el cada vez mayor uso de *Q. saponaria* como árbol ornamental en plazas y calles de la mayoría de las zonas urbanas de Chile central (Alvarado Ojeda *et al.* 2012), también podrían ser sujeto de estudio enfocado en evaluar el impacto que este nuevo uso para la especie este generando sobre el flujo génico actual.

Respecto del número de haplotipos de SSRcp y la relación detectada con el Índice de Aridez de De Martonne, la atitud y la precipitación, cabe destacar que según Delaveau y colaboradores (2013) los factores que más influyen sobre la variabilidad genética entre las poblaciones son el número de individuos y la superficie del parche o del bosque. En este sentido, mientras más al Sur de la distribución de la especie nos encontramos, mayor es el tamaño efectivo de las poblaciones, y esto explicaría que hacia el Sur aumente el número de haplotipos detectado.

En relación a las correlaciones para los índices genéticos de SSRn, resulta muy interesante la relación encontrada entre los grupos genéticos del análisis de Structure ($K= 2$) con la matriz vegetacional circundante. Si consideramos la historia evolutiva de la especie, y visualizamos que el grupo genético 1 resultó ser más típico de aquellas localidades donde la matriz vegetacional circundante corresponde a la de Uso Agrícola o a la de Plantación Forestal y por otro lado, el grupo genético 2 se asocie a Bosque Nativo. García-González y colaboradores (2008) encontraron que la matriz forestal, tienden a generar una reducción de la diversidad genética, a consecuencia de la pérdida de agentes dispersores de polen y semillas; en caso contrario, el bosque nativo mantendría la continuidad ecológica y el hábitat para los dispersores. Villa-Martínez y colaboradores (2003) mencionan que alrededor de los 3200 años calibrados antes del presente, se produjo un proceso de aridización y que tiene relación con el retiro de los glaciares hacia los polos y el surgimiento de la diagonal árida por el alzamiento de la Cordillera de Los Andes. Sin embargo, los mismos autores también mencionan que en los últimos 100 años, ha aumentado la actividad humana, lo que ha modificado el paisaje en la zona.

Finalmente, podemos decir que mientras se sigan realizando esfuerzos para controlar los efectos del cambio climático y se regule el efecto antrópico sobre el cambio de uso del suelo, *Q. saponaria* podría ser una especie que perdure en el tiempo; ya que posee el pool genético para asegurar su estabilidad como especie en el futuro.

BIBLIOGRAFÍA

- ALVARADO OJEDA, A., A. BALDINI URRUTIA & F. GUAJARDO BECCHI. 2012. Árboles Urbanos de Chile. Guía de Reconocimiento. Editora e Imprenta Maval Ltda., Santiago de Chile.368.
- BANDELT, H. J., P. FORSTER & A. RÖHL. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16(1): 37-48.
- CORNUET, J. M., & G. LUIKART. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144(4): 2001.
- DELAVEAU, C., G. FUENTES-ARCE, E. RUIZ, R. HASBÚN, M. URIBE & S. VALENZUELA. 2013. Variabilidad genética mediante AFLP en tres relictos de *Gomortega keule* (Molina) Baillon: Especie endémica chilena en peligro de extinción. *Gayana Botánica* 70(2): 188-194.
- DIERINGER, D., & C. SCHLÖTTERER. 2003. Microsatellite analyser (MSA): A platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Molecular Ecology Notes* 3(1): 167-169.
- DOYLE, J. J., & J. L. DOYLE. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12(13-15).
- EARL, D. A., & B. M. VONHOLDT. 2012. STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* 4(2): 359-361.
- ELIADES, N.-G., & D. G. ELIADES, 2009 HAPLOTYPE ANALYSIS: Software for analysis of haplotype data. *Forest Genetics and Forest Tree Breeding*, pp. ii + 18, edited by D. B. T. AUTHORS. Georg-August University Goettingen, Goettingen.
- ELLEGREN, H. 2004. Microsatellites: Simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics* 5(6): 435-445.
- EXCOFFIER, L., & H. E. L. LISCHER. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10(3): 564-567.
- GARCÍA-GONZÁLES, R., B. CARRASCO, P. PEÑAILILLO, L. LETELIER, R. HERRERA, B. LAVANDERO, M. MOYA & P. D. S. CALIGARI. 2008. Genetic variability and structure of *Gomortega keule* (Molina) Baillon (Gomortegaceae) relict populations: Geographical and genetic

- fragmentation and its implications for conservation. Canadian Journal of Botany 86(11): 1299-1310.
- GARCÍA, N., & C. ORMAZABAL. 2008. Arboles Nativos de Chile. Enersis S.A., Santiago de Chile.196.
- HERRERA, R., M. ARIAS, M. A. MOYA-LEON, P. PEÑAILILLO, M. J. WILKINSON & P. D. S. CALIGARI. 2005. Genetic variation in a Chilean endangered endemic:*Gomortega keule* (Molina) Baillon. Biodiversity & Conservation 14(12): 2871-2881.
- HINOJOSA, L. F., J. J. ARMESTO & C. VILLAGRÁN. 2006. Are Chilean coastal forests pre-Pleistocene relicts? Evidence from foliar physiognomy, palaeoclimate, and phytogeography. Journal of Biogeography 33(2): 331-341.
- KENSIL, C. R., U. PATEL, M. LENNICK & D. MARCIANI. 1991. Separation and characterization of saponins with adjuvant activity from *Quillaja saponaria* Molina cortex. The Journal of Immunology 146(2): 431-437.
- KUBITZKI, K. 2007. Quillajaceae. in K. KUBITZKI (eds.), The Families and Genera of Vascular Plants: Flowering Plants Eudicots, 9, 407-408. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Deutschland,
- LANDER, T. A., S. A. HARRIS & D. H. BOSHIER. 2009. Flower and fruit production and insect pollination of the endangered Chilean tree, *Gomortega keule* in native forest, exotic pine plantation and agricultural environments. Revista Chilena de Historia Natural 82(3): 403-412.
- LETELIER, L., N. HARVEY, A. VALDERRAMA, A. STOLL & A. GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ. 2015. Isolation and characterization of 12 microsatellite loci in Soapbark, *Quillaja saponaria* (Quillajaceae). Applications in Plant Sciences 3(5): 1500024.
- LETELIER, L., A. VALDERRAMA, A. STOLL, R. GARCÍA-GONZÁLES & A. GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ. 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): Aceptado.
- LUEBERT, F. 2013. Taxonomy and distribution of the genus *Quillaja* Molina (Quillajaceae). Feddes Repertorium 124(4): 157-162.

- MANNI, F., E. GUÉRARD & E. HEYER. 2004. Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: How barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. *Human Biology* 76(2): 173-190.
- MONTENEGRO, G., M. GÓMEZ, G. CASAUBON, A. BELANCIC, A. M. MUJICA & R. C. PEÑA. 2009a. Analysis of volatile compounds in three unifloral native Chilean honeys. *Phyton (Buenos Aires)* 78(1): 61-65.
- MONTENEGRO, G., M. GÓMEZ, R. PIZARRO, G. CASAUBON & R. C. PEÑA. 2008. Implementación de un panel sensorial para mieles chilenas. *Ciencia e Investigación Agraria* 35(1): 51-58.
- MONTENEGRO, G., F. SALAS, R. C. PEÑA & R. PIZARRO. 2009b. Actividad antibacteriana y antifúngica de mieles monoflorales de *Quillaja saponaria*, especie endémica de Chile. *Phyton (Buenos Aires)* 78(2): 141-146.
- NOVOA, J. E., & D. LÓPEZ. 2001. IV Región: El Escenario Geográfico Físico. in F. A. SQUEO, G. ARANCIO & J. R. GUTIÉRREZ (eds.), *Libro Rojo de la Flora Nativa y de los Sitios Prioritarios para su Conservación: Región de Coquimbo*, 4, 13-28. Ediciones Universidad de La Serena, La Serena, Chile,
- PEAKALL, R., & P. E. SMOUSE. 2012. GenAIEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics* 28(19): 2537-2539.
- PREHN, D., C. SERRANO, C. G. BERRIOS & P. ARCE-JOHNSON. 2003. Micropagación de *Quillaja saponaria* Mol. a partir de semillas. *Bosque (Valdivia)* 24(2): 3-12.
- PRITCHARD, J. K., M. STEPHENS & P. DONNELLY. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155(2): 945-959.
- SAN MARTÍN, R., & R. BRIONES. 1999. Industrial uses and sustainable supply of *Quillaja saponaria* (Rosaceae) saponins. *Economic Botany* 53(3): 302-311.
- VILLA-MARTÍNEZ, R., C. VILLAGRÁN & B. JENNY. 2003. The last 7500 cal yr B.P. of westerly rainfall in Central Chile inferred from a high-resolution pollen record from Laguna Aculeo (34°S). *Quaternary Research* 60(3): 284-293.
- VILLA-MARTÍNEZ, R., C. VILLAGRÁN & B. JENNY. 2004. Pollen evidence for late-Holocene climatic variability at Laguna de Aculeo, Central Chile (lat. 34°S). *The Holocene* 14(3): 361-367.

WEISING, K., & 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(1): 9-19.

Cuadro I: Información geográfica, número de individuos muestreados por localidad, matriz de uso de suelo circundante y código de respaldo en herbario CONC de las 39 localidades muestreadas de *Q. saponaria*. El orden de las localidades sigue la orientación Norte - Sur de las Regiones y dentro de cada Región los sitios se enumeran en orden alfabético.

Región	Localidad	Código Localidad	Coordenadas Geográficas (Lat. S / Long. W)	Altura (m.s.n.m.)	Num. Ind	Matriz Uso Suelo ¹	Código CONC
Región de Coquimbo	Angostura	AN	31°27'00" / 71°31'32"	341	15	AG	179927
	Chillepin	Ch	31°52'01" / 70°49'34"	749	9	BN	179928
	Cuesta El Espino	CE	31°21'28" / 71°05'26"	1,413	15	BN	179929
	Cuesta Los Cristales	CC	31°40'43" / 71°08'41"	669	15	BN	179930
	Santa Cristina	SC	30°32'02" / 71°26'41"	200	15	PF	179931
Región de Valparaíso	Casablanca	Ca	33°24'35" / 71°31'02"	226	15	AG	179932
	Cuesta La Dormida	LD	33°03'45" / 71°01'49"	894	15	AG	179933
	Los Patos	LP	32°31'08" / 70°38'19"	1,205	10	AG	179934
	Santa Marta	SM	32°19'07" / 71°11'35"	200	15	AG	179935
	Tabolango	Tb	32°56'52" / 71°20'33"	213	15	AG	179936
Región Metropolitana de Santiago	Camino a La Disputada	Dp	33°20'15" / 70°21'54"	1,642	15	BN	179937
	Cuesta Chacabuco	CCH	32°59'06" / 70°42'40"	995	15	BN	179938
	San José de Maipo	SJ	33°40'22" / 70°20'45"	1,157	15	AG	179939
Región de O'Higgins	Chorro de la Vieja	CV	34°53'05" / 70°32'16"	1,283	15	BN	179940
	Coya	Cu	34°12'19" / 70°36'33"	904	11	BN	179941
	Cuesta San Vicente	SV	34°03'50" / 71°22'11"	277	15	BN	179942
	Fundo La Rosa	LR	34°19'10" / 71°14'28"	390	15	BN	179943
	La Gatera	LG	34°49'12" / 70°56'03"	449	15	AG	179944
	Los Maitenes	LM	34°20'05" / 71°33'33"	189	15	AG	179945
	Rinconada de Navarro	RN	34°49'09" / 71°12'34"	275	15	AG	179946
Región del Maule	Sector Molineros	Mo	34°30'18" / 71°36'34"	343	15	BN	179947
	Túnel Angostura	TA	33°55'12" / 70°43'09"	598	15	AG	179948
	Astillero	AS	35°21'48" / 71°15'48"	303	15	AG	179949
	Camino a Cerro Gupo	Gu	35°41'20" / 71°53'28"	390	12	AG	179950
	Cuesta Batuco	Bt	35°17'46" / 71°58'14"	267	15	PF	179951
	El Colorado	EC	35°38'53" / 71°15'12"	473	15	BN	179952
	El Morro	Mr	35°27'33" / 71°53'25"	258	15	BN	179953
	Fundo El Peral	EP	35°25'10" / 71°49'40"	81	15	AG	179954

Región	Localidad	Código Localidad	Coordenadas Geográficas (Lat. S / Long. W)	Altura (m.s.n.m.)	Num. Ind	Matriz Uso Suelo ¹	Código CONC
Región del Bío-Bío	Potrero Grande	PG	35°12'51" / 71°03'41"	491	15	BN	179955
	Risco Afuera	RA	35°24'42" / 72°05'56"	245	15	PF	179956
	Tregualemu	Tg	35°57'25" / 72°44'48"	10	15	PF	179957
	Vuelta El Horno	EH	35°59'07" / 71°28'01"	439	15	BN	179958
	Zapallar	Zp	35°02'48" / 71°07'26"	288	15	BN	179959
	Cuesta Tomeco	CT	36°58'29" / 72°39'18"	205	15	AG	179960
	La Invernada	LI	36°52'11" / 71°37'20"	808	15	BN	179961
	San Fabián de Alico	FA	36°30'52" / 71°37'37"	450	15	PF	179962
	Santa Bárbara	SB	37°36'37" / 72°07'42"	200	15	AG	179963
	Trehuaco	Tr	36°23'56" / 72°38'44"	143	15	PF	179964
	Villa Mercedes	VM	37°22'08" / 71°52'33"	406	15	PF	179965

¹ Matriz de uso de suelo circundante corresponde a Letelier *et al.* (2017) donde AG= Uso Agrícola, BN= Bosque Nativo y PF= Plantación Forestal.

Cuadro II: Estimadores genéticos de diversidad haplotípica de marcadores microsatélites universales de cloroplasto (SSRcp) en las localidades de *Quillaja saponaria*. Los códigos de localidades siguen la nomenclatura usada en el Cuadro I y siguen un ordenamiento Norte a Sur.

Localidad	n	A	P	Ne	Rh	He	D ² sh
SC	15	3	0	2.419	1.297	0.629	0.362
CE	15	3	0	2.273	1.164	0.600	0.267
AN	15	5	0	3.000	1.615	0.714	0.571
CC	15	3	0	2.419	1.297	0.629	0.362
Ch	9	2	0	1.246	0.444	0.222	0.074
SM	13	3	0	1.857	1.013	0.500	0.205
LP	4	4	0	4.000	3.000	1.000	0.667
Tb	8	4	1	2.286	1.500	0.643	2.274
CCH	15	5	0	3.169	1.716	0.733	0.495
LD	7	4	0	3.769	2.143	0.857	0.571
Dp	15	3	0	1.923	1.021	0.514	0.267
Ca	15	3	0	2.419	1.297	0.629	0.305
SJ	8	5	1	4.000	2.214	0.857	11.857
TA	11	4	0	2.200	1.342	0.600	0.291
SV	11	3	0	2.373	1.273	0.636	0.303
Cu	15	4	0	2.848	1.538	0.695	1.124
LR	15	5	0	2.848	1.621	0.695	0.502
LM	14	6	1	3.267	1.833	0.747	0.897
Mo	15	4	0	2.368	1.369	0.619	0.457
RN	15	2	0	1.142	0.267	0.133	0.044
LG	15	4	0	2.922	1.558	0.705	0.425
CV	11	3	0	1.458	0.727	0.345	0.133
Zp	15	6	1	3.462	1.862	0.762	0.794
PG	15	4	0	1.531	0.800	0.371	0.248
Bt	15	3	0	2.922	1.512	0.705	0.425
As	15	3	0	2.419	1.297	0.629	0.305
RA	14	5	0	2.882	1.612	0.703	0.689
EP	14	7	0	4.900	2.248	0.857	0.938
Mr	12	6	0	3.273	1.879	0.758	0.803
EC	15	3	1	1.316	0.533	0.257	0.235
Gu	12	5	0	4.000	2.016	0.818	1.030
Tg	14	5	1	3.379	1.797	0.758	1.289
EH	15	5	0	2.922	1.595	0.705	0.406
Tr	13	5	0	3.930	1.969	0.808	1.000
FA	13	7	0	5.828	2.413	0.897	1.060

Localidad	n	A	P	Ne	Rh	He	D ² sh
LI	14	7	1	5.765	2.384	0.890	1.040
CT	15	3	0	2.228	1.149	0.590	0.787
VM	15	4	0	2.922	1.558	0.705	0.654
SB	14	5	2	2.579	1.512	0.659	31.062
Promedio	13.2	4.2	0.2	2.884	1.523	0.656	1.672

A= Número haplotipos detectados; P= Número haplotipos privados; Ne= Número efectivo de haplotipos; Rh= Riqueza haplotípica; He= Diversidad Genética; D²sh= Distancia media genética entre individuos.

Cuadro III: Frecuencia y distribución de haplotipos privados en las localidades de *Quillaja saponaria* para los SSRcp.

Código de Haplótipo	Haplótipo (ccmp 2, 7 y 10) ¹	Localidad	Frecuencia
Haplótipo 1	200 141 143	SB	0.214
Haplótipo 2	200 141 144	SB	0.071
Haplótipo 3	204 141 144	SJ	0.125
Haplótipo 4	213 140 144	LI	0.071
Haplótipo 6	214 139 142	Tb	0.125
Haplótipo 15	215 142 144	LM	0.149
Haplótipo 19	216 142 143	EC	0.067
Haplótipo 20	216 142 144	Zp	0.067
Haplótipo 21	216 142 145	Tg	0.071

¹ Microsatélites universales de cloroplasto (SSRcp) de Weising & Gardner (1999).

Cuadro IV: Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) de SSRcp y SSRn para las localidades de *Quillaja saponaria*.

(A) SSRcp

Fuente de Variación	G.D.	S.C.	Varianza	Porcentaje de variación	P	F_{ST}
Entre poblaciones	38	82.623	0.13020	22.31	<0.001	0.223
Dentro poblaciones	477	216.317	0.45349	77.69		
Total	515	298.940	0.58370			

(B) SSRn

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Varianza	Porcentaje de variación	P	F_{ST}
Entre poblaciones	38	629.075	16.555	13.00	<0.001	0.129
Dentro poblaciones	534	1786.500	3.346	87.00		
Total	572	2415.575	19.900			

G.D.= Grados de libertad; S.C.= Suma de cuadrados; P= significancia del índice de fijación; F_{ST} = Índice de fijación promedio de loci y poblaciones.

Cuadro V: Análisis de correlaciones significativas entre los estimadores genéticos de SSRcp y SSRn respecto de variables geográficas, climáticas y de la matriz vegetacional asociada a las localidades estudiadas.

(A) SSRcp

Variable dependiente	Variable Independiente	Función	R ²	P
Número de Haplótipos (A)	Índice de Aridez de De Martonne (IAdMart)	A = 3.3512853 + 0.0271188*IAdMart	0.13	0.024
Número de Haplótipos (A)	Latitud	A = -6.623657 - 0.3151499*LATITUD	0.18	0.008
Número de Haplótipos (A)	Precipitación anual (PP_mm)	A = 3.2410113 + 0.0013312*PP_mm	0.14	0.019

(B) SSRn

Variable dependiente	Variable Independiente	Función	R ²	P
Grupo Genético 1, K= 2 (K2_G1)	Latitud	K2_G1 = -1.76393 - 0.0619362*LATITUD	0.10	0.050
Grupo Genético 2, K= 2 (K2_G2)	Latitud	K2_G2 = 2.7639302 + 0.0619362*LATITUD	0.10	0.050
Grupo Genético 4, K= 4 (K4_G4)	Latitud	K4_G4 = -1.783394 - 0.0601361*LATITUD	0.10	0.049
Grupo Genético 2, K= 4 (K4_G2)	Altura	K4_G2 = 0.0407099 + 0.0004857*ALTURA	0.26	0.001
Grupo Genético 3, K= 4 (K4_G3)	Altura	K4_G3 = 0.3994709 - 0.000272*ALTURA	0.10	0.045
Grupo Genético 3, K= 4 (K4_G3)	Temperatura Media Anual (TMA_gC)	K4_G3 = -0.698138 + 0.0708698*TMA_gC	0.14	0.018

Cuadro VI: Estimadores genéticos para SSRn en las localidades de *Quillaja saponaria*. Los códigos de localidades siguen la nomenclatura usada en el Cuadro I y siguen un ordenamiento Norte a Sur.

Localidad	n	Na	Ne	I	Ho	He	uHe	F
SC	15	3.600±0.400	2.644±0.233	1.030±0.092	0.913±0.034	0.600±0.029	0.620±0.030	-0.551±0.088
CE	15	5.800±0.772	3.487±0.546	1.355±0.129	0.840±0.045	0.665±0.037	0.688±0.039	-0.272±0.053
AN	11	3.500±0.522	2.377±0.386	0.921±0.120	0.563±0.090	0.516±0.048	0.541±0.051	-0.073±0.154
CC	15	4.600±0.581	3.020±0.331	1.192±0.116	0.755±0.053	0.632±0.039	0.654±0.040	-0.233±0.105
Ch	9	4.000±0.333	2.849±0.233	1.183±0.084	0.627±0.030	0.627±0.030	0.664±0.032	-0.273±0.105
SM	14	4.800±0.712	3.050±0.429	1.208±0.119	0.768±0.068	0.631±0.036	0.655±0.037	-0.225±0.093
LP	8	4.500±0.543	3.156±0.433	1.210±0.138	0.513±0.078	0.621±0.057	0.664±0.059	0.173±0.094
Tb	14	5.300±0.967	3.829±0.567	1.348±0.176	0.537±0.103	0.664±0.062	0.689±0.064	0.272±0.117
CCH	11	4.200±0.712	2.909±0.529	1.043±0.195	0.299±0.077	0.531±0.089	0.558±0.094	0.479±0.088
LD	12	5.000±0.667	3.578±0.484	1.323±0.126	0.604±0.086	0.675±0.042	0.706±0.044	0.139±0.101
Dp	15	4.700±0.448	2.948±0.347	1.154±0.140	0.527±0.088	0.592±0.069	0.613±0.071	0.194±0.114
Ca	14	4.600±0.636	3.010±0.439	1.154±0.147	0.467±0.074	0.594±0.064	0.618±0.066	0.198±0.089
SJ	9	4.000±0.494	2.963±0.417	1.121±0.135	0.514±0.095	0.602±0.057	0.640±0.060	0.198±0.150
TA	13	4.600±0.600	3.299±0.412	1.263±0.117	0.577±0.060	0.660±0.036	0.689±0.037	0.127±0.069
SV	15	4.300±0.539	3.018±0.505	1.146±0.133	0.569±0.055	0.604±0.048	0.625±0.050	0.061±0.079
Cu	15	4.800±0.512	3.106±0.293	1.251±0.093	0.755±0.060	0.654±0.029	0.677±0.030	-0.161±0.092
LR	15	4.100±0.458	2.888±0.383	1.108±0.120	0.773±0.091	0.598±0.052	0.618±0.054	-0.248±0.100
LM	15	4.600±0.499	2.985±0.305	1.196±0.105	0.780±0.060	0.629±0.042	0.651±0.043	-0.243±0.063
Mo	15	4.700±0.895	3.242±0.634	1.170±0.172	0.733±0.078	0.599±0.060	0.619±0.062	-0.228±0.064
RN	15	4.500±0.860	3.204±0.429	1.204±0.142	0.827±0.052	0.643±0.040	0.665±0.042	-0.307±0.088
LG	15	4.400±0.636	2.963±0.229	1.197±0.098	0.880±0.034	0.645±0.026	0.667±0.027	-0.387±0.083
CV	11	3.600±0.221	2.700±0.214	1.071±0.066	0.709±0.085	0.611±0.028	0.640±0.030	-0.165±0.137
Zp	14	4.500±0.601	2.891±0.305	1.161±0.104	0.706±0.049	0.625±0.032	0.649±0.033	-0.128±0.048

Localidad	n	Na	Ne	I	Ho	He	uHe	F
PG	15	4.300±0.761	3.037±0.566	1.102±0.167	0.720±0.107	0.583±0.072	0.603±0.074	-0.250±0.117
Bt	12	3.800±0.533	2.567±0.254	1.047±0.095	0.580±0.074	0.584±0.031	0.610±0.032	0.003±0.121
As	13	3.900±0.100	2.561±0.384	0.991±0.137	0.456±0.102	0.542±0.054	0.564±0.057	0.181±0.181
RA	14	4.400±0.476	3.097±0.390	1.202±0.105	0.574±0.084	0.636±0.038	0.660±0.039	0.082±0.137
EP	15	5.200±0.929	3.401±0.601	1.262±0.153	0.796±0.063	0.644±0.043	0.666±0.045	-0.246±0.086
Mr	15	4.400±0.618	3.031±0.450	1.168±0.125	0.649±0.104	0.624±0.039	0.646±0.040	-0.020±0.161
EC	15	4.400±0.581	3.047±0.359	1.198±0.103	0.733±0.062	0.641±0.031	0.663±0.032	-0.154±0.096
Gu	12	4.600±0.686	3.316±0.520	1.248±0.122	0.900±0.043	0.659±0.030	0.687±0.032	-0.382±0.078
Tg	14	3.800±0.512	2.691±0.325	1.048±0.121	0.737±0.080	0.584±0.042	0.606±0.044	-0.247±0.122
EH	15	5.000±0.494	3.625±0.439	1.342±0.107	0.820±0.040	0.690±0.033	0.714±0.034	-0.199±0.057
Tr	15	4.700±0.616	3.421±0.519	1.263±0.130	0.626±0.087	0.660±0.039	0.685±0.041	0.064±0.118
FA	15	5.300±0.746	3.377±0.376	1.308±0.129	0.740±0.057	0.669±0.036	0.692±0.037	-0.115±0.082
LI	15	5.300±0.775	3.343±0.422	1.306±0.119	0.658±0.073	0.664±0.035	0.688±0.036	0.017±0.097
CT	14	5.200±0.629	3.194±0.325	1.293±0.108	0.601±0.031	0.657±0.033	0.682±0.034	0.079±0.033
VM	15	4.700±0.700	3.159±0.430	1.197±0.141	0.639±0.086	0.624±0.054	0.646±0.056	0.038±0.118
SB	15	4.600±0.806	3.100±0.542	1.150±0.156	0.526±0.059	0.600±0.058	0.621±0.060	0.096±0.079
Promedio	13.449±0.107	4.521±0.100	3.079±0.066	1.182±0.020	0.671±0.013	0.623±0.007	0.647±0.008	-0.070±0.019

n= número de individuos; Na= Número de alelos diferentes; Ne= Número efectivo de alelos; I= Índice de Shannon; Ho= Heterocigosidad observada; He= Heterocigosidad esperada; uHe= Heterocigosidad esperada unbiased; F= Índice de fijación.

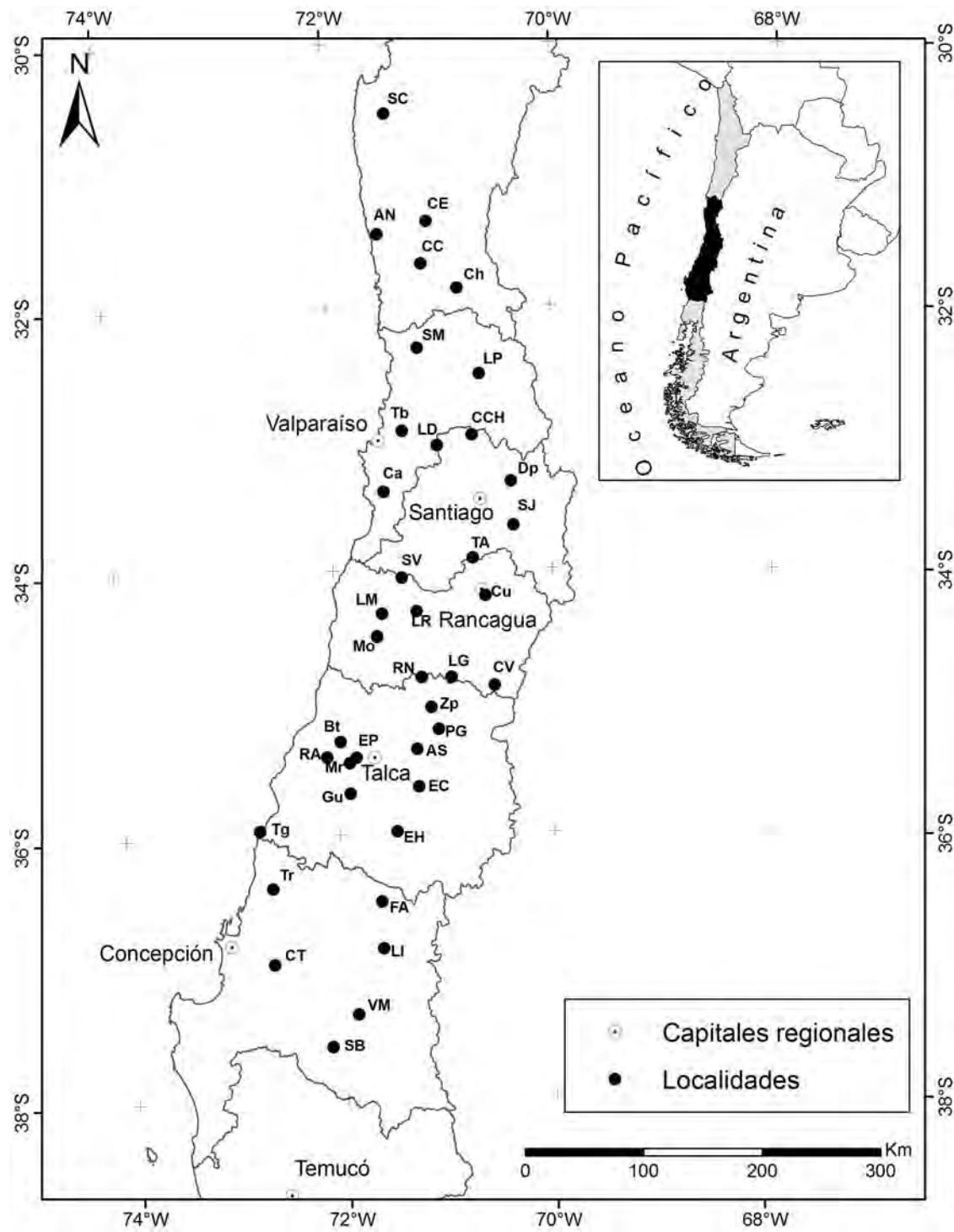


Figura 1: Localización de los sitios muestreados. Los códigos de nombres se enumeran en el Cuadro I.

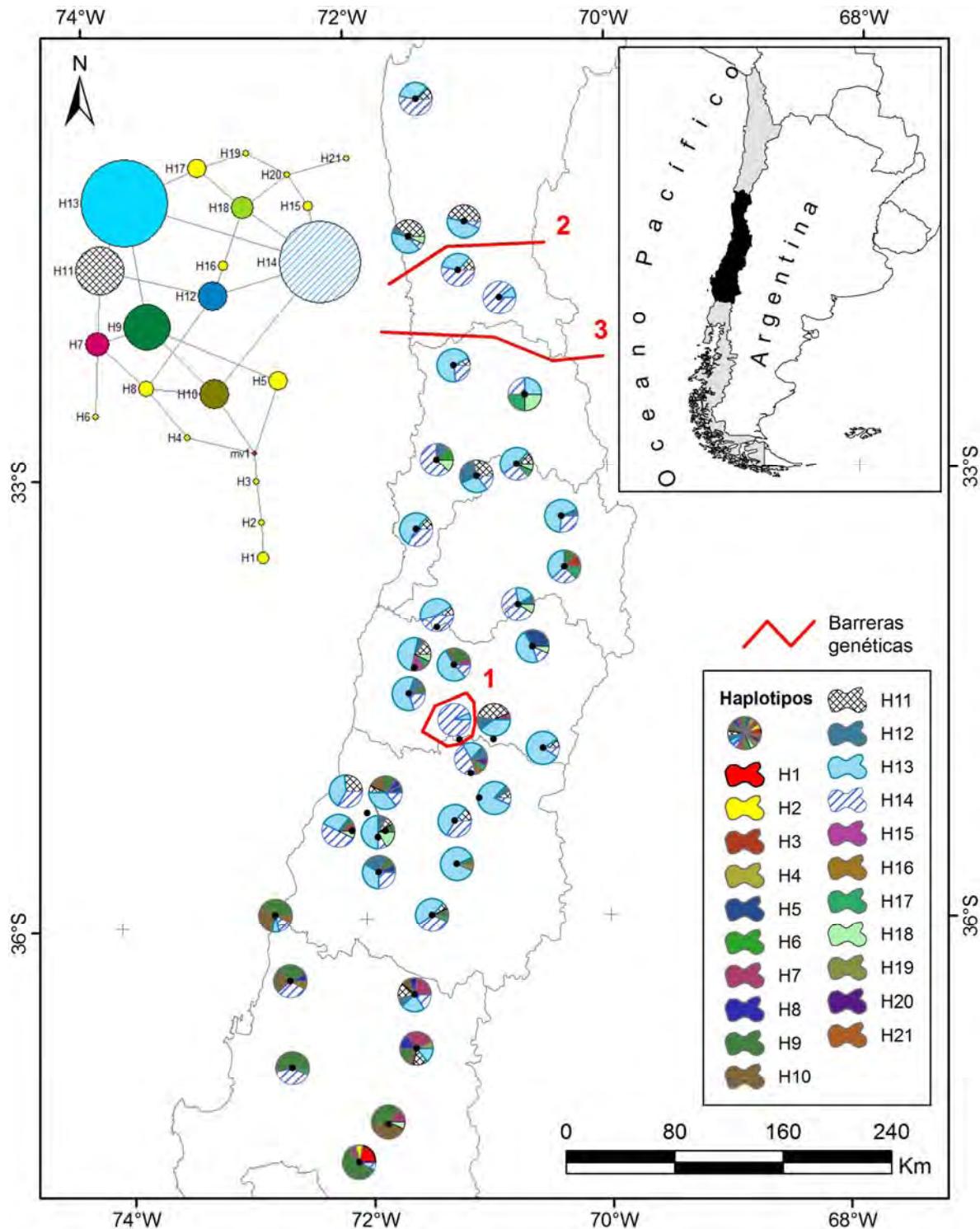


Figura 2: Distribución espacial de los haplotipos de SSRcp, la red de haplotipos y las barreras genéticas detectadas por Barriers 2.2.

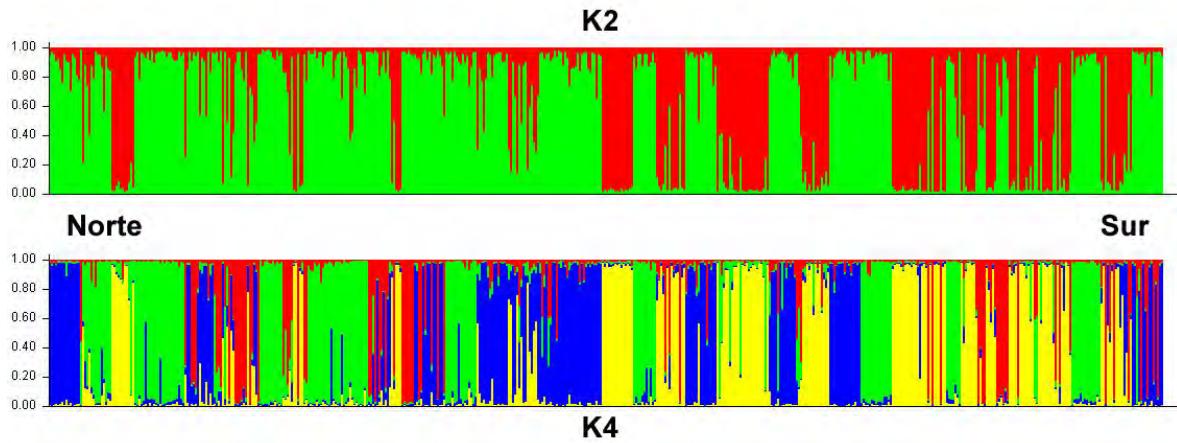


Figura 3: Histograma de los grupos genéticos ordenados de Norte a Sur, obtenidos del análisis de Structure para $K= 2$ y $K= 4$.

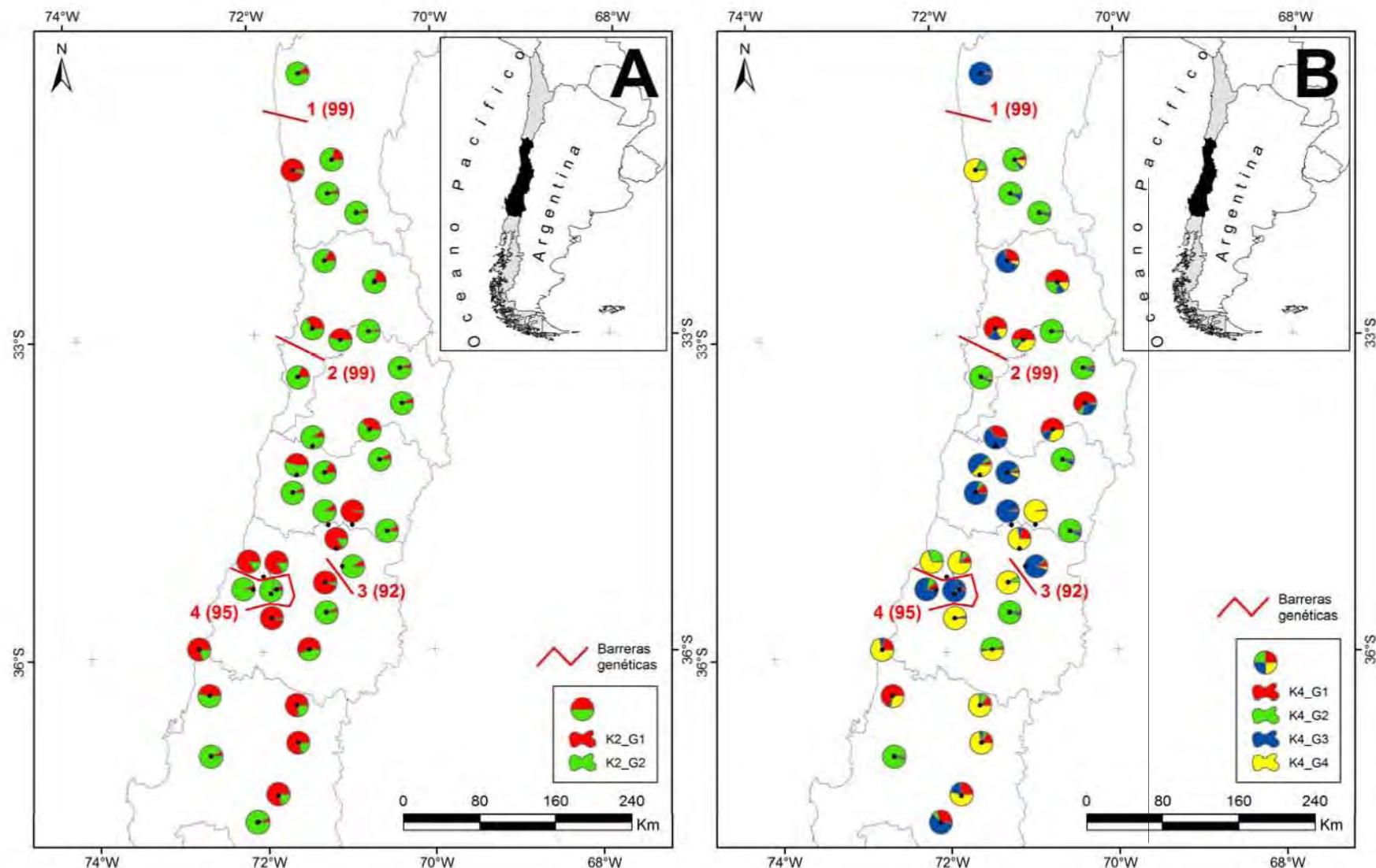


Figura 4: Distribución espacial de los grupos genéticos obtenidos del análisis de Structure para $K=2$ (figura 4A) y $K=4$ (figura 4B) y de las barreras genéticas encontradas con Barriers 2.2. Los números entre paréntesis indican el valor de sustentación de la barrera.

Cuadro SI: Análisis de cuellos de botella realizado con Bottleneck 1.2.02 a las 39 localidades muestreadas de *Q. saponaria*. Los códigos de localidades siguen la nomenclatura usada en el Cuadro I y siguen un ordenamiento Norte a Sur.

Localidad	He Prom ¹	p_sign_IAM ²	p_W_1t_IAM ³	p_W_2t_IAM ⁴	CB ⁵	Matriz Uso Suelo ⁶
SC	0.6202	0.002	0.000	0.001 *	PF	
CE	0.6885	0.153	0.053	0.105	BN	
AN	0.5412	0.263	0.097	0.193	AG	
CC	0.6542	0.031	0.001	0.002 *	BN	
Ch	0.6641	0.003	0.000	0.001 *	BN	
SM	0.6549	0.139	0.005	0.010	AG	
LP	0.6642	0.044	0.042	0.084 *	AG	
Tb	0.6890	0.004	0.000	0.001 *	AG	
CCH	0.5584	0.174	0.082	0.164	BN	
LD	0.7059	0.032	0.002	0.005 *	AG	
Dp	0.6129	0.307	0.138	0.275	BN	
Ca	0.6179	0.122	0.065	0.131	AG	
SJ	0.6398	0.028	0.002	0.005 *	AG	
TA	0.6890	0.004	0.000	0.001 *	AG	
SV	0.6250	0.112	0.007	0.014	BN	
Cu	0.6773	0.004	0.000	0.001 *	BN	
LR	0.6184	0.032	0.003	0.007 *	BN	
LM	0.6506	0.126	0.005	0.010	AG	
Mo	0.6193	0.024	0.003	0.007 *	BN	
RN	0.6651	0.002	0.000	0.001 *	AG	
LG	0.6674	0.027	0.001	0.003 *	AG	
CV	0.6398	0.030	0.001	0.002 *	BN	
Zp	0.6486	0.120	0.007	0.014	BN	
PG	0.6032	0.049	0.003	0.006 *	BN	
Bt	0.6098	0.025	0.002	0.005 *	PF	
AS	0.5638	0.025	0.009	0.019 *	AG	
RA	0.6599	0.031	0.001	0.003 *	PF	
EP	0.6664	0.033	0.001	0.002 *	AG	
Mr	0.6457	0.003	0.000	0.001 *	BN	
EC	0.6628	0.003	0.000	0.001 *	BN	
Gu	0.6873	0.004	0.000	0.001 *	AG	
Tg	0.6061	0.025	0.001	0.002 *	PF	
EH	0.7138	0.004	0.000	0.001 *	BN	
Tr	0.6851	0.029	0.001	0.002 *	PF	
FA	0.6922	0.003	0.000	0.001 *	PF	
LI	0.6878	0.145	0.003	0.007	BN	
CT	0.6820	0.141	0.053	0.105	AG	
VM	0.6459	0.033	0.009	0.019 *	PF	
SB	0.6210	0.113	0.042	0.084	AG	

¹ He Prom= Heterocigosidad esperada promedio; ² p_sign_IAM= Significancia de la prueba de ranqueo del modelo de alelos infinitos; ³ p_W_1t_IAM= Significancia de la prueba de Wilcoxon a una vía, siguiendo el modelo de alelos infinitos; ⁴ p_W_2t_IAM= Significancia de la prueba de Wilcoxon a dos vías, siguiendo el modelo de alelos infinitos; ⁵ CB= Presencia de cuello de botella en las localidades, (*) indica la presencia de cuello de botella; ⁶ Matriz de uso de suelo circundante corresponde a Letelier *et al.* (2017) donde AG= Uso Agrícola, BN= Bosque Nativo y PF= Plantación Forestal.

PRIMER NOTE

**Isolation and Characterization of 12 Microsatellite Loci in the Soapbark, *Quillaja Saponaria*
(*Quillajaceae*)¹**

LUIS LETELIER^{2,6}, NICK HARVEY³, ALY VALDERRAMA^{2,4}, ALEXANDRA STOLL⁵, AND ANTONIO GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ²

² Centro de Investigaciones en Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México, Antigua Carretera a Pátzcuaro N° 8701, Col. Ex -Hacienda de San José de la Huerta, Morelia, CP 58190, México.

³ Genetic Marker Services, Brighton, England.

⁴ Current address: Universidad Bernardo O Higgins, Centro de Investigación en Recursos Naturales y Sustentabilidad, General Gana 1702, Santiago, Chile.

⁵ Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas, Campus Andrés Bello, Universidad de La Serena, La Serena, Chile.

Email addresses: LL: lletelier@cieco.unam.mx

AV: avalderrama@cieco.unam.mx

AS: alexandra.stoll@ceaza.cl

NH: nickgharvey@geneticmarkerservices.com

AGR: agrodrig@cieco.unam.mx

Number of words: 1049

¹ Manuscript received 03-09-2015; revision accepted 03-25-2016.

⁶ Author for correspondence: lletelier@cieco.unam.mx

We thank Chile Abroad Grants programme, Doctorate level – Call 2010, National Commission for Scientific and Technological Research (CONICYT, Chile); II Competitive Native Forest Research Fund (Project N°041-2011), National Forestry Corporation (CONAF, Chile); Post-graduate Programme in Biological Sciences of the Autonomous National University of Mexico, fulfilling the requirement for the degree of Doctor in Sciences of the Biological Sciences post-graduate programme.

- *Premise of the study:* Microsatellite primers were developed for the endemic Chilean tree *Quillaja saponaria*, a common member of the sclerophyllous mediterranean forest, to investigate intraspecific patterns of genetic diversity and structure.
- *Methods and Results:* Using an enriched library, twelve polymorphic microsatellite loci were developed in *Quillaja saponaria*. All loci consisted of dinucleotide repeats. The average number of alleles per locus was 5.3 (2–13) with a total of 64 alleles recorded in 39 individuals from three populations.
- *Conclusions:* The microsatellite markers developed are the first ones characterized for *Q. saponaria*. The polymorphic loci described will be useful in studies of genetic diversity and genetic population differentiation in natural populations of this species.

Key words: *Quillaja saponaria*; Quillajaceae; microsatellites; soapbark; Chile.

INTRODUCTION

Quillaja saponaria Molina is an endemic Chilean tree, known as soapbark, soap bark tree or Quillay (as is known in Chile). It is an evergreen tree of the family Quillajaceae (Kubitzki, 2007); found from the Coquimbo Region to the Arauco Province in the Bío-Bío Region, approximately between 31° and 38° south (García and Ormazabal, 2008). It grows from sea level to 1600 m a.s.l., preferably in dry areas which are poor in nutrients. The family is monotypic with a single genus and two species from warm-temperate South America (Chile, Brazil and northern Argentina). *Q. saponaria* is considered one of the most important and representative species of the sclerophyllous forest from central Chile and these communities are part of a biodiversity hotspot called the Chilean Winter Rainfall-Valdivian Forest (Mittermeier et al., 1998, Myers et al., 2000). Moreover, *Q. saponaria* is a timber species (García and Ormazabal, 2008), its flowers are melliferous (Montenegro et al., 2009) and the bark is rich in saponins and medicinal adjuvants (Kensil et al., 1991, San Martín and Briones, 1999).

Our purpose is to evaluate the effects of anthropogenic fragmentation on the patterns of genetic variation and connectivity in populations of *Q. saponaria*. For this reason, we isolated and characterized twelve

nuclear microsatellite loci that are being successfully applied to describe spatial patterns of genetic structure. These are the first microsatellite markers developed for a *Quillaja* species.

METHODS AND RESULTS

Microsatellite isolation was performed by the SSR development company Genetic Marker Services (Brighton, UK; www.geneticmarkerservices.com). Genomic DNA was extracted from a single *Quillaja saponaria* (Qsa) individual collected in the locality of Coya, near the city of Rancagua, O'Higgins Region, Chile (Locality five in Appendix 1) using a modified CTAB protocol described by Doyle and Doyle (1990), and used to develop an enriched library in order to isolate microsatellite (SSR) containing loci. Enrichment involved incubating adaptor-ligated restricted DNA with filter-bonded synthetic repeat motifs: [AG]17, [AC]17, [AAC]10, [CCG]10, [CTG]10, and [AAT]10. Thirty-two motif-positive *Escherichia coli* JM109 clones were detected and sequenced, of which 23 contained exploitable repeat motifs with sufficient flanking regions to design Forward/Reverse primer pairs. The online primer design software PRIMER 3.0 (Rozen and Skaletsky, 2000) was used to developed primer pairs amplifying fragments ranging in size from 100–250 bp, to help minimize later multi-loading overlap ambiguities during sequencer genotyping. The primers were then tested for successful amplification on one individual from each of seven populations, chosen to represent the whole latitudinal range of the species' distribution (Cuesta el Espino, Cuesta Los Cristales, Santa Marta, Fundo La Rosa, La Gatera, San Fabián de Alico, and Santa Bárbara; Appendix 1) using a touchdown PCR protocol. PCR amplifications were performed in a 25 µL final volume containing 7 pmol of each primer, 1.5 mM of MgCl₂, 0.2 mM of each dNTP, 1 X PCR buffer, 0.8 µg/µL bovine serum albumin (BSA), 0.5 unit Taq Polymerase (Promega Corporation, Madison, Wisconsin, USA), and 1.5 µL of DNA diluted 20-fold. For all loci, the same touchdown PCR program was used, consisting of 32 cycles with denaturation at 95°C for 60 s, annealing for 60 s with temperature decreasing 1°C every two cycles from 64 to 59°C (12 cycles), then 10 cycles at 58°C, and 10 cycles at 57°C, elongation at 72°C for 60 s, and a final extension at 72°C for 5 min. Products were checked for specificity and polymorphism on a cooled high-resolution agarose gel, consisting of 4% MetaPhor (Lonza, Basel, Switzerland) agarose in TAE, run in a cold room at 10°C. Sixteen loci showed clear and specific bands with size variation among the seven

individuals assayed (Table 1). Out of these, the 12 with the higher degree of apparent polymorphism were chosen for fluorescent labelling (Table 1).

To determine the number of alleles (A), expected and observed heterozygosity (H_e and H_o , respectively) and to test for deviations from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) and linkage disequilibrium, we tested the twelve fluorescent labelled primer pairs on 39 individuals from three different populations, situated in the northern and southern parts of the species' range (i.e., Angostura, Astillero, and Cuesta Batuco; numbers 1, 8 and 9 in Appendix 1). The PCR amplifications were performed with the Platinum Multiplex PCR Master Mix (Applied Biosystems, Carlsbad, USA) using three mixes, each of four fluorescent labelled primers (Applied Biosystems, Warrington, United Kingdom; Table 1): Mix 1 (Qsa7, Qsa11, Qsa13, Qsa24), Mix 2 (Qsa16, Qsa17, Qsa18, Qsa70) and Mix 3 (Qsa19, Qsa26, Qsa28, Qsa66). The PCR amplifications were performed in a 5 µL final volume containing final concentrations of 1x Platinum Multiplex PCR Master Mix, 2 mM of additional MgCl₂, 0.10 µM of primer mix, and 20 ng of template DNA, with the following cycling conditions in all cases: an initial heat activation at 94°C for 5 min, followed with a touchdown PCR consisting of 32 cycles with denaturation at 95°C for 60 s, annealing for 60 s with temperature decreasing 1°C every two cycles from 64 to 59°C (12 cycles), then 10 cycles at 58°C and 10 cycles at 57°C, elongation at 72°C for 60 s, and a final extension at 72°C for 5 min. The PCR products (2 µL) were mixed with 10 µL of Hi-Di formamide and 0.3 µL of GeneScan 600-LIZ size standard before analysis on an automatic ABI-PRISM 3100-Avant (Applied Biosystems, Carlsbad, USA) sequencer. Fragment analysis and final sizing was performed using the Peak Scanner software, version 1.0 (Applied Biosystems).

The number of alleles (A), expected and observed heterozygosity (H_e and H_o , respectively), and the significance of the deviations from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE), and from linkage equilibrium were estimated with ARLEQUIN 3.5.1.2 (Excoffier et al., 2005). The average of the total number of alleles per locus was 5.3, with a range between two (Qsa24) and 13 (Qsa19). Significant deviations from expectations under HWE after a Bonferroni correction for multiple comparisons were found in three loci from population Astillero, and in two loci from Cuesta Batuco, probably due to the small sample sizes or to the presence of null alleles, particularly in the case of the heterozygote deficits observed at loci Qsa26 and Qsa66 in population Astillero and at Qsa66 in Cuesta Batuco (Table 2). No instances of significant linkage disequilibrium were found among pairs of loci after the Bonferroni correction.

CONCLUSIONS

The 12 microsatellite loci characterized here for *Q. saponaria* are the first developed for this species and genus. These markers will be useful in studies of the population genetic diversity and structure of the species for the purpose of conservation under a scenario of land-use and climate change.

LITERATURE CITED

- DOYLE, J. J., AND J. L. DOYLE. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- EXCOFFIER, L., G. LAVAL, AND S. SCHNEIDER. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47-50.
- GARCÍA, N., AND C. ORMAZABAL. 2008. Árboles Nativos de Chile. Enersis S.A., Santiago de Chile.
- KENSIL, C. R., U. PATEL, M. LENNICK, AND D. MARCIANI. 1991. Separation and characterization of saponins with adjuvant activity from *Quillaja saponaria* Molina cortex. *The Journal of Immunology* 146: 431-437.
- KUBITZKI, K. 2007. Quillajaceae. In K. Kubitzki [ed.], *The Families and Genera of Vascular Plants: Flowering Plants Eudicots*, vol. 9, 407-408. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Deutschland.
- MITTERMEIER, R. A., N. MYERS, J. B. THOMSEN, G. A. B. DA FONSECA, AND S. OLIVIERI. 1998. Biodiversity hotspots and major tropical wilderness areas: Approaches to setting conservation priorities. *Conservation Biology* 12: 516-520.
- MONTENEGRO, G., F. SALAS, R. C. PEÑA, AND R. PIZARRO. 2009. Actividad antibacteriana y antifúngica de mieles monoflorales de *Quillaja saponaria*, especie endémica de Chile. *Phyton (Buenos Aires)* 78: 141-146.
- MYERS, N., R. A. MITTERMEIER, C. G. MITTERMEIER, G. A. B. DA FONSECA, AND J. KENT. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.
- ROZEN, S., AND H. J. SKALETSKY. 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In S. Krawetz and S. Misener (eds.), *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*, 365-386. Humana Press, Totowa, NJ.

SAN MARTÍN, R., AND R. BRIONES. 1999. Industrial uses and sustainable supply of *Quillaja saponaria* (Rosaceae) saponins. *Economic Botany* 53: 302-311.

TABLE 1. Characteristics of sixteen microsatellite loci developed in *Quillaja saponaria*.

Locus	Primer sequences (5'-3')	Repeat motif	Size range (bp)	Dye	GenBank accession no.
Qsa7	F: TGAAAGAACGTGTGTGAGAA R: AATTCCAAAATGCCAGCAGA	(AG) ₁₀	116-124	6-FAM	KP775627
Qsa11	F: TCTCTACCAGGTCTTGCTCA R: AAACACTTATGCCTTCGCAGA	(TG) ₈	148-154	NED	KP775628
Qsa13	F: CGCAGACATGCTTCTAGTTC R: CAAAAAGCTTAGCGACAAAC	(GA) ₁₄	158-166	VIC	KP775629
Qsa16	F: AACCGTCTCAACCACATACA R: GGAAGAGGGTGAAAATGAAA	(CT) ₁₅	205-221	NED	KP775630
Qsa17	F: TTGGGGTATGAAAACATTGA R: AAAGGCATTCCCACATAAAG	(AG) ₁₂	136-144	6-FAM	KP775631
Qsa18	F: TGGAGCTAGGTTACTCGTTGG R: AAGCCACGATTCATACATTCA	(TG) ₆	112-122	PET	KP775632
Qsa19	F: AGAATTGGGTGTGAGGACT R: TAGGAAAATCCCAGCAAGCA	(AG) ₁₅	120-150	VIC	KP775633
Qsa24	F: TTCTTGGTTTTGTTTGCTC R: GCAAAGGTCGCTACAGTTT	(TG) ₉	133-135	PET	KP775634
Qsa26	F: AACTCACAGTGACGACTTTCTCA R: GGAGTCTGTGCTGGTAGTGG	(TC) ₉	93-97	NED	KP775635
Qsa28	F: GTACTACTAGCTAGAACTCCCC R: GACCTAGTCCTCTTTGTGT	(TC) ₁₀	160-174	NED	KP775636
Qsa66	F: TTGGGGATATGTCGGGTAGA R: CACCAACGCAATCAAACATT	(AG) ₁₁	151-163	PET	KP775637
Qsa70	F: TTTGGAGCTGGTGTGAA R: AATACCGGACAACCATGAGG	(TTC) ₈	126-130	NED	KP775638
*Qsa29	F: CAAGTGCAGACAGTCAATCTG R: TGCTGCCAGAAATTCTAGAT	(AG) ₁₆	200		KP775639
*Qsa30	F: GATTGCCAGAACAAAGTGAA R: AATTCCATTACACATTACAAAA	(TC) ₁₃	199		KP775640
*Qsa31	F: GATTTGGCGATGGAAAAAA R: TGTCACCGTCATTCGCTAAA	(AG) ₉	122		KP775641
*Qsa32	F: ATTGATCAGATGTGCGGTTG R: TCTCCTCTCCCTCACTGGAA	(AG) ₁₁	160		KP775642

* Untested for polymorphism.

TABLE 2. Genetic properties of twelve newly developed microsatellites of *Quillaja saponaria*.^a

Locus	A	Angostura (n=11)			Astillero (n=14)			Cuesta Batuco (n=14)				
		H_o	H_e	HWE	H_o	H_e	HWE	H_o	H_e	HWE		
Qsa7	3	0.778	0.582	0.712	5	0.385	0.729	0.003	3	0.545	0.537	1.000
Qsa11	3	0.545	0.437	1.000	3	0.500	0.489	0.141	3	0.917	0.620	0.035
Qsa13	3	0.909	0.589	0.043	4	0.929	0.664	0.092	3	0.667	0.627	1.000
Qsa16	3	0.750	0.633	0.703	7	0.857	0.746	0.328	6	0.917	0.728	0.559
Qsa17	3	0.300	0.689	0.028	4	0.286	0.704	0.002	4	0.214	0.680	0.004
Qsa18	3	0.818	0.541	0.115	3	0.429	0.421	0.632	3	0.714	0.540	0.420
Qsa19	8	0.818	0.861	0.200	9	0.692	0.846	0.018	8	0.786	0.786	0.470
Qsa24	2	0.545	0.416	0.506	2	0.429	0.349	1.000	2	0.583	0.489	0.593
Qsa26	3	0.182	0.450	0.009	2	0.000	0.492	0.0003*	3	0.286	0.579	0.005
Qsa28	4	0.636	0.567	0.322	4	0.923	0.591	0.0009*	5	0.786	0.659	0.0013*
Qsa66	3	0.100	0.279	0.052	3	0.000	0.283	0.002*	4	0.214	0.431	0.000*
Qsa70	3	0.364	0.450	0.085	2	0.357	0.304	1.000	2	0.571	0.423	0.506

Note: A = number of alleles sampled; H_o = observed heterozygosity; H_e = expected heterozygosity; n = number of individuals sampled;

HWE = P values of the exact test of Hardy-Weinberg equilibrium.

^a See Appendix 1 for geographic coordinates and voucher information. All three populations are located in Chile.

* Locus showed significant deviations from Hardy-Weinberg equilibrium, after Bonferroni correction ($P < 0.001$).

Appendix 1. Voucher information for *Quillaja saponaria* samples used in this study.

ID	Locality ^a	Geographic coordinates ^b (Lat. S / Long. W)	Altitude (m a.s.l.)	Collector	Collection date / Accessions	No. of individuals	Used for
							Determining genetic properties
1	Coquimbo Region, Angostura	31°27'00" / 71°31'32"	341	Letelier L & A	10/29/2011 / 201105	11	Determining genetic properties
				Valderrama			
2	Coquimbo Region, Cuesta El Espino	31°21'28" / 71°05'26"	1,413	Letelier L & A	11/01/2011 / 201106	1	Initial testing
				Valderrama			
3	Coquimbo Region, Cuesta Los Cristales	31°40'43" / 71°08'41"	669	Letelier L & A	11/01/2011 / 201107	1	Initial testing
				Valderrama			
4	Valparaiso Region, Santa Marta	32°19'07" / 71°11'35"	200	Letelier L & A	11/02/2011 / 201108	1	Initial testing
				Valderrama			
5	O'Higgins Region, Coya	34°12'19" / 70°36'33"	904	Letelier L & A	03/25/2012 / 201203	1	Development of SSR library
				Valderrama			
6	O'Higgins Region, Fundo La Rosa	34°19'10" / 71°14'28"	390	Letelier L & A	10/10/2011 / 201103	1	Initial testing
				Valderrama			
7	O'Higgins Region, La Gatera	34°49'12" / 70°56'03"	449	Letelier L & A	10/17/2011 / 201104	1	Initial testing
				Valderrama			
8	Maule Region, Astillero	35°21'48" / 71°15'48"	303	Letelier L & A	08/25/2011 / 201102	14	Determining genetic properties
				Valderrama			
9	Maule Region, Cuesta Batuco	35°17'46" / 71°58'14"	267	Letelier L & A	08/11/2011 / 201101	14	Determining genetic properties
				Valderrama			

10	Bío-Bío Region, San Fabián de Alico	36°30'52" / 71°37'37"	450	Letelier L & A Valderrama	03/20/2012 / 201202	1	Initial testing
11	Bío-Bío Region, Santa Bárbara	37°36'37" / 72°07'42"	200	Letelier L & A Valderrama	03/18/2012 / 201201	1	Initial testing

^a State (Region) and locality in Chile, the order of localities follows the North - South orientation of the States and within each State the sites are listed in alphabetical order.

^b Datums: World Geodetic System 1984 (WGS84).

Note: Vouchers deposited at Herbarium CONC, Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Chile.

DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

Teniendo claro el rol ecológico que posee *Q. saponaria*, resultan alarmantes los problemas de perdida de hábitat que presenta la especie y la comunidad de bosque esclerófilo en general en el sistema de áreas protegidas de Chile. Los datos encontrados posteriores al análisis de Vacíos y Omisiones de Conservación (Análisis GAP) presentado en el capítulo 2 de la tesis, muestran una escasa representatividad. El portafolio generado para conservar el bosque esclerófilo representado por las 8 especies endémicas con que se trabajó, resulta en un esfuerzo importante que apunta a una conservación integral de la comunidad.

Si lo anterior lo unimos a los resultados obtenidos del capítulo 1, el efecto encontrado de la matriz vegetacional circundante sobre las comunidades de bosque esclerófilo, resulta muy interesante y prometedor seguir estudiando el tamaño de los fragmentos, para ver como sería posible realizar acciones de restauración ecológica. Pues si consideramos la investigación realizada por Gómez y colaboradores (2011), quienes reportan que el tamaño de los fragmentos influye en el ingreso o no de plántulas y por ende, de individuos de *Pinus radiata* D.Don a las comunidades de bosque nativo. En este sentido, los estudios y resultados presentados en el capítulo 1, no hablan del tamaño de las comunidades de bosque esclerófilo, pero si muestran el efecto que la matriz circundante tiene sobre la disminución de la diversidad alfa de las comunidades de bosque en estudio; los datos encontrados en nuestro estudio muestran la presencia de *P. radiata* en algunas comunidades y como este influye en los análisis de diversidad filogenética, pues corresponde a una especie de gimnosperma, muy lejana a las típicas angiospermas típicas de la comunidad de bosque esclerófilo.

Por otra parte, los modelos de nicho climático realizados en el capítulo 2, nos muestran lo sensible que son las especies de la comunidad de bosque esclerófilo ante el cambio climático y como se refugiarían en ambas cordilleras y despalazarían su distribución más al Sur de lo que es actualmente. Al parecer, la Cordillera de la Costa ha sido en ocasiones anteriores refugio de la especie tal y como lo reportan Hinojosa y colaboradores (2006); no así la Cordillera de Los Andes, que para los resultados que muestra Hinojosa y colaboradores (2006), estaba aún en proceso de levantamiento. Nuevamente, recobra importancia el portafolio de conservación

generado, ya que queda de manifiesto que los sitios de conservación deben ser dinámicos y evaluados constantemente, pues de cumplirse con lo que muestran los modelos de nicho climático, los sitios prioritarios de conservación deberán desplazarse más al Sur y considerar el tamaño de los fragmentos, para no ser víctima de lo reportado por Gómez y colaboradores (2011). No obstante, debemos recalcar que el tamaño efectivo de las comunidades de bosque esclerófilo aumenta hacia el Sur.

Si todo lo anterior, lo cruzamos con los datos obtenidos de determinar la diversidad y estructura genética de *Q. saponaria*, la ecuación de conservación de la especie se complejiza, pero a la vez se vuelve más interesante pues nos aporta una mirada más integral y más detallada que el simple portafolio de conservación generado a partir del uso del programa MARXAN (capítulo 2); pues podemos incorporar variables de tipo biológico que el programa antes mencionado no permite.

En este sentido, y teniendo en cuenta que los haplotipos ancestrales (SSRcp) se encuentran en el centro del actual área de distribución de la especie y que es hacia el Sur donde se están generando nuevos haplotipos; el saber que según los modelos de nicho climático indican que es hacia el Sur donde migraría la especie en un escenario de cambio climático, nos permitiría planear de mejor manera los sitios prioritarios y por ende, buscar conservar esos haplotipos nuevos, que podrían ser la fuente de diversidad genética que la especie necesita para seguir existiendo.

Otro aspecto importante, es que a pesar de que el algoritmo que usa MARXAN para generar los sitios prioritarios de conservación no incorpora variables del tipo de ciclo de vida de una especie o detalles de su biología; la selección de sitios independiente del escenario que se modeló, arroja sitios prioritarios en ambas cordilleras, siendo estos, a la luz de los datos obtenidos posteriormente de la diversidad y estructura genética de la especie, refugios naturales y en el caso de la Cordillera de la Costa, un paleo-refugio ya registrado en los eventos de glaciación (Hinojosa *et al.* 2006).

La historia evolutiva y la presencia detectada en un alto número de localidades víctimas de reducción de la diversidad genética (SSR), permitieron que al momento de que dichas

localidades salieran de esa condición de cuello de botella, existiera una explosión en la diversidad genética. Este aspecto así como los haplotipos y su aumento hacia el Sur; confirman aún más la acertada selección de sitios prioritarios de conservación realizada con MARXAN en el capítulo 2, pero los análisis realizados en el capítulo 1, condicionan que los sitios deben considerar el efecto borde de la matriz, para que así la conservación y mantenimiento de las dinámicas de la comunidad no se vea afectado por la introducción o cercanía a comunidades de especies exóticas (e.g., *P. radiata*). En este sentido, el análisis de BLM realizado previo a generar los sitios prioritarios con MARXAN resulta ser primordial, pues es dicho análisis el que busca el equilibrio entre soluciones de sitios que maximicen la relación área-perímetro de los sitios prioritarios generados.

Considerando los resultados obtenidos, se plantean nuevas preguntas a resolver, tales como: ¿Cómo son las dinámicas de flujo génico actual?, o lo que se planteó en el capítulo 3, sobre analizar el efecto de los árboles aislados en mantener el flujo génico y dar conectividad entre poblaciones; o por otra parte, ver que efecto puede estar teniendo sobre la diversidad y estructura genética el cada vez mayor uso de la especie como árbol ornamental (Alvarado Ojeda *et al.* 2012).

LITERATURA CITADA

- ALVARADO OJEDA, A., A. BALDINI URRUTIA & F. GUAJARDO BECCHI. 2012. Árboles Urbanos de Chile. Guía de Reconocimiento. Editora e Imprenta Maval Ltda., Santiago de Chile.368.
- ARROYO, M.T.K., P.A. MARQUET, C. MARTICORENA, J.A. SIMONETTI, L.A. CAVIERES, F.A. SQUEO & R. Rozzi. 2004. Chilean winter rainfall-Valdivian forests. In R.A. MITTERMEIER, P.R. GIL, M. HOFFMANN, J. PILGRIM, T. BROOKS, C.G. MITTERMEIER, J. LAMOREUX & G.A.B. DA FONSECA (eds.) Hotspots Revisted: Earth's Biologically Wealthiest and most Threatened Ecosystems, 99-103. CEMEX, México D.F.
- BATE-SMITH, E. C. 1965. Investigation of the chemistry and taxonomy of sub-tribe Quillajeae of the Rosaceae using comparisons of fresh and herbarium material. *Phytochemistry* 4(4): 535-539.
- BENOIT, I. L. 1989. Libro Rojo de la Flora Terrestre de Chile (Primera Parte). Corporación Nacional Forestal (CONAF), Santiago de Chile, Chile.145.
- CONAMA. 2006. Estudio de la Variabilidad Climática en Chile para el siglo XXI. Informe Final. Comisión Nacional del Medio Ambiente, Santiago de Chile.71.
- DÍAZ-FORESTIER, J., M. GÓMEZ & G. MONTENEGRO. 2009. Nectar volume and floral entomofauna as a tool for the implementation of sustainable apicultural management plans in *Quillaja saponaria* Mol. *Agroforestry Systems* 76(1): 149-162.
- GARCÍA, N., & C. ORMAZABAL. 2008. Arboles Nativos de Chile. Enersis S.A., Santiago de Chile.196.
- GOLDBLATT, P. 1976. Cytotaxonomic studies in the tribe Quillajeae (Rosaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 63(1): 200-206.
- GÓMEZ, P., R. O. BUSTAMANTE, J. SAN MARTÍN & S. HAHN. 2011. Estructura poblacional de *Pinus radiata* D.Don en fragmentos de Bosque Maulino en Chile central. *Gayana Botánica* 68(1): 97-101.
- HINOJOSA, L. F., J. J. ARMESTO & C. VILLAGRÁN. 2006. Are Chilean coastal forests pre-Pleistocene relicts? Evidence from foliar physiognomy, palaeoclimate, and phytogeography. *Journal of Biogeography* 33(2): 331-341.

- HOFFMANN, A., M.T.K. ARROYO, F. LIBERONA, M. MUÑOZ & J. WATSON. 1998. Plantas Altoandinas en la Flora Silvestre de Chile. Ediciones Fundación Claudio Gay, Santiago. 281.
- KENSIL, C. R., U. PATEL, M. LENNICK & D. MARCIANI. 1991. Separation and characterization of saponins with adjuvant activity from *Quillaja saponaria* Molina cortex. The Journal of Immunology 146(2): 431-437.
- KUBITZKI, K. 2007. Quillajaceae. in K. KUBITZKI (eds.), The Families and Genera of Vascular Plants: Flowering Plants Eudicots, 9, 407-408. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Deutschland,
- LANDER, T. A., S. A. HARRIS & D. H. BOSHIER. 2009. Flower and fruit production and insect pollination of the endangered Chilean tree, *Gomortega keule* in native forest, exotic pine plantation and agricultural environments. Revista Chilena de Historia Natural 82(3): 403-412.
- LUEBERT, F. 2013. Taxonomy and distribution of the genus *Quillaja* Molina (Quillajaceae). Feddes Repertorium 124(4): 157-162.
- MONTENEGRO, G., M. GÓMEZ, R. PIZARRO, G. CASAUBON & R. C. PEÑA. 2008. Implementación de un panel sensorial para mieles chilenas. Ciencia e Investigación Agraria 35(1): 51-58.
- MONTENEGRO, G., R. C. PEÑA & B. N. TIMMERMANN. 2001. La corteza de quillay (*Quillaja saponaria* Mol.), un recurso de la farmacopea internacional. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales 25(96): 421-427.
- MONTENEGRO, G., F. SALAS, R. C. PEÑA & R. PIZARRO. 2009. Actividad antibacteriana y antifúngica de mieles monoflorales de *Quillaja saponaria*, especie endémica de Chile. Phyton (Buenos Aires) 78(2): 141-146.
- MORGAN, D. R., D. E. SOLTIS & K. R. ROBERTSON. 1994. Systematic and evolutionary implications of rbcL sequence variation in Rosaceae. American Journal of Botany 81(7): 890-903.
- MYERS, N., R. A. MITTERMEIER, C. G. MITTERMEIER, G. A. B. DA FONSECA & J. KENT. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature 403(6772): 853-858.
- OFICINA DE ESTUDIOS Y POLÍTICAS AGRARIAS – ODEPA (2017) Superficie Plantada con Frutales.
<http://www.odepa.cl/estadisticas/productivas/>. Visitada el 9 de Febrero de 2017.

- PREHN, D., C. SERRANO, C. G. BERRIOS & P. ARCE-JOHNSON. 2003. Micropagación de *Quillaja saponaria* Mol. a partir de semillas. Bosque (Valdivia) 24(2): 3-12.
- REICHE, C. 1898. Flora de Chile, Vol. 2. Santiago de Chile, Editorial Cervantes.
- SAN MARTÍN, R., & R. BRIONES. 1999. Industrial uses and sustainable supply of *Quillaja saponaria* (Rosaceae) saponins. Economic Botany 53(3): 302-311.
- SQUEO, F. A., G. ARANCIO & J. R. GUTIÉRREZ. 2001. 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. xiii + 371.